

氧化应激与椎间盘退变

崔敏 邵增务

摘要 活性氧是细胞新陈代谢活动的副产物,具有重要的生理作用。内源性和外源性活性氧与机体抗氧化防御系统严重失衡会导致氧化应激。氧化应激在椎间盘退变中发挥重要作用,可引起椎间盘细胞死亡和细胞外基质退变。该文就氧化应激与椎间盘退变研究进展作一综述。

关键词 氧化应激;椎间盘退变;细胞死亡;细胞外基质退变

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2017.02.010

大多数人在一生中会经历腰背痛,而椎间盘退变是腰背痛的重要原因之一,不仅给患者带来痛苦,也为社会带来巨大的经济负担^[1]。目前对于椎间盘退变的治疗除物理疗法外,主要采用非甾体类抗炎药物缓解症状,若病情进展则需手术治疗。早期干预椎间盘退变并无有效手段,需在进一步明确病因的基础上采取针对性措施。然而,目前椎间盘退变病因尚不清楚,衰老、氧化应激、机械压力、吸烟、感染、创伤和遗传等均可能促进椎间盘退变^[2]。椎间盘细胞死亡所造成的椎间盘细胞减少和细胞外基质退变是椎间盘退变主要特征,而氧化应激在上述病理过程中扮演了重要角色。

1 椎间盘活性氧

氧化应激是指机体或细胞内活性氧(ROS)过量生成而与相应的抗氧化防御系统之间严重失衡,导致细胞或组织损伤^[3]。ROS主要是O₂的单电子还原产物,常见的ROS有超氧阴离子(O₂⁻·)、过氧化氢(H₂O₂)、羟自由基(·OH)等,其中过氧化氢和羟自由基可由超氧阴离子反应得到,因此超氧阴离子是最重要的ROS组分。这些小分子含有不成对电子,性质不稳定,易于与蛋白、脂质、糖类及核酸发生反应,不可逆地将其灭活。ROS是正常细胞新陈代谢活动的副产物,具有重要的生理作用。中低浓度的ROS可杀灭病原、促进伤口愈合和组织再生,化疗和放疗很大程度上也通过ROS摧毁肿瘤细胞。然而,ROS过量产生会严重影响机体稳态并造成组

织损伤。

1.1 正常 ROS 来源

1.1.1 内源性来源

细胞内的线粒体、内质网、过氧化物酶体、细胞核、细胞膜等亚细胞结构均可产生ROS,其中线粒体是内源性ROS产生的最主要部位,同时也最易受到攻击。线粒体内膜含有一系列线粒体呼吸链酶复合物,线粒体呼吸链“漏出”的电子可为自由基生成提供单电子,这是大多数哺乳动物细胞中ROS的主要来源。当机体因衰老、退变、疾病等而出现线粒体呼吸链功能下降或损伤时,漏出的电子增多,使得ROS生成增多,更易引起氧化应激。

1.1.2 外源性来源

空气污染物、吸烟、放射、食物和药物等均可造成氧化应激。化学药物(如醌类)、重金属(如铅、砷、汞、铬、镉)、有机溶剂、农药是常见的ROS外源性来源^[4]。肿瘤化疗常伴随药物毒性不良反应,化疗药物所致的ROS是毒性产生的基础,可导致ROS水平明显升高的化疗药物有蒽环类、烷化剂、铂类、表鬼白毒素类和喜树碱^[5]。

1.2 退变椎间盘 ROS 来源

椎间盘是人体最大的无血运组织,可帮助脊柱完成前屈后伸、左右侧弯及旋转运动,同时还具有“脊柱减震器”的功能。它主要由三部分构成:外层的纤维环、中央的髓核及上下的软骨终板。椎间盘细胞无直接的血管供养,主要依靠相邻的上下软骨终板渗透支持。椎间盘细胞处在高压、高渗透压、低氧、低pH的微环境中^[6]。因此,相较于人体其他组织,椎间盘更早且更易发生退变。退变椎间盘中裂纹数目及大小不断增加,并发生由外向内的新生血管化,同时椎间盘水分及基质蛋白多糖进行性丢

基金项目:国家重点研发计划重点专项(2016YFC1100100)、国家自然科学基金面上项目(81572203)

作者单位:430022 武汉, 华中科技大学同济医学院附属协和医院骨科

通信作者:邵增务 E-mail:SZWpro@163.com

失,而蛋白多糖减少会导致纤维化程度增高,进一步诱发裂纹,增加纤维环破裂的风险,还可能发生软骨终板硬化、相邻软骨质下骨微小骨折^[7]。上述改变将造成椎间盘细胞营养供应减少和代谢废物累积。在这种情况下,新生血管形成可增加椎间盘细胞血供,从而增加营养供应,但同时原先无血管组织的异常血供可增加 ROS 产生,导致氧化应激^[8-9]。此外,某些细胞因子如白细胞介素(IL)、肿瘤坏死因子(TNF)- α 等可导致 ROS 产生,从而在椎间盘退变过程中发挥重要作用^[10-11]。

1.3 机体抗氧化防御系统

在有氧环境下,尽管 ROS 不断产生,机体仍可通过抗氧化体系来对抗氧化应激。机体抗氧化防御系统主要包括酶促和非酶促机制拮抗氧化反应。主要内源性酶促抗氧化物有超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶、过氧化物还原酶等,其中 SOD 和 CAT 是主要的抗 ROS 酶。内源性非酶促抗氧化物主要有谷胱甘肽、硫氧还原蛋白、褪黑素等。而外源性抗氧化物包括维生素 C、维生素 E、部分矿物质(如锌、硒)等。它们共同构成了机体抗氧化防御系统,在抵抗氧化应激与延缓衰老过程中发挥重要作用。ROS 与抗氧化防御系统平衡是保持内环境稳态的必要条件。随着器官组织的衰老,ROS 产生增加,机体抗氧化防御系统效能逐渐降低^[12]。这使氧化应激逐渐占据优势,氧化应激所造成的损伤不断积累。研究^[13]发现,随着衰老的发展,血清及椎间盘中的 SOD 水平不断降低。

2 氧化应激与椎间盘退变

2.1 氧化应激与椎间盘细胞死亡

氧化应激可导致多种类型的细胞损伤,包括 DNA 断裂、蛋白质氧化和羰基化、脂质过氧化、线粒体衰竭、钙稳态变化、肌动蛋白重组、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)和谷胱甘肽消耗等^[14]。目前学者们认为,细胞凋亡是椎间盘细胞死亡的主要方式。Chen 等^[15]研究表明,过氧化氢通过下调线粒体膜电位和释放细胞色素 c 诱导细胞凋亡,即通过内源性途径导致髓核细胞凋亡。细胞色素 c 被释放到细胞质中,激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(caspase)-9,进而激活 caspases-3、caspases-6、caspases-7^[16]。研究^[17-19]证实,许多药物或材料可保护椎间盘细胞免于受到强氧化应激所造成的细胞死亡。

此外,过氧化氢还可通过细胞外调节蛋白激酶

(ERK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号转导通路诱导髓核细胞发生自噬,且自噬发生早于凋亡,抑制自噬可下调由氧化应激导致的凋亡^[15]。Park 等^[20]研究证实,高糖诱导的氧化应激通过破坏线粒体促进脊索细胞自噬。Ma 等^[21]研究发现,压力诱导的氧化应激与髓核细胞自噬密切相关。自噬在导致椎间盘细胞程序性死亡的同时,也是椎间盘细胞在微环境下通过降解细胞内细胞器或受损蛋白来维持生存的必要方式之一。

2.2 氧化应激与椎间盘细胞外基质退变

椎间盘细胞外基质退变主要是由于细胞外基质合成与分解代谢失衡。细胞外基质合成减少及可降解细胞外基质的蛋白酶类活性增高,直接导致细胞外基质分解代谢增加。某些蛋白水解酶可降解椎间盘细胞外基质,研究较多的为基质金属蛋白酶(MMP)、含 I 型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶(ADAMTS)等。金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)可调节 MMP 和 ADAMTS 的活性,它们在椎间盘细胞外基质退变中发挥重要作用。

2.2.1 椎间盘细胞外基质组分变化

组成椎间盘的主要物质有水、胶原、蛋白多糖、弹性蛋白等。髓核细胞外基质主要成分为水、蛋白聚糖、II 型胶原及弹性蛋白。其中蛋白聚糖含有大量带负电的黏多糖侧链(如硫酸软骨素、硫酸角质素等),不仅具有亲水性,而且可以吸附阳离子,造成髓核内高渗透压,使髓核富含水分,从而可以起到“减震”作用。纤维环包围髓核,其细胞外基质中胶原含量很高,其中外层纤维环主要为 I 型胶原。从外层向内层,I 型胶原与 II 型胶原比例减少。在椎间盘退变早期,总体上胶原合成是增加的,尤其是 II 型胶原明显增加,这可能由机体修复机制造成^[22]。但当椎间盘退变进展时,胶原合成发生变化,即 II 型胶原更多见于外层纤维环,而内层纤维环和髓核合成 I 型胶原增加,使得组织纤维化,抗压能力降低。在严重退变的椎间盘中,尤其是在椎间盘裂隙周围可发现 X 型胶原,X 型胶原分泌被认为与氧化应激相关^[23-24]。椎间盘中晚期糖基化标志性产物为戊糖素和羧甲基赖氨酸。免疫形态学研究^[25]表明,老年人退变椎间盘羧甲基赖氨酸水平较年轻人正常椎间盘高。胶原纤维之间正常交联物主要是吡啶啉,而在退变椎间盘中则以戊糖素为主,这种变化使得椎间盘组织更易受到剪切力破坏。退变椎间盘中晚期糖基化产物不断积累表明氧化应激可造成椎间盘损

伤。此外,胶原长半衰期(如Ⅱ型胶原半衰期超过100年)使其易于受到晚期糖基化产物累积造成的损害。ROS水平明显增高可能使得椎间盘细胞外基质成分受到晚期糖基化产物的损伤,从而进一步造成细胞外基质退变。

2.2.2 椎间盘细胞表型变化

氧化应激与椎间盘细胞死亡密切相关,实际上退变椎间盘中尚存活的细胞合成细胞外基质的能力也明显下降。研究^[26]表明,严重退变椎间盘髓核中与衰老相关的 β -半乳糖苷酶阳性细胞比例显著高于正常椎间盘髓核。这表明随着椎间盘退变程度的加重,椎间盘细胞衰老进一步加剧。通常情况下,衰老细胞中TIMP表达下调,而细胞外基质降解相关蛋白酶和胶原酶表达上调^[27-28]。这种变化表明,相比于以合成代谢表型为主的正常细胞,衰老细胞主要表现为分解代谢表型。研究^[29]表明,过氧化氢诱导的衰老髓核细胞MMP-1、MMP-2、MMP-9及ADAMTS-5表达上调,而TIMP及蛋白聚糖表达减少。研究^[30]发现,将人髓核细胞暴露于正常氧环境后,其MMP-1、MMP-3、ADAMTS-5水平较暴露于低氧环境(5%O₂)下上调,表明氧化应激可上调椎间盘中MMP表达。研究^[31]表明,纳米富勒醇可通过降低MMP-3、MMP-9、ADAMTS-5表达延缓氧化应激下椎间盘细胞外基质降解。氧化应激所致的退变椎间盘细胞表型以分解代谢为主,进一步加重了椎间盘细胞外基质退变。

3 结语

椎间盘退变是与衰老明显相关的疾病,体内ROS不断积累与机体和细胞老化密切相关。目前氧化应激导致椎间盘细胞死亡机制中仅有椎间盘细胞凋亡、自噬的报道,椎间盘细胞坏死性凋亡可能是今后研究的热点。如何调控椎间盘内ROS含量,使其能与抗氧化防御系统处于平衡状态以改善氧化应激,进而实现以ROS为椎间盘退变治疗靶点,也是今后努力的方向。

参考文献

- [1] Kepler CK, Ponnappan RK, Tannoury CA, et al. The molecular basis of intervertebral disc degeneration[J]. *Spine J*, 2013, 13(3):318-330.
- [2] Suzuki S, Fujita N, Hosogane N, et al. Excessive reactive oxygen species are therapeutic targets for intervertebral disc degeneration[J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17:316.
- [3] Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, et al. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases[J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(2):329-354.
- [4] Yildirim A, Mavi A, Oktay M, et al. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (*Tilia argentea* Desf ex DC), sage (*Salvia triloba* L.), and black tea (*Camellia sinensis*) extracts[J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(10):5030-5034.
- [5] Conklin KA. Chemotherapy-associated oxidative stress: impact on chemotherapeutic effectiveness[J]. *Integr Cancer Ther*, 2004, 3(4):294-300.
- [6] Wang F, Shi R, Cai F, et al. Stem cell approaches to intervertebral disc regeneration: obstacles from the disc microenvironment[J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(21):2479-2495.
- [7] Vo N, Niedernhofer LJ, Nasto LA, et al. An overview of underlying causes and animal models for the study of age-related degenerative disorders of the spine and synovial joints[J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(6):831-837.
- [8] Kim KW, Chung HN, Ha KY, et al. Senescence mechanisms of nucleus pulposus chondrocytes in human intervertebral discs[J]. *Spine J*, 2009, 9(8):658-666.
- [9] Sivan SS, Tsitron E, Wachtel E, et al. Age-related accumulation of pentosidine in aggrecan and collagen from normal and degenerate human intervertebral discs[J]. *Biochem J*, 2006, 399(1):29-35.
- [10] Yang W, Yu XH, Wang C, et al. Interleukin-1beta in intervertebral disk degeneration[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 450:262-272.
- [11] Mavrogenatou E, Angelopoulou MT, Kletsas D. The catabolic effect of TNFalpha on bovine nucleus pulposus intervertebral disc cells and the restraining role of glucosamine sulfate in the TNFalpha-mediated up-regulation of MMP-3[J]. *J Orthop Res*, 2014, 32(12):1701-1707.
- [12] Poljsak B, Suput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013:956792.
- [13] Hou G, Lu H, Chen M, et al. Oxidative stress participates in age-related changes in rat lumbar intervertebral discs[J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2014, 59(3):665-669.
- [14] Cerella C, Coppola S, Maresca V, et al. Multiple mechanisms for hydrogen peroxide-induced apoptosis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1171:559-563.
- [15] Chen JW, Ni BB, Li B, et al. The responses of autophagy and apoptosis to oxidative stress in nucleus pulposus cells: implications for disc degeneration[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 34(4):1175-1189.
- [16] Walsh CM. Grand challenges in cell death and survival: apoptosis vs. necroptosis[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2014, 2:3.
- [17] Krupkova O, Handa J, Hlavna M, et al. The natural polyphenol epigallocatechin gallate protects intervertebral disc

- cells from oxidative stress[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016:7031397.
- [18] Chen J, Hou C, Chen X, et al. Protective effect of cannabidiol on hydrogen peroxide-induced apoptosis, inflammation and oxidative stress in nucleus pulposus cells [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(3):2321-2327.
- [19] Chu H, Yu H, Ren D, et al. Plumbagin exerts protective effects in nucleus pulposus cells by attenuating hydrogen peroxide-induced oxidative stress, inflammation and apoptosis through NF-kappaB and Nrf-2[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(6):1669-1676.
- [20] Park EY, Park JB. High glucose-induced oxidative stress promotes autophagy through mitochondrial damage in rat notochordal cells[J]. *Int Orthop*, 2013, 37(12):2507-2514.
- [21] Ma KG, Shao ZW, Yang SH, et al. Autophagy is activated in compression-induced cell degeneration and is mediated by reactive oxygen species in nucleus pulposus cells exposed to compression[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(12):2030-2038.
- [22] Takaishi H, Nemoto O, Shiota M, et al. Type-II collagen gene expression is transiently upregulated in experimentally induced degeneration of rabbit intervertebral disc [J]. *J Orthop Res*, 1997, 15(4):528-538.
- [23] Boos N, Nerlich AG, Wiest I, et al. Immunolocalization of type X collagen in human lumbar intervertebral discs during ageing and degeneration[J]. *Histochem Cell Biol*, 1997, 108(6):471-480.
- [24] Nerlich AG, Schleicher ED, Boos N. 1997 Volvo Award winner in basic science studies. Immunohistologic markers for age-related changes of human lumbar intervertebral discs[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1997, 22(24):2781-2795.
- [25] Nerlich AG, Bachmeier BE, Schleicher E, et al. Immunomorphological analysis of RAGE receptor expression and NF-kappaB activation in tissue samples from normal and degenerated intervertebral discs of various ages[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1096:239-248.
- [26] Feng C, Liu H, Yang M, et al. Disc cell senescence in intervertebral disc degeneration: causes and molecular pathways[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(13):1674-1684.
- [27] Campisi J. Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors [J]. *Cell*, 2005, 120(4):513-522.
- [28] Cristofalo VJ, Lorenzini A, Allen RG, et al. Replicative senescence: a critical review[J]. *Mech Ageing Dev*, 2004, 125(10-11):827-848.
- [29] Dimozi A, Mavrogenatou E, Sklirou A, et al. Oxidative stress inhibits the proliferation, induces premature senescence and promotes a catabolic phenotype in human nucleus pulposus intervertebral disc cells[J]. *Eur Cell Mater*, 2015, 30:89-102.
- [30] Nasto LA, Robinson AR, 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.
- [31] Yang X, Jin L, Yao L, et al. Antioxidative nanofullerol prevents intervertebral disk degeneration [J]. *Int J Nanomedicine*, 2014, 9:2419-2430.

(收稿:2016-12-21;修回:2017-01-02)

(本文编辑:卢千语)