

后纵韧带骨化症的病因学研究进展

霍喜卫¹, 熊伟², 李锋²

(1 河北省邯郸市中心医院骨二科 056001; 2 华中科技大学同济医学院附属同济医院骨科 430030 武汉市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2011.06.18

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2011)-06-0511-04

后纵韧带骨化症(ossification of the posterior longitudinal ligament, OPLL)是发生在脊柱后纵韧带中的异位骨化压迫脊髓和神经根而导致其功能受损的一种疾病,是日本和其他东亚国家颈胸脊髓病(myelopathy)和神经根病(radiculopathy)的常见原因之一。研究表明,OPLL的发生既有基因学基础,又有环境因素影响,是多种病因相互作用导致的疾病^[1]。近10年来,OPLL在发病原因和发病机制的基础研究方面取得了较大进展,笔者就OPLL的病因学研究进展综述如下。

1 流行病学因素

该病在日本和其他东亚国家发病率较高。日本流行病学调查结果显示,在30岁以上人群中OPLL患病率为1.9%~4.3%^[1]。其他东亚国家的患病率与此类似,如国人的平均患病率为3.08%^[2],中国台湾为2.8%^[3],但韩国的最新调查患病率为0.6%^[4]。在北美及欧洲等白种人群中的发病率可能较低,但目前尚无系统的流行病学研究。OPLL在日本男、女性中的发病率之比约为2:1,韩国约为1.45:1^[4]。OPLL在不同人种以及性别间的发病率差异说明,遗传学因素可能是其发病的重要因素。OPLL以中老年居多^[5]。韩国流行病学调查结果显示,OPLL发病的高峰年龄在50~59岁^[4]。表明OPLL很可能是一种脊柱退变性疾病。

2 生活习惯因素

Washio等^[6]在日本进行的一项病例对照研究中,69例确诊OPLL患者与138例无脊柱疾患的社区普通人群进行年龄和性别配对,问卷调查结果显示,不良的睡眠习惯与OPLL发病率升高有关,每日睡眠过少(≤5h)或过多(≥9h)相对于正常睡眠时间(6~8h)、规律的睡觉习惯(定点睡觉,早睡早起)相对于不规律的睡觉习惯,其OPLL发病率均有升高。但适量锻炼(每周≥1次相对于<1次)、吸烟、饮酒等生活习惯均未观察到与OPLL发生有关。而同一作者对以上同一人群进行饮食习惯调查发现,高盐、低动物蛋白和豆类饮食以及进食大米较少与OPLL发病率

升高相关,表明饮食习惯可能也是OPLL发病的独立危险因素^[6]。

3 生物力学因素

Iwasawa等^[7]对从7例OPLL患者的后纵韧带(PLL)中分离的细胞与7例非OPLL患者的PLL细胞进行体外研究发现,OPLL患者的PLL细胞的机械应力敏感性明显增加,说明OPLL患者可能对外界机械应力异常更具敏感性。据统计,在脊柱OPLL中,有70%发生于颈椎,其余30%平均分布在上胸椎(T1~T4)和上腰椎(L1~L3),而在颈椎OPLL中最常累及的节段依次为C4、C5和C3^[4]。影像学观察发现,OPLL在颈椎中的发病率为3.2%,而在胸椎为0.6%~0.8%^[3]。由此可见,OPLL在各段脊柱中发病有明显差异,这可能是由于各段脊柱所承受的应力不同而导致的结果。Chen等^[8]通过对颈、胸、腰椎的OPLL和黄韧带骨化症(OLF)的流行病学和运动学特点等进行系统文献复习发现,在各段脊柱所承受的屈伸、侧屈与旋转应力中,旋转应力大小与OPLL和OLF的发生呈正相关。颈椎OPLL常伴有胸椎OLF或OPLL,如Park等^[9]在其观察的68例颈椎OPLL中有23例(33.8%)合并胸椎韧带骨化(OLF,21例;OPLL,5例;其中3例同时有OLF和OPLL),这似乎表明,在相同的遗传性因素基础上,颈椎与胸椎生物力学特点的不同成为其发病的重要影响因素。

4 代谢性因素

与普通人群相比,患有甲状旁腺功能减退性疾病、低磷性佝偻病和非胰岛素依赖型糖尿病等系统代谢性疾病的患者其OPLL发病率相对较高^[5],由此推测OPLL的发生可能与代谢性因素有关。近年来,在中年人常见的肥胖症和非胰岛素依赖型糖尿病作为OPLL发病的独立危险因素也逐渐引起重视^[5,9]。有研究结果显示,OPLL的节段数与患者血中胰岛素水平明显相关,虽然未发现其与血糖水平和糖化血红蛋白的一个亚型A1C的相关性^[9]。血胰岛素水平的升高与OPLL发病的确切关系目前尚未明了,可能是胰岛素的调控紊乱会对脊柱韧带中的成骨细胞活性产生影响进而导致PLL发生骨化^[9,10]。Li等^[11]对小鼠颈椎PLL分离细胞在高糖环境下进行培养,发现高糖可以刺激I型胶原蛋白的合成,且明显增强了骨形态发生蛋白-2(BMP-

第一作者简介:男(1979-),硕士,研究方向:脊柱外科

电话:(0310)2118558 E-mail:huoxw@sohu.com

通讯作者:李锋 E-mail:lifeng6311@yahoo.com.cn

2)所诱导的早期成骨细胞相关基因如转录因子 Runx2、碱性磷酸酶和骨桥蛋白等的表达;同时还发现高糖环境在抑制信号转导通路 p38MAPK 的磷酸化作用同时还增强了蛋白激酶 C 通路的磷酸化作用,而抑制 p38 被证实可以增强 BMP-2 对成骨细胞的诱导作用,激活蛋白激酶 C 被证实可以增强 I 型胶原蛋白的合成。由此可见,高血糖可能在促进 PLL 细胞向成骨细胞方向分化上起到了重要作用。

OPLL 患者骨密度高于其他脊柱疾病患者,所以 O-PLL 患者骨形成与骨吸收失衡可能是其发病机制之一^[12]。检测与成骨活动有关的血液标志物也成为研究的热点,如与成骨细胞合成的各种细胞外基质蛋白有关的前胶原蛋白降解产物、纤维连接蛋白、骨钙蛋白等。Sugimori 等^[13]对 43 例颈椎后路术后的 OPLL 患者跟踪随访 10 年以上,发现在继发胸腰椎 OPLL 的患者中骨生成标志物如骨钙蛋白、人 I 型前胶原羧基端肽等出现明显升高。Ishida 等^[14]将影像学证实的 OPLL 患者和退变性颈椎疾病患者的 PLL 细胞在含有 1,25 二羟维生素 D3 的培养液中进行体外培养,发现前者的细胞系骨钙蛋白合成明显增加而后者并无反应,证实 OPLL 是 PLL 细胞自身的成骨活动所形成的。Aiba 等^[15]通过从足尖行走鼠 (Tiptoe walking mouse, ttw 鼠) 脊柱的 OPLL 中提取的细胞进行原位杂交和免疫组化分析发现,与同龄配对野生型小鼠相比,在 4 周龄后,异位骨化标志物——骨桥蛋白在 ttw 鼠的脊柱韧带和外层纤维环细胞中的基因表达和蛋白定量异常增高,到 16 周龄时达到最高。与骨吸收有关的标志物研究也有报道,但目前尚未发现其在 OPLL 患者中有明显降低^[16]。Eun 等^[17]对 6 例 OPLL 患者和 6 例正常对照者的血清进行蛋白电泳,共发现有 8 种蛋白(1 种不知名,其他 7 种分别为 PRO2675、三碘苯甲酸和肉豆蔻酸结合人白蛋白、去氧人血红蛋白结晶体 $\beta 6$ -B 链、前载脂蛋白、人白蛋白、视黄醇结合蛋白、甲状腺素结合人白蛋白变异体 R218h-A 链)在 OPLL 中表达升高,1 种蛋白($\alpha 1$ 微球蛋白/bikunin 前体)表达下降,其各自在 OPLL 发生中的意义和作用有待进一步研究证实。

5 遗传学因素

OPLL 的遗传或基因学研究是从在日本进行的家系研究和双胞胎研究开始的^[18],研究发现该病多发于双胞胎及同一家庭,因此其遗传学因素不容忽视^[19]。胶原蛋白-11A2(COL11A2)基因位于 6 号染色体的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)的 II 类基因区,主要编码胶原蛋白-XI 的 $\alpha 2$ 链。研究显示, COL11A2 基因的 6 号内含子内一个单核苷酸多态性在 OPLL 患者中有较少的出现频率^[18],而该内含子的另一个单核苷酸多态性在男性中出现多于女性。胶原蛋白-6A1(COL6A1)基因位于 21 号染色体长臂(21q)上,编码胶原蛋白-VI 的 $\alpha 1$ 链。Kong 等^[19]研究发现,在中国人中, COL6A1 基因多态性在 OPLL 和 OLF 患者均有较高的出现频率。而 Tsukahara

等^[20]研究发现, COL6A1 基因多态性与日本人弥漫性特发性骨肥厚症的发病也有高度相关性。因此, COL6A1 基因可能是与脊柱韧带异位骨化高度相关的一个易感基因。Yan 等^[2]对取样于北京的 420 例 OPLL 患者与年龄和性别匹配的 506 例健康对照者进行研究发现,与骨质疏松相关的位于染色体 20p12 的 2 个单核苷酸多态性 [分别为 rs965291 (G/A); rs1116867 (A/G)] 与 OPLL 发生率和/或累及范围相关。ttw 鼠是一个自然变异的异位骨化动物模型。它在 6 周时就会出现 OPLL 并且不断进展,直至出现严重的脊髓受压症状^[1]。Yamazaki 等^[21]对 ttw 鼠的骨代谢研究和其脊柱韧带的组织化学分析显示其特性与 OPLL 患者非常相似,在焦磷酸核苷酸基因 (nucleotide pyrophosphate gene, NPPS) 的一个单碱基突变导致了 ttw 鼠的 OPLL 的产生,这一突变导致 NPPS 基因的 1/3 结构丢失并由此导致该基因不能正常表达,而 NPPS 基因的表达产物为焦磷酸酶,后者能够在生理条件下调节正常骨组织的矿化和软骨组织的钙化过程。发生突变的 ttw 鼠其 NPPS 基因不能正常表达而导致焦磷酸水平下降,从而不能抑制骨化和矿化过程产生异位骨化^[21]。NPPS 的同工酶 NPPS-1 的基因已在人类中被发现,位于 6 号染色体,并且在软骨和骨细胞中均有较高水平的表达,目前被认为可能与 OPLL 有关^[1]。研究显示, NPPS-1 基因的内含子中某单个碱基的缺失发生率在 OPLL 患者中明显增多^[22]。另外,相关的基因表达调节因子也与 OPLL 的表达与否有关。有研究显示生长激素受体和活化素的浓度增加有助于 OPLL 相关基因的表达^[23]。Horikoshi 等^[24]在一项包括 711 例散发 OPLL 患者和 896 例对照样本(对照组为患有心肌梗塞、肝炎或类风湿性关节炎等与 OPLL 非相关性疾病患者)的 OPLL 基因研究中,对 35 个备选基因的 109 个单核苷酸多态性片段(SNPs)进行相关性分析,仅证实包括转化生长因子-3(TGF-3)在内的 3 个基因的 5 个 SNPs 有统计学意义,而以往报道的其他 OPLL 相关基因如 COL11A2、NPPS 和 TGF- $\beta 1$ 等均无统计学意义。显然, OPLL 并不是一个单基因疾病,更多相关基因的发现及其相互作用的研究还有待进一步深入开展。

关于 OPLL 的遗传规律,目前尚不能肯定是常染色体显性遗传还是隐性遗传。Matsunaga 等^[25]对 24 例 OPLL 患者及其 61 例同胞兄弟姐妹进行人类白细胞抗原(HLA)单体型分析,在携有两股 HLA 单型型的 19 例同胞中有 10 例(53%)出现 OPLL,在携有一股 HLA 单型型的 21 例同胞中有 5 例(24%)出现 OPLL,而未携有 HLA 单型型的 21 例同胞仅有 1 例出现 OPLL。这一结果似乎表明, OPLL 可能为常染色体显性遗传。但也有证据表明 OPLL 为常染色体隐性遗传。如 Sakou 等^[26]对 33 例 OPLL 患者的同胞兄弟姐妹进行 HLA 单体型研究显示,携有两股 HLA 单型型的 18 例同胞中有 10 例出现 OPLL,而携有 1 股 HLA 单型型的同胞均未出现 OPLL。

6 与 OPLL 有关的细胞因子和生长因子

骨形态发生蛋白(bone morphogenic proteins, BMPs)是转化生长因子 β (transforming growth factor, TGF- β)超家族的成员之一,在骨与软骨的形成和修复、个体发育和胚胎发生等过程中均有重要作用,现已发现其家族成员30余种。已经在临床中用于促进骨融合的BMP-2被认为在OPLL的发生中有着重要的作用。对OPLL患者的脊柱后纵韧带标本通过组织化学方法进行研究发现,BMP-2在OPLL骨化灶骨基质、OPLL骨化灶附近的软骨细胞、成纤维细胞中均有较高表达,但在非骨化韧带中却无明显表达^[27]。Wang等^[27]对57例OPLL患者和135例性别和年龄匹配的非OPLL脊柱疾患对照者进行对照研究发现,国人BMP-2基因2号外显子的两个单核苷酸多态性分别与颈椎OPLL的发生和其节段数有关。从OPLL患者和正常对照组的PLL中分离成纤维细胞分别进行体外培养研究显示,OPLL组的成纤维细胞可被BMP-2诱导而向成骨细胞方向分化,而对照组却无此现象^[28]。对BMP家族的其他成员如BMP-4、BMP-7等与OPLL的相关性研究报道不多。TGF- β 是在许多器官的细胞分化中起重要作用的生长因子,Inaba等^[29]利用免疫组化技术研究发现,TGF- β 存在于OPLL旁的软骨组织基质和软骨细胞中,对OPLL患者与非OPLL患者的PLL细胞加入外源性TGF- β 进行体外培养发现,OPLL患者的PLL细胞的碱性磷酸酶活动明显增高,但OPLL的PLL细胞系增殖受到抑制,而对正常的PLL细胞外源性TGF- β 却起到促进增殖的作用^[29],说明TGF- β 促进OPLL发生的作用可能存在基因易感性。Kawaguchi等^[30]对369例颈椎、胸椎或腰椎OPLL患者与258例非OPLL对照者进行对比研究发现,TGF- β 1的等位基因多态性(TT、TC、CC)虽然与OPLL的发生无相关性,但却与OPLL的发生部位有一定相关性。其他生长因子如胰岛素样生长因子、结缔组织生长因子、生长激素结合蛋白等只有个别报道,尚无统一的结论。

7 参考文献

- Inamasu J, Guiot BH, Sachs DC. Ossification of the posterior longitudinal ligament: an update on its biology, epidemiology, and natural history[J]. Neurosurgery, 2006, 58(6): 1027-1039.
- Yan L, Zhao WG, Li JJ, et al. Linkage of three polymorphisms on chromosome 20p12 to ossification of the posterior longitudinal ligament of spine and its severity in Han Chinese patients[J]. Chin Med J (Engl), 2010, 123(17): 2341-2346.
- Chen J, Wang X, Wang C, et al. Rotational stress: role in development of ossification of posterior longitudinal ligament and ligamentum flavum[J]. Med Hypotheses, 2011, 76(1): 73-76.
- Kim TJ, Bae KW, Uhm WS, et al. Prevalence of ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine [J]. Joint Bone Spine, 2008, 75(4): 471-474.
- Washio M, Kobashi G, Okamoto K, et al. Sleeping habit and other life styles in the prime of life and risk for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL): a case-control study in Japan [J]. Epidemiol, 2004, 14 (5): 168-173.
- Okamoto K, Kobashi G, Washio M, et al. Dietary habits and risk of ossification of the posterior longitudinal ligaments of the spine (OPLL): findings from a case-control study in Japan [J]. J Bone Miner Metab, 2004, 22(6): 612-617.
- Iwasawa T, Iwasaki K, Sawada T, et al. Pathophysiological role of endothelin in ectopic ossification of human spinal ligaments induced by mechanical stress [J]. Calcif Tissue Int, 2006, 79 (6): 422-430.
- Park JY, Chin DK, Kim KS, et al. Thoracic ligament ossification in patients with cervical ossification of the posterior longitudinal ligaments: tandem ossification in the cervical and thoracic spine [J]. Spine, 2008, 33(13): E407-410.
- Akune T, Ogata N, Seichi A, et al. Insulin secretory response is positively associated with the extent of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. J Bone Joint Surg Am, 2001, 83(10): 1537-1544.
- Yokosuka K, Park JS, Jimbo K, et al. Immunohistochemical demonstration of advanced glycation end products and the effects of advanced glycation end products in ossified ligament tissues in vitro [J]. Spine, 2007, 32(11): E337-339.
- Li H, Jiang LS, Dai LY. High glucose potentiates collagen synthesis and bone morphogenetic protein-2-induced early osteoblast gene expression in rat spinal ligament cells [J]. Endocrinology, 2010, 151(1): 63-74.
- Li H, Jiang LS, Dai LY. Hormones and growth factors in the pathogenesis of spinal ligament ossification [J]. Eur Spine J, 2007, 16(8): 1075-1084.
- Sugimori K, Kawaguchi Y, Ohmori K, et al. Significance of bone formation markers in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. Spine, 2003, 28 (4): 378-379.
- Ishida Y, Kawai S. Characterization of cultured cells derived from ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. Bone, 1993, 14(2): 85-91.
- Aiba A, Nakajima A, Okawa A, et al. Evidence of enhanced expression of osteopontin in spinal hyperostosis of the twy mouse [J]. Spine, 2009, 34(16): 1644-1649.
- Ishihara C, Kushida K, Takahashi M, et al. The efficacy of biochemical markers in patients with ossification of posterior longitudinal ligament of the spine [J]. Spinal Cord, 2000, 38 (4): 211-213.
- Eun JP, Ma TZ, Lee WJ, et al. Comparative analysis of serum proteomes to discover biomarkers for ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. Spine, 2007, 32(7): 728-734.
- Maeda S, Ishidou Y, Koga H, et al. Functional impact of human collagen-A2(XI) gene polymorphism in pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. J Bone Miner Res, 2001, 16(5): 948-957.
- Kong Q, Ma X, Li F, et al. COL6A1 polymorphisms associated

- with ossification of the ligamentum flavum and ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Spine*, 2007, 32 (25): 2834–2838.
20. Tsukahara S, Miyazawa N, Akagawa H, et al. COL6A1, the candidate gene for ossification of the posterior longitudinal ligament, is associated with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis in Japanese [J]. *Spine*, 2005, 30(20): 2321–2324.
21. Yamazaki M, Okawa A, Moriya H. Twy mouse and ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL) (in Japanese) [J]. *Clin Calcium*, 2002, 12(8): 1109–1113.
22. Koshizuka Y, Kawaguchi H, Ogata N, et al. Nucleotide pyrophosphatase gene polymorphism associated with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(1): 138–144.
23. Hayashi K, Ishidou Y, Yonemori K, et al. Expression and localization of bone morphogenetic proteins (BMPs) and BMP receptors in ossification of the ligamentum flavum [J]. *Bone*, 1997, 21(1): 23–30.
24. Horikoshi T, Maeda K, Kawaguchi Y, et al. A large-scale genetic association study of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *Hum Genet*, 2006, 119(6): 611–616.
25. Matsunaga S, Yamaguchi M, Hayashi K, et al. Genetic analysis of ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Spine*, 1999, 24(10): 937–939.
26. Sakou T, Taketomie E, Matsunaga S, et al. Genetic study of ossification of the posterior longitudinal ligament in the cervical spine with human leukocyte antigen haplotype [J]. *Spine*, 1991, 16(11): 1249–1252.
27. Wang H, Liu D, Yang Z, et al. Association of bone morphogenetic protein-2 gene polymorphisms with susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine and its severity in Chinese patients [J]. *Eur Spine J*, 2008, 17(7): 956–964.
28. Tanaka H, Nagai E, Murata H, et al. Involvement of bone morphogenic protein-2 (BMP-2) in the pathological ossification process of the spinal ligament [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2001, 40(10): 1163–1168.
29. Inaba K, Matsunaga S, Ishidou Y, et al. Effect of transforming growth factor- α on fibroblasts in ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *In Vivo*, 1996, 10(4): 445–449.
30. Kawaguchi Y, Furushima K, Sugimori K, et al. Association between polymorphism of the transforming growth factor- β 1 gene with the radiologic characteristic and ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Spine*, 2003, 28 (13): 1424–1426.

(收稿日期: 2010-12-06 修回日期: 2011-01-09)

(本文编辑 李伟霞)