

## · 综述 ·

## 脊柱结核兔模型的建立及研究进展

杨军<sup>1</sup> 邓强<sup>2</sup> 彭冉东<sup>3</sup> 李军杰<sup>4</sup> 王雨榕<sup>5</sup> 杨海云<sup>1</sup> 杜健强<sup>1</sup>

**【摘要】** 结核病由结核分枝杆菌侵袭人体器官引起。脊柱结核占肺外结核的 50%，已成为严重威胁人类健康的骨科疾病，其发病机制尚未完全明确，可使用的抗结核药物和治疗方案有限。动物模型作为研究疾病发病机制及治疗药物的有力工具备受关注。新西兰兔因其腰椎解剖结构与人类相似，骨结核病变表现可以复现人类结核病病理表现，以及构建脊柱结核模型操作方便等特点，广泛用于脊柱结核动物模型实验研究。笔者综述了脊柱结核兔模型构建方法及其在结核病发病机制、抗结核新药研发及局部载药研究中的应用价值，为脊柱结核相关基础研究中兔模型的建立及应用提供参考。

**【关键词】** 结核，脊柱； 疾病模型，动物； 兔； 综述文献(主题)

**【中图分类号】** R529.2

**Establishment and research progress of rabbit model of spinal tuberculosis** Yang Jun<sup>1</sup>, Deng Qiang<sup>2</sup>, Peng Randong<sup>3</sup>, Li Junjie<sup>4</sup>, Wang Yurong<sup>5</sup>, Yang Haiyun<sup>1</sup>, Du Jianqiang<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Graduate School of Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; <sup>2</sup>Medical Department of Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China; <sup>3</sup>Department of Osteomyelitis, Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China; <sup>4</sup>Second Department of Spine and Bone, Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China; <sup>5</sup>Third Department of Spine and Bone, Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China  
Corresponding author: Deng Qiang, Email: znszjz@163.com

**【Abstract】** Tuberculosis is caused by *Mycobacterium tuberculosis* by invading human organs. Spinal tuberculosis accounts for 50% of extra-pulmonary tuberculosis and has become a serious orthopedic disease that threatens human health. The pathogenesis of spinal tuberculosis has not yet been fully understood, and the available anti-tuberculosis drugs and treatment options are limited. As a powerful tool for studying the pathogenesis of diseases and therapeutic drugs, animal models have received considerable attention. New Zealand rabbits are widely used as animal models in the experimental study of spinal tuberculosis because of their similar anatomical structure of lumbar vertebrae to humans, the manifestation of bone tuberculosis can reproduce the pathological manifestations of human tuberculosis, and the convenient operation of constructing spinal tuberculosis models. This article reviewed the construction method of spinal tuberculosis rabbit models and the application value in the pathogenesis of tuberculosis, the development of new anti-tuberculosis drugs and local drug loading research, to provide reference for the establishment and application of rabbit models in basic research related to spinal tuberculosis.

**【Key words】** Tuberculosis, spinal; Disease models, animal; Rabbits; Review literature as topic

**【Fund program】** Gansu Provincial Financial Transfer Payment Local Project in 2021/Research on the Prevention and Treatment of Drug Resistant Bacteria by Integrated Traditional Chinese and Western Medicine (20210140305); Improve the Ability to Evaluate the Clinical Efficacy of Traditional Chinese Medicine Based on the Advantageous Diseases of the Clinical Research Base of Traditional Chinese Medicine (20210200111); Retrospective Analysis of Risk Factors and Long-term Prognosis of Postoperative Incision Infection in Spinal Patients (21JR1RA057)



开放科学(资源服务)标识码(OSID)的开放科学计划以二维码为入口,提供丰富的线上扩展功能,包括作者对论文背景的语音介绍、该研究的附加说明、与读者的交互问答、拓展学术圈等。读者“扫一扫”此二维码即可获得上述增值服务。

doi:10.19982/j.issn.1000-6621.20220516

基金项目:2021年甘肃省财政转移支付地方项目/中西医结合防治耐药菌研究(20210140305);基于中医临床研究基地优势病种

的中医临床疗效评价能力提升(20210200111);脊柱患者术后切口感染相关危险因素及远期预后的回顾分析研究(21JR1RA057)

作者单位: <sup>1</sup>甘肃中医药大学研究生院,兰州 730000; <sup>2</sup>甘肃省中医院医务处,兰州 730050; <sup>3</sup>甘肃省中医院骨髓炎科,兰州 730050; <sup>4</sup>甘肃省中医院脊柱骨二科,兰州 730050; <sup>5</sup>甘肃省中医院脊柱骨三科,兰州 730050

通信作者:邓强,Email:znszjz@163.com

结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 感染脊柱椎体引起脊柱结核, 也称为 Pott 病, 约占骨关节结核的 50%<sup>[1-2]</sup>。脊柱结核常见于胸腰段, 累及椎体和椎间隙, 单纯附件结核少见<sup>[3-4]</sup>。脊柱结核患者神经系统受累的发生率约为 10%~47%。若累及脊柱关节, 可引起脊神经损伤和畸形, 致残率高, 严重影响患者的生活质量<sup>[5]</sup>。MTB 除了感染作为天然宿主的人类外, 还可引起兔类等其他动物感染。临床研究不仅受到时间和空间的限制, 还受到人体试验伦理审核和方法限制; 而动物模型克服了这些束缚, 已成为研究各种人类疾病的标准工具, 尤其在抗结核新药临床前研究中的重要作用正受到越来越多的关注<sup>[6]</sup>。兔模型是人类结核病研究中最受欢迎的动物模型, 其病变表现类似人类结核病表现<sup>[6]</sup>。目前, 国内外有关脊柱结核兔模型的研究较少, 为此, 笔者综述脊柱结核兔模型构建方法及其在结核病发病机制、抗结核新药研发及局部载药研究中的应用价值, 为脊柱结核相关基础研究中兔模型的建立提供参考。

### 一、脊柱结核模型动物的选择

结核病动物模型是开发诊断生物标志物、治疗药物、预防疫苗和研究致病机制及识别靶点的基本工具, 是比较医学、转化医学和精准医学的基石<sup>[7]</sup>。常用的动物模型包括兔、小鼠、大鼠、羊、牛和非人类灵长类等动物<sup>[8]</sup>。与其他动物相比, 豚鼠对 MTB 非常敏感, 并具有与人结核病肉芽肿相似的结构, 已被广泛用于结核病研究<sup>[9]</sup>。小鼠具有清晰的遗传背景, 价格低廉, 有成熟的靶向基因敲除技术, 因此, 小鼠通常被用作研究 MTB 突变、疗效评估和疫苗筛选的模型。然而, 小鼠结核性肉芽肿与人类结核病肉芽肿区别较大, 小鼠模型较少观察到干酪样坏死, 且豚鼠和小鼠的脊柱椎体相对较小, 不适合作为脊柱结核的动物模型<sup>[10]</sup>。非人类灵长类动物的生物学和行为特征与人类相似, 它们在与人类疾病相关的基础和临床前研究中起着重要作用, 是研究结核病最理想的实验动物。然而, 由于其在实验室中饲养成本高昂且困难, 使用受到一定限制<sup>[9]</sup>。由于腰椎解剖结构与人类相似, 其病变(肉芽肿、干酪样变性坏死)表现与在人类疾病中观察到的相似, 遗传信息完整且可重复, 更经济且易于获得, 因此, 兔经

常被用来复制人类脊柱结核的许多特定阶段疾病谱(表 1)<sup>[11-13]</sup>。Popov 等<sup>[14]</sup>发现, 兔结核病谱系与人类结核病谱系之间存在明显相似性。兔脊柱结核模型是评估骨结核药物疗效的最佳模型<sup>[15]</sup>。

表 1 常见脊柱结核模型动物优缺点

实验动物	优点	缺点
豚鼠	对结核分枝杆菌非常敏感, 其肉芽肿结构典型, 可发展为坏死, 与人类结核病肉芽肿相似	体型过小, 不适合脊柱结核造模操作 <sup>[9]</sup>
小鼠	遗传背景清楚, 价格低廉, 有较成熟的定向基因敲除技术	一般不出现坏死, 很难在小鼠模型上观察到干酪样坏死。脊柱椎体细小, 不适合进行脊柱手术操作 <sup>[10]</sup>
非人类灵长类动物	遗传物质与人类同源, 在生理、形态和机能上相近, 与人类的生物学和行为学特性相似	费用较高, 实验室内饲养较难, 且数量有限 <sup>[16]</sup>
兔	腰椎解剖结构、骨结核病变表现等与人类相似, 易于脊柱手术操作	对结核分枝杆菌易感性相对较差 <sup>[12-13]</sup>

目前, 脊柱结核造模常用椎旁接种法, 该方法简便易行且成功率高, 可为抗结核新药的疗效评估提供理想的动物模型。首先, 兔脊柱解剖结构与人类相似, 椎体形态粗大, 可进行椎体暴露手术、钻孔、植骨等基本操作, 较适合构建脊柱结核模型<sup>[17]</sup>。其次, 植入位置合适, 新西兰兔脊柱模型研究中使用的新西兰兔脊柱解剖结构与人类相似, 椎体钻孔植入菌株的位置应在上下终板接近椎间盘处, 钻孔深度为 5 mm, 在该部位植入菌株符合脊柱结核发展的原则。最后, 使用合适的植入方法来引入细菌, MTB 悬浮液可以注入明胶海绵中, 可以减少或避免细菌溢出并进行止血<sup>[18]</sup>。虽然结核病的动物模型不能完全复现人类结核病的发生和发展, 但脊柱结核兔模型对深入研究结核病发病机制、免疫反应、病理反应、研发抗结核新药及局部载药研究作出了重大贡献<sup>[19]</sup>。

### 二、结核病兔模型概述

MTB 作为致病菌, 是一种寄生细胞内细菌, 能够在受感染的巨噬细胞中存活。1882 年, Robert Koch 在原始实验中首次采用结核病兔模型, 确定了 MTB 是人类结核病的病原体, 建立了真正意义上的结核病兔模型<sup>[20-22]</sup>。1964 年 Lurie 在一组“耐

药”和“易感”兔队列中详细研究了兔相对耐药的 MTB 感染和在兔中毒性更大的牛分枝杆菌感染的实验<sup>[17, 19]</sup>。这些开创性的研究为未来研究分枝杆菌感染的宿主遗传易感性奠定了基础。随后出现了多种结核病兔模型,包括脊柱结核兔模型、骨关节结核兔模型、肺结核兔模型及消化系统结核兔模型等。结核病兔模型为研究结核病提供了一种有价值的动物模型。有效使用该模型有助于阐明宿主保护性免疫的机制,为开发新药及评估新的诊断和治疗方法提供更多的研究思路。

1. 脊柱结核兔模型构建方法:目前,建立脊柱结核兔模型主要采用椎旁接种法,即在经弗氏完全佐剂致敏的新西兰兔耳缘静脉缓慢注射戊巴比妥钠注射液,术中注射利多卡因注射液以局部麻醉,麻醉效果满意后,实验兔一侧腹部脱毛备皮,以侧卧位固定于无菌手术操作台上,术区常规消毒铺单,沿第 12 肋末端至髂嵴行纵向切割(长约 5~6 cm),逐层分开皮下、脂层、肌层,经横突侧腹入路显露 L5、L6 椎体,于 L5 椎体下缘距椎间盘 0.5 cm 处从左后方向右前方,与椎体冠状轴呈 30°角钻骨孔(深度约 5 mm,直径约 3 mm),骨孔止血后填入吸附有 H37Rv 标准菌株悬混液的明胶海绵,逐层关闭切口。手术中严格执行无菌操作、生物安全、保护标准和动物伦理准则,将术后兔隔离分笼饲养。用来建立脊柱结核兔模型的 MTB 包括强毒型 H37Rv、减毒型或无毒型 H37Rva、Erdman、北京家族等品系<sup>[23]</sup>。如果所使用的 MTB 悬浊液浓度过高易引起实验兔脏器广泛受损,甚至中毒致死,浓度过低可由于未受感染而引起模型建立的失败,因此,用于构建脊柱结核兔模型常用浓度为 5 mg/ml,注射量为 0.2 ml,常用于 L4~L6 椎体感染,随着病程发展可形成包括肉芽肿等类似人类结核病的病理特征<sup>[19]</sup>。Geng 等<sup>[18]</sup>在构建此模型时,术后评价显示 52.9% 实验组兔建模成功。Liu 等<sup>[24]</sup>在建立模型实验时,建模成功率为 68.1%,其病理变化与人脊柱结核相似。陈振等<sup>[25]</sup>在构建该模型实验研究时,术后 2 个月检测造模成功率为 72%,感染兔病椎旁肉芽组织 MTB 培养阳性率约为 39%。尽管用同一种造模方法,造模成功率也有一定差异,这可能与感染途径、悬浮液剂量和手术操作等有关<sup>[26]</sup>。

2. 脊柱结核兔模型造模成功的评价指标:在造模术后,实验者以实验动物表现并配合仪器检查结果来评判脊柱结核模型构建是否成功。对于模型是否构建成功的评判标准,通常为观察动物一般情况,评价影像学、组织学及细菌学等指标<sup>[25]</sup>。(1)一般情况:主要包括实验兔的活动情况、精神状态、进食行为,以及伤口是否有红肿、感染或脓肿,是否有截瘫等情况。(2)影像学观察:术后 8~12 周行腰椎 X 线摄影、CT 扫描,以观察是否有椎间隙变窄、骨质破坏、椎旁脓肿,以及死骨形成、病灶范围及椎间盘受累等情况。CT 扫描优于 X 线摄影,可显示椎旁脓肿的存在。CT 扫描可清楚地显示病变中的死骨、钙化和较细微的骨破坏,并可排除内脏结核及活动性肺结核动物。与 X 线摄影和 CT 扫描相比,MRI 对评价脊柱结核模型更敏感<sup>[27]</sup>。(3)组织病理学和细菌学检查:两者是评价脊柱结核动物模型成功的金标准。骨结核主要以干酪样坏死型常见,增生型次之,病椎取材染色后显微镜下观察细胞形态和数量变化(表现为炎症细胞浸润、干酪样坏死、死骨碎片形成,常累及周围软组织而形成椎旁脓肿,骨小梁结构紊乱或消失,结核性肉芽肿形成等)。少数可能因病灶取材部位不恰当或操作不当而镜下观察不到干酪样坏死病变或结核结节样病变。细菌学检查为病椎取材组织匀浆后经培养基 36~37 °C 环境下培养 3~4 周,观察是否有粗糙、干燥,呈黄色、白色或橙色的 MTB 菌落分布。

### 三、脊柱结核兔模型的应用价值

临床上,药物治疗脊柱结核仍须遵循“早期、规律、全程、联合、适量”的原则<sup>[28-29]</sup>。药物治疗分为强化期快速杀灭 MTB 及维持期杀灭胞内 MTB。目前,国际防痨和肺病联合会将异烟肼、利福平、吡嗪酰胺、链霉素和乙胺丁醇等定为一线抗结核药物。结核病初治强化期给予异烟肼(5 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>)、利福平(450~600 mg/d)、吡嗪酰胺(20~30 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>)和乙胺丁醇(20 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>),口服 2 个月;巩固期给予异烟肼和利福平,口服 4 个月;总疗程达 6 个月<sup>[30-32]</sup>。目前,如何充分利用脊柱结核兔模型载体进行脊柱结核发病机制研究、新型抗结核药物研究、局部载药研究等是结核病研究中的主要方向和热点<sup>[19]</sup>。

1. 发病机制研究: Wang 等<sup>[33]</sup>在探讨结核病中 miR-133a 通过靶向蛋白金属蛋白酶 9 在椎间盘破坏中作用的实验研究中, 通过椎体接种 MTB 菌株建立脊柱结核兔模型, 发现 miR-133a 可通过下调基质金属蛋白酶 9 的表达而抑制胶原蛋白降解, 从而降低 MTB 对椎间盘的破坏作用。Guo 等<sup>[5]</sup>在探讨脊柱结核兔模型中单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 和核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 在结核病免疫反应的作用研究中, 通过椎体接种 H37Rv 标准菌株而成功建立疾病模型。动物处死后取标本检测实验组兔 MCP-1 和 NF- $\kappa$ B 的 mRNA 和蛋白表达均明显增加, 血清白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 和  $\gamma$ -干扰素 (interferon-gamma, IFN- $\gamma$ ) 水平较低, 血清 IL-10 水平升高, 表明 MCP-1 和 NF- $\kappa$ B 的较高表达可能与脊柱结核兔的免疫功能下降有关, 可能与脊柱结核发病机制相关, 可为脊柱结核提供新的治疗方向。

2. 抗结核新药研究: 异甘草素是一种来源于中药甘草的具有抗炎作用的黄酮类化合物。一项研究评估了异甘草素在脊柱结核兔模型中的治疗潜力<sup>[34]</sup>。其通过在新西兰兔第 6 腰椎椎体接种 MTB 菌株建立脊柱结核兔模型, 并用 20 mg/kg 和 100 mg/kg 的异甘草素干预。治疗 10 周后, 取病灶椎体骨组织进行检测, 结果显示, 异甘草素可能是一种通过下调 MCP-1、NF- $\kappa$ B、IL-4 和 IL-10 的相对水平来抑制肉芽肿形成的有效药物。这对抗结核新药的研发有重要意义。Zhao 等<sup>[35]</sup>在通过上述方法后同样证明了橙皮苷甲基查尔酮(橘类水果中提取的具有抗炎特性的类黄酮衍生物)也可通过下调 MCP-1、IL-4、IL-10 和 NF- $\kappa$ B 的相对水平来有效抑制肉芽肿的形成而作为治疗结核病的选择。

动物模型也加速了贝达喹啉、利奈唑胺等新一代治疗耐药结核病的药物的出现。对新型抗结核药物耐药机制的深入研究可为开发抗结核新药铺平道路, 使治疗方案向短程化、安全有效、低不良反应的趋势发展<sup>[36]</sup>。

3. 局部载药研究: 戈朝辉等<sup>[37]</sup>在观察载药白蛋白纳米粒治疗兔脊柱结核疗效的研究中发现, 两组实验兔分别通过耳缘静脉滴注载药白蛋白纳米粒和

普通药物制剂, 前者在体内有良好的缓释特性, 在病灶骨组织中有效生物分布, 治疗效果明显优于后者。黄正辉等<sup>[38]</sup>通过将一种脂肪间充质干细胞与利福平缓释微球复合物植入骨结核病灶内, 该复合物是一种可以在病灶周围长期维持一定药物浓度, 增强骨缺损修复的新型生物材料。通过观察该复合物对脊柱结核兔模型的治疗效果后表明, 该复合物可抑制 MTB 生长, 减少椎体骨质破坏, 对动物脊柱结核模型具有良好的治疗作用。Ma 等<sup>[39]</sup>在关于评价负载异烟肼和利福平的牛血清白蛋白纳米颗粒 (INH-RFP-BSA-NPs) 治疗兔脊柱结核疗效的研究中, 采用 INH-RFP-BSA-NPs 注射液干预脊柱结核兔模型, 干预后分别在第 6 周和第 12 周对实验兔进行称重和 CT 扫描, 以及对血液和组织中异烟肼和利福平的浓度进行测量。结果表明, INH-RFP-BSA-NPs 具有体内持续释放和靶向生物分布在病灶椎体中的特点, 其在脊柱结核兔中的治疗效果远优于普通异烟肼和利福平。Wang 等<sup>[40]</sup>在研究中采用溶剂蒸发法制备利福喷丁聚乳酸缓释微球, 将其与羟基磷灰石/ $\beta$ -磷酸三钙 (HA/ $\beta$ -TCP) 复合材料结合, 得到载药缓释复合物, 建立并利用载药缓释复合物干预脊柱结核兔模型。体内实验表明, 该复合物对病灶缺损部位组织修复有较好的作用, 复合物组中兔的血红细胞沉降率和 C 反应蛋白降至正常水平, 脊柱结核治疗效果优于普通药物治疗组。

通过研究 MTB 致病机制, 发现新型药物靶点可促进对新型抗结核药物的研发, 大大提高结核患者的治愈率, 也可指导临床初期分子诊断及合理使用抗结核药物<sup>[35]</sup>。目前, 对于局部载药的研究较为广泛, 通过复合植入物局部载药, 缓释出可以杀灭 MTB 的有效药物浓度, 植骨材料实现有效融合, 促进骨缺损区骨细胞生长。基于脊柱结核动物模型对脊柱结核发病机制研究、新药研发, 以及优化药物治疗方案(将现有药物的抗结核效果最大化并缩短治疗周期)、预防 MTB 耐药性的产生等诸多方面均有重要价值<sup>[41]</sup>。

#### 四、讨论与展望

结核病研究的关键问题涉及机制不明确、肺外结核诊断和治疗效率低下、治疗方案限制、耐多药结核病治疗困难、结核病患者个体治疗复杂和早期诊

断生物标志物短缺等<sup>[7, 41]</sup>。动物模型历来是疾病研究的基础,通过构建可以精准复制脊柱结核病理改变和临床过程的动物模型,研究疾病发病机制和宿主反应,对结核病的临床研究有重要推动作用。不同动物的脊柱结核模型已被用于结核病免疫发病机制、新药、生物标志物鉴定、宿主遗传等研究,并与人体研究相结合,用于候选药物临床试验前期试验。

虽然许多动物可用于脊柱结核动物模型,每种动物各有特点,但至今为止尚未构建出一种能够完全模拟脊柱结核发病的动物模型。此外,人们越来越多地使用基于人类疾病机制的动物模型来补充和减少实验动物体内研究模型的使用,以便于更好地研究 MTB 致病机制及新药开发。理想的结核病动物模型不仅是 MTB 感染的模型,还可以从病理组织中分离培养出 MTB,而且模型应可以始终模仿肺外结核临床症状、器官中的细菌负荷、免疫学指标、影像学改变和特征性病理改变。新西兰兔是研究脊柱结核的良好模型动物,但因其体型较大和生物防护要求的提高,导致购买成本昂贵,且缺乏相关的免疫试剂。实验兔还会在尿液中排出 MTB 而存在生物防护隐患。虽然存在这些局限性,但脊柱结核兔模型可以通过复现人类肺外结核典型的疾病特征、更短的疾病进展和更好的实际效果来达到实验目的。兔模型有助于我们了解结核病,并以可重复和低成本高效益的造模方式理解宿主-病原体相互作用的机制,也是开发药物和疫苗的复杂途径的基础。

脊柱结核兔模型在结核病发病机制和治疗药物研究中作用重大。结核病兔模型正电子发射计算机断层摄影-CT、实时荧光定量 PCR 技术、基于探针的药物敏感性检测技术和基因测序等新技术也可用于肺外结核模型的诊断,以提高诊断敏感度并快速评估药物疗效,从而可以探索用于诊断和评估药物疗效的新方式。随着临床试验数据的出现,也可更多地了解动物模型的预测价值。值得注意的是,动物模型的实验结果只是间接指示,药物的治疗作用需要通过临床试验验证,动物模型使用过程中还需科学把握面临的挑战和机遇。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**作者贡献** 杨军:文献检索和文章撰写;邓强:文章指导和审校;彭冉东、李军杰和王雨榕:工作支持和指导,支持性

贡献;杨海云和杜健强:支持性贡献

## 参 考 文 献

- [1] Khanna K, Sabharwal S. Spinal tuberculosis; a comprehensive review for the modern spine surgeon. *Spine J*, 2019, 19(11): 1858-1870. doi: 10.1016/j.spinee.2019.05.002.
- [2] Tang L, Fu CG, Zhou ZY, et al. Clinical Features and Outcomes of Spinal Tuberculosis in Central China. *Infect Drug Resist*, 2022, 15: 6641-6650. doi: 10.2147/IDR.S384442.
- [3] 高永建, 欧云生, 权正学, 等. 胸腰椎脊柱结核外科治疗的研究进展. *中国修复重建外科杂志*, 2018, 32(1): 112-117. doi: 10.7507/1002-1892.201705124.
- [4] 张中敏, 刘艳芳. 结核分枝杆菌 T 细胞斑点试验诊断结核性胸膜炎的临床价值. *临床医学研究与实践*, 2017, 2(24): 45-46. doi: 10.19347/j.cnki.2096-1413.201724022.
- [5] Guo XH, Bai Z, Qiang B, et al. Roles of monocyte chemotactic protein 1 and nuclear factor-kappaB in immune response to spinal tuberculosis in a New Zealand white rabbit model. *Braz J Med Biol Res*, 2017, 50(3): e5625. doi: 10.1590/1414-431X20165625.
- [6] Gong W, Liang Y, Wu X. Animal Models of Tuberculosis Vaccine Research: An Important Component in the Fight against Tuberculosis. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 4263079. doi: 10.1155/2020/4263079.
- [7] Zhan L, Tang J, Sun M, et al. Animal Models for Tuberculosis in Translational and Precision Medicine. *Front Microbiol*, 2017, 8: 717. doi: 10.3389/fmicb.2017.00717.
- [8] Gupta T, Somanna N, Rowe T, et al. Ferrets as a model for tuberculosis transmission. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 873416. doi: 10.3389/fcimb.2022.873416.
- [9] Creissen E, Izzo L, Dawson C, et al. Guinea Pig Model of *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Curr Protoc*, 2021, 1(12): e312. doi: 10.1002/cpzl.312.
- [10] Bucsan AN, Mehra S, Khader SA, et al. The current state of animal models and genomic approaches towards identifying and validating molecular determinants of *Mycobacterium tuberculosis* infection and tuberculosis disease. *Pathog Dis*, 2019, 77(4): ftz037. doi: 10.1093/femspd/ftz037.
- [11] Dannenberg Jr AM. Pathogenesis of pulmonary *Mycobacterium bovis* infection: basic principles established by the rabbit model. *Tuberculosis (Edinb)*, 2001, 81(1-2): 87-96. doi: 10.1054/tube.2000.0260.
- [12] Dannenberg Jr AM. Liquefaction and cavity formation in pulmonary TB; a simple method in rabbit skin to test inhibitors. *Tuberculosis (Edinb)*, 2009, 89(4): 243-247. doi: 10.1016/j.tube.2009.05.006.
- [13] Manabe YC, Dannenberg AJ, Tyagi SK, et al. Different strains of *Mycobacterium tuberculosis* cause various spectrums of disease in the rabbit model of tuberculosis. *Infect Immun*, 2003, 71(10): 6004-6011. doi: 10.1128/IAI.71.10.6004-6011.2003.
- [14] Popov BV, Sutula GI, Petrov NS, et al. Preparation and characterization of the antibody recognizing AMACR inside its catalytic center. *Int J Oncol*, 2018, 52(2): 547-559. doi: 10.3892/ijo.2017.4220.
- [15] Liu P, Jiang H, Li S, et al. Determination of anti-tuberculosis drug concentration and distribution from sustained release microspheres in the vertebrae of a spinal tuberculosis rabbit model. *J Orthop Res*, 2017, 35(1): 200-208. doi: 10.1002/jor.23236.
- [16] Yue X, Zhu X, Wu L, et al. A comparative study of a rabbit spinal tuberculosis model constructed by local direct infection via the posterior lateral approach. *Sci Rep*, 2022, 12(1):

12853. doi:10.1038/s41598-022-16624-2.
- [17] 乔永杰, 李松凯, 甄平, 等. 不同浓度结核菌建立兔脊柱结核模型的对比研究. 中国矫形外科杂志, 2017, 25(5):459-465. doi:10.3977/j.issn.1005-8478.2017.05.15.
- [18] Geng G, Wang Q, Shi J, et al. Establishment of a New Zealand Rabbit Model of Spinal Tuberculosis. J Spinal Disord Tech, 2015, 28(3):E140-E145. doi:10.1097/BSD.000000000000191.
- [19] 涂振阳, 蓝常贡, 谢克恭, 等. 兔结核病模型的应用研究进展. 微生物学杂志, 2019, 39(6):102-108. doi:10.3969/j.issn.1005-7021.2019.06.014.
- [20] Andre E, Isaacs C, Affolabi D, et al. Connectivity of diagnostic technologies: improving surveillance and accelerating tuberculosis elimination. Int J Tuberc Lung Dis, 2016, 20(8):999-1003. doi:10.5588/ijtld.16.0015.
- [21] 罗飞. 脊柱结核的治疗. 中华骨科杂志, 2014, 34(5):598.
- [22] 中国防痨协会临床专业委员会. 结核病临床诊治进展年度报告(2011年). 中国防痨杂志, 2012, 34(6):393-403.
- [23] 侯长浩, 路小欢, 陆雪儿, 等. 新型结核疫苗的研究进展. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(8):925-929. doi:10.13350/j.cjpb.180830.
- [24] Liu X, Jia W, Wang H, et al. Establishment of a rabbit model of spinal tuberculosis using *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv. Jpn J Infect Dis, 2015, 68(2):89-97. doi:10.7883/yoken.JJID.2014.147.
- [25] 陈振, 吴鹏, 马荣, 等. 构建新西兰兔脊柱结核模型的实验研究. 宁夏医科大学学报, 2015, 37(10):1124-1127. doi:10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2015.10.003.
- [26] 耿广起. 新西兰兔脊柱结核模型的构建及评价相关实验研究. 银川:宁夏医科大学, 2012.
- [27] Liu X, Wang Y, Jia W. Early diagnosis of spinal tuberculosis by magnetic resonance: perfusion weighted imaging in a rabbit model. BMC Med Imaging, 2022, 22(1):142. doi:10.1186/s12880-022-00870-x.
- [28] 蒲育, 环明苍. 脊柱结核并发 HIV 感染/AIDS 患者的诊治现状与进展概述. 中国防痨杂志, 2020, 42(5):428-435. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2020.05.004.
- [29] 范顺武, 胡子昂. 重视脊柱结核化学药物治疗的重要性. 中国骨伤, 2017, 30(9):783-786. doi:10.3969/j.issn.1003-0034.2017.09.001.
- [30] Hasenoehrl EJ, Wiggins TJ, Berney M. Bioenergetic Inhibitors: Antibiotic Efficacy and Mechanisms of Action in *Mycobacterium tuberculosis*. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10:611683. doi:10.3389/fcimb.2020.611683.
- [31] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南(2019年简版). 中国防痨杂志, 2019, 41(10):1025-1073. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2019.10.001.
- [32] 邓强, 李军杰, 张彦军, 等. 复治脊柱结核规范化治疗的再认识与思考. 兰州大学学报(医学版), 2019, 45(4):54-60. doi:10.13885/j.issn.1000-2812.2019.04.011.
- [33] Wang XW, Liu JJ, Wu QN, et al. The *in vitro* and *in vivo* effects of microRNA-133a on intervertebral disc destruction by targeting MMP9 in spinal tuberculosis. Life Sci, 2017, 188:198-205. doi:10.1016/j.lfs.2017.07.022.
- [34] Wang W, Yang B, Cui Y, et al. Isoliquiritigenin attenuates spinal tuberculosis through inhibiting immune response in a New Zealand white rabbit model. Korean J Physiol Pharmacol, 2018, 22(4):369-377. doi:10.4196/kjpp.2018.22(4):369-377.
- [35] Zhao Y, Jiao Y, Wang L. Hesperidin methyl chalcone alleviates spinal tuberculosis in New Zealand white rabbits by suppressing immune responses. J Spinal Cord Med, 2020, 43(4):532-539. doi:10.1080/10790268.2018.1507805.
- [36] 周文强, 张爽, 初乃惠. 耐药肺结核全口服治疗方案研究的现状和展望. 中国防痨杂志, 2021, 43(9):879-882. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2021.09.005.
- [37] 戈朝晖, 马荣, 陈振, 等. 载异烟肼及利福平白蛋白纳米粒治疗兔脊柱结核的实验观察. 中国脊柱脊髓杂志, 2018, 28(3):253-261. doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2018.03.10.
- [38] 黄正辉, 刘炜, 王静丽. 脂肪间充质干细胞复合利福平缓释微球在脊柱结核动物模型中的应用. 中国组织工程研究, 2017, 21(26):4192-4198. doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2017.26.016.
- [39] Ma R, Zhang J, Chen Z, et al. Treatment of spinal tuberculosis in rabbits using bovine serum albumin nanoparticles loaded with isoniazid and rifampicin. Neurol Res, 2022, 44(3):268-274. doi:10.1080/01616412.2021.1979749.
- [40] Wang Z, Maimaitiaili A, Wang T, et al. Rifapentine Polylactic Acid Sustained-Release Microsphere Complex for Spinal Tuberculosis Therapy: Preparation, *in vitro* and *in vivo* Studies. Infect Drug Resist, 2021, 14:1781-1794. doi:10.2147/IDR.S304864.
- [41] 赵皎洁, 陆宇. 抗结核药物药代动力学/药效学的研究及进展. 中国防痨杂志, 2019, 41(6):700-704. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2019.06.020.

(收稿日期:2023-01-09)

(本文编辑:于菲 李敬文)