

· 临床研究 ·

腰椎间盘突出症患者髓核组织中受体相互作用的丝氨酸苏氨酸激酶 1 表达和临床意义

吴茂聪, 王令玲, 邓信昌

(南方医科大学附属茂名市人民医院脊柱外科, 广东 茂名 525000)

【摘要】目的:探讨腰椎间盘突出症(lumbar disc herniation, LDH)患者髓核组织中受体相互作用的丝氨酸苏氨酸激酶 1 (receptor-interacting protein serine-threonine kinases 1, RIPK1)表达和临床意义。**方法:**选取 2016 年 1 月至 2018 年 1 月治疗 40 例 LDH 患者的髓核组织标本为病例组, 另选取同期行手术治疗 30 例腰椎骨折患者的髓核组织为对照组, 分别采用聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR), Western blot 法检测两组患者髓核组织中 RIPK1 mRNA 和蛋白的表达, 采用免疫组织化学染色法检测两组患者髓核组织中 RIPK1 蛋白表达, 采用 ELISA 法检测两组患者髓核组织中 RIPK1 和 TNF- α 浓度, 采用单因素方差分析髓核组织中 RIPK1 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)浓度与 LDH 患者 Pearce 分级间的关系, 采用 Pearson 分析 RIPK1 与 TNF- α 浓度间的相关性。**结果:**RIPK1 在对照组髓核组织中呈弱阳性表达, RIPK1 蛋白在病例组中呈阳性或强阳性表达。病例组髓核组织 RIPK1 mRNA 表达量高于对照组 ($P < 0.05$)。病例组髓核组织中 RIPK1 蛋白表达量高于对照组 ($P < 0.05$)。病例组髓核组织 RIPK1 浓度高于对照组 ($P = 0.012$)。病例组髓核组织 TNF- α 浓度显著高于对照组 ($P = 0.009$)。不同 Pearce 分级的 LDH 患者髓核组织中 RIPK1 和 TNF- α 浓度存在显著性差异 ($P > 0.05$), 髓核组织中 RIPK1 和 TNF- α 浓度随着 Pearce 分级增加而显著升高。Pearson 相关分析示 LDH 患者髓核组织中 RIPK1 和 TNF- α 浓度间存在显著正相关 ($r = 0.781, P < 0.001$)。**结论:**LDH 患者椎间盘组织中 RIPK1 mRNA 和蛋白表达水平高于正常的椎间盘组织, 随着 Pearce 分级增高而升高, 其可能是参与 LDH 炎性病变的重要因子。

【关键词】 蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶; 腰椎间盘突出症; 临床意义

中图分类号: R681.5

DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2021.04.014

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Expression and clinical significance of receptor-interacting protein serine-threonine kinases 1 in the nucleus pulposus of patients with lumbar disc herniation WU Mao-cong, WANG Ling-ling, and DENG Xin-chang. Department of Spinal Surgery, Maoming People's Hospital, Southern Medical University, Maoming 525000, Guangdong, China

ABSTRACT Objective: To investigate the expression and clinical significance of receptor-interacting protein serine-threonine kinases 1 (RIPK1) in the nucleus pulposus of patients with lumbar disc herniation (LDH). **Methods:** Nucleus pulposus tissue specimens of 40 patients with LDH patients underwent surgical treatment from January 2016 to January 2018 as the case group, and nucleus pulposus tissue specimens of 30 patients with lumbar spine fracture underwent surgical treatment at the same time as the control group. The expression of RIPK1 mRNA and protein of receptor interaction were detected by polymerase chain reaction (PCR) and Western blot, respectively. The expression of RIPK1 protein in the nucleus pulposus were detected by immunohistochemical staining. The concentrations of RIPK1 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in nucleus pulposus were detected by ELISA method. The relationship between the concentrations of RIPK1, TNF- α in nucleus pulposus and the Pearce grade of LDH patients was analyzed by one-way ANOVA. The correlation between RIPK1 and TNF- α was analyzed by Pearson. **Results:** RIPK1 was weakly positively expressed in nucleus pulposus of control group, and RIPK1 protein was positively or strongly positively expressed in case group. The expression of RIPK1 mRNA in nucleus pulposus of case group was higher than that of control group ($P < 0.05$). The expression of RIPK1 protein in nucleus pulposus of case group was higher than that of control group ($P < 0.05$). The RIPK1 concentration in nucleus pulposus of case group was higher than that of control group ($P = 0.012$). The concentration of TNF- α in nucleus pulposus of case group was significantly higher than that of control group ($P = 0.009$). There were significant differences in concentrations of RIPK1 and TNF- α in nucleus pulposus of LDH pa-

基金项目: 茂名市科技计划项目(编号: 190326211708876)

Fund program: Maoming City Science and Technology Plan Project (No. 190326211708876)

通讯作者: 吴茂聪 E-mail: maoconguspine@sina.com

Corresponding author: WU Mao-cong E-mail: maoconguspine@sina.com

tients with different Pearce classification ($P>0.05$). The concentration of RIPK1 and TNF- α in nucleus pulposus increased significantly with the increase of Pearce grade. Pearson correlation analysis showed that there was a significant positive correlation between RIPK1 and TNF- α in nucleus pulposus of LDH patients ($r=0.781, P<0.001$). **Conclusion:** The expression levels of RIPK1 mRNA and protein in the intervertebral disc tissues of LDH patients are higher than those of normal intervertebral disc tissues, and increased with the increase of Pearce grade, which may be an important factor involved in LDH inflammatory disease.

KEYWORDS Protein-serine-threonine kinases; Lumbar disc herniation; Clinical significance

腰椎间盘突出症 (lumbar disc herniation, LDH) 的发病机制尚未阐明,其中椎间盘营养供应不足、免疫和炎症反应所致的椎间盘组织学及生化性质改变是导致 LDH 发生的重要原因^[1]。免疫和炎症细胞在椎间盘髓核中聚集,诱导细胞坏死、凋亡及胶原丢失,最终导致椎间盘组织营养成分枯竭、纤维环断裂及髓核组织膨出^[2]。受体相互作用的丝氨酸苏氨酸激酶 1 (receptor-interacting protein serine-threonine kinase 1, RIPK1) 是一种位于 6 号染色体上的 RIPK1 基因编码的酶,属于受体相互作用蛋白 (receptor interacting protein, RIP) 激酶家族的 7 个成员之一^[3]。RIPK1 是参与核转录因子 (nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B), 蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB) 和应激活化蛋白激酶 (stress-activated protein kinase, SAPK) 细胞信号途径的关键调节蛋白,其在氧化应激、炎症反应和细胞免疫中发挥调节细胞凋亡和坏死作用^[4]。最近研究发现 RIPK1 蛋白过表达可促进软骨细胞凋亡^[5],提示其可能参与 LDH 的发病过程。尽管如此,LDH 患者椎间盘组织中 RIPK1 表达及与疾病进展间的关系尚不清楚。本研究通过检测 LDH 与腰椎骨折患者髓核组织中 RIPK1 表达情况,探讨 RIPK1 在 LDH 发病过程中的潜在机制。

1 资料与方法

1.1 病例选择

(1) 纳入 2016 年 1 月至 2018 年 1 月,南方医科大学附属茂名市人民医院脊柱外科收治的 40 例 LDH 患者髓核组织,为病例组,其中接受髓核摘除术有 12 例,经皮椎间孔镜手术有 28 例。纳入标准:行 MRI 检查诊断为腰椎间盘突出症并行手术治疗;临床病例资料完整。排除标准:无手术适应证的患者;合并免疫性疾病或其他全身疾病的患者。(2) 另选取同期 30 例行手术治疗的腰椎骨折患者髓核组织为对照组。纳入标准:年龄 ≥ 18 岁;患者经 CT 等影像学检查证实无椎间盘疾病。本研究征得患者及医院伦理委员会同意实施。

1.2 一般资料

病例组男 26 例,女 14 例,年龄 (44.2 \pm 8.71) 岁,病程 (3.09 \pm 1.02) 年,脱出型 29 例,突出型 11 例,病变位于 L_{2,3} 节段的 8 例, L_{3,4} 节段 22 例, L_{4,5} 节段 10 例。对照组男 19 例,女 11 例,年龄 (45.09 \pm 7.26) 岁。两组

年龄、性别等一般资料差异无统计学意义。

1.3 仪器与试剂

TNF- α ELISA 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司、蛋白印迹试剂盒购自武汉博士德生物科技有限公司、酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司、聚氧基丙烯酸正丁酯 (BCA) 购自美国 Santa Cruz 公司、RIPK1 一抗购自美国 Cell Signaling 公司、二抗购自上海生工生物科技有限公司、qRT-PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.4 组织标本

收集两组髓核组织标本,并保存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中。

1.5 观察项目与方法

1.5.1 髓核组织中 RIPK1 蛋白免疫组化染色 制备髓核组织 4 μ m 厚切片,经脱蜡、水化和高压抗原修复后采用 PBS 溶液冲洗 3 次。将切片滴加 RIPK1 一抗 (1:100) 在 4 $^{\circ}$ C 条件下过夜,取出玻片经 PBS 溶液冲洗后加入 50 μ l 羊抗兔二抗 (1:400), DAB 染液显色后苏木精复染,显微镜下观察 RIPK1 蛋白在髓核组织中的表达情况。

1.5.2 髓核组织中 RIPK1 mRNA 表达量测定

(1) RNA 提取:取腰椎间盘髓核组织标本 80 mg 于研钵内,加入液氮后研磨得到均匀组织。加入 Trizol 后,室温下静置至组织完全裂解,常规离心去除沉淀后,经纯化得到 RNA,于 -20 $^{\circ}$ C 储存。(2) RNA 浓度测定:取样品 RNA 2 μ l, RT-PCR 法检测 RIPK1 mRNA 的相对表达量,引物序列如下:上游:5'-CAC-TTGACTAAATTCCTA-3';下游:5'-CTCATTGGGGTTCCTC T-3';反应条件:95 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 60 $^{\circ}$ C 退火、延伸 34 s, 共 40 个循环,以 GAPDH 为对照, RIPK1 mRNA 相对表达量采用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t} 方法进行计算。

1.5.3 髓核组织中 RIPK1 蛋白检测 采用 Western blot 法,将椎间盘组织 100 mg 研磨,将 500 μ l/RIPA 裂解液加入以提取蛋白,混合匀浆后离心 (4 $^{\circ}$ C, 12 000 r/min) 获取上层透亮液体, -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存待统一检测。采用 BCA 法测定蛋白浓度后,上样,浓缩胶 120 V 60 min 电泳,分离胶 80 V 30 min 电泳,随后转膜至 PVDF 膜上,漂洗 3 次后,用 10% 脱脂牛奶封闭,加入 RIPK1 一抗 (1:500)、4 $^{\circ}$ C 孵育 12 h,经洗涤后,加入羊抗兔二抗 (1:400),室温孵育 2 h 后, E-CL 液显影曝光, GAPDH 为内参, RIPK1 蛋白表达

量=RIPK1 蛋白/GAPDH 蛋白灰度值,实验经重复 3 次,取平均值。

1.5.4 髓核组织中 RIPK1 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 浓度检测 取两组椎间盘髓核组织经匀浆碾碎后,3 500 r/min 离心 10 min 后取上清液。严格按照试剂盒说明书步骤操作,采用酶联免疫吸附法(ELISIA)检测两组髓核组织中 RIPK1 和 TNF- α 浓度。

1.5.5 LDH 严重程度的 MRI 评估 从病例资料中提取 MRI 结果,根据 LDH 在 MRI T2 加权像上结果,采用 Pearce 分级标准^[6-7]将 LDH 患者分级:Pearce 分 5 级,等级越高,表明椎间盘退变越严重,正常椎间盘为 I-II 级,退变椎间盘为 III-V 级。

1.6 统计学处理

统计学分析软件为 SPSS 20.0,定量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,方差分析用于多组间的比较,在有统计学意义的基础上,采用 LSD- t 检验行两两比较。例数/百分比($n/\%$)用于表示计数资料, χ^2 检验用于定性资料的比较,RIPK1 和 TNF- α 浓度间的关系采用 Pearson 相关分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组髓核组织中 RIPK1 免疫组化结果比较

对照组髓核细胞多为单个髓核细胞(图 1a),病例组中髓核细胞轻度聚集,呈现双核形态和多核形态。RIPK1 在对照组髓核组织中呈弱阳性表达,在病例组中呈阳性或强阳性表达(图 1b)。

2.2 两组髓核组织中 RIPK1 mRNA 和 RIPK1 蛋白表达量比较

病例组髓核组织 RIPK1 mRNA 表达量高于对照组 (1.54 ± 0.34 vs 0.54 ± 0.22 , $t=4.876$, $P<0.05$),见图 2。病例组髓核组织中 RIPK1 蛋白表达量高于对照组 (1.24 ± 0.21 vs 0.44 ± 0.12 , $t=5.276$, $P<0.05$),见图 3-4。

2.3 两组患者髓核组织匀浆中 RIPK1 和 TNF- α 浓度比较

病例组髓核组织 RIPK1 浓度高于对照组 ($t=$

3.231 , $P=0.012$), 病例组髓核组织 TNF- α 浓度显著高于对照组 ($t=4.870$, $P=0.009$),见表 1。

表 1 两组髓核组织中 RIPK1 和 TNF- α 浓度比较
($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

Tab.1 Comparison of RIPK1 and TNF- α concentrations in nucleus pulposus tissue between two groups($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

组别	例数	RIPK1	TNF- α
病例组	40	28.23 \pm 8.43	527.23 \pm 123.45
对照组	30	4.23 \pm 2.73	487.24 \pm 117.34
t 值		3.231	4.870
P 值		0.012	0.009

2.4 LDH 患者髓核组织中 RIPK1、TNF- α 浓度与 Pearce 分级间的关系

不同 MRI 分级的 LDH 患者髓核组织中 RIPK1 ($F=27.640$, $P=0.001$)和 TNF- α ($F=7.120$, $P=0.034$) 浓度存在显著差异,髓核组织中 RIPK1 和 TNF- α 浓度随着 Pearce 分级增加而显著升高,见表 2。

表 2 LDH 患者髓核组织中 RIPK1、TNF- α 浓度与患者 Pearce 分级间的关系($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

Tab.2 Relationship between the concentration of RIPK1 and TNF- α in nucleus pulposus tissue of LDH patients and the Pearce grade($\bar{x}\pm s$, pg/ml)

MRI 分级	例数	RIPK1	TNF- α
III 级	12	12.23 \pm 6.43	527.23 \pm 123.17
IV 级	17	19.23 \pm 4.43	727.65 \pm 143.92
V 级	11	31.23 \pm 7.12	927.24 \pm 161.66
F 值		27.640	7.120
P 值		0.001	0.034

2.5 LDH 患者髓核组织 RIPK1 和 TNF- α 浓度间的相关性

Pearson 相关分析示 LDH 患者髓核组织中 RIPK1 和 TNF- α 浓度间存在显著正相关 ($r=0.781$, $P<0.001$),见图 5。

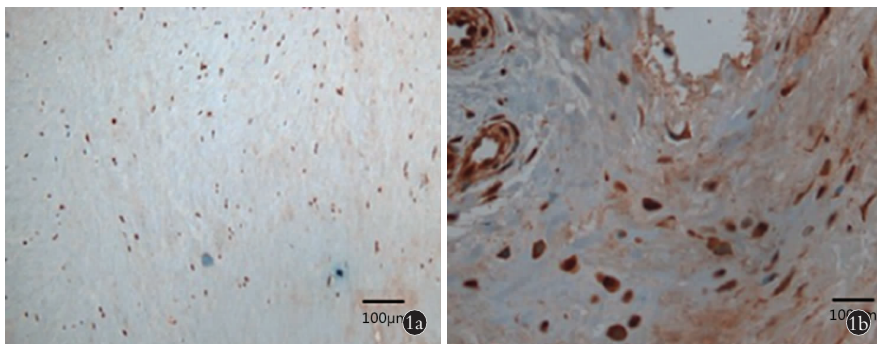


图 1 免疫组化示两组患者髓核组织中 RIPK1 表达(bar 100 μ m \times 100 μ m) **1a.** 对照组 **1b.** 病例组

Fig.1 Immunohistochemistry showed the expression of RIPK1 in nucleus pulposus tissue of two groups (bar 100 μ m \times 100 μ m) **1a.** Control group **1b.** Case group

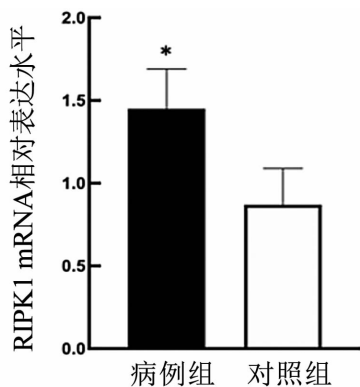


图 2 两组髓核组织中 RIPK1 mRNA 表达水平比较, *P<0.05

Fig.2 Comparison of RIPK1 mRNA expression levels of nucleus pulposus tissue between two groups, *P<0.05

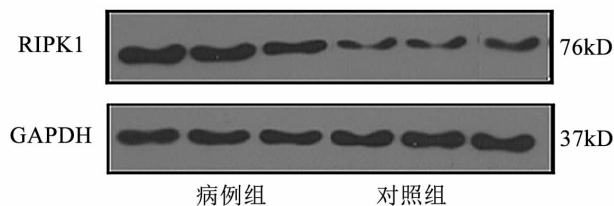


图 3 蛋白印迹实验示两组患者髓核组织中 RIPK1 蛋白的表达

Fig.3 Western blot experiment showed the expression of RIPK1 protein in nucleus pulposus tissue of two groups

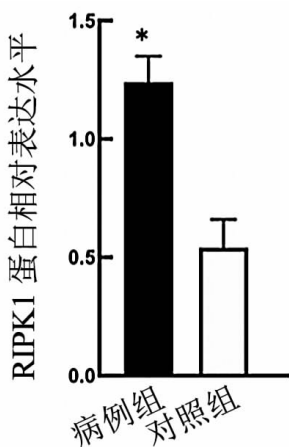


图 4 两组患者髓核组织中 RIPK1 蛋白表达量比较, *P<0.05

Fig.4 Comparison of RIPK1 protein expression in nucleus pulposus tissue between two groups, *P<0.05

3 讨论

3.1 RIPK1 在 LDH 疾病中的研究进展

腰椎间盘突出由髓核、纤维环及软骨终板组成,腰椎间盘突出症是中老年腰背疼痛的主要病因,是常见的脊柱退行性疾病之一^[8]。腰椎间盘突出症发病机制存在多种假说,其中以椎间盘营养成分枯竭、生物力学、自身免疫反应最为受到关注^[9]。研究者普遍认为炎症、免疫、细胞因子网络和多个信号通路相关蛋白均参与了 LDH 的发生和进展^[10]。深入研究与 LDH

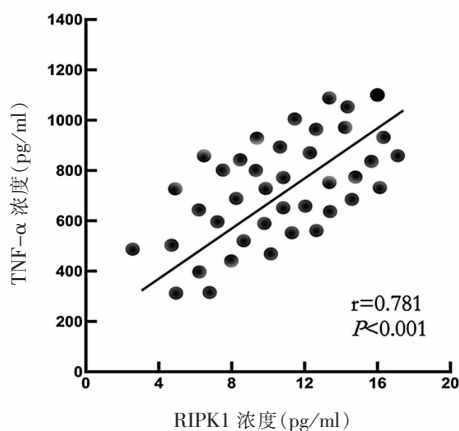


图 5 髓核组织中 RIPK1 和 TNF-α 浓度之间的相关性

Fig.5 Correlation between the concentration of RIPK1 and TNF-α in nucleus pulposus tissue

发生和进展相关的蛋白和分子对理解疾病发生和进展及开发新的治疗方法尤为重要^[11]。

RIPK1 是细胞凋亡和坏死过程中多个信号通路中的关键节点调节蛋白,参与 Toll 样受体(TLR)、TNF-α、干扰素和白介素-1α 信号通路的调节^[12]。RIPK1 蛋白表达量增加可激活 caspase-8 诱导细胞凋亡,并增强 NF-κB 轻链增强子的活化,促进细胞凋亡。RIPK1 在缺血性损伤、慢性和急性炎症性疾病、轴突变性、自身炎症、免疫病理及肿瘤组织中均出现不同程度的表达异常^[13],其可能是多种疾病潜在的治疗靶点。

3.2 RIPK1 在髓核组织中高表达及可能的调控机制

正常椎间盘髓核细胞呈卵圆形,伴有不规则软骨陷窝,多核巨细胞及细胞团可见。而退变髓核组织细胞质可呈空泡状,“网巢状”结构改变为典型的 LDH 病理改变^[14]。而椎间盘髓核组织中 RIPK1 蛋白染色更为明显,提示 RIPK1 蛋白参与患者椎间盘组织退变的病理过程。

本研究采用 qT-PCR、Western blot、免疫组化 3 种方法均发现与正常椎间盘组织相比,LDH 患者椎间盘髓核组织中 RIPK1 mRNA 表达水平、蛋白表达量均显著增高,进一步采用 ELISA 法发现髓核组织中 RIPK1 蛋白浓度高于正常椎间盘组织,研究结果提示 RIPK1 参与了 LDH 的发病过程。LDH 发病机制复杂,正常的椎间盘能够承受较大压力负荷,弹性大、缓冲冲击力强,可应对屈伸、挤压、扭转等外力作用,而 LDH 患者髓核组织中水分及蛋白多糖量骤减、降解酶活性升高及胶原类型改变,同时伴有炎症介质释放,引发腰背痛及神经根受累病变^[13]。LDH 炎症和免疫反应涉及多种细胞的坏死、凋亡和细胞信号通路的激活^[13]。RIPK1 在 LDH 患者髓核中增加

的机制尚不清楚,有研究显示 RIPK1 激活和高表达可激活并参与神经细胞的坏死和凋亡^[15]。研究者发现 RIPK1 高表达可促进体外软骨细胞的凋亡^[16]。

3.3 RIPK1 浓度与 LDH 患者 Pearce 分级相关

Pearce 分级^[6-7]常用于评估 LDH 髓核退行性变程度,其是根据脊柱 MRI 成像 T2 加权像将 LDH 髓核退行性病变分成 5 级,其中 I、II 级为正常椎间盘,MRI 上表现为色白、均质、髓核与纤维环边界清晰,MRI 信号强度高或等于脑脊液、椎间盘高度正常,而 III-V 级色黑、非均质、髓核与纤维环边界不清晰,MRI 信号强度低于脑脊液、椎间盘高度降低或塌陷。林子丰等^[17]报道 Pearce 分级用于评估腰椎骨折椎弓根内固定术后疗效。周勇等^[18]报道 Pearce 分级可用于评估腰椎后路减压内固定治疗腰椎狭窄症。本研究发现与正常的椎间盘组织匀浆相比,LDH 患者组织匀浆中 RIPK1 蛋白浓度显著增加,同时 TNF- α 也显著增加。发现椎间盘组织中 RIPK1 蛋白浓度随着 Pearce 分级增加而显著增加,提示 RIPK1 蛋白表达水平可能反映 LDH 患者的严重程度。大量研究证实 TNF- α 与 LDH 关系密切,是加速炎症和免疫反应的一个重要的促炎因子^[19]。TNF- α 也被发现可引起早期椎间盘退变,是椎间盘退变的早期致病因素。本研究发现在 LDH 患者组织中 RIPK1 蛋白和 TNF- α 浓度均随着 LDH 严重程度而增加,且两者之间存在正相关,在 LDH 患者中,RIPK1 是否通过调节 TNF- α 表达而参与椎间盘突出发病过程尚需要进一步研究。

综上所述,LDH 患者椎间盘组织中 RIPK1 mRNA 和蛋白表达水平高于正常椎间盘组织,随着疾病分级增高而升高,其可能是参与 LDH 炎性病变的重要因子,有望成为其潜在治疗靶点。

参考文献

- [1] Benzakour T,Igoumenou V,Mavrogenis AF,et al. Current concepts for lumbar disc herniation[J]. *Int Orthop*,2019,43(4):841-851.
- [2] Jungen MJ,Ter Meulen BC, Van Osch T,et al. Inflammatory biomarkers in patients with sciatica:a systematic review[J]. *BMC Musculoskelet Disord*,2019,20(1):156.
- [3] Dillon CP,Weinlich R,Rodriguez DA,et al. RIPK1 blocks early postnatal lethality mediated by caspase-8 and RIPK3[J]. *Cell*,2014,157(5):1189-1202.
- [4] Lalaoui N,Boyden SE,Oda H,et al. Mutations that prevent caspase cleavage of RIPK1 cause autoinflammatory disease[J]. *Nature*,2020,577(7788):103-108.
- [5] Qiu X,Zhuang M,Lu Z,et al. RIPK1 suppresses apoptosis mediated by TNF and caspase-3 in intervertebral discs[J]. *J Transl Med*,2019,17(1):135.
- [6] Hwang D,Kim S,Abeydeera NA,et al. Quantitative magnetic resonance imaging of the lumbar intervertebral discs[J]. *Quant Imag Med Surg*,2016,6(6):744.
- [7] Pfirrmann CW,Metzdorf A,Zanetti M,et al. Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*,2001,26(17):1873-1878.
- [8] Zhang J,Zhao F,Wang FL,et al. Identification of lumbar disc disease hallmarks;a large cross-sectional study[J]. *Springerplus*,2016,5(1):1973.
- [9] Blamoutier A. Nerve root compression by lumbar disc herniation:A french discovery[J]. *Orthop Traumatol Surg Res*,2019,105:335-338.
- [10] Zu B,Pan H,Zhang XJ,et al. Serum levels of the inflammatory cytokines in patients with lumbar radicular pain due to disc herniation[J]. *Asian Spine J*,2016,10(5):843.
- [11] Dannappel M,Vlantis K,Kumari S,et al. RIPK1 maintains epithelial homeostasis by inhibiting apoptosis and necroptosis [J]. *Nature*,2014,513(7516):90.
- [12] Yu H,Cleveland DW. Tuning apoptosis and neuroinflammation: TBK1 restrains RIPK1[J]. *Cell*,2018,174(6):1339-1341.
- [13] Yuan J,Amin P,Ofengeim D. Necroptosis and RIPK1-mediated neuroinflammation in CNS diseases[J]. *Nat Rev Neurosci*,2019,20(1):19-33.
- [14] Johnson ZI,Schoepflin ZR,Choi H,et al. Disc in flames:Roles of TNF- α and IL-1 β in intervertebral disc degeneration[J]. *Eur Cells Mater*,2015,30:104.
- [15] Liang S,Wang ZG,Zhang ZZ,et al. Decreased RIPK1 expression in chondrocytes alleviates osteoarthritis via the TRIF/MyD88-RIPK1-TRAF2 negative feedback loop[J]. *Aging*,2019,11(19):8664.
- [16] Michael J,Benko,Aaron P,et al. Distal cauda equina syndrome:A case report of lumbosacral disc pathology and review of literature [J]. *Surg Neurol Int*,2019,10:84.
- [17] 林子丰,刘坛树,余志嵩,等.胸腰椎骨折后路非融合椎弓根钉内固定疗效及术后椎间盘退变的评价[J]. *创伤外科杂志*,2018,20(4):253-257.
- [18] 周勇,刘章盛,刘青华,等.腰椎后路减压内固定融合术治疗退行性腰椎管狭窄症 177 例疗效分析[J]. *广东医学*,2013,34(15):2368-2370.
- [19] ZHOU Y,LIU ZS,LIU QH,et al. Treatment of 177 cases of degenerative lumbar spinal stenosis by posterior decompression and internal fixation fusion[J]. *Guang Dong Yi Xue*,2013,34(15):2368-2370. Chinese.
- [19] Zhang F,Zhao X,Shen H,et al. Molecular mechanisms of cell death in intervertebral disc degeneration[J]. *Int J Mol Med*,2016,37(6):1439-1448.

(收稿日期:2020-07-17 本文编辑:王宏)