

魏氏核归丸对腰椎间盘突出大鼠髓核 MMP2、MMP9、TIMP1 表达的影响

沈连丽¹, 莫如荣¹, 张建华¹, 张志杰¹, 马欣¹, 魏道德²

1. 湖州市南浔区菱湖人民医院药剂科, 浙江 湖州 313018

2. 驻马店魏道德骨科医院风湿免疫科, 河南 驻马店 463000

[摘要] 目的: 探究魏氏核归丸对腰椎间盘突出症 (Lumbar disc herniation, LDH) 大鼠髓核基质金属蛋白酶 2 (Matrix metalloproteinase 2, MMP2)、基质金属蛋白酶 9 (Matrix metalloproteinase 9, MMP9)、基质金属蛋白酶抑制剂 1 (Tissue inhibitor of metalloproteinase 1, TIMP1) 表达的影响。方法: SPF 级 SD 健康大鼠 60 只, 随机分为假手术组、模型组以及魏氏核归丸低、中、高剂量组。通过自体椎间盘移植方法制备 LDH 大鼠模型, 假手术组仅暴露神经根后缝合伤口。造模后 5 天后连续灌胃给药 14 天, 低、中、高剂量组大鼠分别给予 81、162、324 mg/mL 魏氏核归丸; 假手术组和模型组给予等量生理盐水。造模后观察大鼠的生物学行为, 并在相应时间点测量大鼠左后肢机械刺激缩爪阈值, HE 染色观察腰椎髓核形态变化; ELISA 方法测量大鼠腰椎髓核 MMP2、MMP9、TIMP1 蛋白表达量变化。结果: 造模后大鼠左后肢跛行、易激怒, 无其它异常行为, 魏氏核归丸干预后情况好转。造模 5 天, 与假手术组比较, 模型组大鼠左后肢缩爪阈值显著降低 ($P < 0.05$); 灌胃 7 天, 与模型组比较, 魏氏核归丸高、中剂量组左后肢缩爪阈值均显著升高 ($P < 0.05$), 高剂量组阈值上升最快, 低剂量组差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 灌胃 14 天, 高剂量组阈值接近假手术组 ($P > 0.05$)。HE 染色显示, 模型组髓核结构基本消失, 形态遭到破坏, 随着处理剂量的升高, 髓核组织形态逐渐恢复正常。ELISA 结果显示, 灌胃后 7 天和 14 天, 与假手术组比较, 模型组、魏氏核归丸低、中、高剂量组大鼠髓核 MMP2、MMP9、TIMP1 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 魏氏核归丸低、中、高剂量组大鼠 MMP2、MMP9 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$), TIMP1 表达水平均显著升高 ($P < 0.05$), 且随着魏氏核归丸剂量的升高, MMP2、MMP9 表达水平越来越低, TIMP1 表达水平越来越高; 与灌胃后 7 天比较, 魏氏核归丸低、中、高剂量组 MMP2、MMP9、TIMP1 蛋白在灌胃后 14 天的表达水平均显著降低 ($P < 0.05$)。结论: 魏氏核归丸能明显减轻 LDH 大鼠的病情, 抑制大鼠髓核 MMP2、MMP9 蛋白表达, 促进 TIMP1 表达。

[关键词] 魏氏核归丸; 腰椎间盘突出; MMP2; MMP9; TIMP1; 动物实验; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 11-0010-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.11.003

Wei's Hegui Pills Has Effect on Expressions of MMP2, MMP9, and TIMP1 of Nucleus Pulposus in Rats with Lumbar Disc Herniation

SHEN Lianli, MO Rurong, ZHANG Jianhua, ZHANG Zhijie, MA Xin, WEI Daode

Abstract: **Objective:** To investigate the effect of Wei's Hegui pills on the expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP2), matrix metalloproteinase-9 (MMP9) and matrix metalloproteinase inhibitor 1 (TIMP1) of nucleus pulposus in rats with nucleus of lumbar disc herniation (LDH). **Methods:** Divided 60 healthy SD rats in SPF grade into the sham operation group, the model group, the group of low-dose Wei's Hegui pills, the group of middle-dose Wei's Hegui pills, and the group of high-dose Wei's Hegui pills randomly. Made LDH rat models by autologous intervertebral disc transplantation method. The sham operation group only sutured the wound after exposing the nerve root. Five days after modeling, applied drugs by gavage continuously for 14 days. The groups of low-dose, middle-dose and high-dose Wei's Hegui pills were given 81, 162, and 324 mg/mL of Wei's Hegui pills respectively, while the sham operation group and the model group were given the same amount of normal saline. Observed the biological behavior of the rats after modeling, and measured the threshold of

[收稿日期] 2018-04-26

[作者简介] 沈连丽 (1977-), 女, 副主任药师, 研究方向: 临床药学、药理学。

[通信作者] 魏道德, E-mail: weidaode1943@163.com。

mechanical stimulation of the left hind limbs of rats at the corresponding time points. Observed the morphological changes of the lumbar nucleus by HE staining. Measured the amount of expression changes of MMP2, MMP9 and TIMP1 proteins in the lumbar nucleus of rats. **Results:** After modeling, the rats were easily irritated with their left hind limbs paralyzed and without other abnormal behaviors. This situation improved after applying the intervention of Wei's Hegui pills. After 5 days of modeling, compared with the sham operation group, the threshold of paw withdrawal in the left hind limb of the rats in the model group was significantly decreased ($P < 0.05$). After 7 days of gavage, compared with the model group, the group of middle-dose Wei's Hegui pills and the group of high-dose Wei's Hegui pills were obviously increased ($P < 0.05$); the increase of threshold in the group of high-dose Wei's Hegui pills was the fastest, and there was no difference being found in the group of low-dose Wei's Hegui pills ($P > 0.05$). After 14 days of gavage, the threshold in the group of high-dose Wei's Hegui pills was close to that in the sham operation group ($P > 0.05$). HE staining showed that the nucleus pulposus structure in the model group disappeared and its morphology was destroyed, but it gradually returned to normal as the dose increased in the treatment. The results of ELISA showed that the expression levels of MMP2, MMP9 and TIMP1 in the nucleus pulposus of rats in the model group, the groups of low-dose, middle-dose and high-dose Wei's Hegui pills were significantly higher than those in the sham operation group at the 7th and 14th day after gavage ($P < 0.05$); compared with the model group, the expression levels of MMP2 and MMP9 in the groups of low-dose, middle-dose and high-dose Wei's Hegui pills were clearly decreased ($P < 0.05$), while the expression level of TIMP1 was evidently increased ($P < 0.05$). With the increase of the dose of Wei's Hegui pills, the expression levels of MMP2 and MMP9 were getting lower and lower, and the expression level of TIMP1 was getting higher and higher. Compared with those after 7 days of gavage, the expression levels of MMP2, MMP9 and TIMP1 in the groups of low-dose, middle-dose and high-dose Wei's Hegui pills were decreased significantly after 14 days of gavage ($P < 0.05$). **Conclusion:** Wei's Hegui pills can significantly alleviate the condition of LDH rats, inhibit the expressions of MMP2 and MMP9 proteins in nucleus pulposus of rats, and promote the expression of TIMP1.

Keywords: Wei's Hegui pills; Lumbar disc herniation; MMP2; MMP9; TIMP1; Animal experiment; Rats

腰椎间盘突出症(Lumbar disc herniation, LDH)是临床骨科的常见病,主要是在腰椎间盘退变的基础上,外力因素导致纤维环破裂,髓核组织从破裂处突出甚至脱出,压迫邻近脊神经根,产生腰腿疼痛、麻木等症状^[1-3]。基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinase, MMP)及其抑制剂(Tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)在维持椎间盘细胞外基质成分的动态平衡中发挥重要作用, MMP 是主要的基质蛋白降解酶,其酶活性增强将造成基质过度降解,导致椎间盘退变,而内源性 TIMP 可直接抑制 MMP 活性^[4]。研究发现退变椎间盘中 MMP 含量升高, TIMP 却相对不足,这就造成椎间盘内蛋白减少、基质成分改变^[5-6]。魏氏核归丸是驻马店魏道德骨科医院长期临床实践总结的经验方,此方主治腰椎间盘突出症,能消除腰椎炎症,减轻水肿,使神经压迫症状得以缓解,进而起到行气活血、祛风除湿、消炎止痛等功效,但其具体作用机理尚未阐明。故本研究通过建立 LDH 大鼠模型,探究魏氏核归丸对 LDH 大鼠病变椎间盘组织 MMP2、MMP9、TIMP1 表达的影响,以期为临床治疗 LDH 提供指导。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组 SPF 级 SD 健康大鼠 60 只,体质量 180~220 g,雌雄不限,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物批号:SYXK(京)2017-0022。将大鼠随机分为 5 组,每组 12 只,包括假手术组、模型组以及魏氏核归丸低、

中、高剂量组(低剂量组、中剂量组、高剂量组)。

1.2 药物 魏氏核归丸来自驻马店魏道德骨科医院,由杜仲、炒菟丝子、酒当归、狗脊各 600 g,续断、宣木瓜、独活各 300 g,土元、醋乳香、醋没药各 250 g,香附、木香各 150 g,骨碎补 450 g,醋延胡索 500 g、熟地黄 900 g 和制马钱子 82 g,共 16 味中药组成。功效:补肾壮骨、滋肝养筋、行气活血、祛风除湿、扶正祛邪;用法:1 次 9 g,1 天 3 次,饭后服用。根据人鼠体表面积等效量法换算出 200 g 大鼠用药剂量为 1 次 162 mg,以此作为中剂量,设低、中、高剂量比例为 1:2:4,即低剂量为 81 mg,高剂量为 324 mg。临用时将药丸用生理盐水配成 81、162、324 mg/mL 的混悬液。

1.3 动物模型制备 10%水合氯醛按照 0.5 mL/100 g 腹腔麻醉,麻醉起效后右侧卧位固定于手术台,背毛消毒,正中切开鼠尾暴露椎间盘,连续勾出 6 个椎间盘,浸入无菌生理盐水中,迅速缝合伤口。将 1 个椎间盘用生理盐水稀释后,搅拌成混悬液备用。于正中切开大鼠背部,暴露 L₄~L₅ 横突、刺突,显微镜下切开 L₅ 左侧椎板,在神经根和硬脊膜间置入自体尾椎椎间盘,同时将尾椎椎间盘稀释液注入硬膜囊外与神经根周围,注意髓核接触但未压迫神经根。甲硝唑冲洗后逐层缝合伤口。假手术组仅暴露神经根后缝合伤口,其他操作同上。

1.4 给药处理 造模后 5 天,每天注射青霉素 8 万 U/只预防感染,正常喂养,至大鼠尾部结痂。造模 5 天后连续灌胃给

药 14 天, 1 天 3 次, 每次低剂量组给予 1 mL/200 g 低浓度药液(81 mg/mL); 每次中剂量组给予 1 mL/200 g 中浓度药液(162 mg/mL); 每次高剂量组给予 1 mL/200 g 高浓度药液(324 mg/mL); 假手术组和模型组给予等量生理盐水。每天 8:00、13:30、19:00 各给药 1 次。

1.5 行为学观察 观察大鼠有无烦躁不安(如撕咬肢体、不停舔后爪、后足或肢忽而自行抬起), 饮食变化情况, 运动功能是否异常, 大小便是否失禁等。

1.6 后肢痛觉实验 参照陆志东等^[7]方法自制大鼠机械刺激缩爪阈值仪, 由血压计、5 mL 注射器内芯和磨秃的 20 mL 注射器针尖组装而成。造模前 1 天、造模后 5 天、灌胃后 7 天和 14 天进行测量。测量时将大鼠放入塑料杯内, 露出左后肢, 大鼠平静后将自制测量仪针头置于左后爪 4、5 趾骨间, 接着向血压计充气, 大鼠出现尖叫或缩爪时停止, 记录血压计读数, 以此作为缩爪阈值, 间隔 20 min 测 1 次, 取 3 次测量值的平均数。假设造模前 1 天的缩爪域值为基础域值, 若高于此值则痛觉迟钝, 若低于此值则痛觉过敏。

1.7 苏木精-伊红 (HE) 染色 末次给药结束后, 各组随机选取大鼠 4 只, 收集腰部髓核, 于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24~48 h; 脱水后石蜡包埋; 用组织切片机以 10 μ m 厚度切片, 60℃ 恒温箱中烤片 3~5 h; 切片用二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化; 苏木精液染色 5 min; 水冲洗后 75% 盐酸乙醇分化 30 s; 水冲洗、乙醇处理后酸化伊红溶液染色 2 min; 乙醇脱水、二甲苯透明; 用中性树脂胶封片、烘烤过夜。在光镜下观察并拍照。

1.8 酶联免疫 (ELISA) 检测 用 ELISA 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)测定各组大鼠腰部髓核中 MMP2、MMP9、TIMP1 含量。将髓核剪成碎片, 加入适量标本稀释液, 漩涡匀浆。向反应板各孔加入 100 μ L 样品, 混匀后置于 37℃ 恒温箱中 2 h; 反应板洗涤并吸干后, 加入 100 μ L 一抗工作液, 混匀后置于 37℃ 恒温箱中 1 h; 反应板洗涤并吸干后, 加入 100 μ L 酶标抗体工作液, 置于 37℃ 恒温箱中 0.5 h; 反应板洗涤并吸干后, 加入 100 μ L 终止液并混匀; 0.5 h 内用酶标仪测定 450 nm 处吸光度。

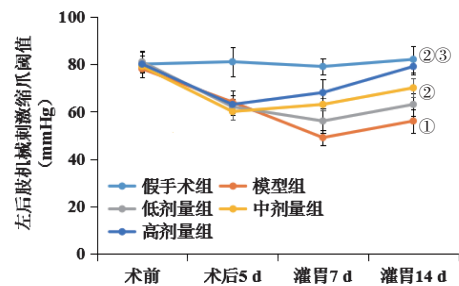
1.9 统计学方法 用 SPSS20.0 统计软件进行数据处理, 计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示, 方差分析; 计数资料用“率”描述, 用 χ^2

检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模后大鼠行为观察 各组大鼠都没出现感染、死亡情况。造模后大鼠饮食正常, 左后肢出现轻度跛行、避免负重, 无撕咬, 没有大小便失禁情况, 易激怒, 魏氏核归丸干预后情况明显好转。

2.2 各组大鼠左后肢机械刺激缩爪疼痛阈值结果比较 见图 1。术后 5 d, 与假手术组比较, 模型组大鼠左后肢缩爪阈值均显著降低($P < 0.05$)。灌胃 7 天, 与模型组比较, 高、中剂量组大鼠左后肢缩爪阈值均显著升高($P < 0.05$), 低剂量组的差异无统计学意义($P > 0.05$), 高剂量组阈值上升最快, 但高剂量组与中剂量组间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。与灌胃 7 天比较, 高剂量组大鼠灌胃 14 天时阈值显著升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且阈值趋近于假手术组($P > 0.05$)。



与假手术组比较, ① $P < 0.05$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$; 与灌胃 7 天比较, ③ $P < 0.05$

图 1 各组大鼠左后肢机械刺激缩爪疼痛阈值

2.3 各组大鼠髓核组织 HE 染色结果比较 见图 2。假手术组椎间盘组织形态结构完整, 多层纤维环排列整齐, 髓核形态正常。模型组纤维环大面积坏死, 且髓核数量明显减少、结构基本消失, 周围出现大量透明骨质增生, 正常椎间盘结构消失。低剂量组纤维环坏死明显减少, 髓核数量有所增加, 椎间盘、髓核组织形态有所恢复, 透明骨质增生有所降低。中剂量组显示椎间盘形态基本恢复正常, 异常透明骨质基本消失, 髓核形态增加, 纤维环形态数量恢复正常, 排列整齐。高剂量组显示椎间盘形态正常, 纤维环数量恢复正常且排列有序, 髓核形态正常。

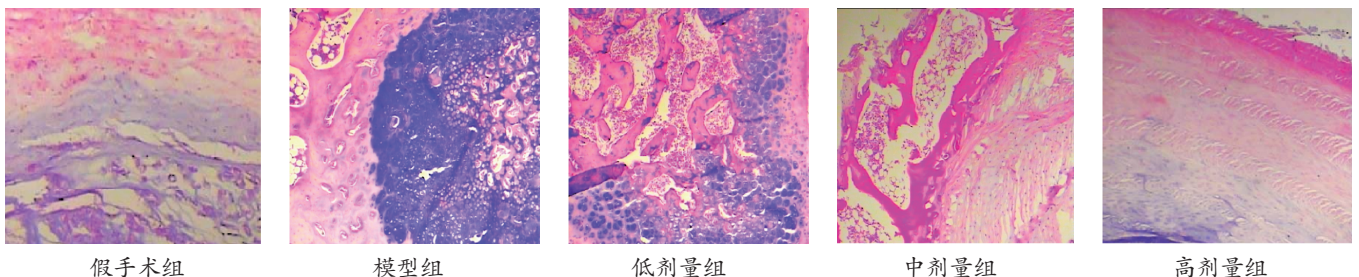


图 2 各组大鼠髓核组织 HE 染色结果 ($\times 100$)

2.4 各组大鼠髓核 MMP2、MMP9 蛋白表达变化结果比较 见表 1。灌胃 7 天和 14 天,与假手术组比较,模型组大鼠髓核 MMP2、MMP9 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,低、中、高剂量组大鼠 MMP2、MMP9 蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$),且随着剂量的升高 MMP2、MMP9 蛋白表达水平越低,但仍高于假手术组($P < 0.05$);与灌胃 7 天比较,低、中、高剂量组在灌胃 14 天时 MMP2、MMP9 蛋白的表达水平均有所降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 灌胃后各组大鼠髓核 MMP2、MMP9 蛋白表达变化结果

组别	n	灌胃 7 d		灌胃 14 d	
		MMP2	MMP9	MMP2	MMP9
假手术组	12	546.32±32.09	438.64±36.15	527.98±30.56	424.39±29.43
模型组	12	2136.21±28.17 ^①	986.26±45.14 ^①	1927.34±26.15 ^①	876.88±45.18 ^①
低剂量组	12	1845.64±61.24 ^②	812.13±48.37 ^②	1514.74±40.62 ^{②③}	710.41±27.94 ^{②③}
中剂量组	12	1458.32±54.93 ^②	708.29±50.68 ^②	1126.45±33.75 ^{②③}	604.28±37.15 ^{②③}
高剂量组	12	998.95±68.67 ^②	589.55±61.42 ^②	838.24±43.81 ^{②③}	507.35±29.44 ^{②③}

与假手术组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与灌胃 7 d 比较,③ $P < 0.05$

2.5 各组大鼠髓核 TIMP1 蛋白表达变化结果比较 见表 2。灌胃 7 天和 14 天,与假手术组比较,模型组大鼠髓核 TIMP1 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,低、中、高剂量组大鼠 TIMP1 蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$),且随着剂量的升高 TIMP1 蛋白表达水平越高;与灌胃后 7 天比较,低、中、高剂量组大鼠 TIMP1 蛋白在灌胃 14 天时的表达水平有所降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠髓核 TIMP1 蛋白表达变化结果

组别	n	灌胃 7 d	灌胃 14 d
假手术组	12	218.36±41.56	209.85±27.82
模型组	12	473.58±51.34 ^①	418.54±34.67 ^①
低剂量组	12	614.23±36.40 ^{①②}	565.16±35.13 ^{①②③}
中剂量组	12	706.65±42.78 ^{①②}	653.75±39.41 ^{①②③}
高剂量组	12	842.14±29.52 ^{①②}	726.83±42.19 ^{①②③}

与假手术组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与灌胃 7 天比较,③ $P < 0.05$

3 讨论

LDH 在中医学中属于腰痛、腰腿痛等范畴,基于肝脾肾不足,尤其是肾虚,由外伤或气滞寒凝等引起^[8-9]。中医内治 LDH 药物以补肝益肾、活血化瘀为主^[10]。魏氏核归丸是在传统核归丸的基础上,结合 LDH 的病因、症状,加入强腰膝、祛风湿、固肾气的狗脊,祛风湿、止痛的独活,活血、利气、止痛的醋延胡索等,为驻马店魏道德骨科医院长期临床实践总结而得,主治腰椎间盘突出、椎管狭窄、腰肌劳损、颈椎间盘突出,在临床上应用多年,取得良好疗效。现代药理研究发现活

血祛瘀药物可减小血液黏稠度、扩张血管,进而改善血液循环,补肾药物可调节机体代谢、提高机体免疫力^[11-12]。魏氏核归丸具有补肾壮骨、滋肝养筋、行气活血、祛风除湿、扶正祛邪的功效。本研究通过动物实验探究魏氏核归丸治疗 LDH 的内在分子机制,为中药的现代化研究提供参考。

本研究采用自体椎间盘移植方法制备 LDH 大鼠模型,所有大鼠都未感染、死亡。造模后大鼠左后肢跛行、易激怒。HE 染色结果说明魏氏核归丸治疗可明显改善 LDH 大鼠的生物学行为及其髓核病理特征,且可缓解大鼠痛觉过敏情况。这些结果与魏氏核归丸及其他核归丸的临床治疗效果一致^[13-15]。

腰椎间盘突出是 LDH 发生的重要内因,常表现为椎间盘基质成分改变,椎间盘细胞外基质成分一般处于动态平衡之中,椎间盘退变象征该平衡遭受破坏,MMP 及其抑制剂 TIMP 在其中发挥关键作用^[16]。细胞外基质指位于结缔组织细胞外围、内皮与上皮细胞下层,为组织、器官以及生物体提供韧性与强度的物质。胶原蛋白、蛋白多糖是椎间盘细胞外基质的主要成分,胞间框架结构主要有胶原构成,而蛋白多糖可与水结合起着对抗外压、分散负荷的作用。椎间盘由中央髓核和外周纤维环构成,髓核胶原无 I 型多为 II 型,而纤维环从外向里 I 型胶原不断减少,II 型胶原、聚合蛋白多糖逐渐增多^[17]。基质降解酶系有脯肽酶、丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、糖苷酶和基质金属蛋白酶(MMP)6 大类,其中 MMP 分布于多类细胞中,可广泛降解多种基质,在维持基质动态平衡中发挥最重要的作用,与癌细胞扩散、腹膜炎、关节炎、烧伤、椎间盘退变等病症及正常组织的吸收、更新密切相关^[18-19]。研究发现椎间盘退变时髓核中 II 型胶原被 I 型取代,且有 III 型胶原出现,而聚合蛋白多糖含量下降,硫酸软骨素与硫酸角质素比值下降等生物学变化^[6]。椎间盘退变的直接原因是椎间盘中含有过量的 MMP,MMP/TIMP 失衡,椎间盘细胞活性不足,不能维持、修复胞外基质成分。腰部重负荷、强扭转、驾驶振动等机械因素是引起腰椎间盘突出常见诱因。研究显示,腰部负荷异常改变可导致 MMP/TIMP 失衡,造成椎间盘基质过度降解^[20]。本研究结果显示,灌胃后 7 天和 14 天,模型组、魏氏核归丸组大鼠髓核 MMP2、MMP9、TIMP1 蛋白表达水平较假手术组均显著较高,MMP2、MMP9 增加量高,而 TIMP1 增加量相对较少,说明 LDH 大鼠髓核 MMP2、MMP9、TIMP1 含量增多,MMP/TIMP 失衡。魏氏核归丸干预后 MMP2、MMP9 表达水平均显著低于模型组,TIMP1 表达水平均显著高于模型组,且随着魏氏核归丸剂量的升高,MMP2、MMP9 表达水平越来越低,TIMP1 表达水平越来越高,说明魏氏核归丸可缓解 MMP/TIMP 失衡情况,避免胞外基质过度降解。由此说明魏氏核归丸可能通过抑制大鼠髓核 MMP2、MMP9 蛋白表达,促进 TIMP1 表达,来减轻 LDH 大鼠的病情。

综上,本研究通过自体椎间盘移植方法成功制备 LDH 大鼠模型,模型组大鼠腰部髓核中 MMP2、MMP9、TIMP1 蛋白

表达水平显著增加,魏氏核归丸治疗后 LDH 大鼠髓核炎症明显减轻,且髓核组织中 MMP2、MMP9 表达水平显著降低,TIMP1 显著升高,说明魏氏核归丸可抑制髓核 MMP2、MMP9 蛋白表达,促进 TIMP1 表达,缓解 LDH 大鼠病情。然而 LDH 发生发展的相关因素很多、相关机制复杂,魏氏核归丸治疗 LDH 的具体作用机理还需继续深入探究。

[参考文献]

- [1] 陈少华,傅秀珍,张广清,等. 腰椎间盘突出症中医护理模式研究[J]. 中国医药导报, 2015, 12(10): 147-150.
- [2] 许电,许时良,陈慧珍. 中西医结合治疗腰椎间盘突出症临床研究[J]. 中医学报, 2017, 32(5): 879-883.
- [3] Li Y, Fredrickson V, Resnick DK. How Should We Grade Lumbar Disc Herniation and Nerve Root Compression A Systematic Review[J]. Clin Orthop Relat Res, 2015, 473(6): 1896-1902.
- [4] Baillet A, Grange L, Trocmé C, et al. Differences in MMPs and TIMP-1 expression between intervertebral disc and disc herniation[J]. Joint Bone Spine, 2013, 80(3): 341-342.
- [5] 王涛,康汇,李红川. 腰椎间盘突出患者组织 MMP 及 TIMP 指标的变化研究[J]. 湖南师范大学学报: 医学版, 2015, 12(6): 129-131.
- [6] Ozkanli S, Kaner T, Efendioglu M, et al. The relation of matrix metalloproteinase 1, 2, 3 expressions with clinical and radiological findings in primary and recurrent lumbar disc herniations[J]. Turkish Neurosurgery, 2015, 25(1): 111-116.
- [7] 陆志东,金群华,陈志荣. 大鼠非压迫性髓核突出模型的建立[J]. 中国矫形外科杂志, 2003, 11(2): 1361-1363.
- [8] 郑国泉. 中医针灸联合中医推拿综合治疗腰间盘突出症效果分析[J]. 中外医疗, 2016, 35(36): 177-178, 181.
- [9] 杨庆红. 腰椎间盘突出症的中医护理体会[J]. 光明中医, 2017, 32(5): 749-751.
- [10] 赵明宇,黄桂成. 从腹论治腰椎间盘突出症的研究进展[J]. 中医学报, 2012, 27(2): 217-219.
- [11] 李中锋,邓强,张彦军,等. 中药熏蒸联合推拿治疗腰椎间盘突出症的临床效果[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(36): 7067-7069, 7110.
- [12] 王妍,李晗辉,罗敏,等. 腰椎间盘突出症患者椎间盘镜技术术前心理状态与术后临床疗效的相关性分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(19): 1931-1933.
- [13] 赖志刚,涂履超. 针刀松解核归丸内服治疗腰椎间盘突出症[J]. 中医正骨, 2001, 13(3): 44.
- [14] 甘维红. 针刀治疗腰椎间盘突出症急性期的护理与康复指导[J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(6): 170.
- [15] 周臣安. 蜜麻丸加腰背肌锻炼治疗腰椎间盘突出退行性病变[J]. 中国骨伤, 2000, 13(5): 285.
- [16] Xu H, Mei Q, He J, et al. Correlation of Matrix Metalloproteinases-1 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 with Patient Age and Grade of Lumbar Disk Herniation[J]. Cell Biochemistry & Biophysics, 2014, 69(3): 439-444.
- [17] Gupta RS, Wu XT, Hong X, et al. Technique of Percutaneous Transforaminal Endoscopic Discectomy for the Treatment of Lumbar Disc Herniation[J]. Open Journal of Orthopedics, 2015, 5(7): 208-216.
- [18] Grzela K, Litwiniuk M, Zagorska W, et al. Airway Remodeling in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma: the Role of Matrix Metalloproteinase -9[J]. Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis, 2016, 64(1): 1-9.
- [19] Ming C. Cha, Peter P. Purslow. Expressions of matrix metalloproteinases and their inhibitor are modified by beta-adrenergic agonist ractopamine in skeletal fibroblasts and myoblasts[J]. Canadian Journal of Animal Science, 2017, 92(2): 159-166.
- [20] Aras AB, Guven M, Balak N, et al. Evaluation of the Association Between Matrix Metalloproteinase 11 and Intervertebral Disc Disease[J]. Turkish Neurosurgery, 2015, 26(2): 274-279.

(责任编辑:冯天保,钟志敏)