

椎间盘退变信号转导机制的研究进展

Research progress of signal transduction mechanism of intervertebral disc degeneration

杜立龙^{1,2}, 徐宝山², 杨强²

(1 天津医科大学研究生院 300070 天津市; 2 天津医院脊柱外科 300211 天津市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2013.12.12

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2013)-12-1119-04

目前,关于椎间盘退变的原因,虽然已有一些探讨与研究,但其退变的机制仍不清楚。研究腰椎间盘退变过程中信号转导的机制,将有助于人类对腰椎间盘退变性疾病进一步认识,并可能从中找到治疗腰椎间盘退变性疾病的新方法。笔者就椎间盘退变过程中信号通路转导机制的研究进展综述如下。

1 Ca^{2+} 信号通路

细胞内 Ca^{2+} 是一种重要的第二信使,参与细胞的多种生理活动,对于维持细胞的多种代谢活动具有极其重要的作用,其浓度的变化与细胞受力刺激密切相关。由于人体的不同姿势,椎间盘受到不同方向复杂形式的力学刺激,包括压缩、弯曲、扭转等的复杂作用力^[1]。在椎间盘运动过程中,张应力是纤维环主要的载荷形式,对培养的纤维环细胞施加周期性张应变,可以使蛋白多糖的合成降低^[2]。对单层培养的纤维环细胞施加流体切应力、振动刺激,可以使细胞内 Ca^{2+} 浓度升高^[3]。郭志良等^[4]对培养的大鼠椎间盘纤维环细胞施加周期性张应变,应用高度特异性 Ca^{2+} 荧光指示剂 Fluo-3/AM,通过荧光探针标记技术测定纤维环细胞内 Ca^{2+} 浓度,发现周期性张应变下细胞膜电位发生变化,引起细胞离子通道状态的改变,导致细胞膜离子通道开放(Ca^{2+} 内流),纤维环细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,从而引起细胞新陈代谢状态和细胞生物代谢水平的增强,引起纤维环细胞退变程度的变化;通过阻断细胞内 Ca^{2+} 浓度的升高,可以部分抑制周期性张应变下调细胞蛋白聚糖 mRNA 表达的作用,提示细胞内 Ca^{2+} 信号通路可能参与周期性张应变下调纤维环细胞蛋白多糖表达的过程,参与纤维环细胞退变的进程。

2 MAPK 信号通路

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein

kinases, MAPK) 是细胞内重要的信号转导激酶,其在椎间盘退变过程中细胞内外信号的转导方面发挥着重要作用。MAPK 有 3 个主要亚族:细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和 p38 MAPK。ERK 包括 ERK1 和 ERK2,是将信号从细胞表面受体传导至细胞核的关键酶。JNK 又称为应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinases, SAPK)。ERK 和 JNK 信号通路参与细胞的增殖与分化、细胞形态的维持、细胞骨架的构建、细胞凋亡和细胞恶变等多种生物学反应。p38 MAPK 是 MAPK 家族中控制炎症反应最重要的成员。

2.1 ERK 信号通路

Risbud 等^[5]的研究证实,低氧状态下兔髓核细胞通过激活 ERK 和磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 信号通路,调控细胞内重要基因的表达,降低细胞凋亡。此外, Risbud 等^[6]还研究发现转化生长因子- β 3(transforming growth factor beta, TGF- β 3) 能够增加鼠髓核细胞中 ERK 蛋白磷酸化,激活 ERK 信号通路,从而引起鼠髓核细胞外基质的基因表达增强,蛋白多糖含量增加,特异性抑制 ERK 活性后发现,髓核细胞表达 II 型胶原和蛋白多糖减少。刘瑞龙等^[7]研究证实,体外培养的兔髓核细胞能适应轻度增加的渗透压($400\text{mOsm}\cdot\text{L}^{-1}$) 环境,而高渗透压($600\text{mOsm}\cdot\text{L}^{-1}$) 应激下可显著诱导髓核细胞凋亡;进一步研究发现,高渗透压应激能够诱导激活 ERK1/2 信号转导通路,具有抑制兔髓核细胞凋亡的作用,使得髓核细胞适应高渗透压的状态。Seguin 等^[8]在研究肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导牛髓核细胞退变的过程中发现,基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 活性增强与 ERK1/2 信号通路密切相关;ERK1/2 激活使得生长因子 Egr-1 的表达增强,膜型基质金属蛋白酶-1(membrane type-1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP) 的启动子 DNA 结合活性增强,其进一步激活 MMP-2,引起髓核细胞退变。综上所述,低氧、高渗、机械力学刺激对髓核细胞 ERK 信号通路的激活或抑制发挥重要作用。

第一作者简介:男(1988-),医学硕士研究生,研究方向:脊柱外科、椎间盘组织工程

电话:(021)28336713 E-mail:du3018@163.com

通讯作者:徐宝山 E-mail:xubaoshan99@126.com

用。髓核细胞能够通过调节 ERK 信号通路的活性状态来应对周围环境的变化,或引起髓核细胞退变的发生。

2.2 JNK 信号通路

李方辉等^[9]观察高渗透压对兔髓核细胞活性的影响及 JNK/SAPK 和 p38 MAPK 信号转导通路在其中的作用,利用免疫荧光和 Western blot 技术检测磷酸化 p38 MAPK 和磷酸化 JNK/SAPK 的亚细胞定位及表达水平,结果发现高渗透压通过激活 JNK/SAPK 和 p38 MAPK 信号转导通路导致体外培养的兔髓核细胞凋亡。JNK 信号通路在细胞应力所导致的细胞凋亡中也发挥着重要作用^[10]。力学刺激可以激活 JNK 和 ERK2 信号通路。周期性张应变作用于纤维环细胞后,可引起 JNK 蛋白和 ERK1/2 蛋白磷酸化水平上调,激活 ERK 信号转导通路,抑制细胞凋亡,引起细胞增殖增强^[4]。

2.3 p38 MAPK 信号通路

Studer 等^[11]通过含有白细胞介素(interleukin-1, IL-1)和 TNF- α 或 p38 MAPK 抑制剂的培养基培养人髓核细胞,检测培养基中一氧化氮(NO)、前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)、IL-6、基质金属蛋白激酶-3 (matrix metalloproteinase-3, MMP-3)、基质金属蛋白酶组织抑制因子-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)的产生情况,发现含有 p38 MAPK 抑制剂的实验组髓核细胞表达 NO、PGE2、IL-6 较对照组减少。IL-1 和 TNF- α 能激活 p38 MAPK 信号通路,从而介导 MMP-3/TIMP-1 比例升高,引起髓核细胞外基质成分失衡,加速椎间盘的退变^[12]。另外,Seguin 等^[13]的研究发现 TNF- α 可以激活牛髓核细胞内的 P38 MAPK 信号通路,磷酸化的 p38 MAPK 在 TNF- α 刺激 5min 后开始升高,120min 后回到基础水平值。炎症反应在椎间盘退变过程中起重要作用,抑制炎症介质对椎间盘的作用,阻断炎症反应过程中 p38 MAPK 信号转导过程可能成为减缓椎间盘退变进程的一条治疗途径^[14]。高压氧可以抑制 ERK1/2、JNK 和 p38 MAPK 的磷酸化,抑制 p38 MAPK 信号通路,还可以抑制髓核细胞内炎症因子 IL-1 β 、NO、PGE-2 的表达,同时抑制 MMP-3 表达,增加 TIMP-1 的表达,增加聚集蛋白聚糖和 II 型胶原的基因表达,提高髓核细胞外基质的含量^[14]。由此可知,高压氧通过抑制 IL-1 和 p38 MAPK 信号通路,增加 TIMP-1/MMP-3 的比例,对退变人椎间盘组织细胞具有有利作用,可以减缓椎间盘的退变^[15]。

3 Notch 信号通路

Notch 信号是在进化过程中高度保守的信号通路,它是介导细胞和细胞之间直接接触的主要信号通路之一,调控了多细胞机体的细胞凋亡、增殖和分化。近期研究发现,大鼠纤维环细胞和髓核细胞都可以表达 Notch 受体(Notch-1 和 Notch-4)和配体(Jagged-1、Jagged-2 和 Delta-1)^[16]。Hiyama 等^[16]用低氧刺激成年大鼠椎间盘细胞,通过 RT-PCR 和蛋白定量分析的方法分析 Notch 受体和

配体基因表达情况,发现低氧刺激可以增加 Notch1 和 Notch4 mRNA 的表达,应用 L685458 特异性抑制 Notch 信号通路发现细胞增殖减慢。在椎间盘组织和软骨组织中,细胞增殖是退变的一个标志^[17]。Wang 等^[18]通过检测 Notch 受体(Notch1, 2)、配体(Jagged 2)和目标基因(Hes1, Hey1 和 Hey2)的表达情况,发现大鼠髓核细胞在炎症细胞因子、IL-1 β 和 TNF- α 作用下可以激活 Notch 信号通路,并且证实 TNF- α 和 IL-1 β 介导的 Notch 信号的表达和激活与 MAPK 和核因子 kappaB(NF- κ B)信号通路密切相关。因此,Notch 信号通路对维持椎间盘细胞增殖非常重要,这对于椎间盘退变性疾病中椎间盘细胞数量的恢复提供了可行的治疗策略。

4 Wnt/ β -catenin 信号通路

经典的 Wnt 信号通路是指 Wnt/ β -catenin 信号通路,它是调控细胞生长、发育、分化和组织修复的关键途径。Wnt/ β -catenin 信号通路激活,可抑制 β -catenin 蛋白降解,使其在胞质聚集并转移至核内,进而调节一系列靶基因表达。

4.1 Wnt/ β -catenin 信号通路与髓核细胞

Hiyama 等^[19]应用 LiCl 激活大鼠髓核细胞 Wnt 信号通路,通过 RT-PCR、Western blot、免疫荧光染色等技术分析 β -catenin 蛋白和 mRNA 的表达情况,发现 β -catenin mRNA 和蛋白表达增强,并且通过 MTT 和衰老相关的 β -半乳糖苷酶染色分析发现, LiCl 诱导后的髓核细胞增殖周期延长,衰老和凋亡水平升高;另外,激活的 Wnt/ β -catenin 通路还能介导 MMPs 的过度表达,引起椎间盘细胞外基质的分解,最终导致细胞退变。王晶^[20]的研究发现,在 TNF- α 注射构建兔椎间盘退变动物模型中 Wnt/ β -catenin 信号通路胞内重要信号分子 β -catenin 表达增强,介导 Wnt/ β -catenin 信号通路激活,引起细胞外基质分解代谢增加和合成代谢障碍,引发细胞退变。此外,Hiyama 等^[21]还发现低氧刺激也可以诱导激活大鼠髓核细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路,增加 β -catenin mRNA 和蛋白的表达;同时研究发现抗衰老基因 Klotho 的表达增强能够抑制 Wnt 信号,降低细胞增殖,抑制 β -catenin mRNA 和蛋白的表达。Wnt 信号和 Klotho 基因的表达形成一个负反馈回路, Klotho 基因的表达受到 Wnt 信号的负反馈调节,最终两者达到平衡状态。另有研究发现,在椎间盘退变过程中 Wnt/ β -catenin 信号通路与 TGF- β /BMP 信号发挥相反的作用^[22]。综上所述, Wnt/ β -catenin 信号通路激活能够抑制髓核细胞的增殖,诱导髓核细胞衰老和凋亡以及细胞外基质的分解,加速椎间盘退变的发生。

4.2 Wnt/ β -catenin 信号通路与脊索细胞

脊索细胞被认为是一种潜在的髓核祖细胞,其分泌的可溶性因子具有引导终板软骨细胞向髓核迁移、上调髓核细胞蛋白多糖合成的作用,对维持椎间盘正常形态和功能有重要意义^[22]。Smolders 等^[23]通过研究脊索细胞中

Wnt/ β -catenin 信号通路与早期椎间盘退变的关系发现, 脊索细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活能够引起早期髓核退变的发生。

4.3 Wnt/ β -catenin 信号通路与软骨终板细胞

Kondo 等^[24]研究发现在椎间盘的形成过程中, Wnt/ β -catenin 信号通路与纤维环细胞、髓核细胞、终板细胞都有密切的关系, 并且分别表达不同的作用; Wnt/ β -catenin 信号过度激活, 将引起严重的软骨终板细胞破坏、纤维环细胞层状结构的紊乱和髓核细胞蛋白多糖的减少, 从而引起椎间盘结构的变形。软骨终板细胞对 Wnt 信号通路非常敏感, 并可引起不可逆的退变, Wnt/ β -catenin 信号过度激活能够引起终板细胞蛋白多糖含量迅速降低和肥大软骨细胞的减少, 进一步破坏整个软骨终板组织^[24]。

5 展望

细胞内存在着多种信号转导方式和途径, 各个信号通路之间相互联系、相互作用、相互交叉, 共同调节细胞的生存、增殖、分化及凋亡, 是一个十分复杂的网络系统。近年来, 随着新的蛋白质组学方法的应用及各种新的信号通路抑制剂的发现, 椎间盘退变信号通路的研究越来越被重视。从细胞分子水平深入了解椎间盘退变发生发展机制, 研究椎间盘生理及病理状态下不同信号通路及其上下游信号靶基因、受体和配体蛋白、信号激酶等的改变, 为研究新的延缓或阻止椎间盘退变的治疗方法提供了一个新的方向, 为椎间盘退变引起疾病的治疗及开发新的药物开辟了新的领域。然而, 目前对于椎间盘退变信号通路的研究主要针对一些相对简单、单一的信号转导过程, 因此仍需要对其中的机制进行更加深入的研究探索。

6 参考文献

1. Chan SC, Ferguson SJ, Gantenbein-Ritter B. The effects of dynamic loading on the intervertebral disc [J]. Eur Spine J, 2011, 20(11): 1796-1812.
2. Inoue N, Espinoza OA. Biomechanics of intervertebral disk degeneration[J]. Orthop Clin North Am, 2011, 42(4): 487-499.
3. Elfervig MK, Minchew JT, Francke E, et al. IL-1 β sensitizes intervertebral disc annulus cells to fluid-induced shear stress[J]. J Cell Biochem, 2001, 82(2): 290-298.
4. 郭志良, 周跃, 成敏, 等. 周期性张应变对椎间盘纤维环细胞内游离钙离子浓度的影响[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(11): 1212-1214.
5. Risbud MV, Fertala J, Vresilovic EJ, et al. Nucleus pulposus cells upregulate PI3K/Akt and MEK/ERK signaling pathways under hypoxic conditions and resist apoptosis induced by serum withdrawal[J]. Spine, 2005, 30(8): 882-889.
6. Risbud MV, Di Martino A, Guttapalli A, et al. Toward an optimum system for intervertebral disc organ culture: TGF- β 3 enhances nucleus pulposus and anulus fibrosus survival and function through modulation of TGF- β -R expres-

sion and ERK signaling[J]. Spine, 2006, 31(8): 884-890.

7. 刘瑞龙, 薛少青, 纪学尚, 等. 高渗应激下 ERK 信号转导通路在兔髓核细胞凋亡中的作用[J]. 中国矫形外科杂志, 2012, 20(9): 838-842.
8. Seguin CA, Pilliar RM, Madri JA, et al. TNF- α induces MMP2 gelatinase activity and MT1-MMP expression in an in vitro model of nucleus pulposus tissue degeneration[J]. Spine, 2008, 33(4): 356-365.
9. 李方辉, 薛少青, 修焕娟, 等. JNK/SAPK 和 p38 信号转导通路在高渗透压介导的兔髓核细胞凋亡中的作用[J]. 复旦学报(医学版), 2012, 39(2): 128-134.
10. Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK signaling in apoptosis[J]. Oncogene, 2008, 27(48): 6245-6251.
11. Studer RK, Aboka AM, Gilbertson LG, et al. p38 MAPK inhibition in nucleus pulposus cells: a potential target for treating intervertebral disc degeneration[J]. Spine, 2007, 32(25): 2827-2833.
12. Studer RK, Gilbertson LG, Georgescu H, et al. p38 MAPK inhibition modulates rabbit nucleus pulposus cell response to IL-1[J]. J Orthop Res, 2008, 26(7): 991-998.
13. Seguin CA, Bojarski M, Pilliar RM, et al. Differential regulation of matrix degrading enzymes in a TNF α -induced model of nucleus pulposus tissue degeneration[J]. Matrix Biol, 2006, 25(7): 409-418.
14. Niu CC, Lin SS, Yuan LJ, et al. Hyperbaric oxygen treatment suppresses MAPK signaling and mitochondrial apoptotic pathway in degenerated human intervertebral disc cells[J]. J Orthop Res, 2013, 31(2): 204-209.
15. Niu CC, Yuan LJ, Chen LH, et al. Beneficial effects of hyperbaric oxygen on human degenerated intervertebral disc cells via suppression of IL-1 β and p38 MAPK signal[J]. J Orthop Res, 2011, 29(1): 14-19.
16. Hiyama A, Skubutyte R, Markova D, et al. Hypoxia activates the notch signaling pathway in cells of the intervertebral disc: implications in degenerative disc disease [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(5): 1355-1364.
17. Sharp CA, Roberts S, Evans H, et al. Disc cell clusters in pathological human intervertebral discs are associated with increased stress protein immunostaining [J]. Eur Spine J, 2009, 18(11): 1587-1594.
18. Wang H, Tian Y, Wang J, et al. Inflammatory cytokines induce Notch signaling in nucleus pulposus cells: implications in intervertebral disc degeneration [J]. J Biol Chem, 2013, 288(23): 16761-16774.
19. Hiyama A, Sakai D, Risbud MV, et al. Enhancement of intervertebral disc cell senescence by WNT/ β -catenin signaling-induced matrix metalloproteinase expression[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(10): 3036-3047.
20. 王晶. 经典 Wnt/ β -catenin 信号通路在椎间盘退变中的作用及机制研究[D]. 华中科技大学, 2009.
21. Hiyama A, Arai F, Sakai D, et al. The effects of oxygen

综述

脊柱骨母细胞瘤的基础与临床研究进展

Basic and clinical research advancement of spinal osteoblastoma

王超, 姜亮, 刘忠军

(北京大学第三医院骨科 100191 北京市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2013.12.13

中图分类号: R738.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2013)-12-1122-04

骨母细胞瘤(osteoblastoma)是少见的原发性骨肿瘤,约占良性骨肿瘤的3%,占全部原发性骨肿瘤的1%;男性多见,男女之比约为2:1;10~30岁的青少年和青年患者约占80%;其好发部位为脊柱,约占30%~40%,其次为长管状骨及手足骨^[1,2]。在生物学上有潜在的局部侵袭性,切除不彻底容易复发,且有恶变倾向。从1956年被正式命名至今,其在世界各地均有报告,但绝大多数报告的病例数量较少,而关于脊柱病变的单独报告则更少,未见多中心、大样本的研究^[3]。现就脊柱骨母细胞瘤的实验室研究、诊断、鉴别诊断与治疗进展综述如下。

1 命名及发病情况

1932年Jaffe和Mayer报告了首例骨母细胞瘤,称其为“成骨性骨样组织肿瘤”。1952年,Lichtenstein称其为“成骨纤维瘤”;1954年,Dahlin回顾了11例同种病例,未发现此类肿瘤中有明显的纤维瘤样成分,但在组织学上与骨样骨瘤具有相似性,将其称为“巨大骨样骨瘤”^[4]。1956年,Jaffe和Lichtenstein各自提出了“良性骨母细胞瘤(benign osteoblastoma)”一词,用来描述多发于长骨和脊椎附件的原发性、成骨性“良性”骨肿瘤^[5,6]。

1976年,Schajowicz总结了8例骨母细胞瘤的临床、影像学 and 病理资料,并提出了“恶性骨母细胞瘤(malignant

osteoblastoma)”的说法,以与“良性骨母细胞瘤”相区别^[7]。但由于肿瘤不具有远处转移能力,后来有作者提出“上皮样骨母细胞瘤(epithelioid osteoblastoma)”、“侵袭性骨母细胞瘤(aggressive osteoblastoma)”等概念以取代容易造成误解的“恶性骨母细胞瘤”一词,而其中以“侵袭性骨母细胞瘤”更为常用^[8,9]。

“侵袭性骨母细胞瘤”虽然在临床上经常被提及,但学术界对这一概念仍存在争议,目前WHO骨肿瘤分类中尚未采用“侵袭性骨母细胞瘤”一词^[9]。经典的骨母细胞瘤在瘤巢周边有完整且较厚的反应骨(Enneking S2期),术后局部复发率很低;而有些病例的瘤巢边界不清、反应骨较薄弱、肿瘤突破间室侵入椎管和/或累及周边软组织(即Enneking S3期),病理上细胞有丝分裂象较多,临床术后局部复发率高,被称为侵袭性骨母细胞瘤。有些学者指出这类肿瘤在临床上的侵袭性表现与其在组织学上的表现无对应关系^[2,10]。因此,多数学者认为“侵袭性骨母细胞瘤”并非特定病理类型,而是综合临床、影像学 and 病理结果作出的临床诊断。

脊柱骨母细胞瘤多起源于椎骨后部附件,可蔓延至椎体,但原发于椎体者少见。肿瘤可见于脊柱任何节段,但好发节段在不同报告中有所差异。目前最大宗的脊柱骨母细胞瘤病例报告为75例,其中颈椎病变相对多见(39%),胸椎(21%)、腰椎(23%)和骶椎(17%)则无明显差异^[1]。国内李忠海等^[11]报告11例脊柱骨母细胞瘤,其中10例病变位于颈椎及颈胸段。另有作者报告腰椎多见,其他部位则相对较少^[12,13]。因目前缺乏多中心、大样本的病例研究和系

第一作者简介:男(1987-),住院医师,在读博士,研究方向:脊柱外科

电话:(010)82333046 E-mail:superwang0928@163.com

- tension and antiaging factor Klotho on Wnt signaling in nucleus pulposus cells[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(3): R105.
22. Hiyama A, Sakai D, Tanaka M, et al. The relationship between the Wnt/beta-catenin and TGF-beta/BMP signals in the intervertebral disc cell[J]. J Cell Physiol, 2011, 226(5): 1139-1148.
23. Smolders LA, Meij BP, Riemers FM, et al. Canonical Wnt

- signaling in the notochordal cell is upregulated in early intervertebral disk degeneration[J]. J Orthop Res, 2012, 30(6): 950-957.
24. Kondo N, Yuasa T, Shimono K, et al. Intervertebral disc development is regulated by Wnt/beta-catenin signaling [J]. Spine, 2011, 36(8): E513-E518.

(收稿日期:2013-06-20 修回日期:2013-08-08)

(本文编辑 李伟霞)