

## 脊柱韧带骨化性疾病发病机制的研究进展

## Research progress of pathogenesis in spinal ligament ossification disease

张 浩, 刘 洋

(第二军医大学附属长征医院骨科 200003 上海市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2015.06.13

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2015)-06-0553-05

脊柱韧带骨化性疾病是一类临床常见的多因素迟发性疾病,起病隐匿,常引起脊髓和神经根病变,以多种脊柱韧带骨化为特征,包括后纵韧带骨化(ossification of the posterior longitudinal ligament, OPLL)、黄韧带骨化(ossification of the ligamentum flavum, OLF)和弥漫性特发性骨肥大症(diffuse idiopathic skeletal hyperostosis, DISH)<sup>[1]</sup>。亚洲人群中 OPLL 尤其多见,日本的发病率为 1.9%~4.3%,美国、欧洲等地发病率仅为 0.01%~1.7%<sup>[2]</sup>。OLF 多发生于中老年人,以下胸椎最为常见,男女的发病率之比约为 3:2,男女平均发病年龄约为 61 岁和 68 岁<sup>[3]</sup>。DISH 常见于老年男性,欧美报道较多,男女发病率约为 2:1<sup>[4]</sup>。OPLL 和 OLF 的发病率、发病部位、发病年龄、病理变化等相似,具有较高的合并发生率,并且发病机制目前还不甚清楚,仍处于探索阶段。随着生物科学技术的发展,近年来对该类疾病的基础研究取得了一些进展,笔者就该类疾病发病机制的进展综述如下。

## 1 遗传学研究

脊柱韧带骨化性疾病是个体遗传易感性和环境致病因子共同作用的结果<sup>[5]</sup>。过去的几十年中,在大量的分子生物学分析的遗传学研究基础上,发现了和脊柱韧带骨化相关的许多基因和相关位点,然而不同学者之间的研究结果不尽相同,随着时间的推移,一些基因无法重复检测,一些基因被否定,新的基因以及新的多态性一一被发现。

Yan 等<sup>[6]</sup>研究了 OPLL 中骨形态发生蛋白 2(BMP-2)基因易感性及其在骨化中的信号转导机制,结果发现 BMP-2 是 OPLL 的易感基因,109T>G 多态性的 TG 基因型和 570A>T 多态性的 AT 基因型与 OPLL 的发生密切相关,位于 BMP-2 基因外显子 2 的 109T>G 和 570A>T 多态性与 Smad4 蛋白表达以及碱性磷酸酶(ALP)活化相关。Smad 介导的信号转导通路在 BMP-2 基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)诱导的 OPLL 的发病机制中起重要作用。闫亮等<sup>[6]</sup>探讨了国人 BMP-2 基

因编码区 SNPs 位点与颈椎 OPLL 的遗传易感性和骨化程度的关系发现, BMP-2 基因外显子 2 上的 Ser37Ala(T/G)和外显子 3 上的 Arg190Ser(A/T)多态性与 OPLL 的发生相关, BMP-2 基因外显子 2 上的 Ser87Ser(A/G)基因型与 OPLL 的严重程度有关。另外,在中国的种群研究中, BMP-4 和 BMP-9 基因 SNPs 被证实和 OPLL 的发生和发展有关系<sup>[7,8]</sup>。

Kim 等<sup>[9]</sup>研究了韩国 OPLL 患者和其家人的 BMP-2 和 COL6A1 遗传多态性的区别,结果显示颈椎 OPLL 易感性与 BMP-2 基因的 2 个 SNPs (Ser37Ala 和 Ser87Ser)和 COL6A1 基因的 2 个 SNPs[启动子(-572)和内含子(+20)]相联系,在 110 例 OPLL 患者和其 211 例家庭成员组成的 321 例被调查者中,有 162 例颈椎 OPLL (50.4%; 110 例 OPLL 患者, 52 例其家庭成员), 110 例 OPLL 患者的家庭成员中有 34 例患有 OPLL (30.9%), 说明该病存在家庭趋向性; 在去除大于 50 岁的被调查者中, BMP-2 基因和 COL6A1 基因的 4 个 SNPs 等位基因和单元型频率在患有 OPLL 和未患 OPLL 之间没有明显区别, 说明 SNPs 可能不直接影响 OPLL 的表达。Kong 等<sup>[10]</sup>根据 COL6A1 基因 SNPs 位点, 对同时伴有 OPLL 和 OLF 的中国汉族人进行分析, 发现 OPLL 和 OLF 患者位于染色体 21q22.3 上 COL6A1 基因的 3 个基因位点: 启动子(-572)、内含子 33(+20)、内含子 32(-29), SNPs 改变单倍体的频率明显高于对照组, 指出 OPLL、OLF 的发生与 COL6A1 基因 SNPs 单倍体的出现明显相关, 提示中国汉族人群中 COL6A1 基因可能为 OPLL 和 OLF 的共同易感基因。Liu 等<sup>[11]</sup>在中国汉族人群中进行了一项大样本 SNPs 研究发现, Runx2、BMP-2、COL6A1 和 VDR 等 4 个基因 19 个 SNPs 位点与 OPLL 和 OLF 的发生的关系, 结果显示 Runx2 基因的 SNPs (RS132075 和 RS12333172) 与对照组有差异, 可能与脊柱韧带骨化的发生相关, 但 BMP-2、COL6A1 和 VDR 多态性与脊柱韧带骨化没有明确关联。

另外, Tsukahara 等<sup>[12]</sup>在日本和捷克的住院患者中对 DISH 和核苷酸变种 COL6A1 基因进行等位基因关联的研究中发现, COL6A1 基因 SNPs 内含子 32 (-29) 和日本 DISH 患者明确相关 ( $P=0.0022$ ), 但是和捷克 DISH 患者无

关。说明 COL6A1 基因是日本人 DSH 发生的易感基因,在骨肥大中起重要作用,并导致韧带异位骨化。

Wei 等<sup>[13]</sup>在中国南方对两组不相关的 OPLL 患者进行全基因组外显子测序,在 2 例患有混合型 OPLL 的女性患者中发现 p.T265S/PTCH1、p.P1232L/PTCH1 和 p.T902S/COL17A1 突变,在 3 例患有连续型 OPLL 的男性患者和 1 例患有混合型 OPLL 的女性患者中发现 p.P1232L/PTCH1、p.N1374D/COL17A1 和 p.T902S/COL17A1 突变,表明 COL17A1 基因 SNPs rs805698 和 rs4918079 与 OPLL 密切相关,PTCH1 和 COL17A1 基因的变种在 OPLL 的发展中起重要作用。

Jekarl 等<sup>[14]</sup>通过 21 例 OPLL 患者和 42 例未患 OPLL 患者来研究转化生长因子  $\beta$  受体 2 (transforming growth factor  $\beta$  receptor type 2, TGFBR2) 基因和 OPLL 的联系,发现在 455-4T $\rightarrow$ A ( $P=0.007$ ) 和 571G $\rightarrow$ A ( $P=0.024$ ) 核苷酸变异的基础上,还发现内含子 1 的 95-35C $\rightarrow$ T 核苷酸变异和 OPLL 密切相关。He 等<sup>[15]</sup>研究中国 OPLL 患者术后疾病进展和核苷酸焦磷酸酶磷酸二酯酶 1 (NPP1) 基因多态性的关系,分别研究 NPP1 基因的 4 个 SNPs: A533C、C973T、IVS15-14T $\rightarrow$ C 和 IVS20-11delT,发现 SNPs C973T 和 IVS15-14T 与 OPLL 的发生相关,C973T 和 IVS15 $\rightarrow$ 14T 的 TT 基因型以及野生型 IVS20(缺失)和 OPLL 的严重程度相关,存在 T 缺失的 IVS20 或者具有 AA 基因型 A533C 的患者在术后发生骨化的概率较低,约占不含该基因型患者的 1/3。这个研究是首次研究 SNPs 和术后疾病进展的关系,得出 SNPs IVS20-11delT 和 A533C 可能预测 OPLL 术后的转归。Chin 等<sup>[16]</sup>研究韩国人维生素 K 环氧化物还原酶复合体亚基 1 (VKORC1) 基因 SNPs 和 OPLL 的关系,发现在女性组中基因型 VKORC1-1639G>A 和 OPLL 的发生密切相关(95%CI: 1.675~16.269,  $P=0.004$ ),但并不是全部的 VKORC1-1639G>A 多态性和 OPLL 的易感性相关,一个关于亚型的分析显示 OPLL 亚型和 VKORC1-1639G>A 多态性关联没有统计学意义,说明对待这个结果要谨慎,需要未来的研究来验证。Chon 等<sup>[17]</sup>在韩国人群研究发现 BID (BH3 interacting domain death agonist) 基因和 OPLL 密切相关,错义 SNPs (rs8190315, Ser10Gly) 的 G 等位基因和同义 SNPs (rs2072392, Asp60Asp) 的 C 等位基因都是 OPLL 发展的危险因素。

脊柱韧带骨化性疾病中有许多易感基因,是一种复杂的多因素遗传方式,通过全基因组关联分析 (genome-wide association study, GWAS) 可检测不同的基因差异位点,并通过分析得出该位点与疾病的相关性。最近一项大样本的关于 OPLL 的易感位点的 GWAS 研究<sup>[18]</sup>发现了 6 个 OPLL 的易感位点,分别为: 20p12.3 (rs2423294:  $P=1.10\times 10^{-13}$ )、8q23.1 (rs374810:  $P=1.88\times 10^{-13}$ )、12p11.22 (rs1979679:  $P=4.34\times 10^{-12}$ )、12p12.2 (rs11045000:  $P=2.95\times 10^{-11}$ )、8q23.3 (rs13279799:  $P=1.28\times 10^{-10}$ ) 和 6p21.1 (rs927485:  $P=9.40\times 10^{-9}$ ), 分析这些与 OPLL 表达相关的易感基因发现, RSPH9 和

STK38L 可能和膜内成骨进程有关, HAO1、RSPO2 和 CCDC91 可能和软骨内成骨进程有关。然而,有些试验的研究结果并不一致,可能与 OPLL 的异质性有关,建议大规模使用 OPLL 的动物模型进行研究<sup>[19]</sup>,当然有些 OPLL 的易感基因可能和 OLF 和 DSH 无关,可能是由于 DSH 的发病机制和 OPLL 不同。然而,一种成纤维细胞生长因子-1 (fibroblast growth factor-1, FGF-1) 受体多态性和 OPLL 相关, FGF-2 基因多态性似乎和 DSH 和 OLF 有关联<sup>[20]</sup>。

综合近十几年的遗传学研究进展,与脊柱韧带骨化相关的基因包括 BMP-2、BMP-4、COL6A1、TGFB2、PTCH1、NPPS、Runx2 和 COL17A1 等基因,上述基因中的 SNPs 位点被相继证实。

## 2 内分泌激素及细胞因子

大量研究证明脊柱骨化性疾病的发生和发展与人体内内分泌激素水平和各种细胞因子的变化有关,合并各种代谢紊乱的患者,比普通人更易发生韧带骨化。一些内分泌激素,如甲状旁腺素 (PTH)、胰岛素、雌激素、1,25-二羟维生素 D、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 在骨骼的成长过程中起调控作用。同时,许多脊柱骨化性疾病患者被发现合并与上述激素相关的代谢性及内分泌疾病,如 2 型糖尿病、甲状旁腺功能亢进、佝偻病及肥胖等,然而发病机制至今未明确。

瘦素是一种由脂肪组织分泌的肽类激素,不仅参与体内糖、脂肪及能量代谢的调节,且还参与骨骼的形成<sup>[21]</sup>。肥胖是脊柱韧带骨化性疾病发生的一个重要危险因素,而肥胖者多伴有高瘦素血症。Ikeda 等<sup>[22]</sup>报道女性高瘦素血症联合超高胰岛素血症在 OPLL 异位骨形成过程中起到了重要作用。Fan 等<sup>[23]</sup>的研究发现瘦素诱导的胸椎 OLF 细胞成骨性分化主要与 STAT3 分子通路的激活有关, STAT3 与 Runx2 在细胞核相互作用,并且 STAT3 和 Runx2 以及类固醇受体辅活化蛋白 1 共同构成转录复合物作用于 Runx2 靶基因启动子,诱导细胞的成骨性分化。

间质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是一种具有自我复制能力和多向分化潜能的成体干细胞,这种干细胞能够发育成硬骨、软骨和其他类型的细胞<sup>[24]</sup>。Harada 等<sup>[25]</sup>分别收集 8 例颈椎 OPLL 患者的 C3 黄韧带作为病例组,8 例脊髓型颈椎病患者的 C3 黄韧带作为对照组,两组黄韧带都未见骨化征象,在试管内分化并作组织学分析,发现 OPLL 组 MSCs 成骨的分化潜能比对照组高,另外, OPLL 组 ALP 和另外几个和成骨相关的基因表达 (BMP-2、ALP 和转录因子 2) 比对照组高,说明 OPLL 组 MSCs 成骨分化潜能增加,这种变化对于骨源性的谱系来说可能是引起韧带骨化的一个因素。Chin 等<sup>[26]</sup>分别收集 OLF 患者和非 OLF 患者的胸椎黄韧带并采用免疫荧光技术进行分析,与非 OLF 组相比, OLF 组韧带碎片基质上有大量的新生血管形成,并且血管周围 MSCs 大量堆积; OLF 组胶原基质内 MSCs 比非 OLF 组明显增高, OLF 组邻近骨化的软

骨细胞也出现了 MSCs 的表达,说明 MSCs 可能通过软骨内骨化影响 OLF 的异位骨形成。

蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase R-like ER kinase, PERK) 是一种位于内质网膜上的 I 型跨膜蛋白,属于 eIF2 $\alpha$  上游激酶家族。Chen 等<sup>[27]</sup>体外培养脊柱韧带成纤维细胞(OPLL 组和非 OPLL 组),发现 OPLL 患者骨钙素(OCN)、ALP 及 I 型胶原蛋白(COL I)的 mRNA 表达和 PERK 的蛋白表达比非 OPLL 组明显增强,OPLL 患者韧带的成纤维细胞呈现出了成骨特性,PERK 介导的内质网应激和 OPLL 的发展有关。

Park 等<sup>[28]</sup>研究发现,白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、前列腺素 E2(PGE2)和一氧化氮(NO)等炎性细胞因子在黄韧带肥厚和骨化的过程中起非常重要的作用,椎间盘退变、突出可通过炎性细胞因子影响黄韧带,并引起黄韧带肥厚和骨化。Hou 等<sup>[29]</sup>通过大鼠模型研究,将重组人骨形态发生蛋白-2(rhBMP-2)装载于 I 型胶原后置于大鼠硬膜外间隙,结果术后 1 周黄韧带中有骨化病灶形成,并在第 3~9 周骨化大量增加,说明 rhBMP-2 诱导 OLF 是典型的软骨内成骨,并且和临床上的 OLF 非常相似,组织蛋白类 H3 (H3K9ac, H3K18ac, H3K4me3 和 H3K36me3)修饰可能在 OLF 的发生发展中起重要作用。

钙感受受体(calcium-sensing receptor, CASR)为机体维持钙稳态、保持正常生理功能的关键环节<sup>[30]</sup>。CASR 失活性突变可引起家族性低尿钙高血钙(familial hypocalciuric hypercalcemia, FHH)及原发性甲状旁腺功能亢进症(PHPT)<sup>[31]</sup>。Rivas 等<sup>[32]</sup>报道了 1 例 FHH 伴有糖尿病并发 DISH 的非洲女性患者,糖尿病和韧带骨化性疾病密切相关,但是可能忽略了 FHH 和 DISH 的内在联系。Gokhale 等<sup>[33]</sup>报道了一例四肢麻痹伴有 OPLL 的患者,并同时发现该患者患有 DISH、维生素 D 缺乏症以及继发性甲状旁腺功能亢进,说明脊柱韧带骨化性疾病和体内激素水平密切相关。

脊柱韧带骨化的发生是一个复杂的过程,不同的发展阶段可能由不同的细胞因子进行过调控。由于多种危险因素均可诱发韧带异位骨形成,因此,探讨不同危险因素诱发骨化的分子通路是将来要研究的问题。

### 3 机械应力刺激和生物力学因素

很多研究都证明机械应力刺激和脊柱韧带骨化有密切联系。Zhang 等<sup>[34]</sup>通过体外培养 OPLL 细胞和非 OPLL 细胞,研究波形蛋白在机械刺激下的信号转导通路的潜在作用,结果发现通过机械伸展,OPLL 细胞中的成骨细胞基因编码 OCN、ALP 和 COL I 的表达水平增强,但是非 OPLL 细胞的表达没有变化;另外,通过 siRNA 敲除波形蛋白的表达导致 OCN、ALP 和 COL I mRNA 表达增加,说明在机械刺激诱导下波形蛋白的表达下调在 OPLL 细胞成骨分化过程中起到了重要作用。

Kang 等<sup>[35]</sup>通过体外培养研究人突出的椎间盘对周围

黄韧带的影响,发现突出的椎间盘高表达白介素-1 $\alpha$ (IL-1 $\alpha$ )、IL-6、TNF- $\alpha$ 、PGE2 和 NO,显著增加 DNA 的合成,上调胶原 III、XI 和 OCN 的 mRNA 表达,说明通过这些炎症因子的作用,退变和突出的椎间盘在 OLF 的发病机制中起到了重要作用。

张耀等<sup>[36]</sup>探讨生物力学因素与 BMP-2 SNPs 对 OPLL 成骨作用的影响,发现 BMP-2 SNPs 109T>G (rs2273073)的突变不仅能提高人们对 OPLL 的易感性,同时能提高 OPLL 患者对机械应力的敏感性,从而加速 OPLL 的进展,为进一步发现 OPLL 多因素共同致病的具体机制奠定了基础。在 Wang 等<sup>[37]</sup>的研究中,BMP-2 基因的 2 个 SNPs rs2273073 (T/G)和 rs235768 (A/T)被证实和 OPLL 密切相关。在 Li 等<sup>[38]</sup>的研究中,在机械应力刺激下, C3H10T1/2 细胞受 BMP-2 [rs2273073 (T/G)] 和 BMP-2 [rs2273073 (T/G), rs235768 (A/T)]转染后,细胞内的 BMP-2 蛋白的表达明显高于静止组,说明 BMP-2 基因变种 rs2273073 (T/G)不仅增加了其早期细胞骨化的易感性,而且增加了其对机械应力刺激的敏感性,说明生物力学因素在 OPLL 的发病机制中起到了重要作用。

总之,机械应力刺激和生物力学因素在脊柱韧带骨化疾病中起到了重要作用,但并不能解释所有的病例,文献鲜有欧美人群因脊柱力学异常发生韧带骨化的报道,所以机械刺激的影响可能和遗传易感性有关,有一些说法认为频繁的蹲起以及姿势的改变是亚洲人韧带骨化高发的一个原因。

### 4 展望

脊柱韧带骨化性疾病是一类多基因、多因素共同作用导致的疾病,虽然经过多年的研究,但确切的发病机制尚不清楚。近年来随着分子生物学的发展,许多从分子水平对发病机理的阐述为今后的临床研究提供了帮助。另外,脊柱韧带骨化性疾病是多基因累及、多因素共同作用导致的疾病,多学科、多单位的联合,新的研究技术的发展以及流行病学等相关因素的系统研究是韧带骨化性疾病取得重大突破的根本。

### 5 参考文献

1. Ehara S, Shimamura T, Nakamura R, et al. Paravertebral ligamentous ossification: DISH, OPLL and OLF[J]. Eur J Radiol, 1998, 27(3): 196-205.
2. Stapleton CJ, Pham MH, Attenello FJ, et al. Ossification of the posterior longitudinal ligament: genetics and pathophysiology[J]. Neurosurg Focus, 2011, 30(3): E6.
3. Aizawa T, Sato T, Sasaki H, et al. Thoracic myelopathy caused by ossification of the ligamentum flavum: clinical features and surgical results in the Japanese population [J]. J Neurosurg Spine, 2006, 5(6): 514-519.
4. Mader R. Diffuse idiopathic skeletal hyperostosis: a distinct

- clinical entity[J]. *Isr Med Assoc J*, 2003, 5(7): 506–508.
5. Yan L, Chang Z, Liu Y, et al. A single nucleotide polymorphism in the human bone morphogenetic protein-2 gene (109T>G) affects the Smad signaling pathway and the predisposition to ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. *Chin Med J(Engl)*, 2013, 126(6): 1112–1118.
  6. 闫亮, 贺宝荣, 刘团江, 等. 国人骨形态发生蛋白-2 基因多态性与颈椎后纵韧带骨化的遗传关联研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(7): 1451–1453.
  7. Ren Y, Liu ZZ, Feng J, et al. Association of a BMP9 haplotype with ossification of the posterior longitudinal ligament (OPLL) in a Chinese population[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40587.
  8. Ren Y, Feng J, Liu ZZ, et al. A new haplotype in BMP4 implicated in ossification of the posterior longitudinal ligament (OPLL) in a Chinese population[J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(5): 748–756.
  9. Kim KH, Kuh SU, Park JY, et al. Association between BMP-2 and COL6A1 gene polymorphisms with susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine in Korean patients and family members [J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(1): 2240–2247.
  10. 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.
  11. Liu Y, Zhao Y, Chen Y, et al. RUNX2 polymorphisms associated with OPLL and OLF in the Han population[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2010, 468(12): 3333–3341.
  12. 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.
  13. Wei W, He HL, Chen CY, et al. Whole exome sequencing implicates PTCH1 and COL17A1 genes in ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine in Chinese patients[J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13(1): 1794–1804.
  14. Jekarl DW, Paek CM, An YJ, et al. TGFBR2 gene polymorphism is associated with ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. *J Clin Neurosci*, 2013, 20(3): 453–456.
  15. He Z, Zhu H, Ding L, et al. Association of NPP1 polymorphism with postoperative progression of ossification of the posterior longitudinal ligament in Chinese patients[J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(4): 4648–4655.
  16. Chin DK, Han IB, Ropper AE, et al. Association of VKORC1-1639G>A polymorphism with susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine: a Korean study[J]. *Acta Neurochir(Wien)*, 2013, 155(10): 1937–1942.
  17. Chon J, Hong JH, Kim J, et al. Association between BH3 interacting domain death agonist (BID) gene polymorphism and ossification of the posterior longitudinal ligament in Korean population[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(2): 895–899.
  18. Nakajima M, Takahashi A, Tsuji T, et al. A genome-wide association study identifies susceptibility loci for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *Nat Genet*, 2014, 46(9): 1012–1016.
  19. Berthelot JM, Le Goff B, Maugars Y. Pathogenesis of hyperostosis: a key role for mesenchymatous cells[J]. *Joint Bone Spine*, 2013, 80(6): 592–596.
  20. Jun JK, Kim SM. Association study of fibroblast growth factor 2 and fibroblast growth factor receptors gene polymorphism in korean ossification of the posterior longitudinal ligament patients[J]. *J Korean Neurosurg Soc*, 2012, 52(1): 7–13.
  21. Turner RT, Kalra SP, Wong CP, et al. Peripheral leptin regulates bone formation[J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(1): 22–34.
  22. Ikeda Y, Nakajima A, Aiba A, et al. Association between serum leptin and bone metabolic markers, and the development of heterotopic ossification of the spinal ligament in female patients with ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. *Eur Spine J*, 2011, 20(9): 1450–1458.
  23. Fan D, Chen Z, Chen Y, et al. Mechanistic roles of leptin in osteogenic stimulation in thoracic ligament flavum cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(41): 29958–29966.
  24. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy position statement [J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315–317.
  25. Harada Y, Furukawa K, Asari T, et al. Osteogenic lineage commitment of mesenchymal stem cells from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443(3): 1014–1020.
  26. Chin S, Furukawa K, Ono A, et al. Immunohistochemical localization of mesenchymal stem cells in ossified human spinal ligaments [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 436(4): 698–704.
  27. Chen Y, Wang X, Yang H, et al. Upregulated expression of PERK in spinal ligament fibroblasts from the patients with ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Eur Spine J*, 2014, 23(2): 447–454.
  28. Park JO, Lee BH, Kang YM, et al. Inflammatory cytokines induce fibrosis and ossification of human ligamentum flavum cells[J]. *J Spinal Disord Tech*, 2013, 26(1): E6–12.
  29. Hou XF, Fan DW, Sun CG, et al. Recombinant human bone morphogenetic protein-2-induced ossification of the ligamentum flavum in rats and the associated global modification of histone H3[J]. *J Neurosurg Spine*, 2014, 21(3): 334–341.
  30. Ba J, Friedman PA. Calcium-sensing receptor regulation of renal mineral ion transport[J]. *Cell Calcium*, 2004, 35(3): 229–237.

## 自噬现象及其在脊髓缺血再灌注损伤中作用的研究进展

## Research progress of autophagy in spinal cord ischemia and reperfusion injury

殷建<sup>1</sup>, 殷照阳<sup>2</sup>, 杨海源<sup>1</sup>, 殷国勇<sup>1</sup>, 凡进<sup>1</sup>

(1 南京医科大学第一附属医院脊柱外科 210029 南京市; 2 江苏省连云港市第一人民医院骨科 222000)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2015.06.14

中图分类号: R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2015)-06-0557-06

脊髓缺血再灌注损伤 (spinal cord ischemia-reperfusion injury, SCII) 指的是脊髓神经细胞经历一段时间的缺血后得到血液再灌注, 却出现了明显的神经功能障碍, 甚至不可逆性脊髓神经元迟发性死亡, 可以引起患者四肢截瘫甚至死亡等一系列并发症<sup>[1,2]</sup>, 是目前发生率和致残率都较高的疾病, 严重威胁患者的生命健康, 增加了患者及其家人、社会的经济、心理负担。脊髓血液由椎动脉的降支分出单一的脊髓前动脉和成对的脊髓后动脉, 以及肋间动脉、腰动脉、骶动脉分出的脊髓支(根动脉)供应。外伤或临床上脊柱、胸心、血管外科的部分手术常需要暂时性的阻断腰动脉或胸腹主动脉而阻断部分脊髓血供, 当脊髓血液再灌注后常会引起脊髓损伤症状。目前对 SCII 损伤的机

制研究已成为脊柱外科和神经学科等领域的热点和难点, 其中自噬被认为在 SCII 中对脊髓的损伤及保护起重要作用。自噬是普遍存在的、真核细胞特有的生命现象, 在细胞的生长发育和老化的过程中清除多余或损伤细胞器、维持细胞内环境稳态具有重要作用。笔者就自噬的发生发展及其在脊髓缺血再灌注损伤中的损伤或保护机制进行综述, 以期临床患者减轻损伤、提高生活质量提供新思路。

## 1 “自噬”(Autophagy)的起源

20 世纪 50 年代, 比利时科学家 Christian de Duve 使用电镜观察到了自噬体 (autophagosome) 的构造, 1962 年, Ashford 等使用透射电镜观察到了胰岛素处理后小鼠肝细胞中的自噬现象<sup>[3]</sup>, 近年来自噬在 SCII 中的研究逐渐成为研究热点。真核细胞内主要存在两种降解细胞质内蛋白质的途径: 泛素-蛋白酶体系统和自噬, 前者主要是有选择性地降解蛋白质, 相比之下后者缺乏选择性<sup>[4]</sup>。自噬作为真核细胞所特有的、广泛存在的依赖溶酶体消化细胞产物

第一作者简介: 男 (1990-), 硕士研究生在读, 研究方向: 脊柱与脊髓损伤

电话: (025)68136474 E-mail: yinjian0511@163.com

通讯作者: 凡进 E-mail: fanjin@nimu.edu.cn

31. Miyashiro K, Kunii I, Manna TD, et al. Severe hypercalcemia in a 9-year-old Brazilian girl due to a novel inactivating mutation of the calcium-sensing receptor [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(12): 5936-5941.
32. Rivas AM, Lado-Abeal J. Diffuse idiopathic skeletal hyperostosis and familial hypocalciuric hypercalcemia: a unique association in a young female[J]. Am J Med Sci, 2013, 346(3): 247-249.
33. Gokhale Y, Godkar D, Hedge U, et al. Quadriplegia complicating ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. J Assoc Physicians India, 2002, 50: 432-434.
34. Zhang W, Wei P, Chen Y, et al. Down-regulated expression of vimentin induced by mechanical stress in fibroblasts derived from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. Eur Spine J, 2014, 23(11): 2410-2415.
35. Kang YM, Suk KS, Lee BH, et al. Herniated intervertebral

disk induces hypertrophy and ossification of ligamentum flavum[J]. J Spinal Disord Tech, 2014, 27(7): 382-389.

36. 张耀, 刘宝戈, 林欣, 等. 生物力学因素与 BMP2 单核苷酸多态性对颈椎后纵韧带骨化成骨作用的影响 [J]. 医学研究杂志, 2014, 43(10): 85-91.
37. 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.
38. Li JM, Zhang Y, Ren Y, et al. Uniaxial cyclic stretch promotes osteogenic differentiation and synthesis of BMP2 in the C3H10T1/2 cells with BMP2 gene variant of rs2273073 (T/G)[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e106598.

(收稿日期: 2015-01-22 末次修回日期: 2015-06-04)

(本文编辑 李伟霞)