

# 纤维环损伤致椎间盘退行性病变机制及生物学治疗研究进展

傅向羽 邓国英 赵庆华

**摘要** 纤维环损伤与椎间盘退行性病变(IDD)的发生密切相关。纤维环损伤主要涉及机械负荷的影响、纤维环基质金属蛋白酶水解异常及纤维环营养供应障碍等方面。纤维环损伤后继发的炎症反应和生物力学性能改变使 IDD 发生和发展。修复纤维环、维持纤维环完整性在 IDD 预防和治疗中具有重要意义。细胞移植、基因治疗以及纤维环组织工程构建等生物学治疗方法有助于纤维环的修复。该文就纤维环损伤导致 IDD 机制及生物学治疗研究进展作一综述。

**关键词** 纤维环损伤;椎间盘退行性病变;生物学治疗;组织工程

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-7083.2017.05.011

椎间盘退行性病变(IDD)是引起中老年人腰痛、腰椎间盘突出症的主要原因之一<sup>[1-2]</sup>。研究<sup>[3-4]</sup>发现,纤维环损伤与 IDD 的发生密切相关,修复纤维环或可预防 IDD 的发生和发展。一些修复纤维环的生物学治疗措施如细胞移植、基因治疗和纤维环组织工程等,展现出有潜力的治疗前景<sup>[5-6]</sup>。本文就纤维环损伤致 IDD 的机制及纤维环修复的生物学治疗研究进展进行综述。

## 1 纤维环损伤与 IDD 发生

### 1.1 纤维环损伤机制

纤维环损伤主要涉及机械负荷的影响、纤维环基质金属蛋白酶(MMP)水解异常及纤维环营养供应障碍 3 个方面。

椎间盘的主要功能是传输力学负荷并提供脊柱活动度<sup>[7]</sup>。当椎间盘承受压力负荷时,髓核产生静态压力并传导到外层纤维环,在纤维环片层结构中产生环向应力,而内层纤维环中的蛋白多糖可作为力学缓冲减缓该过程<sup>[8]</sup>。在人类直立和各种承重活动中产生的高机械负荷下,静态压力增大易使椎间盘变形,致椎间盘内液体被慢慢挤出,椎间盘组织渗透压升高和 pH 值降低<sup>[9]</sup>。这种细胞微环境的变化可影响纤维环细胞的代谢活性和细胞外基质成分,并且影响纤维环营养物质和生物活性因子的供应。纤维环细胞外基质损伤区域较大可导致纤维环层状结构解体,引发纤维环的机械损伤。

MMP 是一种降解酶,它主要作用于纤维环细胞外基质的胶原成分<sup>[10]</sup>,使纤维环细胞外基质降解。基质降解与基质修复失衡可使纤维环细胞外基质成分紊乱,导致纤维环损伤,这是 IDD 发生的重要原因之一<sup>[11]</sup>。大量研究发现,退变椎间盘组织中 MMP-1、MMP-7、MMP-9 及 MMP-13 基因的 mRNA 表达增高。近期研究<sup>[11]</sup>也发现,MMP 相关基因在 IDD 患者中有较高表达,表明 MMP 基因表达异常可能在 IDD 遗传易感性中发挥重要作用。

椎间盘组织作为体内最大的无血管组织,其营养代谢具有特殊性。少部分外层纤维环依赖椎间盘边缘处血供获得营养物质,内层纤维环以及大部分外层纤维环的营养则由椎体毛细血管供给,经软骨终板渗透而来。随着年龄增长,软骨终板逐渐钙化、骨化甚至骨折,软骨终板的渗透性以及血供均下降,导致纤维环内氧分压、营养成分(如葡萄糖含量)、含水量均降低,使纤维环细胞的生长活性及合成代谢受到影响<sup>[12]</sup>。低营养环境可通过线粒体途径诱导纤维环细胞凋亡,甚至还可发生继发性坏死,促进细胞外基质降解,导致纤维环损伤<sup>[13]</sup>。由于氧分压相对不足,纤维环细胞主要通过糖酵解进行能量代谢而产生乳酸,乳酸大量堆积形成的酸性环境可激活 MMP,加重纤维环损伤。

除上述因素外,一些生化刺激如无血清培养、一氧化氮、高脂质过氧化水平、缺氧诱导因子-1 $\alpha$  等也可诱导或增加纤维环细胞程序性死亡<sup>[14]</sup>。

### 1.2 纤维环损伤导致 IDD

#### 1.2.1 炎症反应

纤维环损伤后可发生微断裂并形成环形裂隙,

基金项目:上海市浦江人才计划项目资助基金(16PJD040)、上海交通大学“医工交叉基金”项目(YG2016MS19)

作者单位:201620, 上海交通大学附属第一人民医院骨科

通信作者:赵庆华 E-mail: sawboneszhao@163.com

致使髓核突出。随着环形裂隙形成,血管组织和神经末梢深入到椎间盘,可在局部引起强烈的免疫反应,产生多种高浓度炎性因子,如白细胞介素(IL)-1、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 等,促进IDD发生<sup>[15]</sup>。

IL-1在正常椎间盘中的表达由IL-1受体I型(IL-1RI)与IL-1受体拮抗剂(IL-1Ra)之间的平衡所控制<sup>[16]</sup>。纤维环损伤后这种平衡可能被破坏使IL-1表达异常,从而导致椎间盘内细胞表型变化,细胞外基质合成被抑制,降解酶合成增强<sup>[17]</sup>,IL-1正反馈调节其余炎性因子的生成以及触发椎间盘细胞凋亡<sup>[18]</sup>,诱发IDD发生。

TNF- $\alpha$ 以类似于IL-1的方式影响椎间盘的合成和分解代谢,即抑制椎间盘内细胞外基质合成,促进细胞外基质分解。TNF- $\alpha$ 可上调MMP基因表达,抑制椎间盘基质合成并加速基质中聚集蛋白聚糖的降解,诱发IDD<sup>[19]</sup>。TNF- $\alpha$ 还可初步建立与疼痛之间的联系<sup>[18]</sup>。纤维环损伤后,游离神经末梢长入纤维环外环裂隙,TNF- $\alpha$ 表达上调,介导椎间盘对邻近神经根的刺激效应,患者出现疼痛反应<sup>[20-21]</sup>。

### 1.2.2 生物力学性能改变

纤维环损伤引起的炎症反应改变了椎间盘微环境,导致纤维环细胞凋亡和细胞外基质降解等一系列纤维环成分的改变,最终使椎间盘生物力学性能改变。纤维环损伤导致髓核内液体的潜在损失,引起椎间盘内静水压下降,导致椎间盘刚度和抗压能力均显著下降。而椎间盘压力的变化会直接影响椎间盘内细胞的代谢与活性。正常情况下,中低强度生理范围内的静态压力可促进蛋白多糖合成并抑制MMP合成,从而促进椎间盘内细胞外基质的合成代谢。纤维环损伤后,过高的静态压力将减少蛋白多糖合成并促进MMP合成,引起基质分解代谢增加而导致基质质量减少。纤维环损伤后,过高的压力负荷还可引起纤维环细胞凋亡<sup>[22]</sup>。纤维环基质缺损和细胞凋亡使纤维环完整性遭到破坏,并可引起纤维环层状结构解体,最终导致纤维环内的环向应力分布不均,出现局部高应力区域和低应力区域,使椎间盘的力学抗压性能下降,不断加重IDD<sup>[22]</sup>。

## 2 纤维环修复的生物学治疗

纤维环损伤并诱发IDD后,可通过修复纤维环损伤来缓解或治疗IDD。然而,在正常椎间盘中,纤维环的自我修复功能微弱而缓慢,难以依靠自我修复达到治疗的目的。因此,细胞移植、基因治疗以及纤

维环组织工程等生物学治疗方法被尝试用于治疗中。

### 2.1 细胞移植

细胞移植可增加纤维环中活细胞数量,促进纤维环基质成分积累,是纤维环修复的理想方法。作为天然椎间盘细胞,间充质干细胞(MSC)移植更利于纤维环再生<sup>[23]</sup>。MSC能够长期自我更新,并能在不同环境中分化成多种特异细胞。研究<sup>[24]</sup>发现,将MSC注射到椎间盘髓核组织后,其可迁移到内层纤维环,增强纤维环细胞生存能力和增殖活性;同时,MSC还可增加纤维环内蛋白多糖含量,修复细胞外基质,维持纤维环微环境的稳定。纤维环修复后血管组织和神经末梢不再长入椎间盘,同时MSC可分化并表达Fas配体(FasL),使椎间盘组织维持免疫豁免状态,消除炎症反应。研究表明,刺激椎间盘的内源性MSC可能成为修复纤维环损伤,治疗IDD的新靶点;与单独培养髓核细胞相比,MSC与髓核细胞共培养可增强细胞增殖水平和端粒酶活性<sup>[25]</sup>,可用于治疗IDD。

### 2.2 基因治疗

基因治疗可通过降解mRNA来降低相关基因表达水平,或通过病毒、非病毒载体将外源性基因插入细胞以增加功能性基因表达<sup>[26]</sup>。但由于各种原因、可能的不良反应及伦理问题,基因治疗还未广泛应用于临床。有关纤维环损伤基因治疗的研究中,慢病毒载体表达的shRNA沉默C/EBP同源蛋白(CHOP)被证明能抑制纤维环细胞因循环拉伸引起的细胞凋亡,可改善大鼠退变椎间盘模型的MRI和组织学评分<sup>[27]</sup>。CHOP是由内质网应激诱导产生的蛋白,生理条件下检测不到,但可随细胞应激而显著增加,并最终通过下调Bcl-2和上调Bim表达诱导细胞凋亡<sup>[27]</sup>,抑制CHOP表达可阻止细胞凋亡。研究<sup>[28]</sup>显示,CHOP可增加循环拉伸36h后纤维环细胞凋亡率,因此可能是干扰循环拉伸诱导的纤维环细胞凋亡的有效目标基因。利用RNA干扰的慢病毒载体可抑制CHOP基因表达,因此可用于抑制大鼠体内或体外的纤维环细胞凋亡,减轻整个IDD的过程。

### 2.3 纤维环组织工程构建

IDD发生后,损伤的纤维环由于细胞数量减少和承受应力能力减退,自我修复功能基本丧失,且椎间盘作为封闭的无血管组织,使纤维环的修复更为困难。因此,通过纤维环的组织工程构建再生椎间盘,可能是IDD晚期更为有效的治疗方法。构建时

先制备具有不同孔隙率和纤维取向的可降解生物支架,使其类似于原生细胞外基质的成分和排列,然后将种子细胞(纤维环细胞或 MSC)种植于支架内,并加入适当的生物活性因子模仿纤维环的三维生存环境,促进种子细胞表型表达,最后形成组织工程纤维环来替代受损纤维环,以防止椎间盘突出及减缓椎间盘的进一步退变<sup>[29]</sup>。

纤维环组织工程的种子细胞主要有纤维环细胞和 MSC 等。研究<sup>[30]</sup>发现,将自体纤维环细胞植入退变椎间盘不会发生免疫排斥反应,也不需要诱导分化,细胞增殖明显且具有活性,并可合成蛋白多糖、胶原等多种细胞外基质成分来修复纤维环。自体 MSC 在退变椎间盘组织中能分化出类似于纤维环细胞的纺锤形细胞,并使纤维环总蛋白聚糖含量显著增加,可修复纤维环应力不均区域并阻止椎间盘高度下降<sup>[31]</sup>。

用于纤维环组织工程的生物支架不仅要有良好的机械性能、生物相容性和可降解性,还必须能够填补和修复损伤纤维环以及模拟天然纤维环的生理结构<sup>[32]</sup>。鉴于纤维环本身特殊的组织结构,支架需定向或非定向模拟纤维环组织的片层结构以及双向模拟纤维环的内外层结构<sup>[33]</sup>。目前使用的丝支架与天然纤维环非常相似,在纤维环组织工程中具有应用价值。

生物活性因子可促进纤维环蛋白多糖合成,恢复椎间盘高度并将细胞从分解代谢状态转变为合成代谢状态。这些活性因子包括生长和分化因子(GDF)-5、转化生长因子(TGF)- $\beta$ 、胰岛素样生长因子(IGF)-1 和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等。IGF-1、TGF- $\beta$  可诱导内层纤维环的纤维软骨细胞群增殖,并可聚集蛋白聚糖和 II 型胶原的 mRNA 高度表达以修复损伤纤维环细胞及细胞外基质。在兔 IDD 模型中,GDF-5 能恢复椎间盘高度、改善 IDD 模型的 MRI 评分和组织学评分,被证明是促进纤维环再生的有效生物活性因子<sup>[34]</sup>。成骨蛋白(OP)-1 作为 TGF- $\beta$  超家族成员之一,具有刺激纤维环细胞外基质形成的潜在能力。有研究<sup>[35]</sup>表明,将 OP-1 注入大鼠退变椎间盘可增加纤维环细胞外基质生成和抑制疼痛相关行为,提示 OP-1 可能具有再生纤维环的功效,在修复纤维环以逆转 IDD 的研究中具有很好的应用前景。

### 3 结语

纤维环损伤与 IDD 发生密切相关。纤维环在

机械刺激、生物学刺激和营养障碍等影响下易发生损伤,并引发炎症反应和引起椎间盘生物力学性能的改变,最终诱发 IDD。生理情况下,纤维环的自我修复功能微弱而缓慢,但细胞移植、基因治疗以及纤维环组织工程构建等方法有助于纤维环的修复,纤维环修复对于缓解甚至逆转 IDD 有重要意义,但这些治疗方法的临床应用研究还需要进一步探索。

### 参考文献

- [1] Cao Y, Liao S, Zeng H, et al. 3D characterization of morphological changes in the intervertebral disc and endplate during aging: a propagation phase contrast synchrotron micro-tomography study[J]. Sci Rep, 2017, 7:43094.
- [2] Yaman ME, Kazanci A, Yaman ND, et al. Factors that influence recurrent lumbar disc herniation[J]. Hong Kong Med J, 2017, 23(3):258-263.
- [3] Zhou X, Chen L, Grad S, et al. The roles and perspectives of microRNAs as biomarkers for intervertebral disc degeneration[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2017, [Epub ahead of print].
- [4] Gooyers CE, Callaghan JP. Peak stress in the annulus fibrosus under cyclic biaxial tensile loading[J]. J Biomech Eng, 2016, 138(5):051006.
- [5] Li XD, Kong Q. Repair and regenerative therapies of the annulus fibrosus of the intervertebral disc [J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2016, 26(2):138-144.
- [6] Li X, Kong Q. Development and challenges of annulus fibrosus tissue engineering[J]. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi, 2015, 29(4):498-502.
- [7] Zhang SJ, Yang W, Wang C, et al. Autophagy: a double-edged sword in intervertebral disk degeneration[J]. Clin Chim Acta, 2016, 457:27-35.
- [8] Iu J, Santerre JP, Kandel RA. Inner and outer annulus fibrosus cells exhibit differentiated phenotypes and yield changes in extracellular matrix protein composition in vitro on a polycarbonate urethane scaffold[J]. Tissue Eng Part A, 2014, 20(23/24):3261-3269.
- [9] Wang S, Rui Y, Lu J, et al. Cell and molecular biology of intervertebral disc degeneration: current understanding and implications for potential therapeutic strategies [J]. Cell Prolif, 2014, 47(5):381-390.
- [10] Liu H, Pan H, Yang H, et al. LIM mineralization protein-1 suppresses TNF- $\alpha$  induced intervertebral disc degeneration by maintaining nucleus pulposus extracellular matrix production and inhibiting matrix metalloproteinases expression [J]. J Orthop Res, 2015, 33(3):294-303.
- [11] Chou PH, Wang ST, Yen MH, et al. Fluid-induced, shear stress-regulated extracellular matrix and matrix metalloproteinase genes expression on human annulus fibrosus cells[J]. Stem Cell Res Ther, 2016, 7:34.

- [12] Wu Y, Cisewski S, Sachs BL, et al. Effect of cartilage endplate on cell based disc regeneration; a finite element analysis[J]. *Mol Cell Biomech*, 2013, 10(2):159-182.
- [13] Shirazi-Adl A, Taheri M, Urban JG. Analysis of cell viability in intervertebral disc; effect of endplate permeability on cell population[J]. *J Biomech*, 2010, 43(7):1330-1336.
- [14] Merceron C, Mangiavini L, Robling A, et al. Loss of HIF-1 $\alpha$  in the notochord results in cell death and complete disappearance of the nucleus pulposus[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10):e110768.
- [15] Li XF, Xue CC, Zhao YJ, et al. Deletion of OPG leads to increased neovascularization and expression of inflammatory cytokines in the lumbar intervertebral disc of mice[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2017, 42(1):E8-E14.
- [16] Wang Z, Qu Z, Fu C, et al. Interleukin 1 polymorphisms contribute to intervertebral disc degeneration risk; a meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(6):e0156412.
- [17] Wang J, Chen H, Cao P, et al. Inflammatory cytokines induce caveolin-1/ $\beta$ -catenin signalling in rat nucleus pulposus cell apoptosis through the p38 MAPK pathway[J]. *Cell Prolif*, 2016, 49(3):362-372.
- [18] Xu F, Gao F, Liu Y, et al. Bioinformatics analysis of molecular mechanisms involved in intervertebral disc degeneration induced by TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3):2925-2931.
- [19] Wang C, Yu X, Yan Y, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; a key contributor to intervertebral disc degeneration[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2017, 49(1):1-13.
- [20] Chen B, Liu Y, Zhang Y, et al. IL-21 is positively associated with intervertebral disc degeneration by interaction with TNF- $\alpha$  through the JAK-STAT signaling pathway[J]. *Inflammation*, 2017, 40(2):612-622.
- [21] Zhang Y, Zhao Y, Li J, et al. Interleukin-9 promotes TNF- $\alpha$  and PGE2 release in human degenerated intervertebral disc tissues[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2016, 41(21):1631-1640.
- [22] Hsieh AH, Twomey JD. Cellular mechanobiology of the intervertebral disc: new directions and approaches[J]. *J Biomech*, 2010, 43(1):137-145.
- [23] Noriega DC, Ardura F, Hernández-Ramajo R, et al. Intervertebral disc repair by allogeneic mesenchymal bone marrow cells; a randomized controlled trial [J]. *Transplantation*, 2017, 101(8):1945-1951.
- [24] Chun HJ, Kim YS, Kim BK, et al. Transplantation of human adipose-derived stem cells in a rabbit model of traumatic degeneration of lumbar discs [J]. *World Neurosurg*, 2012, 78(3/4):364-371.
- [25] Korecki CL, Taboas JM, Tuan RS, et al. Notochordal cell conditioned medium stimulates mesenchymal stem cell differentiation toward a young nucleus pulposus phenotype [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2010, 1(2):18.
- [26] Niemansburg SL, van Delden JJ, Dhert WJ, et al. Regenerative medicine interventions for orthopedic disorders; ethical issues in the translation into patients[J]. *Regen Med*, 2013, 8(1):65-73.
- [27] Wang Y, Zhu J, Zhang L, et al. Role of C/EBP homologous protein and endoplasmic reticulum stress in asthma exacerbation by regulating the IL-4/signal transducer and activator of transcription 6/transcription factor EC/IL-4 receptor a positive feedback loop in M2 macrophages[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, [Epub ahead of print].
- [28] Zhang YH, Zhao CQ, Jiang LS, et al. Cyclic stretch-induced apoptosis in rat annulus fibrosus cells is mediated in part by endoplasmic reticulum stress through nitric oxide production [J]. *Eur Spine J*, 2011, 20(8):1233-1243.
- [29] Bowles RD, Gebhard HH, Härtl R, et al. Tissue-engineered intervertebral discs produce new matrix, maintain disc height, and restore biomechanical function to the rodent spine[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(32):13106-13111.
- [30] Zhou P, Guo Q, Ling F, et al. Progress and challenges in tissue engineering of intervertebral disc annulus fibrosus[J]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2016, 45(2):132-140.
- [31] Nau C, Henrich D, Seebach C, et al. Tissue engineered vascularized periosteal flap enriched with MSC/EPCs for the treatment of large bone defects in rats[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(4):907-917.
- [32] van Uden S, Silva-Correia J, Correlo VM, et al. Custom-tailored tissue engineered polycaprolactone scaffolds for total disc replacement[J]. *Biofabrication*, 2015, 7(1):015008.
- [33] Choy AT, Chan BP. A structurally and functionally biomimetic biphasic scaffold for intervertebral disc tissue engineering[J]. *PLoS One*, 2015, 10(6):e0131827.
- [34] Li YF, Tang XZ, Liang CG, et al. Role of growth differentiation factor-5 and bone morphogenetic protein type II receptor in the development of lumbar intervertebral disc degeneration[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(1):719-726.
- [35] Shasti M, Jacquet R, McClellan P, et al. Effects of FGF-2 and OP-1 in vitro on donor source cartilage for auricular Reconstruction tissue engineering [J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2014, 78(3):416-422.

(收稿:2017-03-13;修回:2017-08-09)

(本文编辑:杨晓娟)