

•综述•

脊柱侧凸动物模型制造方法研究进展

孟董超 刘海峰 赵轶波 赵斌

摘要 脊柱侧凸是一种人类脊柱在三维结构上出现多曲性侧方移位伴椎体旋转的疾病,其发病机制涉及的因素众多,目前仍不能完全明确。由于伦理的要求和实验内容的限制,脊柱侧凸的相关实验无法直接在人类身上进行,而在动物模型中可以预先进行疾病机制、治疗方法等多方面的探索和研究,获得大量样本数据并进行初步筛查和选择,这为疾病研究奠定了坚实的基础,因此动物模型也成为此疾病研究的重要工具。该文就脊柱侧凸动物模型制造方法研究进展进行综述。

关键词 脊柱侧凸;动物模型;造模方法;基因编辑

DOI: 10.3969/j. issn. 1673-7083. 2023. 05. 005

脊柱侧凸是一种强基因相关性、多种外部因素共同参与的全身性疾病,目前的研究仍不能完全明确疾病的复杂机制,还需要继续在动物模型上进行大量的实验探索。根据疾病的发病原因,脊柱侧凸既可以是原发疾病,也可以是神经、肌肉疾病伴随的继发症状,目前尚无一种动物模型可以完全模仿人类脊柱侧凸完整的发病过程,因此在实验时应根据具体的研究目的选择脊柱侧凸造模方法^[1]。随着对脊柱侧凸这一疾病认识的不断加深,造模方法越来越成熟细致,结果也越来越接近临床层面的脊柱侧凸。药物性诱导方法是在动物胚胎或幼年期时通过体内或体外采用化学药物、激素等方法使动物脊索、未成熟脊柱发育失衡诱导脊柱侧凸,这种方法多用于研究致病因素及其机制,操作简便,致畸效果明确,但许多药物会引起全身其他系统功能障碍,目前可稳定使用的造模方法有限。外部操作性诱导方法多为采用长时间畸形固定方法诱导发育期动物脊柱偏向生长,许多操作的核心是重现脊柱侧凸的外观表现,因此对自发性脊柱侧凸复杂的发病机制涉及较少^[2],但此方法成功率高,适用物种广泛,对脊柱形态学及生物力学研究意义重大。近年来,由于基因相关技术的快速发展,通过基因编辑技术可以得

到对疾病分子水平精准定位的基因编辑动物模型,它们在疾病研究中具有极其重要的地位。本文对近年来较为成熟的数种脊柱侧凸动物模型制造方法进行了总结,为研究者们提供了新的参考。

1 内部药物性诱导方式

1.1 激素水平异常模型

褪黑素作为生物节律的调节激素一直被认为与脊柱侧凸发生密切相关^[3]。近来研究表明,褪黑素可以通过结合细胞表面广泛存在的褪黑素受体 2 (MT2) 调节丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路、蛋白激酶 C (PKC) 信号通路等一系列途径,参与间充质干细胞 (MSC) 向成骨细胞分化、成骨细胞增殖以及软骨内成骨等发育过程,与脊柱生长发育密切相关^[4]。因此,学者们希望通过调节动物体内褪黑素或 MT2 水平诱导脊柱侧凸动物模型,以此研究脊柱侧凸的形态学改变以及褪黑素相关致病机制。目前降低发育动物血清褪黑素水平的造模方法多样,如通过连续给双足 SD 大鼠腹腔内注射褪黑素受体拮抗剂 2-苯基-N-乙酰色胺 (Luzindole) 诱导伴随椎体高度增加的脊柱侧凸动物模型^[5]。近来,由于基因编辑技术的成熟,逐渐实现了对激素表达的精准调控,如通过敲除 C57BL/6 小鼠褪黑素转化酶相关 NAT 基因诱导脊柱侧凸动物模型^[6],这样可避免使用药物诱导的不良反应。目前低水平褪黑素的发病机制未完全明确,仍需通过动物模型进行进一步研究。

雌激素是存在于人体内的性激素之一,与褪黑素具有协同作用,可调节女性第二性征及骨代

基金项目:山西省留学人员科技活动择优资助项目(2020040)、山西省回国留学人员科研资助项目(2022-197)

作者单位:030001 山西太原,山西医科大学(孟董超、刘海峰);
030001 山西太原,山西医科大学第二医院骨科(赵轶波、赵斌)

通信作者:赵斌 E-mail: zzb2005@163.com

谢相关的生长节律^[7],它的异常对女性椎体骨化与骨密度维持影响较大,可导致发育中的脊柱出现侧凸畸形^[8]。此外,在实验中选用雌性动物,脊柱侧凸的发病率会更高^[9]。研究还发现,瘦素、骨桥蛋白和钙调蛋白等激素也参与椎体骨化过程,通过调节它们的表达水平可以影响脊柱侧凸的严重程度和进展^[10],在诱导动物模型时可以酌情使用,缩短造模时间。

未来仍需对动物模型中脊柱侧凸机制激素体系具体影响途径进行进一步研究,这对于人类脊柱侧凸疾病的研究具有深远意义。在研究时可以结合基因组测序及基因编辑等方法,更精准地调节激素表达或研究激素相关作用位点及通路。

1.2 单侧椎旁肌注模型

直立动物的椎旁肌对维持脊柱平衡具有重要作用^[11],当出现长期椎旁肌力量失衡后,脊柱由于弯曲压迫会出现侧凸畸形。在造模时可以模拟脊柱双侧力学失衡的原理,采用单侧注射改变肌力的药物方式诱导动物发生脊柱侧凸。肉毒素是由肉毒杆菌在繁殖过程中产生的蛋白质,它通过抑制神经肌肉接头处乙酰胆碱释放阻滞神经冲动传导,从而导致肌肉麻痹^[12]。在单侧椎旁肌肉多点注射A型肉毒素可以造成椎旁单侧肌肉无力以及脊柱曲度改变。但此方法存在动物安全性等问题而无法广泛使用。长期使用地塞米松会导致肌肉萎缩^[13],因此单侧椎旁肌肉注射地塞米松诱导双侧椎旁肌力失衡是更安全的方法,可以考虑作为脊柱侧凸造模方法来使用。研究发现,注射转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)可以改变肌肉内胶原蛋白含量,从而改变肌肉传递力量的能力,这也可以达到诱导椎旁肌力失衡的目的^[14]。通过药物注射改变双侧肌力,不损伤动物的神经、内分泌功能,是研究继发性脊柱侧凸病理变化的良好选择之一。

1.3 低氧诱导模型

研究发现,妊娠小鼠经低氧处理后胚胎细胞内Notch信号通路遭受破坏,这会导致胚胎前体节中胚层发育障碍,脊柱发育引导受损,最终出现脊柱侧凸畸形。例如,将怀孕C57/BL小鼠置于低氧环境中,出生小鼠会发生严重的脊柱侧凸合并多个半椎体、融合椎体或分裂椎体等畸形,这符合先天性脊柱侧凸的表现^[15]。还有研究发现,幼鼠脊柱侧凸严重程度会随着环境氧含量的减低而加重,在怀孕不同时期进行低氧处理,幼鼠侧凸

节段也不相同^[16]。因此,低氧诱导方法具有致畸结果可控的独特优势,是研究自发性脊柱侧凸合适的造模方法。但需要注意的是,过度的低氧诱导模型一般还会合并严重的心血管及各种器官疾病,死亡率高,且此方法对低氧条件要求苛刻,操作具有一定难度。

2 外部操作性诱导方式

2.1 脊柱双侧力学失衡模型

随着手术技术的进步和固定器械的发展,脊柱固定的方式多种多样,适用范围十分广泛^[1]。对于小型动物,多采用脊柱周围间接固定的方式,在不损伤脊柱结构的前提下可获得稳定的侧凸模型。例如,通过内固定或外固定的操作栓系幼龄双足大鼠的肩胛骨及同侧骨盆,这样可以诱导结构性脊柱侧凸模型,它不论从椎体结构上还是椎旁肌改变上都与特发性脊柱侧凸患者生理特性相似^[17]。对于山羊、猪等大型动物,多采用使脊柱受力更连续且固定更牢靠的多重固定的方法将脊柱和肋骨等周围结构复合固定,这种方式涉及了肋骨固定及单侧胸廓变形,会造成动物模型单侧肺部体积减小和呼吸功能减低,更符合实际脊柱侧凸患者的临床表现,是研究手术治疗效果的良好模型^[18]。脊柱硬性固定方式会导致椎间盘退变及椎体间融合,椎间盘生物学功能将极大丧失,这不利于对脊柱侧凸动物模型的观察。若选用脊柱柔性固定方式,脊柱就可保留一定范围的活动能力,动物模型会保持一定的椎间盘功能,这更符合人类脊柱侧凸的实际情况,同时柔性固定还在最大程度上保留了椎体再次生长的潜能,更有利于固定后的脊柱生长塑形^[19-20]。

2.2 神经损伤模型

临床上部分青少年特发性脊柱侧凸(AIS)患者的大脑或小脑存在解剖上的不对称,这可能与AIS发生发展有关。脑和脊髓作为神经系统的一部分对身体不同功能的肌肉组进行着精细且快速的调节,这是维持人类脊柱平衡系统的重要保障。损伤神经系统功能后,脊柱受力失衡并逐渐发生脊柱侧凸,如破坏幼龄大鼠半侧大脑感觉皮质或脑干等结构后,双侧感觉运动整合失衡,多数动物会出现侧凸畸形^[21]。内耳前庭器官作为平衡觉的重要部分在发育型脊柱侧凸中越来越被重视。实验研究发现,破坏内耳前庭器官后,动物出现脊柱侧凸表现,这可能是平衡感觉异常后脊柱无法维

持平衡导致^[22]。近年来,随着基因技术的快速发展,与神经发育相关的重要基因可以被人为调控并制造出脊柱侧凸动物模型,这对神经功能异常导致的脊柱侧凸研究十分重要。

2.3 两侧非脊柱结构不对称改变模型

胸椎周围结构的对称与完整性保障了其对脊柱传导的力的平衡,若改变这种对称结构,随着持续的呼吸及生长发育,胸椎会逐渐产生侧凸畸形,应注意由于胸廓与脊柱真正传导力的连接结构是肋椎关节^[23],破坏单侧肋骨时一定要包含肋椎关节才能保证造模成功。研究发现,在破坏同一处肋骨时,采用不同入路对胸廓完整的张力系统影响不同,如肋骨内侧后方横断术可以造成猪的明显侧凸畸形,而前侧和后外侧入路手术致畸效果却不明显^[24]。此方式仅针对胸椎侧凸模型的建立,适用的物种范围也较窄。

神经中央软骨是发育中脊柱椎体与椎弓根相连处的生长软骨版,受损后会影椎骨及椎弓根的发育^[25]。有学者利用单侧神经中央软骨受损后椎体及椎弓根发育不对称原理成功构建了脊柱侧凸动物模型,如对3周龄幼猪的脊柱单侧连续植入椎弓根螺钉破坏中央软骨后,该侧椎体发育会较对侧停滞,随着生长,最终会出现脊柱侧凸并伴随椎体旋转,这符合临床上早发性脊柱侧凸患者的表现^[26]。此方法不破坏胸廓等正常结构,对神经损伤小。在造模时应注意使用足够低龄的动物以确保神经中央软骨的存在,应选择较大型号的椎弓根钉以保证神经中央软骨的完全破坏。

3 基因编辑诱导模型

脊柱侧凸发病机制复杂,目前仍未完全明确,随着基因测序方法的成熟,学者们发现脊柱侧凸与基因关系密切,多种信号通路和分子异常表达都可以诱导出脊柱曲度变化。有学者通过家族连锁性分析和散发性病例的全基因组关联研究(GWAS)发现了许多与脊柱侧凸可能相关的基因变异位点^[27],筛选出了相关候选基因群,这对于脊柱侧凸的研究意义重大。为了明确脊柱侧凸相关分子及其机制,学者们开始通过基因编辑技术对胚胎的这些基因位点进行单独干预或同时联合其他类型造模方法一起干预来诱导研究需要的脊柱侧凸动物模型。通过观察模型的各种表型以及分子生物学的异同点,可以更深入、准确地研究诱导疾病发生的有效基因起始点和调节疾病进展

的基因关键点,因此基因编辑也成为了目前制造脊柱侧凸动物模型的热点方法之一。

目前通过基因筛选技术选择出的脊柱侧凸相关基因涉及软骨发育、骨化、神经发育等许多致病机制,通过基因编辑技术可以获得相关表型的动物模型,如编辑软骨代谢调节和凋亡相关基因后会导致脊柱侧凸伴随椎骨发育异常或软骨内骨化过程的代谢障碍^[28-30],这有助于更好地展开对脊柱侧凸相关机制及分子、通路的研究,观察脊柱侧凸整体进展。脊柱骨化过程的异常一直也是脊柱侧凸潜在机制之一,通过基因编辑技术调节成骨细胞、破骨细胞数量和功能后,脊柱发育过程中椎骨将出现不均匀骨化发育并伴随脊柱曲度改变^[31-32]。在脊柱侧凸的研究中,肌肉不对称性也一直被认为是继发性脊柱侧凸的病因之一^[14,33],以往改变动物模型肌肉力量的方法多为神经手术或药物注射,现在可以用基因编辑的方法诱导肌肉结构发育异常^[34-35],基因编辑方式创伤更小,也更适合对先天性肌肉疾病导致的脊柱形态改变的研究。神经对于肌肉的支配具有重要作用,神经功能异常会使脊柱丧失平衡调节能力,诱发脊柱侧凸。神经功能异常涉及的疾病众多,手术方式虽然可以直接影响局部神经结构达到致畸效果,但由于神经结构复杂精细,对某些导致脊柱侧凸的神经系统疾病(如神经脱髓鞘疾病、本体感觉障碍等)用手术方式难以精准实现。此外,手术对技术要求高,一般极容易损伤神经周围结构,动物死亡率高,并发症多,这都极大限制了对疾病的研究,即使微创手术也不能完全避免无用损伤。采用基因编辑方法可以弥补手术造模方式创伤过大的不足,直接干预神经发育,以便于更精细地研究脊柱侧凸及某些特殊的神经疾病,如 *NGLY1* 基因敲除大鼠模型会发生感觉、运动障碍等神经表现并发生脊柱侧凸^[36], *Piezo2* 基因敲除可以导致动物本体感觉丧失并出现脊柱侧凸畸形,相关研究扩大了本体感觉对骨骼系统发育的潜在影响^[37]。脊索是脊柱形成前期在胚胎中起支撑和引导作用的细胞条索,在胚胎发育过程中脊索对于维持胚胎的对称性发育至关重要^[38-39],也是脊柱形成保持平衡对称的基础,脊索发育异常与脊柱侧凸关系密切。研究发现, *DSTYK* 基因改变可以导致斑马鱼胚胎的脊索液泡发生缺陷,胚胎对称性生长状态被破坏,脊柱发育生长出现畸形^[40]。相关研究为先天性脊

柱侧凸的发病提供了新视角。

许多与脊柱侧凸相关的位点已被先前的 GWAS 确定为脊柱侧凸的候选基因,部分基因编辑动物脊柱侧凸表型与人类相似,如调节 *TBX6* 家族基因导致的椎体畸形及脊柱侧凸改变,是合适的疾病研究对象^[41]。但不可忽视的是,由于目前大部分基因位点的生物学意义仍不完全明确,基因编辑的动物模型仍存在许多缺陷,还需要进行大量验证,许多基因编辑动物除了脊柱侧凸表现外还会出现各种基因相关联合病变,如骨化调节 *Phosphol* 等基因异常动物除了脊柱畸形外,还常伴有自发性骨折及全身软骨发育异常等表现^[42],这种全身性表现在一般的脊柱侧凸患者中并不常见,说明某些基因动物模型仅适合特殊基因疾病的研究,并不能应用于脊柱侧凸一般研究中。此外,基因动物价格昂贵、可应用物种较少,还无法广泛应用。

目前,第三代测序技术和单细胞测序技术等遗传研究方法的出现有助于更准确、方便地检测脊柱侧凸相关染色体变异和基因突变,上述困难也在逐渐被克服。鉴于基因编辑方法的优势和潜力,这种精准的造模方式必将受到越来越多的关注,成为未来实验动物造模方法的新趋势,结合基因编辑技术制造的动物模型在今后数年内必将帮助脊柱侧凸的研究。

4 结语

人类脊柱侧凸的病因及机制复杂多样,目前的动物模型大多是模拟已知的某种单一致病机制诱导动物致畸,虽然越来越接近人类脊柱侧凸的表现,但没有一种动物模型可以完全模仿人类脊柱侧凸完整的发病过程。因此,在实际应用中应在确定研究目标后选择最合理的建模方法去制造动物模型,才能更好地完成对疾病机制的探索。

参考文献

- [1] Ouellet J, Odent T. Animal models for scoliosis research: state of the art, current concepts and future perspective applications[J]. Eur Spine J, 2013, 22 (Suppl 2): S81-S95.
- [2] Bobyn JD, Little DG, Gray R, et al. Animal models of scoliosis[J]. J Orthop Res, 2015, 33(4): 458-467.
- [3] Meiring AR, de Kater EP, Stadhouders A, et al. Current models to understand the onset and progression of scoliotic deformities in adolescent idiopathic scoliosis: a systematic review[J]. Spine Deform, 2023, 11(3): 545-558.
- [4] Liang ZT, Guo CF, Li J, et al. The role of endocrine hormones in the pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis[J]. FASEB J, 2021, 35(9): e21839.
- [5] Yang S, Zheng C, Jiang J, et al. The value of applying a melatonin antagonist (Luzindole) in improving the success rate of the bipedal rat scoliosis model[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2017, 18(1): 137.
- [6] Man GC, Wang WW, Yim AP, et al. A review of pinealectomy-induced melatonin-deficient animal models for the study of etiopathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(9): 16484-16499.
- [7] Kulis A, Goździalska A, Drąg J, et al. Participation of sex hormones in multifactorial pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis[J]. Int Orthop, 2015, 39(6): 1227-1236.
- [8] Peng Y, Wang SR, Qiu GX, et al. Research progress on the etiology and pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis[J]. Chin Med J (Engl), 2020, 133(4): 483-493.
- [9] Wise CA, Sepich D, Ushiki A, et al. The cartilage matrisome in adolescent idiopathic scoliosis[J]. Bone Res, 2020, 8: 13.
- [10] Xie H, Li M, Kang Y, et al. Zebrafish: an important model for understanding scoliosis[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(9): 506.
- [11] Skuplik I, Cobb J. Animal models for understanding human skeletal defects[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1236: 157-188.
- [12] 沈晓龙, 周许辉, 刘洋, 等. A 型肉毒毒素一侧椎旁肌注射建立双足直立鼠脊柱侧凸模型的初步研究 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2012, 22(9): 824-828.
- [13] Wang BY, Hsiao AW, Wong N, et al. Is dexamethasone-induced muscle atrophy an alternative model for naturally aged sarcopenia model? [J]. J Orthop Translat, 2022, 39: 12-20.
- [14] Peng H, Jin F, Meng D, et al. Exploring the pathological role of collagen in paravertebral muscle in the progression of idiopathic scoliosis[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 1527403.
- [15] Venzin OF, Oates AC. What are you synching about? Emerging complexity of Notch signaling in the segmentation clock[J]. Dev Biol, 2020, 460(1): 40-54.
- [16] Sparrow DB, Chapman G, Smith AJ, et al. A mechanism for gene-environment interaction in the etiology of congenital scoliosis[J]. Cell, 2012, 149(2): 295-306.
- [17] Liu L, Zhu Y, Han X, et al. The creation of scoliosis by scapula-to-contralateral ilium tethering procedure in bipedal rats: a kyphoscoliosis model[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(17): 1340-1349.
- [18] Zhang Y, Shi Z, Li W, et al. A porcine model of early-onset scoliosis combined with thoracic insufficiency syndrome: construction and transcriptome analysis[J]. Gene, 2023, 858: 147202.
- [19] Newton PO. Spinal growth tethering: indications and limits[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(2): 27.
- [20] Latalski M, Szponder T, Starobrat G, et al. Reactivation of vertebral growth plate function in vertebral body tethering in an animal model[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(19): 11596.
- [21] Domenech J, Barrios C, Tormos JM, et al. Somatosensory cortectomy induces motor cortical hyperexcitability and scoliosis: an experimental study in developing rats[J]. Spine J, 2013, 13(8): 938-946.
- [22] Gordy C, Straka H. Vestibular influence on vertebrate skeletal

- symmetry and body shape[J]. *Front Syst Neurosci*, 2021, 15: 753207.
- [23] Liebsch C, Wilke HJ. How does the rib cage affect the biomechanical properties of the thoracic spine? A systematic literature review[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10: 904539.
- [24] Cervera-Irimia J, González-Miranda Á, Riquelme-García Ó, et al. Scoliosis induced by costotransversectomy in minipigs model[J]. *Med Glas (Zenica)*, 2019, 16(2): 184-190.
- [25] Wen J, Wang D, Fang K, et al. Effect of neurocentral cartilage destruction on spinal growth in immature rabbits[J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(2): 951-961.
- [26] 赵检. 成人脊柱畸形术后近端交界性后凸的影响因素分析及刚度渐变结构对其预防的生物力学机制研究[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2020.
- [27] Claussnitzer M, Cho JH, Collins R, et al. A brief history of human disease genetics[J]. *Nature*, 2020, 577(7789): 179-189.
- [28] Liu Z, Ramachandran J, Vokes SA, et al. Regulation of terminal hypertrophic chondrocyte differentiation in Prmt5 mutant mice modeling infantile idiopathic scoliosis[J]. *Dis Model Mech*, 2019, 12(12): dmm041251.
- [29] Ulici V, Kelley KL, Longobardi L, et al. Impaired annulus fibrosus development and vertebral fusion cause severe scoliosis in mice with deficiency of c-Jun NH2-terminal kinases 1 and 2[J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(4): 868-885.
- [30] Kodama K, Takahashi H, Oiji N, et al. CANT1 deficiency in a mouse model of Desbuquois dysplasia impairs glycosaminoglycan synthesis and chondrocyte differentiation in growth plate cartilage[J]. *FEBS Open Bio*, 2020, 10(6): 1096-1103.
- [31] Wu Z, Dai Z, Yuwen W, et al. Genetic variants of CHD7 are associated with adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2021, 46(11): E618-E624.
- [32] Ishiwata S, Iizuka H, Sonoda H, et al. Upregulated miR-224-5p suppresses osteoblast differentiation by increasing the expression of Pai-1 in the lumbar spine of a rat model of congenital kyphoscoliosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 475(1-2): 53-62.
- [33] Liu Y, Pan A, Hai Y, et al. A symmetric biomechanical characteristics of the paravertebral muscle in adolescent idiopathic scoliosis[J]. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, 2019, 65: 81-86.
- [34] Lleras-Forero L, Newham E, Teufel S, et al. Muscle defects due to perturbed somite segmentation contribute to late adult scoliosis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(18): 18603-18621.
- [35] Agarwal M, Sharma A, Kumar P, et al. Myosin heavy chain-embryonic regulates skeletal muscle differentiation during mammalian development[J]. *Development*, 2020, 147(7): dev184507.
- [36] Asahina M, Fujinawa R, Nakamura S, et al. Ngly1 ^{-/-} rats develop neurodegenerative phenotypes and pathological abnormalities in their peripheral and central nervous systems[J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(10): 1635-1647.
- [37] Assaraf E, Blecher R, Heinemann-Yerushalmi L, et al. Piezo2 expressed in proprioceptive neurons is essential for skeletal integrity[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3168.
- [38] Harfe BD. Intervertebral disc repair and regeneration: insights from the notochord[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2022, 127: 3-9.
- [39] Bagwell J, Norman J, Ellis K, et al. Notochord vacuoles absorb compressive bone growth during zebrafish spine formation[J]. *Elife*, 2020, 9: e51221.
- [40] Sun X, Zhou Y, Zhang R, et al. Dstyk mutation leads to congenital scoliosis-like vertebral malformations in zebrafish via dysregulated mTORC1/TFEB pathway[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 479.
- [41] Zhang W, Yao Z, Guo R, et al. Molecular identification of T-box transcription factor 6 and prognostic assessment in patients with congenital scoliosis: a single-center study[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022, 9: 941468.
- [42] Javaheri B, Carriero A, Staines KA, et al. Phospho1 deficiency transiently modifies bone architecture yet produces consistent modification in osteocyte differentiation and vascular porosity with ageing[J]. *Bone*, 2015, 81: 277-291.

(收稿日期 : 2023-05-06)

(收稿日期 : 卢千语)