

综述

椎体终板退变机制的研究进展

Research progress in the molecular mechanism of vertebral endplate degeneration

胡舟扬, 李新华, 崔健, 孙贵新, 谭军, 李立钧

(同济大学附属上海市东方医院脊柱外科 200092 上海市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2016.02.14

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2016)-02-0182-06

椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)是指椎间盘自然老化、退化的生理病理过程,它是一系列脊柱退行性疾病的病理基础。研究表明^[1],全世界 2/3 人口会在其一生中经历不同程度的腰痛。引起腰痛的原因众多,但年龄相关的 IDD 是引起腰痛的主要原因之一^[2]。20 世纪 60 年代,国内外学者开始研究导致 IDD 的原因,但至今其确切机制仍不十分清楚。应力损伤、营养障碍、炎症因子作用、年龄、细菌感染等因素均可加重或导致 IDD。椎体终板是椎间盘的重要组成部分之一,其退变的病理变化过程复杂且与 IDD 的发生、发展关系紧密。从组织学上而言,各种影响因素通过紊乱软骨细胞功能、破坏软骨基质,最终导致终板结构和功能的退变。笔者结合国内外最新研究进展,对各种影响终板软骨细胞及软骨基质功能的主要因素及其作用的分子机制综述如下。

1 椎体终板简介

在组织学上,一般认为椎间盘由纤维环、髓核以及终板三部分构成。成人的终板是由薄片状的骨性终板和覆盖其上的软骨性终板组成。骨性终板的中央区聚集了大量微孔,维持着椎间盘物质代谢与转运功能;软骨性终板的渗透性较差,主要作用在于稳定髓核组织流体压力^[3]。婴儿的椎间盘有丰富的血管供应营养,在生长发育过程中,血管逐渐封闭消失,仅遗留非常微小且薄弱的区域由血管芽供应营养。不同节段终板的形态和厚度不尽相同,颈椎终板有明显凹陷,呈椭圆形;胸椎终板呈心形,厚度较颈椎薄;腰椎终板则较平坦,厚度较颈胸椎增加。

在电镜下,椎体终板主要是由软骨细胞、水以及富含Ⅱ型胶原、蛋白多糖等的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)构成。软骨细胞 ECM 中Ⅱ型胶原与蛋白多糖比值接近 1:2,水含量达到 50%~60%左右^[4]。蛋白多糖由中央核心蛋白与硫酸氨基葡萄糖(GAGs)聚合形成的多聚糖链交联

构成。硫酸化所形成的负电荷可吸引胞外阳离子以及营养成分进入基质^[5]。Ⅱ型胶原排列成复杂交错的纤维网,在稳定终板自身结构及对抗外界压力负荷上发挥着至关重要的作用。

一般认为椎间盘的营养供应主要来源于三条途径:(1)终板与其相邻椎体松质骨的接触渗透;(2)终板下毛细血管丛的渗透;(3)纤维环外层血管的直接滋养。终板在维持机械强度和渗透转运能力二者之间取得了平衡。位于外周、厚实的终板保证了终板的机械强度,而位于中央区、多孔的终板则维持着渗透转运功能。终板的厚度、微孔数、曲率都是保证其正常应力功能的因素,厚而致密、曲率大的终板相对薄而多孔、平坦的终板抗压能力强。胶原纤维网保证了终板的抗张力强度和结构完整,而蛋白多糖则通过其保持水分的特点增加了终板的抗压性性能。颈椎间盘所承受的轴向负荷较腰椎间盘少,而各节段终板中央区所承受负荷则较周围区更大。最新研究^[6]发现,通过对新鲜标本进行 CT 连续扫描和有限元分析,在保留椎间盘结构完整的同时,观察上、下终板外表面应力的分布情况,发现 IDD 组较正常组终板抗压应力显著增大。

2 终板退变的分子机制

很多研究发现终板的退变是多种因素共同作用的结果。现已发现与终板退变相关的基因、蛋白众多(表 1)。各种影响因素通过上/下调相关基因或蛋白的表达,紊乱软骨细胞功能、破坏软骨基质,最终导致终板结构和功能的退变。

2.1 应力异常

正常范围内的应力对 ECM 中胶原和蛋白多糖的合成至关重要^[7]。但长期持续过高的压力负荷则会促进终板退变。异常应力通过改变 ECM 的固定电荷密度从而影响细胞外渗透环境,最终造成终板通透性下降。20 世纪 90 年代, Holmes 等^[8]观察了软骨终板对脊柱持续应力时的反应,当施以一定量负荷时终板会立即产生“蠕变位移”,当位移超过 4mm 时就会对松质骨造成损害。最近, Gullbrand 等^[9]在动物模型研究中发现,无论正常或退变的椎间盘均

第一作者简介:男(1991-),硕士研究生,研究方向:脊柱外科

电话:(021)65982875 E-mail:huzhouyang1991@163.com

通讯作者:李立钧 E-mail:liliju@163.com

表 1 与椎体终板退变相关的基因

作用机制	相关基因和因子
诱导终板软骨细胞凋亡	P53, 半胱天冬蛋白酶-3 (caspase-3), Bax, Bid, Bad, 酸敏感离子通道 1a (ASIC1a), 卵巢癌 G 蛋白偶联受体 1 (OGR1), 白介素-1 (IL-1), IL-6, IL-7, IL-17, IL-18, 一氧化氮 (NO)
抗终板软骨细胞凋亡	Bcl-2, Ank, 血管内皮生长因子 (VEGF) SIRT1
诱导终板软骨基质降解	ASIC1a, IL-1, IL-6, IL-7, IL-17, IL-18, NO, 金属基质蛋白酶 (MMP), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 内皮素-1 (ET-1), 磷脂酶 A2 (PLA2), ADAMTS-5、12
促进终板软骨基质合成	胰岛素样生长因子-1 (IGF-1), 骨形态发生蛋白 (BMP), 血小板衍生生长因子 (PDGF)

可通过增加对流压力而增强终板通路的营养弥散。Zehra 等^[10]则通过比较邻近椎间盘抗压应力与终板厚度和微孔的关系,发现机械负荷是终板厚度和微孔数的主要决定因素。他们还进一步证明 IDD 更大程度上取决于终板的机械完整性以及椎间盘内压对其造成的影响,而不是终板微孔及其在代谢运输上的功能。

2.1.1 异常应力与软骨细胞 Kong 等^[11]利用膜联蛋白/碘化丙啶、核苷酸末端标记 (TUNEL) 和 Western-blot 等方法对持续应力下小鼠颈部软骨细胞进行追踪标记,发现持续应力负荷在导致软骨细胞凋亡的同时还伴有 JNK、ERK1/2、p38MAPK 等蛋白激酶的磷酸化;进一步的研究发现,MAPK 介导的线粒体信号通路也与软骨细胞凋亡有关。Yurube 等^[12]也通过类似的方法观察了鼠脊索细胞在长期静态应力状态下细胞数量与表型的变化,发现在持续应力作用下脊索细胞的消失、凋亡与椎间盘细胞中 P53 介导的线粒体信号通路有关。Xia 等^[13]发现,在用针刺诱导的小鼠退变椎间盘细胞中, SIRT1 基因表达增加;当予以 SIRT 基因激活剂处理后,椎间盘细胞死亡数明显减少。Zhang 等^[14]在 0.2MPa 压力负荷下持续作用鼠软骨细胞 0h、6h、12h、24h,以 Western-blot 法观察 Bax 蛋白、Bcl-2 蛋白、半胱天冬蛋白酶-3 (caspase-3)、细胞色素 C 的表达量,发现 12h 后 Bax 蛋白、caspase-3 表达明显增加,而 Bcl-2 蛋白表达则减低。因此他们提出 Bax 蛋白、caspase-3 表达上调与 Bcl-2 蛋白表达下调在终板软骨细胞凋亡中发挥着重要作用。Xu 等^[15]通过 RT-PCR 和 Western-blot 法测定应力状态下软骨细胞 Ank 基因的 mRNA 和蛋白质的表达量,发现与 TGF- β 1 的表达量呈正相关。提出间歇循环张力 (Intermittent cyclic mechanical tension, ICMT) 可下调 Ank 基因的表达并直接导致终板软骨细胞的钙化和细胞表型的改变; Ank 基因的下调可能与内源性 TGF- β 1 下调相关。

2.1.2 异常应力与软骨基质改变 椎体终板在抗应力、抗形变上特有的性质与软骨基质的生化组成及含量密不可分。基质的生化组成发生改变将加速终板的退变。Handa

等^[16]最早提出机械应力与椎间盘细胞基质之间的关系,认为生理范围内流体静压可能是刺激椎间盘细胞合成基质的因素之一;过高或者过低的应力都可导致基质的合成和降解失衡。异常应力的增加可导致基质中的水分逐渐丢失、基质内蛋白多糖因此浓缩,内部渗透性、固定电荷密度发生改变, pH 值降低等。Gao 等^[17]通过数学建模的方法,量化分析了不同应力和渗透力作用下软骨细胞基质中 GAGs 的生成量,发现应力在软骨组织合成和退变过程中均发挥重要作用。Xu 等^[18]通过观察 ICMT 作用下终板软骨细胞的活力、凋亡数以及基质合成量的变化,发现软骨基质 II 型胶原、蛋白多糖等表达减少,但软骨细胞凋亡数并未增加、细胞增殖能力也未降低。他们还发现, ICMT 通过抑制 E-钙黏素的表达,影响 E-钙黏素与 β -钙黏素的相互作用,从而激活 Wnt/ β -钙黏素信号通路,诱导合成代谢相关基因的下调,最终加速终板软骨细胞的退变。近年来,急性应力损伤导致软骨基质成分改变的机制也得到了关注。Moo 等^[19]通过模拟试验提出异常应力可能是通过上调分解代谢相关因子,诱导蛋白水解酶的异常升高,并最终导致软骨基质被消化、降解。

2.2 营养障碍

40 多年前, Nachemson 等^[20]发现终板的营养弥散与 IDD 关系密切。近年来骨水泥广泛应用于椎体成形术中,然而其对于邻近终板营养通路的影响尚未得到足够的重视。Kang 等^[21]使用骨水泥对未成熟猪椎体终板进行封闭、阻断其营养通路,3 个月 after 在 MRI 下观察到了邻近椎间盘的退变,同时在组织学染色标记下观察到椎间盘细胞基质的丢失。相关的体内、外实验研究也发现^[22],椎间盘营养障碍不仅显著降低细胞中基质合成相关基因的表达、导致 ECM 的丢失,严重情况下还会造成椎间盘细胞的死亡。

然而,大多数研究都集中在髓核细胞和纤维环细胞及其胞外基质,针对终板软骨细胞及软骨基质在营养障碍时发生的变化则少见报道。

2.2.1 营养障碍与软骨细胞 有研究表明^[23],正常椎间盘和软骨细胞 ECM 环境中的 pH 值总是维持在 6.9~7.2 之间。细胞周围环境的酸化和缺氧无疑对软骨细胞生存造成严重影响。当营养浓度 < 0.5mmol/L、pH 值 < 6.3 时,细胞就会发生死亡。Li 等^[24]发现,在终板软骨细胞中存在一种酸敏感离子通道 1a (acid-sensing ion channel 1a, ASIC1a),当敲除 ASIC1a 基因后,酸诱导的细胞凋亡、钙离子内流均受到抑制; ASIC1a 在终板软骨细胞中的活化可能通过触发 Ca^{2+} 依赖蛋白酶信号通路,最终导致软骨细胞的凋亡。Yuan 等^[25]用短发卡结构 RNA (shRNAs) 敲除大鼠腰椎软骨细胞中卵巢癌 G 蛋白偶联受体 1 (OGR1) 基因,通过 DNA 片段 ELISA 法和流式细胞术检测,发现凋亡细胞显著减少、细胞内钙离子浓度 ($[Ca^{2+}]_i$) 明显增加。他们进一步发现,抑制 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度升高可降低钙敏蛋白 (钙蛋白酶、钙调磷酸酶)、Bid、Bad、caspase 以及聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 的活化水平。因此他们认为 OGR-1 介导 $[Ca^{2+}]_i$ 的

升高通过调节钙敏蛋白和其下游信号的活化而最终引起终板软骨细胞的凋亡。Ding 等^[26]通过慢病毒转染的方法,在血清剥夺的环境里特异性沉默小鼠软骨细胞中 caspase-3 的表达,观察到终板软骨细胞凋亡数大大减少。因此他们认为低营养环境可导致内源性 caspase-3 瀑布样激活,从而增加鼠软骨细胞凋亡。

2.2.2 营养障碍与软骨基质 营养障碍导致的缺氧、酸性环境对于软骨 ECM 破坏是巨大的,表现在影响基质成分(如 GAGs 等)合成、直接降解基质或活化基质金属蛋白酶表达等方面。Razaq 等^[27]发现,当基质环境 pH 值下降到约为 6.4 时,基质成分的平均合成量减少了 50%,GAGs 和 MMP 抑制剂(TIMPS)的合成量则减少了 90%。Yuan 等^[28]最近发现,ASIC1a 通道在调节终板软骨基质代谢活动中也发挥了重要作用。当软骨 ECM 环境 pH 值降至 6.0 时,蛋白多糖、II 型胶原的合成量降低,而 MMP-1、MMP-9 和 MMP-13 的表达量则增加;通过特异 siRNA 敲除 ASIC1a 基因后,以上物质的上/下调现象则均受到抑制;在酸性环境中 ASIC1a 调节软骨基质的合成代谢是通过激活 NF- κ B 通路的转录活性而实现。

2.3 炎性细胞因子

20 世纪 90 年代,炎性细胞因子在椎间盘细胞中的异常表达就引起了众多学者的注意。炎性因子在 IDD 过程中亦起着重要的作用,主要表现在影响椎间盘基质的合成与分解、诱发炎症反应和促进椎间盘细胞凋亡三方面^[29]。近年来,椎间盘细胞炎性因子发挥致炎作用的分子生物学机制得到广泛关注和研究。然而,大部分研究主要集中在椎间盘髓核细胞、纤维环细胞或是关节软骨细胞中,炎性细胞对终板软骨细胞的作用机制报道较少。

2.3.1 白介素 白细胞介素 1(IL-1)是重要的炎症促进剂,可刺激炎症细胞的聚集、激活和炎症递质的释放,促进椎间盘终板中的炎症反应、加速终板组织的病理变化。IL-1 可通过诱导 MMP 的表达、减少其抑制剂的分泌,并可抑制软骨细胞合成具有透明软骨特性的蛋白多糖和 II 型胶原纤维,促进生成 I 型胶原,从而使软骨细胞变性、死亡,并且加速软骨基质降解。Ismail 等^[30]的研究发现,IL-1 通过 JNK-2 信号通路最终导致引起软骨细胞中蛋白多糖的降解。白细胞介素 6(IL-6)是重要的炎症促进剂,可以刺激炎症细胞的聚集、激活和炎症递质的释放,促进椎间盘终板退变的炎症过程。在软骨细胞基质中 IL-6 可通过抑制 II 型胶原的生成,从而加速终板的退变^[31]。有研究^[32]发现,IL-6 可通过上调 ASIC1a 通道的表达,经 JAK2/STAT3、MAPK/NF- κ B 信号通路最终导致软骨细胞凋亡。白细胞介素 17、18(IL-17、IL-18)近年来在椎间盘中的致炎作用得到进一步深入研究。Tanigawa 等^[33]发现,IL-17 通过诱导胶原蛋白酶(COXs)和基质溶素-1 合成增加从而导致软骨基质中蛋白多糖、II 型胶原和其他相关蛋白质的表达大量减少。John 等^[34]则发现 IL-18 不仅可以促使软骨细胞凋亡,其在抑制软骨特异基质如 II 型胶原、细胞骨架粘着蛋白上

的作用也十分显著。

2.3.2 一氧化氮 一氧化氮(NO)是一种重要促炎介质。Kohyama 等^[35]最早发现并检测到椎间盘细胞能够释放 NO,认为 NO 在参与促进椎间盘细胞原位凋亡上发挥重要作用。Liu 等^[36]也发现 NO 通过自分泌和旁分泌作用导致椎间盘细胞应力时蛋白多糖合成减少,并证明 NO 在导致 IDD 的病因学机制中发挥重要作用。有研究^[37]表明,NO 与 Toll 样受体 4 的活化激活脂运载蛋白 2(LCN2)的异常表达,其可能与 MMP-9 形成炎性复合物作用于软骨细胞,导致细胞活力下降、软骨基质降解。

2.3.3 肿瘤坏死因子 肿瘤坏死因子(TNF- α)是最强有力的炎性细胞因子之一。TNF- α 在腰腿痛症状的发生中起重要作用,特别是在出现有腰椎 Modic 改变的椎间盘突出症患者^[38]。胡绪江等^[39]通过动物实验发现 TNF- α 能够引起腰椎间盘细胞数量减少及基质中的蛋白多糖含量下降,导致椎间盘正常组织结构的破坏。其机制可能是 TNF 受体与 TNF 受体相关因子(TRAF)结合并形成的复合体激活 NF- κ B 和 JNK 信号通路,诱导基因转录,抑制细胞存活、增殖和分化。此外,TNF- α 还能诱导 MMP-3、MMP-7 等的表达,进一步加速基质中重要蛋白的降解。

2.3.4 基质金属蛋白酶家族 基质金属蛋白酶家族(MMPs)是一种能够降解 ECM 的降解酶。在终板退变时其含量明显增高,其抑制物(TIMPS)含量则相对降低,导致基质降解加快,破坏了终板生物应力和营养的稳态。目前发现其家族中 MMP-1、MMP-2、MMP-3 在软骨退变中发挥着至关重要的作用。MMP-1 主要由成纤维细胞分泌,在软骨基质中主要降解 II 型胶原。MMP-2 主要功能为水解变性胶原和降解糖蛋白成分,参与 ECM 的改建和重塑。MMP-3 可降解蛋白多糖、层粘连蛋白,并可裂解 ECM 中 II 型胶原的非螺旋区^[40]。另外,TIMPS 在退变椎间盘中的作用机制也得到广泛关注。Wallach 等^[41]发现在退变椎间盘细胞中,TIMP-1 的表达明显减低并始终维持在较低水平。他们认为通过基因工程技术可将 TIMP-1 基因导入软骨细胞中增殖表达以对抗蛋白多糖的降解,这项技术可能成为基因治疗基质降解和 IDD 的一个新靶点。

2.3.5 其他炎性因子 最近研究发现,内皮素-1^[42](endothelin-1,ET-1)、磷脂酶 A2^[43](phospholipase A2,PLA2)、ADAMTS-5^[44]、ADAMTS-7、ADAMTS-12^[45]等细胞因子在退变椎间盘中高表达,可能参与终板软骨细胞的凋亡与基质降解。除此之外,近年来研究热门的细胞因子如胰岛素样生长因子-1^[46](insulin-like growth factor-1,IGF-1)、骨形态发生蛋白^[47](bone morphogenetic protein,BMP)、血管内皮生长因子^[48](vascular endothelial growth factor,VEGF)和血小板衍生生长因子^[49](platelet-derived growth factor,PDGF)等在不同程度上具有调节终板软骨细胞的增殖、趋化或促进软骨 ECM 合成的正向调节作用。

2.4 年龄

20 世纪 80 年代,Bernick 等^[50]首先开始研究人椎体

终板随年龄增长出现的一系列变化。他们发现,随着年龄的增长,椎体软骨终板逐渐出现矿化层;软骨终板在 20~40 岁钙化作用逐渐加快,导致终板的渗透性下降,髓核的营养供应受到明显的影响。随着年龄增加,细胞老化不可避免。终板软骨细胞一旦发生老化,软骨基质的合成将会大量减少,导致终板对应力负荷的调节减弱,最终加速终板的退变^[51]。更为重要的是,当细胞处于不可逆的死亡过程中,细胞表型和基因表达模式均会发生改变,老化细胞将分泌如 MMP、炎性细胞因子等影响细胞自身及细胞外基质稳态的物质^[52]。

研究发现^[53],在退变的椎间盘中,老化细胞的堆积与增殖能力下降、自我修复机制受损、炎症反应增加、细胞分解代谢增强等因素相关。Xu 等^[54]通过 qPCR、Western-blot 以及流式细胞术观察退变颈椎细胞形态、细胞增殖率以及退变细胞基质中 II 型胶原、蛋白多糖、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)以及蛋白激酶(AKT)的含量,同时用 SP600125(JNK 抑制剂)进行抑制实验,评估 JNK 通路在退变软骨细胞中的作用,发现磷酸化 JNK 通过下调 Ank 基因的表达促进颈椎软骨终板细胞发生自然退变。近年来,应激诱导早衰^[55](stress-induced premature senescence, SIPS)、细胞周期蛋白依赖激酶抑制物^[53](cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI)和 WNT/ β -catenin 信号通路^[56]等衰老调控机制在关节软骨和髓核细胞中得到广泛研究。未来在椎体终板的衰老细胞中,上述分子机制应得到足够重视。

2.5 细菌感染

关于椎体终板退变是否与细菌感染相关目前颇具争议。Wedderkopp 等^[57]通过对 24 例 Modic 改变患者腰椎的活检组织进行细菌培养,发现仅有 1 例出现葡萄球菌感染,并认为可能与实验污染有关。而 Albert 等^[58]对伴有 Modic 改变的腰椎间盘突出症患者术前腰椎间盘穿刺活检,经严格筛选、细菌培养和 PCR 扩增,发现 46% 的患者突出髓核组织中细菌感染呈阳性,特别是厌氧菌感染率最高,其中又以痤疮丙酸杆菌阳性率最高。他们随后对有 I 型 Modic 改变的 162 例患者给予抗生素进行随机双盲对照实验,发现治疗组较安慰剂组腰痛评分、下肢疼痛、病假天数等方面均有明显改善^[59]。最近,Urquhart 等^[60]总结相关文献,发现细菌感染在椎间盘手术后标本中普遍存在。细菌感染与 I 型 Modic 改变确实存在相关性,但由于缺少更多样本与数据,无法进行异质性检验,细菌感染与终板退变之间存在怎样的关联尚缺乏统计学依据。

椎间盘无氧环境为厌氧菌的生存提供了条件,但无氧环境中各种厌氧菌感染导致终板 Modic 改变的机制尚不明确,是否与细菌内外毒素发挥作用相关还有待进一步研究证实。

3 展望

随着椎体终板退变在 IDD 中发挥的作用逐渐被认

识,导致其退变的分子机制也得到了更多研究和关注,然而未来的研究仍然面临着许多挑战和问题。如各种引起终板退变相关因素之间如何相互作用与影响;一些导致炎症免疫反应的应答过程以及细菌感染的来源、作用机制尚未明确;对于疾病在基因水平上认识和研究还十分有限等等。对终板退变分子机制不断深入的研究,有助于进一步阐明 IDD 的病因,为发现延缓甚至逆转 IDD 的治疗手段提供新的思路。

4 参考文献

1. Deyo RA, Weinstein JN. Low back pain[J]. N Engl J Med, 2001, 344(5): 363-370.
2. Livshits G, Popham M, Malkin I, et al. Lumbar disc degeneration and genetic factors are the main risk factors for low back pain in women: the UK Twin Spine Study [J]. Ann Rheum Dis, 2011, 70(10): 1740-1745.
3. Zhang Y, Lenart BA, Lee JK, et al. Histological features of endplates of the mammalian spine: from mice to men [J]. Spine, 2014, 39(5): E312-317.
4. Colombier P, Clouet J, Hamel O, et al. The lumbar intervertebral disc: from embryonic development to degeneration [J]. Joint Bone Spine, 2014, 81(2): 125-129.
5. Kepler CK, Ponnappan RK, Tannoury CA, et al. The molecular basis of intervertebral disc degeneration[J]. Spine J, 2013, 13(3): 318-330.
6. 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.
7. Xu H, Zhang X, Wang H, et al. Continuous cyclic mechanical tension increases ank expression in endplate chondrocytes through the TGF- β 1 and p38 pathway[J]. Eur J Histochem, 2013, 57(3): e28.
8. Holmes AD, Hukins DW. Response of the end-plates to compression of the spine[J]. Eur Spine J, 1993, 2(1): 16-21.
9. Gullbrand SE, Peterson J, Ahlborn J, et al. ISSLS Prize Winner: dynamic loading-induced convective transport enhances intervertebral disc nutrition[J]. Spine, 2015, 40(15): 1158-1164.
10. Zehra U, Robson-Brown K, Adams MA, et al. Porosity and thickness of the vertebral endplate depend on local mechanical loading[J]. Spine, 2015, 40(15): 1173-1180.
11. Kong D, Zheng T, Zhang M, et al. Static mechanical stress induces apoptosis in rat endplate chondrocytes through MAPK and mitochondria-dependent caspase activation signaling pathways[J]. PLoS ONE, 2013, 8(7): e69403.
12. Yurube T, Hirata H, Kakutani K, et al. Notochordal cell disappearance and modes of apoptotic cell death in a rat tail static compression-induced disc degeneration model [J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(1): R31.
13. 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*, 2015, 40(9): E515–524.
14. Zhang M, Zheng T, Zong M, et al. Sustained static stress-induced chondrocyte apoptosis in the rat cervical vertebral growth plate and its signal transduction mechanisms[J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2014, 24(1): 299–304.
 15. Xu HG, Zhang W, Zheng Q, et al. Investigating conversion of endplate chondrocytes induced by intermittent cyclic mechanical unconfined compression in three-dimensional cultures[J]. *Eur J Histochem*, 2014, 58(3): 2415.
 16. Handa T, Ishihara H, Ohshima H, et al. Effects of hydrostatic pressure on matrix synthesis and matrix metalloproteinase production in the human lumbar intervertebral disc [J]. *Spine*, 1997, 22(10): 1085–1091.
 17. Gao X, Zhu Q, Gu W. Analyzing the effects of mechanical and osmotic loading on glycosaminoglycan synthesis rate in cartilaginous tissues[J]. *J Biomech*, 2015, 48(4): 573–577.
 18. Xu HG, Zheng Q, Song JX, et al. Intermittent cyclic mechanical tension promotes endplate cartilage degeneration via canonical Wnt signaling pathway and E-cadherin/ β -catenin complex cross-talk[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(1): 158–168.
 19. Moo EK, Han SK, Federico S, et al. Extracellular matrix integrity affects the mechanical behaviour of in-situ chondrocytes under compression[J]. *J Biomech*, 2014, 47(5): 1004–1013.
 20. Nachemson A, Lewin T, Maroudas A, et al. In vitro diffusion of dye through the end-plates and the annulus fibrosus of human lumbar inter-vertebral discs[J]. *Acta Orthop Scand*, 1970, 41(6): 589–607.
 21. Kang R, Li H, Ringgaard S, et al. Interference in the endplate nutritional pathway causes intervertebral disc degeneration in an immature porcine model[J]. *Int Orthop*, 2014, 38(5): 1011–1017.
 22. Rinkler C, Heuer F, Pedro MT, et al. Influence of low glucose supply on the regulation of gene expression by nucleus pulposus cells and their responsiveness to mechanical loading[J]. *J Neurosurg Spine*, 2010, 13(4): 535–542.
 23. Gray ML, Pizzanelli AM, Grodzinsky AJ, et al. Mechanical and physiochemical determinants of the chondrocyte biosynthetic response[J]. *J Orthop Res*, 1988, 6(6): 777–792.
 24. Li X, Wu FR, Xu RS, et al. Acid-sensing ion channel 1a-mediated calcium influx regulates apoptosis of endplate chondrocytes in intervertebral discs [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18(1): 1–14.
 25. Yuan FL, Wang HR, Zhao MD, et al. Ovarian cancer G protein-coupled receptor 1 is involved in acid-induced apoptosis of endplate chondrocytes in intervertebral discs [J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(1): 67–77.
 26. Ding L, Wu JP, Xu G, et al. Lentiviral-mediated RNAi targeting caspase-3 inhibits apoptosis induced by serum deprivation in rat endplate chondrocytes in vitro [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2014, 47(6): 445–451.
 27. Razaq S, Wilkins RJ, Urban JP. The effect of extracellular pH on matrix turnover by cells of the bovine nucleus pulposus[J]. *Eur Spine J*, 2003, 12(4): 341–349.
 28. Yuan FL, Zhao MD, Jiang DL, et al. Involvement of acid-sensing ion channel 1a in matrix metabolism of endplate chondrocytes under extracellular acidic conditions through NF- κ B transcriptional activity[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2016, 21(1): 97–104.
 29. Kang JD, Georgescu HI, McIntyre-Larkin L, et al. Herniated lumbar intervertebral discs spontaneously produce matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2[J]. *Spine*, 1996, 21(3): 271–277.
 30. Ismail HM, Yamamoto K, Vincent TL, et al. Interleukin-1 acts via the JNK-2 signaling pathway to induce aggrecan degradation by human chondrocytes [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(7): 1826–1836.
 31. Ye W, Ma RF, Ding Y, et al. Effect of interleukin-6 on the chondrocytes in the cartilage endplate of rabbits in vitro [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2007, 27(8): 1187–1189.
 32. Zhou R, Wu X, Wang Z, et al. Interleukin-6 enhances acid-induced apoptosis via upregulating acid-sensing ion channel 1a expression and function in rat articular chondrocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 29(2): 748–760.
 33. Tanigawa S, Aida Y, Kawato T, et al. Interleukin-17F affects cartilage matrix turnover by increasing the expression of collagenases and stromelysin-1 and by decreasing the expression of their inhibitors and extracellular matrix components in chondrocytes[J]. *Cytokine*, 2011, 56(2): 376–386.
 34. John T, Kohl B, Mobasheri A, et al. Interleukin-18 induces apoptosis in human articular chondrocytes [J]. *Histol Histopathol*, 2007, 22(5): 469–482.
 35. Kohyama K, Saura R, Doita M, et al. Intervertebral disc cell apoptosis by nitric oxide: biological understanding of intervertebral disc degeneration[J]. *Kobe J Med Sci*, 2000, 46(6): 283–295.
 36. Liu GZ, Ishihara H, Osada R, et al. Nitric oxide mediates the change of proteoglycan synthesis in the human lumbar intervertebral disc in response to hydrostatic pressure [J]. *Spine*, 2001, 26(2): 134–141.
 37. Gomez R, Scotece M, Conde J, et al. Nitric oxide boosts TLR-4 mediated lipocalin 2 expression in chondrocytes[J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(7): 1046–1052.
 38. 姜世峰, 申才良. 腰椎 Modic 改变中炎性细胞因子的效应[J]. *中国组织工程研究*, 2012, 17: 3213–3217.
 39. 胡绪江, 邵增务. 外源性肿瘤坏死因子- α 对腰椎间盘退变影响的实验研究[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2006, 16(7): 541–544, 564.
 40. 荆朋伟, 刘泽汉, 何旭, 等. 基质金属蛋白酶与椎间盘的退

- 变[J]. 中国组织工程研究, 2012, 33: 6243-6247.
41. Wallach CJ, Sobajima S, Watanabe Y, et al. Gene transfer of the catabolic inhibitor TIMP -1 increases measured proteoglycans in cells from degenerated human intervertebral discs[J]. *Spine*, 2003, 28(20): 2331-2337.
42. Yuan W, Zhao MD, Yuan FL, et al. Association of endothelin-1 expression and cartilaginous endplate degeneration in humans[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60062.
43. Ren D, Zhang Z, Sun T, et al. Effect of percutaneous nucleoplasty with coblation on phospholipase A2 activity in the intervertebral disks of an animal model of intervertebral disk degeneration: a randomized controlled trial[J]. *J Orthop Surg Res*, 2015, 10: 38.
44. Chen S, Huang Y, Zhou ZJ, et al. Upregulation of tumor necrosis factor alpha and ADAMTS-5, but not ADAMTS-4, in human intervertebral cartilage endplate with modic changes[J]. *Spine*, 2014, 39(14): E817-825.
45. Zhang Q, Huang M, Wang X, et al. Negative effects of ADAMTS-7 and ADAMTS-12 on endplate cartilage differentiation[J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(8): 1238-1243.
46. Zhang M, Zhou Q, Liang QQ. IGF-1 regulation of type II collagen and MMP-13 expression in rat endplate chondrocytes via distinct signaling pathways[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(1): 100-106.
47. Tim Yoon S, Su Kim K, Li J, et al. The effect of bone morphogenetic protein-2 on rat intervertebral disc cells in vitro[J]. *Spine*, 2003, 28(16): 1773-1780.
48. Xu HG, Chen XH, Ding GZ, et al. Effect of pcDNA3.1-vascular endothelial growth factor 165 recombinant vector on vascular buds in rabbit vertebral cartilage endplate[J]. *Chin Med J(Engl)*, 2012, 125(22): 4055-4060.
49. Pratsinis H, Kletsas D. PDGF, bFGF and IGF-I stimulate the proliferation of intervertebral disc cells in vitro via the activation of the ERK and Akt signaling pathways [J]. *Eur Spine J*, 2007, 16(11): 1858-1866.
50. Bernick S, Cailliet R. Vertebral end-plate changes with aging of human vertebrae[J]. *Spine*, 1982, 7(2): 97-102.
51. Kletsas D. Senescent cells in the intervertebral disc: numbers and mechanisms[J]. *Spine J*, 2009, 9(8): 677-678.
52. Kim KW, Chung HN, Ha KY, et al. Senescence mechanisms of nuclear pulposus chondrocytes in human intervertebral discs[J]. *Spine J*, 2009, 9: 658-666.
53. Wang F, Cai F, Shi R, et al. Aging and age related stresses: a senescence mechanism of intervertebral disc degeneration[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, pii: S1063-4584(15)01333-3. [Epub ahead of print]
54. Xu HG, Cheng JF, Peng HX, et al. JNK phosphorylation promotes natural degeneration of cervical endplate chondrocytes by down-regulating expression of ANK [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(17): 2335-2344.
55. Heathfield SK, Le Maitre CL, Hoyland JA. Caveolin-1 expression and stress-induced premature senescence in human intervertebral disc degeneration[J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(4): R87.
56. 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.
57. Wedderkopp N, Thomsen K, Manniche C, et al. No evidence for presence of bacteria in modic type I changes [J]. *Acta Radiol*, 2009, 50(1): 65-70.
58. Albert HB, Lambert P, Rollason J, et al. Does nuclear tissue infected with bacteria following disc herniations lead to Modic changes in the adjacent vertebrae [J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(4): 690-696.
59. Albert HB, Sorensen JS, Christensen BS, et al. Antibiotic treatment in patients with chronic low back pain and vertebral bone edema (Modic type 1 changes): a double-blind randomized clinical controlled trial of efficacy[J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(4): 697-707.
60. Urquhart DM, Zheng Y, Cheng AC, et al. Could low grade bacterial infection contribute to low back pain? a systematic review[J]. *BMC Med*, 2015, 13: 13.

(收稿日期:2015-12-04 修回日期:2015-12-28)

(本文编辑 卢庆霞)