

· 基础研究 ·

基于 Notch 通道右归丸对大鼠退变椎间盘的影响[△]

马涉^{1,2}, 刘侃², 杨敬言^{1,2}, 黄仁俊^{1,2}, 于栋^{2*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 北京中医药大学第三附属医院, 北京 100029)

摘要: [目的] 探讨右归丸对大鼠退变腰椎间盘结构的潜在干预机制。[方法] 将 30 只雄性 SD 大鼠随机分为 3 组, 每组 10 只。正常对照组为健康大鼠, 不做特殊处理; 退变组采用纤维环穿刺法建立大鼠椎间盘退变模型。药物组在退变组基础上予右归丸灌胃 2 周。ELISA 检测血清炎症因子 IL-10、MIF、TNF- α 水平; Western blot 检测椎间盘组织中 II 型胶原、Notch1 蛋白表达水平。[结果] 与正常对照组比较, 退变组和药物组的大鼠血清白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) [(22.3 \pm 2.8) pg/ml vs (30.9 \pm 1.7) pg/ml vs (53.2 \pm 7.5) pg/ml, P <0.001]、巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) [(0.3 \pm 0.0) pg/ml vs (1.3 \pm 0.3) pg/ml vs (0.6 \pm 0.2) pg/ml, P <0.001]、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) [(12.5 \pm 3.0) pg/ml vs (52.6 \pm 1.5) pg/ml vs (34.9 \pm 3.2) pg/ml, P <0.001] 含量均显著增加; 此外, 组织 Notch1 蛋白表达水平显著升高 [(0.1 \pm 0.0) vs (0.8 \pm 0.1) vs (0.4 \pm 0.0), P <0.001], 但是, II 型胶原蛋白表达水平 [(0.9 \pm 0.1) vs (0.2 \pm 0.0) vs (0.6 \pm 0.3), P <0.001] 显著降低。与退变组相比, 药物组的大鼠血清炎症因子 IL-10 含量显著增加 (P <0.05), 但 MIF、TNF- α 含量显著减少 (P <0.05), II 型胶原蛋白表达水平升高 (P <0.05)。[结论] 右归丸能够抑制椎间盘退变大鼠的炎症反应, 减少细胞外基质降解, 从而缓解大鼠椎间盘退变, 其机制可能与调控 Notch 信号通路相关。

关键词: 椎间盘退行性变, 右归丸, Notch 通路, 炎症反应, 温阳法

中图分类号: R68 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2024) 05-0440-06

Effect of Notch channel-based Yougui Pill on the degenerative intervertebral disc in rats // MA She^{1,2}, LIU Kan², YANG Jing-yan^{1,2}, HUANG Ren-jun^{1,2}, YU Dong². 1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. The Third Affiliated Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: [Objective] To investigate the potential intervention mechanism of Yougui Pills on the degenerative lumbar disc structure in rats. [Methods] Thirty male SD rats were randomly divided into 3 groups with 10 rats in each group. The normal control group was healthy rats without special treatment, while the model group had intervertebral disc degeneration established by annulus fibrosus punctured. In addition, the drug group was given Yougui pill for 2 weeks on the basis of the model group. Serum levels of inflammatory cytokines, including IL-10, MIF and TNF- α were detected by ELISA, while the expression levels of type II collagen and Notch1 protein in intervertebral disc tissues were detected by western blot. [Results] Compared with normal control group, the serum interleukin-10 (IL-10) [(22.3 \pm 2.8) pg/ml vs (30.9 \pm 1.7) pg/ml vs (53.2 \pm 7.5) pg/ml, P <0.001], macrophage migration inhibitory factor (MIF) [(0.3 \pm 0.0) pg/ml vs (1.3 \pm 0.3) pg/ml vs (0.6 \pm 0.2) pg/ml, P <0.001] and tumor necrosis factor- α (TNF- α) [(12.5 \pm 3.0) pg/ml vs (52.6 \pm 1.5) pg/ml vs (34.9 \pm 3.2) pg/ml, P <0.001], additionally, the tissue expression of Notch1 protein significantly increased [(0.1 \pm 0.0) vs (0.8 \pm 0.1) vs (0.4 \pm 0.0), P <0.001], while the type II collagen protein expression decreased significantly [(0.9 \pm 0.1) vs (0.2 \pm 0.0) vs (0.6 \pm 0.3), P <0.001] in the model group and drug group. However, the drug group proved significantly higher serum IL-10 (P <0.05), whereas significantly lower MIF and TNF- α (P <0.05), as well as significantly higher tissue expression of type II collagen than the model group (P <0.05). [Conclusion] The Yougui Pill can inhibit the inflammatory response and reduce the degradation of extracellular matrix in rats with intervertebral disc degeneration, thus alleviating the intervertebral disc degeneration in rats. The mechanism may be related to the regulation of Notch signaling pathway.

Key words: intervertebral disc degeneration, Yougui pill, Notch pathway, inflammatory response, Yang-warming method

椎间盘退行性变 (intervertebral disc degeneration, IDD) 可引起多种临床症状, 也是导致退变性脊柱侧

弯症、椎间盘突出症等疾病的重要原因之一, 因此治疗或者延缓 IDD 的研究具有十分重要的现实意

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2024.05.10

[△]基金项目:北京中医药大学第三附属医院 2022 年度院内培育项目(编号:BZYSY-2022-PYMS-18);中医骨伤科学一流学科建设项目

作者简介:马涉,在读研究生,研究方向:中医骨伤科学,(电话)13388086980,(电子信箱)bucmmashe@163.com

* 通信作者:于栋,(电话)18910911399,(电子信箱)yu_dong01@126.com

义^[1-3]。当前国内外医学领域对于 IDD 的治疗研究并未完全成熟,在治疗方面仍有局限,尤其是针对已经出现早期退变的椎间盘,目前仍没有很好的预防和控制方法。在 IDD 早期,临床中常采用保守疗法,通过服用抗炎止痛的药物和物理疗法来改善症状,但是这种方法疗效并不持久,且长期服用药物可能会导致胃肠道症状等不良反应^[4]。晚期通常采取外科手术治疗,虽然能快速缓解病痛,但依然无法彻底治愈,甚至因手术造成的结构损害会使邻近椎体关节的退化更为迅速^[5,6]。鉴于此,对该病的发病机理进行深入研究,针对关键环节探索药物所发挥的作用,对于预防和延缓 IDD 的发生具有显著意义。

祖国医学对于 IDD 也有较深的认识,阳气不足被认为是组织退变、修复能力不足的重要内因,温阳法代表性经方右归丸被广泛用于椎间盘退行性疾病的诊疗,其治疗的作用不仅仅在于减轻症状,也在于它可恢复人体的正气、提高免疫力、促进人体的自身修复,达到预防和控制病情的作用,治疗效果显著,患者症状改善明显,而且复发率较小。但其内在作用机理仍不清晰。而 Notch 通路及炎症因子对 IDD 的发生和发展有着密切的关系^[7,8],因此,本次研究选择与炎症反应密切相关的代表性因子白细胞介素 10 (interleukin 10, IL-10)、巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 基于 Notch 通路选择特异性蛋白 Notch1, 及细胞外基质中的重要组成部分 II 型胶原作为研究重点进行进一步研究,旨在观察右归丸对大鼠椎间盘退行性变模型的影响,以期探讨右归丸治疗 IDD 的内在机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组

使用由中国中医科学院医学实验中心提供的体重为 (220±30) g、年龄为 6~8 周的健康雄性 SD 品系大鼠 (SPF 级) 30 只,动物生产许可证号 [SCXK (京) 2021-0011]。随机分为正常对照组 10 只、退变组 10 只、药物组 10 只。实验期间,需要保证大鼠饲养环境温度 23℃~25℃,湿度保持在 50%~65%,供应标准鼠粮,适应性饲养 1 周后进行实验。本次实验经本校伦理部门审核批准,过程符合 3R 原则。

1.2 实验处理

正常对照组:正常对照组为健康大鼠,不做特殊处理。

退变组:退变组采用纤维环穿刺法制作 IDD 模型^[9]。大鼠适应性饲养 1 周。术前,大鼠禁食水 12 h,并称量。随后以体重为依据,通过腹腔注射,给予 1.5 ml/kg 的 3%戊巴比妥钠,麻醉生效后,需要将目标节段的脊柱区毛发全部剃除,清洁后仰卧固定,消毒后铺巾,于前正中线右侧旁开 0.5 cm 处做纵行切口,暴露腹后壁,保护腹腔脏器及血管,从脊柱附着点上,缓慢剥离腰大肌,暴露 L_{4/5}、L_{5/6} 椎间盘 (髂嵴平对 L_{5/6} 椎间盘或 L₆ 椎体),在确定环状纤维后,使用注射器挑破纤维环。穿刺成功后,通过检查确保脏器无出血、腹膜完整,逐层关闭肌肉、筋膜和皮肤等创口,对伤口处进行碘伏消毒,并涂抹适量的头孢唑啉钠以预防感染,术闭。

药物组:在退变组基础上予右归丸灌胃,根据“人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值”,标准成人体重 (70 kg) 与大鼠体表面积折算的等效剂量比率换算后,右归丸用量约为 10.5 g/kg^[10],1 次/d,上午 10 点给药。右归丸药物组成:熟地黄 24 g,鹿角胶、山药、杜仲、菟丝子各 12 g,山茱萸、当归、枸杞子各 9 g,附子、肉桂各 6 g,购自北京中医药大学第三附属医院药剂科,煎煮并制成浓度为 2 g/mL 的右归丸药液,于 4℃冰箱保存^[11]。

1.3 检测方法

1.3.1 动物处死与样本采集

手术及实验期间,各组大鼠无感染、死亡等情况。2 周后,依据实验鼠体重,按 1.5 ml/kg 的标准腹腔注射 3%戊巴比妥钠进行麻醉,待麻醉满意后,将实验鼠固定于手术台,酒精消毒后,沿腹中线切开暴露腹腔并分离腹主动脉,行无菌腹主动脉采血 5 ml 左右。并取 L_{4/5}、L_{5/6} 椎间盘组织,液氮冻存,然后置于 -80℃冷冻冰箱中,用于后续检测。

1.3.2 ELISA 检测

根据 ELISA 酶联试剂盒步骤,准确布板,做 3 个重复孔,使用全自动酶标仪测定 450 nm 波长,绘制标准曲线,计算大鼠血清 IL-10、MIF、TNF- α 样品浓度。IL-10、MIF、TNF- α ELISA 试剂盒均购自上海江莱生物科技有限公司,全自动酶标仪 (型号: ELx800) 购自美国 BioTek 公司。

1.3.3 组织样本处理与 western blot 检测

对组织样品进行蛋白提取,蛋白样品用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离,然后电转移到 PVDF 膜上,浸泡于缓冲液中,摇床中轻摇 1 h,分别加入一抗 (Notch1 抗体、II 型胶原抗体、GAPDH 抗体),将其置于 4℃下的环境下过夜,使用 TBST 缓冲液重

复冲洗 3 次后, 加入山羊兔二抗 (Goat Anti-Rabbit IgG+HRP), 放于避光的室内孵育 50 min, 使用 ECL 显色液对 PVDF 膜进行浸泡 1 min, 在暗室中进行曝光处理, 再通过光敏感材料进行显影并定影, 使用 Quantity One v.4.6.2 软件对条带灰度值进行读取并记录。目的蛋白相对表达水平=目的蛋白灰度值/GAPDH 灰度值。Notch1 抗体、II 型胶原抗体、GAPDH 抗体、Goat Anti-Rabbit IgG+ HRP 均购自上海江莱生物科技有限公司。二氧化碳培养箱 (型号: 3111) 购自美国 Thermo 公司。双垂直电泳槽 (型号: MP-8001)、转移槽 (型号: MP-3030)、电泳仪 (型号: PP-1150) 均购自北京凯元信瑞仪器有限公司。脱色摇床 (型号: TS-2000A) 购自海门市其林贝尔仪器制造有限公司。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 26.0 对数据进行统计学分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。由于各资料满足正态分布而不满足

方差齐性, 故采用单因素 Welch's 方差检验, 两两比较采用 LSD 法, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 ELISA 检测结果

与正常对照组对比, 退变组与药物组的大鼠血清 IL-10、MIF、TNF- α 浓度显著增加; 与退变组比较, 药物组的大鼠血清 IL-10 浓度显著增加 ($P < 0.05$), 而药物组的 MIF、TNF- α 浓度显著降低 ($P < 0.05$)。综上, 大鼠血清 IL-10 浓度水平为药物组>退变组>正常对照组; 大鼠血清 MIF、NF- α 浓度水平退变组>药物组>正常对照组。与正常对照组对比, 退变组与药物组的大鼠 Notch 1 相对表达量显著增加 ($P < 0.05$), 而 II 型胶原相对表达量显著降低 ($P < 0.05$)。

表 1 三组动物检测结果比较

Table 1 Comparison of test results among the three groups of animals

| 指标 | 正常对照组 (n=10) | 退变组 (n=10) | 药物组 (n=10) | P 值 |
|-------------------------|--------------|------------|------------|--------|
| ELISA 检测 (pg/ml) | | | | |
| IL-10 | 22.3±2.8 | 30.9±1.7 | 53.2±7.5 | <0.001 |
| MIF | 0.3±0.0 | 1.3±0.3 | 0.6±0.2 | <0.001 |
| TNF- α | 12.5±3.0 | 52.6±1.5 | 34.9±3.2 | <0.001 |
| Western blot 检测 (相对表达量) | | | | |
| Notch 1 | 0.1±0.0 | 0.8±0.1 | 0.4±0.0 | <0.001 |
| II 型胶原 | 0.9±0.1 | 0.2±0.0 | 0.6±0.3 | <0.001 |

2.2 椎间盘组 Western blot 检测结果

与正常对照组比较, 退变组与药物组的 Notch1 蛋白表达水平均明显升高, II 型胶原蛋白表达水平均明显降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与退变组比较, 药物组 Notch1 蛋白表达水平明显降低, II 型胶原蛋白表达水平明显升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。综上, 大鼠椎间盘 Notch1 蛋白表达水平为: 退变组>药物组>正常对照组; 大鼠椎间盘 II 型胶原蛋白表达水平为: 正常对照组>药物组>退变组。

3 讨论

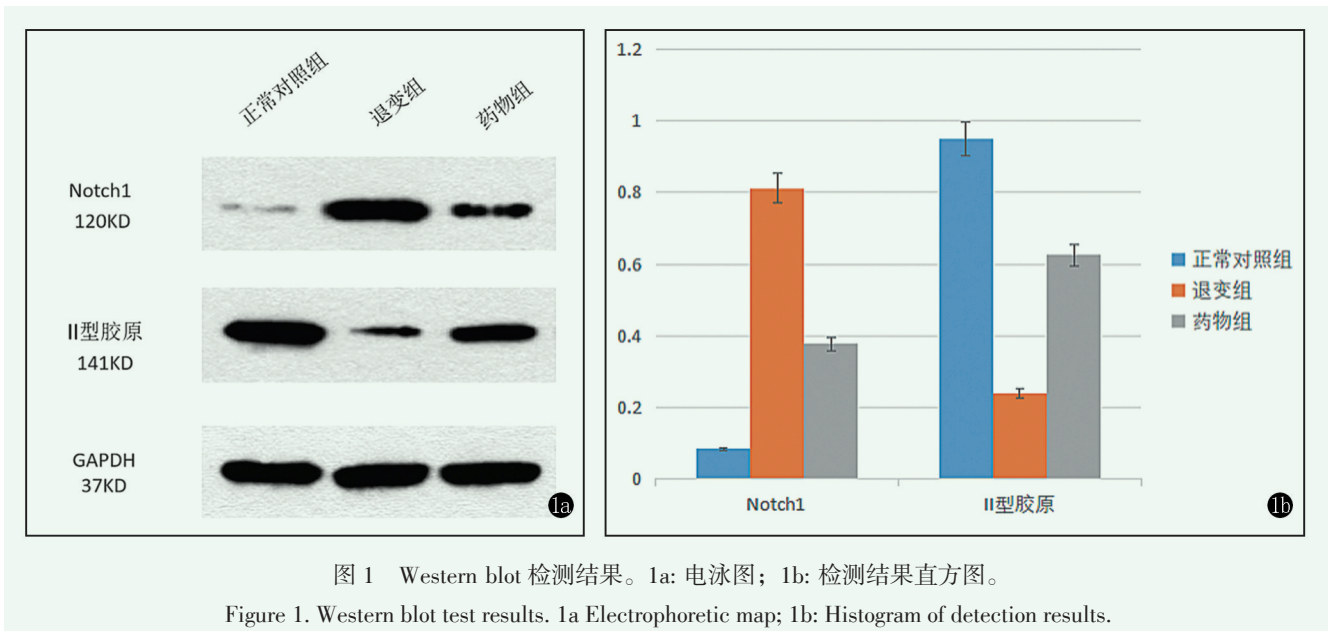
IDD 常表现为腰部疼痛及功能障碍, 在中医学理论中, 多归属于“痹证”、“腰痛”等范畴, 对于其病因的认识, 多归于“风、寒、湿三气杂至”, 而

风、寒、湿三邪气皆至常为素体亏虚之故。脊柱为督脉所在, 主一身之阳气, 明代著名的医家张景岳认为: “阳动而散, 故化气, 阴静而凝, 故成形”。阳气主动, 是维持人体各项机能的主要动力, 阳气可散, 能够率领血液和水谷精微布散周身。因此, 当阳气不足、阴邪偏盛时, 精气不能弥散全身, 水湿痰瘀而停留积聚于机体某处, 在 IDD 可表现为在脊柱积聚, 甚至因“阴成形”导致突出物形成、黄韧带肥厚、关节突增生等^[12]。因此, IDD 的产生、预后、转归皆以阴阳失衡为本、血气瘀滞为标, 尤其在患病早期肾阳不足, 阳化气功能的衰退所占比例较大, 右归丸作为温阳法代表性经方, 以温肾阳为本增“阳化气”之力, 以活血化瘀行气为用散有形结之邪。

Notch 通路与 IDD 密切相关, 其相关关键蛋白及基因参与了椎间盘的修复与保护^[13, 14]。Notch 信号通

路是高度保守的信号转导途径，多在相邻细胞间相互作用时起效，主要在骨骼的发育过程中发挥作用，参与终板软骨细胞的增殖与分化，与椎间盘细胞的修复相关^[15-17]。Notch 受体和靶基因可以在人类退化的椎间盘中表达，Notch 信号蛋白的含量也会相应增加^[18]。且 Notch 受体的表达水平与年龄相关，在中老年段退化椎间盘的髓核组织更高，低年段非退行性的椎间盘样本中较少。此外，椎间盘内含氧量较低，没有血液供应，营养主要来源于终板内毛细血管网。在椎间盘早期的退变过程中，软骨终板的血液供应开始

减少，但新生血管网的增加有助于提供充足的营养，促进损伤修复。Notch 通路可以与血管内皮生长因子共同调节血管的新生过程，参与椎间盘退变^[19]。Western blot 结果显示，Notch1 蛋白在退变组和药物组中的水平显著增加，又以退变组的增加更为明显，这可能代表着试图修复退化椎间盘的常驻细胞的补偿反应发生，因此，后期仍需关注和完善不同天数 Notch1 蛋白含量的对比，以期进一步阐述 Notch1 蛋白与椎间盘退变的动态关系。



细胞外基质是椎间盘的主要成分，包括胶原蛋白、蛋白聚糖、纤维蛋白、弹性蛋白、透明质酸、硫酸软骨素等。正常细胞外基质的合成与降解是动态平衡的，在椎间盘受损后^[20]，会表现出一系列疾病特征，其中之一是髓核细胞在分子水平引发一系列级联事件^[21]，进而出现促炎细胞因子的表达上调^[22]，降解酶不断增加，细胞外基质成分在类型、结构、数量和比例等方面发生异常等连锁反应^[23, 24]。该过程在病理生理学中被认为由许多细胞因子介导的^[25]。结合 Western blot 实验结果，可以认为，II 型胶原蛋白表达减少是椎间盘损伤退变的特征之一，右归丸能够增加退变椎间盘内 II 型胶原蛋白表达，从而发挥对退变间盘的保护作用。

炎性细胞因子的作用会引发 Notch 通路的表达增加，从而促进髓核内源细胞的恢复，对已经凋亡的髓核细胞起到补偿作用。然而，当炎症因子的含量不断上升时，会导致级联反应发生，使得症状加剧，致使神经元损伤甚至死亡^[26]。

IL-10 在固有免疫和适应性免疫中均可发挥免疫

调节作用。在固有免疫中，它通过诱导免疫抑制反应，维持免疫稳态，抑制促炎反应。在适应性免疫中，可通过抑制 CD4⁺T 细胞亚群的促炎效应，促进 TR1 细胞的稳定性等多种方式发挥抗炎作用。IL-10 通过抑制促炎因子和趋化因子的产生，调节巨噬细胞活性，可表现出对椎间盘及神经保护的直接作用^[27]，与椎间盘退变的疾病发病进展密切相关。本实验结果显示，退变组的血清 IL-10 浓度高于正常对照组，而右归丸能够明显放大这一过程，进一步抑制促炎效应，延缓 IDD 的进展。

MIF 是一种多功能促炎因子，可拮抗糖皮质激素的免疫抑制作用，能够调节细胞周期，与线粒体自噬、细胞衰老等方面联系密切^[28, 29]。无论是人体组织还是动物模型，MIF 的表达水平在退化椎间盘都高于正常组织，MIF 的高表达导致椎间盘基质和微环境的改变，加剧炎症反应，不利于髓核组织的修复和再生。本课题通过动物实验证明退变组大鼠血清 MIF 的浓度高于正常对照组，药物组大鼠血清 MIF 的浓度虽仍高于正常对照组，但明显低于退变组。因

此, 右归丸可通过抑制 MIF 减轻炎性细胞因子对椎间盘的破坏作用。

TNF- α 主要由单核巨噬细胞合成, 当 TNF- α 含量异常增多时, 可抑制髓核间充质干细胞活性^[30]、加快 ECM 降解、促进炎症反应^[31]。根据本团队前期临床观察, 右归丸可有效缓解腰椎间盘突出症、椎间盘退行性变所引发的疼痛及相关临床症状, 而 TNF- α 早已被证明与 IDD 疼痛直接相关, ELISA 检测结果显示, 退变组大鼠血清 TNF- α 明显高于正常对照组, 药物组大鼠血清 TNF- α 含量则较退变组减少, 证明右归丸可通过对间盘炎症反应状态的调节, 修复退变的椎间盘组织, 减轻 IDD 的疼痛症状。

本实验 ELISA 结果显示, 右归丸能够降低 IDD 大鼠血清中 MIF、TNF- α 的含量, 增加 IL-10 含量, 表明右归丸可显著减少炎症细胞的浸润; Western blot 结果显示, 右归丸能上调椎间盘中 II 型胶原蛋白表达, 降低 Notch1 蛋白表达。表明右归丸可缓解细胞外基质降解, 有助于维持髓核的正常代谢, 参与调控 Notch 通路。综上所述, 右归丸能够减轻 IDD 大鼠炎症反应, 维持细胞外基质代谢平衡, 延缓 IDD, 其机制可能与 Notch 通路有关。

参考文献

- [1] Lorio MP, Beall DP, Calodney AK, et al. Defining the patient with lumbar discogenic pain: Real-world implications for diagnosis and effective clinical management [J]. *J Pers Med*, 2023, 13 (5) : 821. DOI: 10.3390/JPM13050821.
- [2] Takahiro M, Fujita N, Hiroyuki T, et al. Associations between paraspinal muscle morphology, disc degeneration, and clinical features in patients with lumbar spinal stenosis [J]. *Prog Rehabil Med*, 2020, 5 : 20200015. DOI: 10.2490/prm. 20200015.
- [3] Bogdan C, Adelina GN, Ioana RT, et al. Recent advances in managing spinal intervertebral discs degeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (12) : 6460. DOI: 10.3390/IJMS23126460.
- [4] Xin JG, Wang YJ, Zheng Z, et al. Treatment of intervertebral disc degeneration [J]. *Orthop Surg*, 2022, 14 (7) : 1271-1280. DOI: 10.1111/OS.13254.
- [5] Alexander UB, Jeremy P, Sperry BP, et al. National trends in the utilization of lumbar disc replacement for lumbar degenerative disc disease over a 10-year period, 2010 to 2019 [J]. *J Spine Surg (Hong Kong)*, 2022, 8 (3) : 343-352. DOI: 10.21037/JSS-22-4.
- [6] 李东儒, 杨涛, 高旭, 等. 腰椎融合后邻近节段退变的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2023, 31 (13) : 1198-1202. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.13.09.
Li DR, Yang T, Gao X, et al. Research progress in adjacent segment degeneration secondary to lumbar fusion [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2023, 31 (13) : 1198-1202. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.13.09.
- [7] Dou XY, Luo QP, Xie LZ, et al. Medical prospect of melatonin in the intervertebral disc degeneration through inhibiting M1-type macrophage polarization via SIRT1/Notch signaling pathway [J]. *Biomedicines*, 2023, 11 (6) : 1615. DOI: 10.3390/BIOMEDICINES11061615.
- [8] Zheng Y, Liu C, Ni L, et al. Cell type-specific effects of Notch signaling activation on intervertebral discs: Implications for intervertebral disc degeneration [J]. *Cell Physiol*, 2018, 233 (7) : 5431-5440. DOI: 10.1002/jcp.26385.
- [9] Romaniyanto F, Mahyudin F, Utomo DN, et al. Effectivity of puncture method for intervertebral disc degeneration animal models: review article [J]. *Ann Med Surg (Lond)*, 2023, 85 (7) : 3501-3505. DOI: 10.1097/MS9.0000000000000829.
- [10] 冯秀芝, 吴继雷, 药晓雨, 等. 左、右归丸对去卵巢大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2022, 28 (2) : 269-275. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108. 2022.02.020.
Feng XZ, Wu XL, Yao XY, et al. Explore the effects of Zuogui pills and Yougui pills on osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in ovariectomized rats [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2022, 28 (2) : 269-275. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2022.02.020.
- [11] 包程公, 杨永菊, 马贤德, 等. 基于 JAK/STAT3 信号通路探讨右归丸对骨关节炎模型大鼠软骨细胞凋亡的影响 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28 (9) : 1428-1432. DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2022.09.032.
Bao CG, Yang YJ, Ma XD, et al. Effect of yougui pill on chondrocyte apoptosis in osteoarthritis model rats based on JAK/STAT3 signal pathway [J]. *Journal of Basic Chinese Medicine*, 2022, 28 (9) : 1428-1432. DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2022.09.032.
- [12] 李建国, 高春雨, 王宝剑, 等. 基于“阳化气, 阴成形”理论探讨退行性腰椎管狭窄症的中医论治 [J]. *中医药导报*, 2021, 27 (10) : 174-177. DOI: 10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2021.10.035.
Li JG, Gao CY, Wang BJ, et al. Discussion on TCM treatment of degenerative lumbar spinal stenosis based on the theory of "yang turning into qi, yin turning into formation" [J]. *Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2021, 27 (10) : 174-177. DOI: 10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2021.10.035.
- [13] Zheng YX, Liu CC, Ni L, et al. Cell type-specific effects of Notch signaling activation on intervertebral discs: Implications for intervertebral disc degeneration [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233 (7) : 5431-5440. DOI: 10.1002/jcp.26385.
- [14] 钟远鸣, 梁梓扬, 何嘉, 等. Notch 信号通路与退变的髓核细胞: 在修复重建中的作用与角色 [J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22 (20) : 3256-3262. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.0742.
Zhong YM, Liang ZY, He J, et al. Notch signaling pathway and the nucleus pulposus cells in degenerative intervertebral disc: roles in the repair and reconstruction [J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2018, 22 (20) : 3256-3262. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.0742.

- [15] Zhang Y, Wang TT, Wu SL, et al. Notch signaling pathway: a new target for neuropathic pain therapy [J]. *J Headache Pain*, 2023, 24 (1): 87. DOI: 10.1186/S10194-023-01616-Y.
- [16] Fang M, Wang XW. Mechanism of the Notch1 signaling pathway regulating osteogenic factor influences lumbar disc calcification [J]. *Zhongguo Gu Shang*, 2023, 36 (5): 473-479. DOI: 10.12200/J.ISSN.1003-0034.2023.05.015.
- [17] Nalani S, Vartika S, Mousumi M, et al. Notch signaling: Multifaceted role in development and disease [J]. *FEBS J*, 2023, 2323: 16815. DOI: 10.1111/FEBS.16815.
- [18] Wang H, Tian Y, Wang JR, et al. Inflammatory cytokines induce notch signaling in nucleus pulposus cells: implications in intervertebral disc degeneration [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288 (23): 16761-16774. DOI: 10.1074/jbc.M112.446633.
- [19] 乔文涛, 齐东鹏, 张世博, 等. 脊髓损伤后血管再生的研究进展 [J]. *实用骨科杂志*, 2023, 29 (7): 614-618. DOI: 10.13795/j.cnki.sgkz.2023.07.014.
- Qiao WT, Qi DP, Zhang SB, et al. Research progress on vascular regeneration after spinal cord injury [J]. *Journal of Practical Orthopedics*, 2023, 29 (7): 614-618. DOI: 10.13795/j.cnki.sgkz.2023.07.014.
- [20] Castro AL, Ribeiro MC, Oliveira CM, et al. Fibrotic alterations in human annulus fibrosus correlate with progression of intervertebral disc herniation [J]. *Arthritis Res Ther*, 2022, 24 (1): 25. DOI: 10.1186/S13075-021-02690-W.
- [21] Sertac K, Charisse C, Marianne L, et al. Pathomechanism and biomechanics of degenerative disc disease: Features of healthy and degenerated discs [J]. *Int J Spine Surg*, 2021, 15 (s1): 10-25. DOI: 10.14444/8052.
- [22] Hiyama A, Suyama K, Sakai D, et al. Correlational analysis of chemokine and inflammatory cytokine expression in the intervertebral disc and blood in patients with lumbar disc disease [J]. *J Orthop Res*, 2021, 40 (5): 1213-1222. DOI: 10.1002/JOR.25136.
- [23] Oichi T, Taniguchi Y, Oshima Y, et al. Pathomechanism of intervertebral disc degeneration [J]. *JOR Spine*, 2020, 3 (1): e1076. DOI: 10.1002/jsp2.1076.
- [24] Francisco V, Pino J, GonzálezGay MA, et al. A new immunometabolic perspective of intervertebral disc degeneration [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2022, 18 (1): 47-60. DOI: 10.1038/S41584-021-00713-Z.
- [25] Shnayder NA, Ashhotov AV, Trefilova VV, et al. Cytokine imbalance as a biomarker of intervertebral disk degeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (3): 2360. DOI: 10.3390/IJMS24032360.
- [26] 王灿, 张思森, 苗明三, 等. 基于 Notch1/NF- κ B 信号轴探讨败酱草总黄酮对大鼠脑缺血耐受模型炎症级联反应的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2023, 39 (8): 67-71. DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.20230330.002.
- Wang C, Zhang SM, Miao MS, et al. Inflammatory effect of total flavonoids from *patrinia scabiosifolia* on rats with brain ischemic tolerance based on Notch1/NF- κ B signaling axis [J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*, 2023, 39 (8): 67-71. DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.20230330.002.
- [27] 薛忠书, 张小伟, 陈宁杰. 白细胞介素在椎间盘退变中的作用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2023, 31 (4): 341-345. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.04.11.
- Xue ZS, Zhang XW, Chen NJ. Role of interleukin in intervertebral disc degeneration [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2023, 31 (4): 341-345. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.04.11.
- [28] Calandra T, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a glucocorticoid counter-regulator within the immune system [J]. *Crit Rev Immunol*, 2017, 37 (2-6): 359-370. DOI: 10.1615/CritRevImmunol.v37.i2-6.90.
- [29] Wang YY, Hu YZ, Wang HM, et al. Deficiency of MIF accentuates overloaded compression-induced nucleus pulposus cell oxidative damage via depressing mitophagy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6192498. DOI: 10.1155/2021/6192498.
- [30] 伍耀宏, 莫平凡. 肿瘤坏死因子- α 对人髓核间充质干细胞衰老的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2022, 30 (16): 1487-1491. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.16.10.
- Wu YH, Mo PF. Effects of TNF- α on the senescence of human nucleus pulposus mesenchymal stem cells [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2022, 30 (16): 1487-1491. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.16.10.
- [31] Pan HY, Li HT, Guo S, et al. The mechanisms and functions of TNF- α in intervertebral disc degeneration [J]. *Exp Gerontol*, 2023, 174: 112119. DOI: 10.1016/J.EXGER.2023.112119.

(收稿:2023-08-07 修回:2023-12-25)

(同行评议专家: 孙兆忠, 冯敏山, 尹逊路)

(本文编辑: 宁桦)