

# 补肾壮筋汤对腰椎间盘突出退变模型大鼠细胞外基质及氧化应激的影响

章宏杰, 王楚茜, 余紫薇, 廖英姿, 林锦泽, 张加芳\*  
(福建中医药大学附属第二人民医院, 福建 福州 350003)

**摘要:** 目的 观察补肾壮筋汤对腰椎间盘突出退变模型大鼠细胞外基质及氧化应激的影响。方法 取 2 月龄雄性 SD 大鼠 60 只, 随机分为对照组、模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组, 每组 12 只。除对照组外, 其余各组采用穿刺法建立大鼠椎间盘退变模型。低、中、高剂量组分别予 1.6、3.2、6.4 mL/(kg·d) 浓度为 0.5 g/mL 的补肾壮筋汤水溶液灌胃, 对照组和模型组予 10 mL/(kg·d) 的生理盐水灌胃, 1 次/d, 连续灌胃 8 周。采用 MRI 与番红 O-固绿染色评估椎间盘退变程度; 免疫组化染色法观察椎间盘 I 型胶原蛋白  $\alpha 1$  链 (COL1A1)、基质金属蛋白酶-13 (MMP-13)、II 型胶原蛋白  $\alpha 1$  链 (COL2A1) 和含 I 型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶 5 (ADAMTS5) 表达水平; 采用 qPCR 检测髓核组织 MutT 同源蛋白 1 (MTH1)、乳酸脱氢酶 A (LDHA) 和超氧化物歧化酶 2 (SOD2) 基因 mRNA 表达水平; 采用 Western blot 检测髓核组织聚集蛋白聚糖 (Aggrecan)、COL2A1、MMP-13、ADAMTS5、MTH1、LDHA 和 SOD2 蛋白表达水平。结果 模型组大鼠椎间盘结构紊乱, 髓核呈低信号, 椎间盘高度降低, 椎间盘明显退变。与模型组比较, 不同剂量补肾壮筋汤组大鼠椎间盘结构相对均匀, 髓核信号升高, 与纤维环界限清晰, 椎间盘高度均有所恢复, 椎间盘退变均有所减轻。与对照组比较, 模型组椎间盘组织 COL1A1、MMP-13、ADAMTS5 免疫组化阳性表达水平及髓核组织 MMP-13、ADAMTS5 蛋白表达水平均较高 ( $P < 0.05$ ); 椎间盘组织 COL2A1 免疫组化阳性表达水平, 髓核组织 MTH1、LDHA mRNA 和蛋白表达水平及 Aggrecan、COL2A1 蛋白表达水平均较低 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 低、中、高剂量组椎间盘组织 COL1A1、MMP-13、ADAMTS5 免疫组化阳性表达水平均较低 ( $P < 0.05$ ), COL2A1 免疫组化阳性表达水平均较高 ( $P < 0.05$ ); 中、高剂量组髓核组织 MTH1、LDHA、SOD2 mRNA 和 LDHA、SOD2、COL2A1 蛋白表达水平均较高 ( $P < 0.05$ ), 髓核组织 MMP-13 和 ADAMTS5 蛋白表达水平均较低 ( $P < 0.05$ ); 高剂量组髓核组织 MTH1 和 Aggrecan 蛋白表达水平均较高 ( $P < 0.05$ )。结论 补肾壮筋汤可抑制模型大鼠氧化应激水平, 调节 ECM 代谢, 延缓椎间盘退变。

**关键词:** 椎间盘退变; 补肾壮筋汤; 氧化应激; 细胞外基质

椎间盘退变是导致腰痛的主要原因, 常继发腰椎间盘突出、椎管狭窄、腰椎滑脱等疾病, 严重影响患者的工作和生活, 造成巨大的社会经济负担<sup>[1-2]</sup>。椎间盘退变涉及细胞凋亡、炎症反应、细胞外基质 (ECM) 降解、氧化应激及自噬失调等机制<sup>[3-5]</sup>。ECM 代谢失衡是引发椎间盘退变的关键, 通过促进 ECM 重塑, 可延缓退变进程<sup>[6]</sup>。氧化应激通过增加活性氧 (ROS) 激活 NF- $\kappa$ B、MAPK 等促炎信号通路, 损伤细胞, 诱导基质降解酶的过度表达, 加速椎间盘退变<sup>[7]</sup>。

补肾壮筋汤出自清代钱秀昌所著的《伤科补要》, 具有补益肝肾、强壮筋骨的功效, 在延缓椎间盘退变方面具有一定作用<sup>[8-9]</sup>, 但其具体机制尚未明确。本研究通过观察补肾壮筋汤对椎间盘退变模型大鼠髓核组织细胞外基质及氧化应激的影响, 探讨其延缓椎间盘退变的机制。

## 1 实验材料

**1.1 实验动物** 2 月龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 (210 $\pm$ 20)g, 购自上海吉辉实验动物有限责任公司, 实验动物生产许可证号: SCXK (沪) 2022-0009; 饲养于福建中医药大学动物实验中心, 实验

动物使用许可证号: SYXK (闽) 2023-0004。本研究已通过福建中医药大学动物实验伦理委员会批准 (审批号: FJTCM IACUC2024044)。

**1.2 实验药物** 补肾壮筋汤组成: 熟地黄 12 g, 当归 12 g, 茯苓 12 g, 续断 12 g, 山茱萸 12 g, 白芍 10 g, 杜仲 10 g, 五加皮 10 g, 川牛膝 10 g, 青皮 5 g; 由福建中医药大学附属第二人民医院中药颗粒室制成配方颗粒, 用超纯水溶解成浓度为 0.5 g/mL 的补肾壮筋汤水溶液<sup>[8]</sup>。

**1.3 实验主要试剂** 苏木素-伊红 (HE) 染色试剂盒 (货号: G1120)、总 RNA 提取试剂盒 (货号: R1200)、全蛋白提取试剂盒 (货号: BC3710) 均购自北京索莱宝科技有限公司; Hieff UNICON<sup>®</sup> Advanced qPCR SYBR Master Mix (上海翌圣生物科技股份有限公司, 货号: 11185ES08); MutT 同源蛋白 1 (MTH1) 抗体 (货号: 16705-1-AP)、基质金属蛋白酶-13 (MMP-13) 抗体 (货号: 18165-1-AP)、聚集蛋白聚糖 (Aggrecan) 抗体 (货号: 13880-1-AP)、超氧化物歧化酶 2 (SOD2) 抗体 (货号: 24127-1-AP)、乳酸脱氢酶 A (LDHA) 抗体 (货号: 19987-1-AP) 均购自武汉三鹰生物技术有限公司; I 型胶原蛋白  $\alpha 1$  链 (COL1A1) 抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司货号: #72026); II 型胶原蛋白  $\alpha 1$  链 (COL2A1) 抗体 (货号: ab34712)、含 I 型血小板结合蛋白基序的解聚

收稿日期: 2025-04-18; 接受日期: 2025-07-15

基金项目: 福建省卫生健康省级补助专项 (C2024002)

通信作者: 张加芳, E-mail: jeffonzh@163.com

DOI: 10.13260/j.cnki.fjtc.2025.12004

蛋白样金属蛋白酶 5 (ADAMTS5) 抗体 (货号: ab41037) 均购自美国 Abcam 公司; QuickBlock™ 封闭液 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号: P0228)。

**1.4 实验主要仪器** 小动物核磁共振成像仪器 (美国 Bruker 公司, 型号: BioSpec 7.0T); 生物组织自动包埋机 (湖北泰维医疗科技有限责任公司, 型号: TB-718E); 切片机 (型号: Leica RM2135)、显微图像采集系统 (型号: Leica DM4000B) 均购自德国 Leica 公司; 酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司, 型号: ELx800); 全自动化学发光图像分析系统 (上海天能科技有限公司, 型号: Tanon 5200); 快速湿转仪 (南京金斯瑞生物科技有限公司, 型号: eBlot™ L1)。

## 2 实验方法

**2.1 分组与造模** 60 只 2 月龄雄性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、低剂量组、中剂量组、高剂量组, 每组 12 只。大鼠采用 2% 异氟烷吸入麻醉后, 取仰卧位, 以 L<sub>4</sub>/L<sub>5</sub> 椎间隙为中心, 取腹部正中切口, 仔细显露 L<sub>4</sub>/L<sub>5</sub> 椎间盘。用 21 G 注射器针头刺入椎间盘约 3 mm, 停留 30 s 后拔出, 然后缝合切口, 麻醉苏醒后分笼饲养。对照组仅暴露椎间盘, 不进行纤维环穿刺操作<sup>[10]</sup>。

**2.2 药物干预** 根据人体与动物药物等效剂量换算方法<sup>[11]</sup> 计算给药剂量, 造模后第 2 天开始低、中、高剂量组分别予 1.6、3.2 和 6.4 mL/(kg·d) 浓度为 0.5 g/mL 的补肾壮筋汤水溶液灌胃, 对照组和模型组予 10 mL/(kg·d) 的生理盐水灌胃, 1 次/d, 连续灌胃 8 周。

**2.3 组织取材** 末次给药后 24 h, 进行小动物 MRI 扫描。采用腹腔注射过量麻醉处死大鼠, 每组随机选取 6 只大鼠, 截取 L<sub>4</sub>/L<sub>5</sub> 椎间盘组织, 放入 4% 多聚甲醛中固定; 另取 6 只大鼠的 L<sub>4</sub>/L<sub>5</sub> 椎间盘, 分离髓核组织, 液氮速冻后置于 -80 °C 冰箱保存。

## 2.4 观察指标

**2.4.1 椎间盘退变情况** 取材前行小动物 MRI 扫描, 观察椎间盘退变情况。采用 2% 异氟烷吸入麻醉后, 大鼠取仰卧位, 将其固定于专用动物床, 小动

物专用线圈置于其腰背部。采用快速自旋回波序列进行矢状面 T2 加权成像扫描, 核心参数如下: 重复时间 3 500 ms, 回波时间 48 ms, 回波链长度 12, 视野 40 mm×40 mm, 矩阵 256×256, 层厚 0.8 mm, 平均次数 6。通过获得的 T2 加权图像, 观察椎间盘的高度和髓核区域的 T2 信号强度变化。

**2.4.2 椎间盘病理改变** 采用改良番红 O-固绿染色法观察大鼠椎间盘病理改变情况。椎间盘组织固定 48 h 后, 进行常规脱钙、脱水、透明、浸蜡和包埋处理后, 制备成 4 μm 厚度的切片。切片经脱蜡、水化后染色: 固绿染色液染色 5 min, 乙酸分化 30 s, 番红 O 染液染色 30 s。最后通过梯度乙醇脱水、二甲苯透明处理, 中性树脂封片。倒置光学显微镜下观察拍照。

**2.4.3 椎间盘组织细胞外基质相关蛋白表达水平** 采用免疫组化染色观察椎间盘 COL1A1、MMP-13、COL2A1、ADAMTS5 等细胞外基质相关蛋白表达水平。椎间盘组织切片脱蜡复水, 抗原修复液修复 15~20 min, 去除内源性过氧化物酶, BSA 封闭非特异性抗原后, 滴加 COL1A1、MMP-13、COL2A1、ADAMTS5 一抗 (稀释比例均为 1:200), 室温孵育, 洗涤后滴加相应二抗, 室温孵育, DAB 显色液孵育, 苏木素复染后进行透明封片。倒置光学显微镜下观察拍照, 采用 ImageJ 软件分析阳性表达区域平均光密度值。

**2.4.4 髓核组织氧化应激相关基因 mRNA 表达水平** 采用 qPCR 检测椎间盘组织 MTH1、LDHA、SOD2 等氧化应激相关基因的 mRNA 表达水平。根据 RNA 提取试剂盒步骤提取椎间盘组织总 RNA, 上机检测 RNA 纯度与浓度, 进行逆转录反应。根据试剂盒说明书配制 20 μL 反应体系进行 qPCR 反应。扩增程序: 95 °C 预变性 2 min; 95 °C 变性 10 s、60 °C 退火/延伸 30 s, 循环 40 次。以 GAPDH 作为内参基因, 采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算各目标基因相对表达量。本研究所用引物序列均由福州尚亚生物技术有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

名称	引物序列	产物长度/bp
MTH1	R: 5'-CTGTTTGCAAGGTGTCCCGA-3' F: 5'-AAGCCTTACGGTCCATCCTC-3'	182
LDHA	R: 5'-GAGCTGTGGTTGGTCCAGTT-3' F: 5'-GCAGTTGGCAGTGTGTCTTG-3'	141
SOD2	R: 5'-GCTGGCCAAGGGAGATGTTA-3' F: 5'-TGTGATTGATATGGCCCCCG-3'	80
GAPDH	R: 5'-ACGGGAAACCCATCACCATC-3' F: 5'-ACGACATACTCAGCACCAGC-3'	79

**2.4.5 髓核组织细胞外基质及氧化应激相关蛋白表达水平** 采用 Western blot 检测髓核组织 Aggre-

can、COL2A1、MMP-13、ADAMTS5、MTH1、LDHA、SOD2 蛋白表达水平。提取髓核组织总蛋白, 采用

BCA 定量试剂盒测定蛋白浓度, 配制不同浓度的分离胶, 上样后电泳, 4 °C 转膜, 使用 QuickBlock™ 封闭液室温封闭 20 min 加入 GAPDH(1:5 000)、Aggrecan(1:1 000)、COL2A1(1:1 000)、MMP-13(1:2 000)、ADAMTST5(1:2 000)、MTH1(1:1 000)、LDHA(1:2 000)、SOD2(1:5 000) 抗体 4 °C 过夜孵育, 次日加入对应的二抗室温摇床孵育 1 h, 采用 ECL 显影液显影, Image Lab 图像处理软件分析蛋白条带灰度值, 以 GAPDH 为内参, 计算目的蛋白相对表达量。

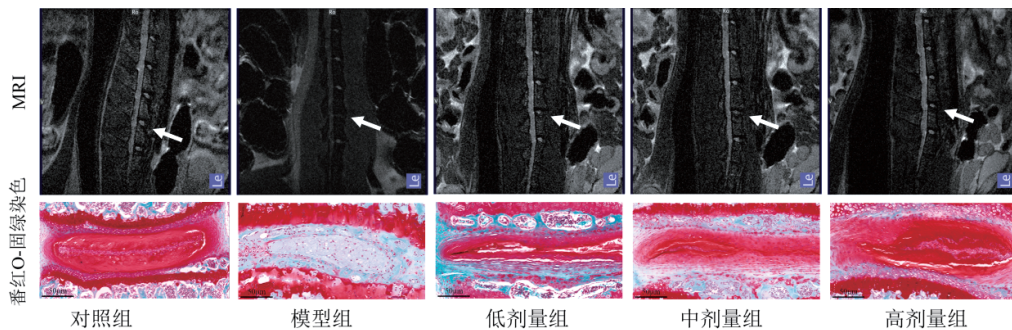
**2.5 统计学方法** 采用 SPSS 26.0 软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用单因素方差分析进行组间比较, 方差齐采用 LSD-*t* 法进行两两比较, 方差不齐采用 Games-Howell 法进行两两比较。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 5 组椎间盘退变情况及组织病理改变 MRI**

扫描结果显示: 模型组大鼠椎间盘结构紊乱, 髓核呈低信号, 椎间盘高度降低。与模型组比较, 不同剂量补肾壮筋汤组大鼠椎间盘结构相对均匀, 髓核信号升高, 与纤维环界限清晰, 椎间盘高度均有所恢复。番红 O-固绿染色结果显示: 模型组大鼠蛋白多糖含量减少, 纤维环排列混乱, 髓核与纤维环界限模糊, 椎间盘明显退变。低剂量组髓核组织蛋白多糖含量较低, 纤维环结构仍紊乱, 髓核与纤维环界限清晰。中剂量组髓核组织蛋白多糖含量增多, 纤维环中胶原排列趋于整齐。高剂量组髓核组织保留相对完整, 蛋白多糖含量高, 纤维环结构基本连续, 髓核与纤维环界限清晰, 椎间盘退变减轻。见图 1。

**3.2 5 组椎间盘组织细胞外基质相关蛋白表达水平比较** 见图 2 和表 2。



注: 白色箭头指示所观察的椎间盘节段。

图 1 大鼠尾椎间盘组织 MRI 及番红固绿染色图

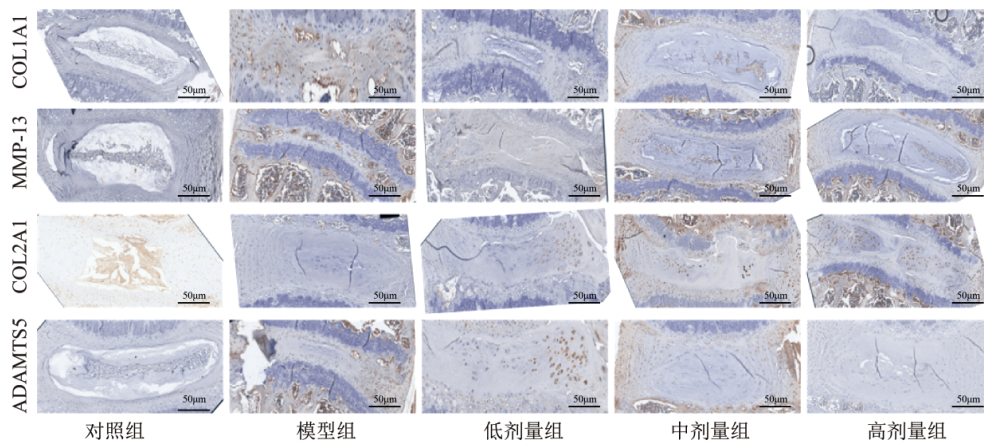


图 2 5 组椎间盘组织 COL1A1、MMP-13、COL2A1 和 ADAMTST5 免疫组化染色图

表 2 5 组椎间盘组织 COL1A1、MMP-13、COL2A1 和 ADAMTST5 阳性表达平均光密度比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	COL1A1	MMP-13	COL2A1	ADAMTST5
对照组	6	1.54 ± 0.37	1.35 ± 0.31	9.09 ± 0.46	1.37 ± 0.50
模型组	6	9.27 ± 0.74 <sup>1)</sup>	9.06 ± 0.77 <sup>1)</sup>	1.41 ± 0.14 <sup>1)</sup>	9.68 ± 0.23 <sup>1)</sup>
低剂量组	6	6.68 ± 0.61 <sup>2)</sup>	6.69 ± 0.17 <sup>2)</sup>	2.40 ± 0.24 <sup>2)</sup>	6.77 ± 0.88 <sup>2)</sup>
中剂量组	6	5.30 ± 0.53 <sup>2)3)</sup>	4.79 ± 0.53 <sup>2)3)</sup>	4.87 ± 0.66 <sup>2)</sup>	4.78 ± 0.63 <sup>2)3)</sup>
高剂量组	6	2.52 ± 0.19 <sup>2)3)4)</sup>	2.60 ± 0.35 <sup>2)3)4)</sup>	6.97 ± 0.85 <sup>2)3)</sup>	2.60 ± 0.10 <sup>2)3)4)</sup>

注: 与对照组比较, 1)  $P < 0.05$ ; 与模型组比较, 2)  $P < 0.05$ ; 与低剂量组比较, 3)  $P < 0.05$ ; 与中剂量组比较, 4)  $P < 0.05$ 。

3.3 5组髓核组织 MTH1、LDHA 和 SOD2 mRNA 表达水平比较 见表3。

表3 5组髓核组织 MTH1、LDHA 和 SOD2 mRNA 表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	MTH1	LDHA	SOD2
对照组	6	1.04±0.33	1.01±0.15	1.02±0.20
模型组	6	0.16±0.03 <sup>1)</sup>	0.28±0.09 <sup>1)</sup>	1.79±0.60
低剂量组	6	0.30±0.10	0.34±0.14	2.04±0.37
中剂量组	6	0.55±0.14 <sup>2)</sup>	0.61±0.11 <sup>2)</sup>	3.78±0.82 <sup>2)3)</sup>
高剂量组	6	0.89±0.24 <sup>2)3)4)</sup>	1.30±0.39 <sup>2)3)4)</sup>	6.84±1.95 <sup>2)3)4)</sup>

注:与对照组比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组比较,2)  $P<0.05$ ;与低剂量组比较,3)  $P<0.05$ ;与中剂量组比较,4)  $P<0.05$ 。

3.4 5组髓核组织 MTH1、LDHA 和 SOD2 蛋白表达水平比较 见图3和表4。

3.5 5组髓核组织 Aggrecan、COL2A1、MMP-13 和 ADAMTS5 蛋白表达水平比较 见图4和表5。

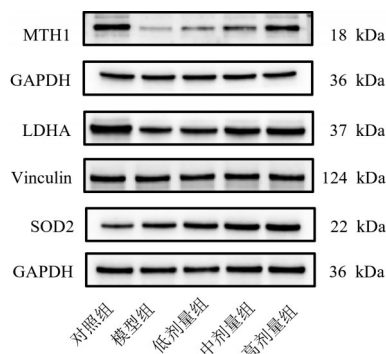


图3 5组髓核组织 MTH1、LDHA 和 SOD2 蛋白条带图

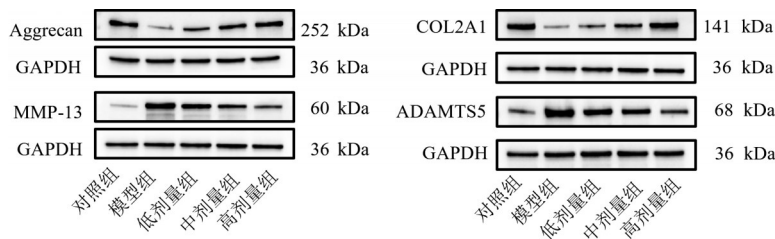


图4 5组髓核组织 Aggrecan、COL2A1、MMP-13 和 ADAMTS5 蛋白条带图

表5 5组髓核组织 Aggrecan、COL2A1、MMP-13 和 ADAMTS5 蛋白表达水平 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	Aggrecan	COL2A1	MMP-13	ADAMTS5
对照组	6	1.00±0.45	1.00±0.12	1.00±0.64	1.00±0.39
模型组	6	0.15±0.03 <sup>1)</sup>	0.14±0.04 <sup>1)</sup>	2.41±0.45 <sup>1)</sup>	2.43±0.42 <sup>1)</sup>
低剂量组	6	0.31±0.09	0.25±0.06	1.91±0.55	2.01±0.49
中剂量组	6	0.42±0.15	0.51±0.15 <sup>2)3)</sup>	1.50±0.38 <sup>2)</sup>	1.60±0.51 <sup>2)</sup>
高剂量组	6	0.69±0.35 <sup>2)</sup>	0.76±0.21 <sup>2)3)4)</sup>	1.39±0.30 <sup>2)</sup>	1.42±0.14 <sup>2)</sup>

注:与对照组比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组比较,2)  $P<0.05$ ;与低剂量组比较,3)  $P<0.05$ ;与中剂量组比较,4)  $P<0.05$ 。

研究显示,过量的 ROS 不仅直接损伤 ECM 大分子,还可通过氧化修饰改变其结构和功能,破坏椎间盘的稳定性<sup>[17]</sup>。ROS 的积累还与椎间盘细胞的衰老和凋亡密切相关。MTH1 是 DNA 修复相关

表4 5组髓核组织 MTH1、LDHA 和 SOD2 蛋白表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	MTH1	LDHA	SOD2
对照组	6	1.00±0.38	1.00±0.11	1.00±0.51
模型组	6	0.06±0.05 <sup>1)</sup>	0.64±0.12 <sup>1)</sup>	1.59±0.45
低剂量组	6	0.11±0.08	0.96±0.15 <sup>2)</sup>	2.11±0.57
中剂量组	6	0.20±0.08	1.14±0.17 <sup>2)</sup>	2.43±0.22 <sup>2)</sup>
高剂量组	6	0.48±0.22 <sup>2)</sup>	1.23±0.21 <sup>2)</sup>	3.05±0.23 <sup>2)3)</sup>

注:与对照组比较,1)  $P<0.05$ ;与模型组比较,2)  $P<0.05$ ;与低剂量组比较,3)  $P<0.05$ 。

4 讨论

ECM 的破坏是导致椎间盘退变和功能衰退的关键机制之一<sup>[12]</sup>,主要表现为 Aggrecan 和 COL2A1 等结构蛋白减少,MMP-13<sup>[13]</sup>和 ADAMTS-5 等基质降解酶表达升高。其中 ADAMTS-5 负责切割 Aggrecan,是导致蛋白聚糖网络早期丢失和椎间盘水合能力下降的起始关键酶。MMP-13 主要靶向降解 COL2A1,破坏其力学完整性。Aggrecan 有助于维持椎间盘的水合作用与弹性,COL2A1 则在维持椎间盘髓核的机械性能和弹性中发挥重要作用<sup>[14-15]</sup>。此外,椎间盘退变进程中常伴随 COL1A1 的异常升高,这标志着髓核组织从正常的凝胶弹性态向纤维化、僵硬态的病理转变,进一步加剧了功能的衰退<sup>[16]</sup>。本研究结果显示,补肾壮筋汤可上调 Aggrecan 和 COL2A1 表达,下调 COL1A1、MMP-13 和 ADAMTS5 表达,维持 ECM 的稳定,延缓椎间盘退变。

的酶,能够清除氧化的核苷酸,减少氧化应激引起的 DNA 损伤<sup>[18]</sup>。LDHA 将还原型辅酶 I (NADH) 氧化为 NAD<sup>+</sup>,通过调节 NAD<sup>+</sup>/NADH 的比率,影响细胞的抗氧化能力<sup>[19]</sup>。SOD2 是细胞内重要的抗氧

化酶,主要作用是清除超氧化物自由基,减少其对椎间盘细胞的氧化损伤<sup>[20]</sup>。氧化应激的改善亦可间接改善线粒体膜稳定性与ATP合成效率,增强细胞活性与能量代谢,促进ECM合成,抑制椎间盘退变进程<sup>[21]</sup>。本研究结果显示,补肾壮筋汤可上调MTH1、LDHA和SOD2表达,减轻椎间盘的氧化应激损伤。

本研究结果还显示,补肾壮筋汤不同剂量组之间疗效存在差异,高剂量组延缓椎间盘退变和抗氧化应激损伤能力优于低剂量组和中剂量组。不同剂量补肾壮筋汤对各指标调控的差异,可能与药物代谢动力学、细胞摄取及靶点敏感性有关,尚需进一步研究。

综上所述,补肾壮筋汤可抑制模型大鼠氧化应激水平,调节ECM合成与降解,维持ECM的稳定,延缓椎间盘退变。

#### 参考文献

- [1] KNEZEVIC N N, CANDIDO K D, VLAEYEN J W S, et al. Low back pain [J]. *Lancet*, 2021, 398(10294): 78–92.
- [2] FINE N, LIVELY S, SÉGUIN C A, et al. Intervertebral disc degeneration and osteoarthritis: a common molecular disease spectrum [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2023, 19(3): 136–152.
- [3] CHEN X, WANG Z H, DENG R R, et al. Intervertebral disc degeneration and inflammatory microenvironment: expression, pathology, and therapeutic strategies [J]. *Inflamm Res*, 2023, 72(9): 1811–1828.
- [4] SILWAL P, NGUYEN-THAI A M, MOHAMMAD H A, et al. Cellular senescence in intervertebral disc aging and degeneration: molecular mechanisms and potential therapeutic opportunities [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(4): 686.
- [5] WANG Y D, CHENG H G, WANG T, et al. Oxidative stress in intervertebral disc degeneration: molecular mechanisms, pathogenesis and treatment [J]. *Cell Prolif*, 2023, 56(9): e13448.
- [6] ZHANG S, LIU W J, CHEN S F, et al. Extracellular matrix in intervertebral disc: basic and translational implications [J]. *Cell Tissue Res*, 2022, 390(1): 1–22.
- [7] CHEN X L, ZHANG A R, ZHAO K C, et al. The role of oxidative stress in intervertebral disc degeneration: mechanisms and therapeutic implications [J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 98: 102323.
- [8] 赵赫, 高誉珊, 胡振国, 等. 补肾壮筋汤对腰椎间盘退变大鼠椎间盘及行为学特征影响的实验研究[J]. *中医正骨*, 2017, 29(7): 12–20, 26.
- [9] 赵赫. 补肾壮筋汤颗粒对腰椎间盘退变大鼠影响的实验研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018: 41–45.
- [10] 陈莎, 王诗忠, 邓德万. 大鼠腰椎间盘退变模型的建立及其形态学观察[J]. *福建中医药*, 2021, 52(9): 39–40.
- [11] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069–1072.
- [12] DU X F, CUI H T, PAN H H, et al. Role of the miR-133a-5p/FBXO6 axis in the regulation of intervertebral disc degeneration [J]. *J Orthop Translat*, 2021, 29: 123–133.
- [13] ZOU X S, ZHANG X M, HAN S, et al. Pathogenesis and therapeutic implications of matrix metalloproteinases in intervertebral disc degeneration: a comprehensive review [J]. *Biochimie*, 2023, 214(Pt B): 27–48.
- [14] LIU Z M, LU C C, SHEN P C, et al. Suramin attenuates intervertebral disc degeneration by inhibiting NF- $\kappa$ B signalling pathway [J]. *Bone Joint Res*, 2021, 10(8): 498–513.
- [15] HUANG Y Z, GAO J, WANG J L, et al. Inhibition of intervertebral disc disease progression via the circPKNOX1-miR-370-3p-KIAA0355 axis [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 39.
- [16] SUN Y, PENG Y, SU Z Z, et al. Fibrocyte enrichment and myofibroblastic adaptation causes nucleus pulposus fibrosis and associates with disc degeneration severity [J]. *Bone Res*, 2025, 13(1): 10.
- [17] FENG C C, YANG M H, LAN M H, et al. ROS: crucial intermediators in the pathogenesis of intervertebral disc degeneration [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 5601593.
- [18] TAIYAB A, ASHRAF A, SULAIMANI M N, et al. Role of MTH1 in oxidative stress and therapeutic targeting of cancer [J]. *Redox Biol*, 2024, 77: 103394.
- [19] LIN Y J, WANG Y, LI P F. Mutual regulation of lactate dehydrogenase and redox robustness [J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 1038421.
- [20] TAMAGAWA S, SAKAI D, NOJIRI H, et al. SOD2 orchestrates redox homeostasis in intervertebral discs: a novel insight into oxidative stress-mediated degeneration and therapeutic potential [J]. *Redox Biol*, 2024, 71: 103091.
- [21] NASTO L A, ROBINSON A R, NGO K, et al. Mitochondrial-derived reactive oxygen species (ROS) play a causal role in aging-related intervertebral disc degeneration [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(7): 1150–1157.