

白藜芦醇与椎间盘退变性疾病

蔡同川 张亮

摘要 椎间盘退变性疾病发生机制主要包括机械应力、高糖、炎症反应、氧化应激和细胞衰老导致的髓核细胞退变。目前研究发现,白藜芦醇可通过影响椎间盘髓核细胞自噬、凋亡、衰老及细胞外基质表达,达到保护及修复髓核细胞的目的,因此白藜芦醇在椎间盘退变性疾病中的作用值得研究。该文就白藜芦醇对椎间盘退变性疾病中髓核细胞的保护作用及其作用机制进行综述。

关键词 椎间盘退变性疾病;白藜芦醇;髓核细胞;自噬;凋亡

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2021.01.006

随着生活及劳动方式的改变,各种原因导致的椎间盘退变性疾病(IDD)发病率不断增高^[1]。目前除手术治疗外,IDD 药物治疗研究较少^[2]。研究发现,IDD 发生与椎间盘细胞细胞外基质(ECM)代谢、自噬、凋亡及衰老等多种因素有关。髓核细胞作为椎间盘中最为重要的细胞组成部分之一,其衰老与凋亡则成为 IDD 发生发展的重要影响因素。

白藜芦醇于 1940 年由 Michio 首次从白藜芦根茎中提取,并由此得名。此外,白藜芦醇也广泛存在于各种浆果、花生、大豆及黑巧克力中^[3]。目前研究发现,白藜芦醇可改善骨关节炎、神经退变性疾病、心血管疾病、糖尿病及血管淀粉样变等^[4]。白藜芦醇对 IDD 的治疗作用除与其抗氧化、抗炎及调节糖代谢有关外,还可能通过多个信号转导通路影响髓核细胞凋亡、自噬及 ECM 合成^[5]。目前白藜芦醇改善 IDD 的相关研究还处于基础阶段,本文就白藜芦醇通过多种途径改善 IDD 的研究进展进行综述。

1 白藜芦醇对髓核细胞的影响

1.1 影响 ECM 合成

椎间盘包括软骨终板、纤维环及髓核。髓核是一种凝胶状基质,含有丰富的水、蛋白聚糖及Ⅱ型胶原^[6],维持髓核组织的 ECM 平衡对椎间盘正常功能至关重要。目前研究发现,在 IDD 发生发展过程

中,髓核组织 ECM 降解增加,同时合成受到限制,从而影响椎间盘生物力学性能,加重椎间盘退变进程^[7]。在细胞层面,机械负荷、活性氧自由基、高糖及炎症因子均可诱导氧化应激反应发生,从而促进 ECM 分解代谢^[8-10]。在机体层面,高强度的机械压缩应力可减少 ECM 合成,增加其降解,破坏基质代谢和平衡^[11-12]。

Gao 等^[8]通过过氧化氢(H₂O₂)制作髓核细胞氧化应激损伤模型,并施加白藜芦醇及白藜芦醇抑制剂(3-MA)干预,结果发现白藜芦醇干预后可促进 ECM 表达,上调自噬相关标记物表达,并与磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号转导通路活性改变显示出相似趋势;进一步分析发现,3-MA通过抑制自噬减少 ECM 产生,但对 PI3K/Akt 信号转导通路没有影响。由此认为,白藜芦醇可能通过 PI3K/Akt 信号转导通路激活自噬,从而促进 ECM 合成,进而减轻氧化应激损伤导致的椎间盘退变。Han 等^[11]通过灌注培养和压缩应力制作髓核细胞压缩应力损伤模型,结果发现损伤后髓核细胞中 ECM 表达显著降低,PI3K/Akt 信号转导通路的活性明显低于未损伤髓核细胞;白藜芦醇干预后 ECM 表达呈剂量依赖性增加,可促进 PI3K/Akt 信号转导通路活性。这进一步说明白藜芦醇可能通过激活 PI3K/Akt 信号转导通路改善氧化应激及机械应力损伤导致的髓核细胞 ECM 表达下降。

沈皆亮等^[13]提取老年腰椎间盘突出症患者的髓核细胞并施加白藜芦醇干预,结果发现白藜芦醇可以促进髓核细胞合成 ECM;进一步将沉默信息转录调控因子(SIRT)1 特异性 siRNA 转染到退变髓

基金项目:江苏省青年医学重点人才项目(QNRC2016342)、江苏省妇幼保健科研重点资助项目(F201801)、江苏省高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才科研项目(LGY2019035)

作者单位:116000, 大连医科大学研究生院(蔡同川); 225001, 大连医科大学扬州临床医学院(张亮)

通信作者:张亮 E-mail: zhangliang6320@sina.com

核细胞,结果证实白藜芦醇对人髓核细胞 ECM 合成影响的机制与 SIRT1 调节相关。刘沪喆等^[14]进一步研究白藜芦醇对人髓核细胞 ECM 合成的调控作用及其机制,结果发现白藜芦醇可通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号转导通路促进 ECM 表达。因此,白藜芦醇可能通过 SIRT1 及 Wnt/ β -catenin 等信号转导通路促进人退变髓核细胞 ECM 合成。

除氧化应激及机械应力损伤外,炎症反应也是导致 ECM 降解的重要因素之一。在炎症反应导致的椎间盘退变过程中,基质金属蛋白酶(MMP)是降解 ECM 的主要因素。Wang 等^[15]研究发现,白藜芦醇可通过激活磷酸腺苷激活蛋白激酶(AMPK)/SIRT1 信号转导通路抑制肿瘤坏死因子(TNF)- α 介导的 MMP-3 表达,进而表现出对 ECM 的保护作用。Wu 等^[16]比较腰椎间盘突出症手术患者及腰椎骨折手术患者术中取出的髓核组织中 SIRT1 及 ECM 表达,结果发现退变椎间盘髓核中 SIRT1 及 ECM 表达减少,MMP-1 表达增加,而加入白藜芦醇后可以逆转这一情况,由此说明白藜芦醇可通过影响 MMP-1 及 SIRT1 表达促进 ECM 表达。

此外,随着髓核细胞培养传代次数的增加,去分化细胞比例不断增加,使得细胞表型发生改变,从而减少 ECM 表达。沈皆亮等^[17]研究发现,白藜芦醇可以通过 SIRT1 信号转导通路恢复去分化的髓核细胞表型,从而促进 ECM 合成。

1.2 影响细胞自噬

自噬是一种高度保守的分解代谢过程,真核细胞可通过激活自噬维持足够的代谢功能、生物能量水平及氨基酸储备来促进细胞存活^[18]。正常条件下自噬基础水平较低,主要受压力和细胞外因子影响而被激活^[18]。

研究发现,白藜芦醇作为 SIRT1 的活化剂,可通过多种途径调节髓核细胞自噬,从而对髓核细胞提供保护作用^[8,15,19];白藜芦醇可激活人退变髓核细胞中 SIRT1 活性,促使自噬相关蛋白 LC3 表达增加,促进 LC3-I 向 LC3-II 转化,进而提高自噬水平^[20]。Zhang 等^[19]研究发现,白藜芦醇可激活髓核细胞自噬并逆转氧化应激诱导的髓核细胞线粒体损伤;加入自噬抑制剂后,白藜芦醇介导的线粒体功能保护作用被明显逆转。

白藜芦醇作为 SIRT1 的激活剂,可抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)活性,延缓细胞衰老^[19]。SIRT1/AMPK 信号转导通路是除 mTOR

信号转导通路外另一重要的自噬体形成信号级联调节方式,该通路可在热量限制的情况下诱导自噬。Wang 等^[15]研究发现,白藜芦醇可通过激活 SIRT1/AMPK 信号转导通路激活髓核细胞发生自噬,从而减少 TNF- α 介导的 MMP-3 表达增加。由于自噬对热量限制非常敏感,而白藜芦醇可模拟热量限制的功能^[10,21],所以通过白藜芦醇可以模拟热量限制激活细胞自噬,进而抑制髓核细胞退变。

1.3 影响细胞凋亡

在 IDD 发生发展过程中,髓核细胞先表现出退变性改变,主要表现为细胞凋亡增加^[7,22]。因此,可以认为髓核细胞凋亡是 IDD 的典型特征之一。多种因素如异常应力及各种应激损伤均可导致髓核细胞凋亡。Zhang 等^[12]研究发现,高强度的机械压缩应力可促进髓核细胞凋亡并激活细胞外调节蛋白激酶(ERK)1/2 信号转导通路,而白藜芦醇可以通过剂量依赖性方式抑制髓核细胞凋亡及 ERK1/2 信号转导通路,从而推测白藜芦醇可以通过抑制 ERK1/2 信号转导通路抑制压缩应力导致的髓核细胞凋亡。

近年来,研究证实糖尿病是 IDD 的重要病因之一^[23-25]。Wang 等^[9]研究白藜芦醇对高糖诱导的髓核细胞凋亡的影响,结果发现白藜芦醇可以部分缓解高糖诱导的髓核细胞凋亡、衰老及细胞内活性氧自由基生成,且可降低高糖诱导的 PI3K/Akt 信号转导通路,由此证实白藜芦醇可通过激活 PI3K/Akt 信号转导通路减轻高糖诱导的髓核细胞衰老及凋亡。Wang 等^[9]采用白藜芦醇及 SIRT1 抑制剂处理人退变髓核细胞,结果发现白藜芦醇干预的髓核细胞凋亡率显著低于以 SIRT1 抑制剂处理的髓核细胞,且髓核细胞 Akt 磷酸化水平也呈相同趋势,由此认为 SIRT1 通过 Akt 抗凋亡信号转导通路减少人退变髓核细胞凋亡。

此外,细胞炎症因子也是导致 IDD 发生的主要因素之一,白细胞介素(IL)-1 β 是目前诱导髓核细胞凋亡的常用方法,抑制 IL-1 β 产生可以减少细胞凋亡。Yang 等^[26]研究发现,17 β -雌二醇(17 β -E2)与白藜芦醇联用可经 PI3K/Akt/caspase-3 信号转导通路对抗 IL-1 β 诱导的髓核细胞凋亡。Buckley 等^[27]研究同样证实,白藜芦醇可通过激活 PI3K/Akt 信号转导通路减少 IL-1 β 诱导的髓核细胞凋亡。

氧化应激损伤也是常见的髓核细胞凋亡原因。

Li 等^[28]采用硝普钠制作髓核细胞氧化应激损伤模型,结果发现硝普钠可诱导髓核细胞凋亡,促进细胞内活性氧自由基及一氧化氮水平增加;白藜芦醇可显著抑制细胞凋亡、活性氧自由基产生及细胞骨架破坏。由此可知,白藜芦醇同样可以改善氧化应激损伤导致的髓核细胞凋亡。

1.4 影响细胞衰老

在 IDD 发生发展过程中,髓核细胞衰老也是重要诱因之一。Buckley 等^[27]通过白藜芦醇干预由机械应力损伤诱导的髓核细胞衰老,结果发现白藜芦醇在机械应力下以浓度依赖方式减少活性氧自由基产生及合成并降低核因子(NF)- κ B 信号转导通路活性,进而减轻髓核细胞衰老。Wang 等^[9]的研究同样证实,白藜芦醇可通过激活 PI3K/Akt 信号转导通路减轻高糖引起的髓核细胞衰老。

2 白藜芦醇动物实验研究

虽然目前理论上白藜芦醇保护髓核细胞的作用已被证实,但绝大多数研究仍停留在细胞水平,仅有少量动物模型的研究。Xia 等^[29]通过椎间盘穿刺的方法制作 SD 大鼠 IDD 模型,并通过灌胃方式灌入白藜芦醇。随后的影像学检查发现白藜芦醇可改善椎间盘退变表现,提取的髓核组织中 SIRT1 表达增加,p16 表达减少;对 SIRT1 缺陷大鼠进行相同研究则发现椎间盘退变程度加重,同时 p16 表达增加。这提示白藜芦醇可通过激活 SIRT1 抑制 p16 表达,进而抑制穿刺诱导的椎间盘退变。Lin 等^[30]研究 SD 大鼠的动物行为,结果发现白藜芦醇可显著减少损伤部位免疫反应导致的神经根性疼痛症状。但大多数动物实验研究以 SD 大鼠作为模型,极少数采用幼猪,因此可能对研究结果造成一定影响。

然而,白藜芦醇由于水溶性差、稳定性差、代谢速度快及在椎间盘局部难以达到有效血药浓度等原因,应用潜力受到一定影响。近年来,随着材料学的不断进步,聚(乳酸-共-乙醇酸)纳米气泡(NB)被研制。Shen 等^[31]通过应用双乳液法将白藜芦醇与 NB 复合,然后运用碳化二亚胺法将生物素标记物 N-钙黏蛋白抗体(AbCDH2)与 NB 进一步结合,结果发现白藜芦醇/AbCDH2-NB 复合物具有较高的白藜芦醇负载能力和药物释放效率,同时可增强从白藜芦醇/AbCDH2-NB 复合物释放的白藜芦醇与髓核细胞结合的靶向性并增强局部血药浓度,由此达到靶向治疗目的;在兔退变椎间盘模型中也证实,白藜芦醇/AbCDH2-NB 局部注射可有效延缓椎间

盘退变进程。

3 研究局限性

目前白藜芦醇对髓核细胞影响的研究仍较少,且存在一定的局限性。首先,在细胞来源方面,目前主要采用 SD 大鼠,少部分采用幼猪。但就椎间盘发育而言,牛、羊等大型哺乳动物比大鼠更接近人类。其次,目前尚未发现合适的细胞表型来区分髓核组织中的脊索细胞,因此脊索细胞的存在可能会影响最终研究结果。最后,目前髓核细胞体外扩增培养多在有氧环境下进行,虽然对生长无明显影响,但这与实际生存的低氧环境并不相符,所以一定程度上局限了研究结果的实际应用。

4 结语

IDD 发生与机械应力、高糖、炎症反应、氧化应激及细胞衰老等诸多因素相关,这些因素可通过影响髓核细胞功能促进 IDD 发生发展。白藜芦醇可通过调节髓核细胞 ECM 合成、激活髓核细胞自噬、抑制髓核细胞凋亡与衰老等多种方式达到保护髓核细胞的作用,对 IDD 防治具有重要意义。

参考文献

- [1] Jonsson E, Olafsson G, Fritzell P, et al. A profile of low back pain: treatment and costs associated with patients referred to orthopedic specialists in sweden[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2017, 42(17): 1302-1310.
- [2] Almeida M, Saragiotto B, Maher CG. Primary care management of non-specific low back pain: key messages from recent clinical guidelines[J]. Med J Aust, 2018, 209(5): 235.
- [3] Oyenihni OR, Oyenihni AB, Adeyanju AA, et al. Antidiabetic effects of resveratrol: the way forward in its clinical utility [J]. J Diabetes Res, 2016, 2016: 9737483.
- [4] Wang J, Gao JS, Chen JW, et al. Effect of resveratrol on cartilage protection and apoptosis inhibition in experimental osteoarthritis of rabbit[J]. Rheumatol Int, 2012, 32(6): 1541-1548.
- [5] Zhang C, Yuan W, Fang J, et al. Efficacy of resveratrol supplementation against non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis of placebo-controlled clinical trials[J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0161792.
- [6] Wang WJ, Yu XH, Wang C, et al. MMPs and ADAMTSs in intervertebral disc degeneration[J]. Clin Chim Acta, 2015, 448: 238-246.
- [7] Hwang MH, Son HG, Lee JW, et al. Photobiomodulation of extracellular matrix enzymes in human nucleus pulposus cells as a potential treatment for intervertebral disk degeneration [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 11654.
- [8] Gao J, Zhang Q, Song L. Resveratrol enhances matrix

- biosynthesis of nucleus pulposus cells through activating autophagy via the PI3K/Akt pathway under oxidative damage[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(4): BSR20180544.
- [9] Wang W, Li P, Xu J, et al. Resveratrol attenuates high glucose-induced nucleus pulposus cell apoptosis and senescence through activating the ROS-mediated PI3K/Akt pathway[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(2): BSR20171454.
- [10] Li YR, Li S, Lin CC. Effect of resveratrol and pterostilbene on aging and longevity[J]. *Biofactors*, 2018, 44(1): 69-82.
- [11] Han X, Leng X, Zhao M, et al. Resveratrol increases nucleus pulposus matrix synthesis through activating the PI3K/Akt signaling pathway under mechanical compression in a disc organ culture[J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(6): BSR20171319.
- [12] Zhang Z, Wen F, He C, et al. Resveratrol attenuates mechanical compression-induced nucleus pulposus cell apoptosis through regulating the ERK1/2 signaling pathway in a disc organ culture[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(2): BSR20171703.
- [13] 沈皆亮, 胡侦明, 钟小明, 等. 白藜芦醇通过上调 SIRT1 促进退变髓核细胞胞外基质合成[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(11): 1146-1150.
- [14] 刘沪喆, 沈皆亮, 周浩, 等. 白藜芦醇通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调控髓核细胞胞外基质表达[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2018, 32(4): 476-483.
- [15] Wang XH, Zhu L, Hong X, et al. Resveratrol attenuated TNF- α -induced MMP-3 expression in human nucleus pulposus cells by activating autophagy via AMPK/SIRT1 signaling pathway[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2016, 241(8): 848-853.
- [16] Wu JW, Wang JJ, Chen JB, et al. Resveratrol could reverse the expression of SIRT1 and MMP-1 in vitro[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 12386-12393.
- [17] 沈皆亮, 胡侦明, 钟小明, 等. 白藜芦醇恢复去分化正常髓核细胞表型的实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2013, 27(5): 547-553.
- [18] Revuelta M, Matheu A. Autophagy in stem cell aging[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(5): 912-915.
- [19] Zhang B, Xu L, Zhuo N, et al. Resveratrol protects against mitochondrial dysfunction through autophagy activation in human nucleus pulposus cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 493(1): 373-381.
- [20] Guo J, Shao M, Lu F, et al. Role of Sirt1 plays in nucleus pulposus cells and intervertebral disc degeneration[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2017, 42(13): E757-E766.
- [21] Barger JL, Vann JM, Cray NL, et al. Identification of tissue-specific transcriptional markers of caloric restriction in the mouse and their use to evaluate caloric restriction mimetics[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(4): 750-760.
- [22] Patil P, Niedernhofer LJ, Robbins PD, et al. Cellular senescence in intervertebral disc aging and degeneration[J]. *Curr Mol Biol Rep*, 2018, 4(4): 180-190.
- [23] An JL, Zhang W, Zhang J, et al. Vitamin D improves the content of TGF- β and IGF-1 in intervertebral disc of diabetic rats[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(12): 1254-1261.
- [24] Agius R, Galea R, Fava S. Bone mineral density and intervertebral disc height in type 2 diabetes[J]. *J Diabetes Complications*, 2016, 30(4): 644-650.
- [25] Kaplan M, Arici L, Ozturk S, et al. A comparison of the type IX collagen levels of the intervertebral disc materials in diabetic and non-diabetic patients who treated with lumbar microdiscectomy[J]. *Eur Spine J*, 2018, 27(1): 214-221.
- [26] Yang SD, Ma L, Yang DL, et al. Combined effect of 17 β -estradiol and resveratrol against apoptosis induced by interleukin-1 β in rat nucleus pulposus cells via PI3K/Akt/caspase-3 pathway[J]. *PeerJ*, 2016, 4: e1640.
- [27] Buckley CT, Hoyland JA, Fujii K, et al. Critical aspects and challenges for intervertebral disc repair and regeneration- Harnessing advances in tissue engineering[J]. *JOR Spine*, 2018, 1(3): e1029.
- [28] Li K, Li Y, Mi J, et al. Resveratrol protects against sodium nitroprusside induced nucleus pulposus cell apoptosis by scavenging ROS[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(5): 2485-2492.
- [29] Xia X, Guo J, Lu F, et al. SIRT1 plays a protective role in intervertebral disc degeneration in a puncture-induced rodent model[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2015, 40(9): E515-E524.
- [30] Lin B, Yu H, He Y, et al. Protective effects of resveratrol on autologous nucleus pulposus model of radiculopathy[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(6): 3917-3922.
- [31] Shen J, Zhuo N, Xu S, et al. Resveratrol delivery by ultrasound-mediated nanobubbles targeting nucleus pulposus cells[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2018, 13(12): 1433-1446.

(收稿日期:2020-09-07)

(本文编辑:卢千语)