

综述

整合素在腰椎间盘突出中表达和调节机制的研究进展

The research progress on expression and regulation mechanism of integrins in lumbar discs degeneration

孙荣祥, 王国华, 刘斌, 黄象望, 刘宏哲, 常磊, 彭帅, 阮闻洋

(湖南省人民医院 湖南师范大学第一附属医院脊柱外科 410000 湖南省长沙市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2018.04.14

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2018)-04-0374-04

腰背部疼痛疾病在许多国家中均有极高的发病率,严重影响人们的生活质量并给家庭和社会带来了经济负担,是许多国家健康所关注的一个重要焦点^[1-2]。随着人口老龄化,腰背部疼痛患者数量呈持续增长趋势^[3]。研究表明,腰椎间盘突出是导致腰背部疼痛的潜在性原因^[4],当腰椎间盘突出退变的程度超过一定自然退变的程度时可造成腰背部疼痛^[5]。椎间盘(intervertebral disc, IVD)是一种在组成成分、结构以及细胞形态等方面有差异的复杂性组织^[6,7]。有研究发现椎间盘是一种由被上下两侧的软骨性终板以及周围的纤维环(annulus fibrosus, AF)包裹的中央髓核(nucleus pulposus, NP)组成的结构^[8]。这也使得椎间盘在缓冲、转移和分散脊柱负荷、抵抗脊柱所受压力以及为脊柱椎体提供可活动性和稳定性等方面扮演着举足轻重的作用^[9]。但目前椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IVDD)的发病机制尚无完整的阐述,这有待更深入的研究。为此我们在中国知网、万方数据库、Pubmed 及 Embase 网站中查阅相关文献后发现整合素(Integrins)在椎间盘退变的机制中有重要作用。整合素是由 α (120~185kD) 与 β (90~110kD) 两种亚单位形成的异源二聚体的跨膜糖蛋白^[10],已发现的整合素有 18 种 α 亚基与 8 种 β 亚基,形成了 24 种不同的异源二聚体^[11]。有相关研究^[12,13]发现,整合素是一类与肿瘤、自生免疫性疾病、炎性肠病、脑出血、贫血、关节炎、骨质疏松症等多种疾病有关的细胞粘附受体,并且整合素与多种疾病的发病机制的关系日益阐明。但整合素在椎间盘退变性疾病中的机制中作用的研究尚处初始阶段。笔者就整合素在椎间盘退变的表达和调节机制综述如下,希望能通过对整合素的研究来促进椎间盘退变机制领域的研究进展。

1 整合素在椎间盘退变中的表达

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(编号 2017JJ2157)

第一作者简介:男(1991-),硕士研究生,研究方向:脊柱外科

电话:(0731)83929053 E-mail:769087561@qq.com

通讯作者:王国华 E-mail:w.guohua@outlook.com

1.1 在人体的正常和退变椎间盘髓核中的表达

夏茂盛等^[14]的研究在术中收集人椎间盘髓核标本 28 例,正常对照组 6 例为脊柱骨折患者;其余 22 例为椎间盘突出症患者,其中 10 例为突出,另外 12 例为脱出。采用逆转录聚合酶链式反应和免疫沉淀方法来检测整合素 $\alpha 1$ 、 $\alpha 5$ 、 αv 、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 亚基及其配体-胶原蛋白(I 和 II 型)、纤维连接蛋白在三种椎间盘的髓核内的表达。研究发现在正常和退变椎间盘中均有整合素 $\alpha 1$ 、 $\alpha 5$ 、 αv 、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 亚基表达,退变的椎间盘髓核内的整合素 $\alpha 5$ 和 $\beta 1$ 亚基的表达增加更多,并由此可得出结论整合素 $\alpha 5$ 和 $\beta 1$ 亚基表达增多能通过影响基质蛋白对椎间盘细胞的影响,进而促进了椎间盘退变的进程发展^[14]。Tran 等^[15]研究中通过收集外科手术中的人腰椎间盘的 NP,运用 RT-PCR 技术分析,阐述了退变的腰椎间盘的 NP 细胞中,CCN2 通过 $\alpha 5\beta 1$ 和 $\alpha v\beta 3$ 整合素表达增加来抑制白介素-1 β 的分解代谢,从而在椎间盘退变中扮演重要作用^[15]。

1.2 在正常与退变椎间盘的动物实验中的表达

早在 1993 年时,Wang 等^[16]的实验结果中显示整合素分子有与力学感受器类似的功能。而后,在于胜吉等^[17]的研究试验中取出处死后 12h 内的 10 只年龄在 5~6 周、体重在 25~30kg 范围内的猪的完整腰椎,分离出其椎间盘中的 NP 和 AF 细胞放入 Hanks 平衡盐溶液中,并分别对其施加 3d 的 1MPa、1Hz、3h/d 的周期性液压,运用细胞的形态学观察椎间盘退变程度、Western 免疫印迹和免疫组织化学染色的方法检测 $\alpha 5\beta 1$ 整合素的表达情况。研究发现 AF 细胞和 NP 细胞在压力作用下体积均缩小,与正常对照组相比,加压后的 AF 和 NP 细胞中 $\alpha 5\beta 1$ 整合素的表达均呈现出显著增加的情况^[17],重要的是这也论证了 $\alpha 5\beta 1$ 整合素在 AF 和 NP 细胞中有表达,并且 $\alpha 5\beta 1$ 整合素在椎间盘退变的生物力学过程中很可能发挥不可或缺的作用。Yan 等^[18]在用持续静力作用下的老鼠的三个等级退变的尾椎间盘模型中运用定量实时聚合酶链反应测定出显著退变的第 8~9 尾椎间盘中有胞外基质重塑, I、III、IV 型胶原蛋白的 mRNA 高度表达,这与压力负荷下诱导 NP 中的 $\alpha 2\beta 1$ 整合素增加以及 $\alpha 10\beta 1$ 整合素的减少有相关性。同

样在持续静力作用下的老鼠一个等级退变的尾椎间盘模型中运用相同方法测定出椎间盘退变和胞外基质重塑,与整合素 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 11$ 和 $\beta 1$ 亚基增多有关,也与整合素 $\alpha 10$ 亚基的减少有关。并且在两种椎间盘退变模型中均有 $\alpha 2\beta 1$ 整合素明显增多,相反 $\alpha 10\beta 1$ 整合素的显著减少。从这推断腰椎间盘退变与 $\alpha 2\beta 1$ 整合素的增加以及 $\alpha 10\beta 1$ 整合素的减少有很大的关联性^[18]。

2 整合素在腰椎间盘退变中的调节机制

有相关研究探讨了整合素调节腰椎间盘退变的具体机制。如 $\alpha 5\beta 1$ 整合素的调节与腰椎间盘退变中胞外基质的降解和重塑有很强相关性,而且腰椎间盘退变中 $\alpha 5\beta 1$ 整合素的 mRNA 水平升高和动态机械力影响有关。腰椎间盘退变的过程与整合素 $\beta 1$ 亚基的减少和细胞过度凋亡相关,17 β -雌二醇通过上调 $\alpha 2\beta 1$ 整合素得以抵抗髓核细胞凋亡。这些研究进展分述如下。

2.1 参与胞外基质的降解

Christopher 等^[19]以 9~16 周龄的猪腰椎间盘中,使用链酶蛋白消化酶和胶原消化酶从腰椎间盘 NP 及 AF 细胞中分别分离出来的细胞在汇合单分子层中培养,结果 NP、AF 都有整合素 $\alpha 1$ 、 $\alpha 5$ 、 $\beta 1$ 亚基发现。并认为整合素受体在椎间盘细胞与胶原蛋白和纤维连接蛋白进行信息交流过程中起关键作用。并且 $\alpha 5\beta 1$ 整合素很可能是一种椎间盘的基质降解的细胞调控反应的关键受体^[19]。有研究^[20,21]发现在成软骨细胞中,能够激发基质降解和重塑过程的纤维连接蛋白的蛋白水解片段与 $\alpha 5\beta 1$ 整合素的调节有关联性,另外也有研究的证据显示在椎间盘的退变过程与上面成软骨细胞中纤维蛋白类似的调节途径有相关性^[22,23]。这也从另一方面间接证明 $\alpha 5\beta 1$ 整合素的调节与腰椎间盘的退变可能有关联。

2.2 与机械力有关

高共鸣等^[24]的研究中,用 0~200kPa、0.1Hz 的周期性应力施加于鼠胸腰段椎间盘中的髓核细胞,并发现整合素 $\alpha 1$ 亚基在髓核细胞中显著增多,其数量为不施压的对照组的 1.71 倍,并得出结论——整合素 $\alpha 1$ 亚基在髓核细胞的力-化学转变中发挥了主要的调控作用。Kurakawa 等^[25]将 96 只大鼠椎间盘分为予以 1.3MPa、1.0Hz 动态压力和不予以此压力的两组,通过免疫组织化学方法在 NP 和 AF 中都发现了局限的 $\alpha 5\beta 1$ 整合素上调,施加动态压力组椎间盘的 $\alpha 5\beta 1$ 整合素 mRNA 水平升高。机械力诱发 $\alpha 5\beta 1$ 整合素增多而参与腰椎间盘退变过程,这个发现为机械力传导途径调节 IVDD 的机制提供了有价值的信息^[25]。

2.3 参与细胞凋亡

Zhang 等^[26]用 48 只处于六周龄的雄性 Sprague-Dawley 鼠随机分为六组,其中三组给予动静态作用力的外科过程以诱发椎间盘退变,在第 6、12、18 周行 X 线以及 3.0T 的 MRI 检查,之后将鼠处死取出其 L3-L6 椎间盘的 AF 置于液态氮中,进行 RNA 萃取、组织形态学分析。得出

结论:在 IVDD 过程中不平衡的动静态力诱发了细胞凋亡,另外在 IVDD 的 AF 中整合素 $\beta 1$ 亚基减少。并且周期性的压力可通过增加 p-ERK1/2 信号水平来诱发椎间盘 AF 细胞凋亡,从而这也能够导致 IVDD,Zhang 等研究发现整合素 $\beta 1$ 亚基的过度表达可抑制细胞凋亡从而抑制 IVDD 过程的进展^[26]。因为也有相关研究阐明了 IVDD 的发生与细胞凋亡所致的细胞数减少和胞外基质退化有较强相关性^[27,28]。在张凯等^[29]的其他研究试验中,通过建立正常和退变两组人腰椎间盘有限元模型,阐述了当改变椎间盘组织的局部生物力学环境时,能够诱发腰椎间盘的退变发生,并且力学失衡因素诱发的腰椎间盘退变与整合素 $\beta 1$ 亚基的减少和细胞过度凋亡相关, $\beta 1$ -FAK/Src-MAPK 信号通路在这一进程中也起了重要作用^[29]。在腰椎间盘退变中整合素 $\beta 1$ 亚基的调节与细胞凋亡有大的关联性。杨思东等采用酶消化法来原代培养大鼠的髓核细胞 48h,后用免疫细胞化学法行 II 型胶原染色鉴定髓核细胞,利用流式细胞术以及 TUNEL 法检测细胞凋亡,并用 western 印迹法对 $\alpha 1\beta 1$ 、 $\alpha 2\beta 1$ 整合素行定量检测。发现 17 β -雌二醇通过上调 $\alpha 2\beta 1$ 整合素,得以抵抗大鼠髓核的细胞凋亡^[30]。也证明 $\alpha 2\beta 1$ 整合素参与抵抗髓核细胞凋亡。

整合素在腰椎间盘退变的相关研究进展的表达归纳见表 1,调节机制的归纳表 2,其相关机制的路径总结见图 1。综上所述的研究也有不足之处:(1)在腰椎间盘中检测整合素的最有效的方法尚无明确统一标准与定义,方法主要有逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR 技术)和免疫沉淀、细胞的形态学观察、Western 免疫印迹和免疫组织化学染色的方法。若能对比研究探讨出腰椎间盘中检测整合素最灵敏与有效的方法,这可大大减少实验误差,更准确地得出整合素与腰椎间盘退变的相关程度。(2)另外所选取腰椎间盘的退变分级程度可能存在差异,这也可影响检测出的整合素表达程度大小,若能更精确的选取统一退变程度标准为分组依据的,能更深入和准确发掘整合素在腰椎间盘退变中的机制。(3)在临床人体试验中,正常无退变椎间盘的腰椎骨折病例中,需要髓核摘除减压手术的比例相当之小,这导致正常对照组椎间盘标本的获取病缺缺乏,也导致研究对照组比例过少,使研究缺少说服力,另外也增大了研究的统计学误差。若能充分协调正常对照组与退变椎间盘组的比例,可使研究结果有更可靠的价值。(4)标本的保存过程与方法也可对试验带来影响,术中取出标本到送实验室保存过程时间长短也可影响标本暴露时间,影响标本成分变化,带来系统误差。若可在术中取出标本立即送检,并缩短至统一的记录时间,也可减少实验误差。

4 总结与展望

腰背部疼痛是影响当今社会和个人的重要健康问题之一,其与腰椎间盘的退变有着密不可分的关系^[31]。与椎间盘退变过程有相关性的因素有多种多样,比如有年龄^[32]、营养状况^[33]、机械力负荷^[34]及基因^[35]等。整合素在椎间盘退

表 1 整合素在腰椎间盘突出退变中的表达

作者	时间	标本类型	与机制相关的因素	整合素表达情况
夏茂盛等 ^[14]	2008	人腰椎间盘突出 NP	基质蛋白	整合素 $\alpha 1$ 、 $\alpha 5$ 、 αv 、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 亚基增多
CassieM等 ^[15]	2014	人腰椎间盘的 NP	白介素-1 β 的分解	$\alpha 5\beta 1$ 整合素增多
于胜吉等 ^[17]	2006	猪腰椎间盘突出 NP、AF	生物力学	$\alpha 5\beta 1$ 整合素增加
Yan等 ^[18]	2017	鼠椎间盘的 NP	胞外基质重塑及胶原蛋白的 mRNA 表达	$\alpha 2\beta 1$ 整合素及 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 11$ 表达和 $\beta 1$ 亚基增多, $\alpha 10\beta 1$ 整合素减少

表 2 整合素在腰椎间盘突出退变中的调节机制

作者	时间(年)	标本类型	整合素类型	调节方式或途径
Christopher等 ^[19]	2007	猪腰椎间盘突出 NP、AF	$\alpha 5\beta 1$ 整合素 $\alpha 1$, $\alpha 5$, $\beta 1$ 亚基	椎间盘细胞与胶原蛋白和纤维连接蛋白进行信交流息交流及椎间盘的基质降解的细胞调控反应
宫高鸣等 ^[24]	2013	鼠胸腰椎间盘突出 NP	整合素 $\alpha 1$ 亚基	力-化学转变的调控
Kurakawa等 ^[25]	2015	鼠椎间盘 NP、AF	$\alpha 5\beta 1$ 整合素	机械力传导途径
Zhang等 ^[26]	2015	六周龄的雄性 S-D 鼠 L3-L6 椎间盘的 AF	整合素 $\beta 1$ 亚基	p-ERK1/2 信号途径诱发 AF 细胞凋亡
张凯等 ^[29]	2014	人腰椎间盘突出有限元模型	整合素 $\beta 1$ 亚基	$\beta 1$ -FAK/Src-MAPK 信号通路参与细胞凋亡
杨思东 ^[30]	2014	大鼠椎间盘髓核细胞	$\alpha 2\beta 1$ 整合素	17 β -雌二醇抵抗细胞凋亡



图 1 整合素在腰椎间盘突出退变中的相关机制的路径归纳

变中发挥了重要作用,其机制的研究将会为诊治椎间盘退变疾病引发的腰背部疼痛带来新思路与希望。并且令人振奋的是,随着对整合素的表达和调节机制的不断深入研究,整合素与腰椎间盘突出退变的相关性将会从起步阶段日渐迈向清晰的方向,本综述对其总结如下,一方面整合素在人与动物的腰椎间盘突出退变中均有表达,另一方面整合素对腰椎间盘突出退变的调节机制与细胞基质降解、胞外基质重塑、生物力学的调控以及与细胞凋亡相关。归纳以上研究得出了整合素在腰椎间盘突出退变机制中发挥了较大作用。笔者认为若能以腰椎间盘突出退变的改良 Pfirrmann 分级为标准,其分级标准包括了髓核及内层的纤维环的磁共振 T2 信号、椎间盘后方内侧与外侧纤维环的分界、椎间盘的高度等,分为了八级^[36]。更深入的探索在不同分级程度的腰椎间盘突出退变中整合素的调节及表达情况,这将会为尽可能地诊断最早期的腰椎间盘突出退变以及延缓腰椎间盘突出退变的进程等提供具有极大价值的信息,为退变性椎间盘的修复治疗探索出新的路径,造福于更多腰背部疼痛患者。

5 参考文献

1. Juniper M, Le TK, Mladi D. The epidemiology, economic burden, and pharmacological treatment of chronic low back pain in France, Germany, Italy, Spain and the UK: a literature-based review[J]. Expert Opin Pharmacother, 2009, 10(16): 2581-2592.

2. Mehra M, Hill K, Nicholl D, et al. The burden of chronic low back pain with and without a neuropathic component: a healthcare resource use and cost analysis [J]. J Med Econ, 2012, 15(2): 245-252.

3. Hoy D, March L, Brooks P, et al. The global burden of low back pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(6): 968-974.

4. Hughes SP, Freemont AJ, Hukins DW, et al. The pathogenesis of degeneration of the intervertebral disc and emerging therapies in the management of back pain [J]. J Bone Joint Surg Br, 2012, 94(1): 1298-1304.

5. 黄健华, 于滨生. “跳跃性”腰椎间盘突出退变[J]. 中国矫形外科杂志, 2016, 24(19): 1796-1799.

6. Chan WC, Sze KL, Samartzis D, et al. Structure and biology of the intervertebral disk in health and disease [J]. Orthop Clin North Am, 2011, 42(4): 447-464.

7. Roughley PJ. Biology of intervertebral disc aging and degeneration: involvement of the extracellular matrix[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2004, 29(23): 2691-2699.

8. Wu H, Zeng X, Yu J, et al. Comparison of nucleus pulposus stem/progenitor cells isolated from degenerated intervertebral discs with umbilical cord derived mesenchymal stem cells [J]. Exp Cell Res, 2017, 361(2): 324-332.

9. Neidlinger-Wilke C, Galbusera F, Pratsinis H, et al. Mechanical loading of the intervertebral disc: from the macroscopic to the cellular level[J]. *Eur Spine J*, 2014, 23(3): 333–343.
10. Barczyk M, Carracedo S, Gullberg D. Integrins[J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 339(1): 269–280.
11. Simon S, Ye X, Takada Y. The integrins[J]. *Genome Biol*, 2007, 8(5): 215.
12. Sun CC, Qu XJ, Gao ZH. Integrins: players in cancer progression and targets in cancer therapy[J]. *Anticancer Drugs*, 2014, 25(10): 1107–1121.
13. Goodman SL, Picard M. Integrins as therapeutic targets[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, 33(7): 405–412.
14. 夏茂盛, 朱悦. 整合素在人退变椎间盘髓核组织中的表达及意义[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2008, 18(9): 684–687.
15. Tran CM, Schoepflin ZR, Markova DZ, et al. CCN2 suppresses catabolic effects of interleukin-1 β through α 5 β 1 and α V β 3 integrins in nucleus pulposus cells: implications in intervertebral disc degeneration[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(11): 7374–7387.
16. Wang N, Buler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton [J]. *Science*, 1993, 260(5111): 1124–1127.
17. 于胜吉, 邱贵兴, YANG B, 等. 机械负荷调节猪腰间盘细胞表达 α 5 β 1 整合素的体外研究[J]. *中华骨科杂志*, 2006, 26(6): 415–420.
18. Yan Z, Pan Y, Wang S, et al. Static Compression Induces ECM Remodeling and Integrin α 2 β 1 Expression and Signaling in a Rat Tail Caudal Intervertebral Disc Degeneration Model[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2017, 42(8): E448–E458.
19. Gilchrist CL, Chen J, Richardson WJ, et al. Functional integrin subunits regulating cell-matrix interactions in the intervertebral disc[J]. *J Orthop Res*, 2007, 25(6): 829–840.
20. Sakai D. Future perspectives of cell-based therapy for intervertebral disc disease[J]. *Eur Spine J*, 2008, 17(Suppl 4): 452–458.
21. Nishida K, Suzuki T, Kakutani K, et al. Gene therapy approach for disc degeneration and associated spinal disorders [J]. *Eur Spine J*, 2008, 17(4): 459–466.
22. Aota Y, An HS, Homandberg G, et al. Differential effects of fibronectin fragment on proteoglycan metabolism by intervertebral disc cells: a comparison with articular chondrocytes[J]. *Spine*, 2005, 30(7): 722–728.
23. Anderson DG, Li X, Balian G, et al. A fibronectin fragment alters the metabolism by rabbit intervertebral disc cells in vitro[J]. *Spine*, 2005, 30(11): 1242–1246.
24. 高共鸣, 徐南伟, 蒋羽清, 等. 周期性应力下大鼠髓核细胞中整合素的表达及其意义[J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30(3): 596–598.
25. Kurakawa T, Kakutani K, Morita Y, et al. Functional impact of integrin α 5 β 1 on the homeostasis of intervertebral discs: a study of mechanotransduction pathways using a novel dynamic loading organ culture system[J]. *Spine J*, 2015, 15(3): 417–426.
26. Zhang K, Ding W, Sun W, et al. Beta1 integrin inhibits apoptosis induced by cyclic stretch in annulus fibrosus cells via ERK1/2 MAPK pathway[J]. *Apoptosis*, 2015, 21(1): 13–24.
27. Zhao CQ, Jiang LS, Dai LY, et al. Programmed cell death in intervertebral disc degeneration[J]. *Apoptosis*, 2006, 11(12): 2079–2088.
28. Hughes SP, Freemont AJ, Hukins DW, et al. The pathogenesis of degeneration of the intervertebral disc and emerging therapies in the management of back pain [J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2012, 94(10): 1298–1304.
29. 张凯. 过度载荷诱导椎间盘退变的力学生物信号研究[D]. 上海交通大学, 2014.
30. 杨思东. 17 β -雌二醇通过整联蛋白 α 1 β 1 和 α 2 β 1 抗大鼠髓核细胞凋亡的机制研究[D]. 河北医科大学, 2014.
31. Kanna RM, Shetty AP, Rajasekaran S, et al. Patterns of lumbar disc degeneration are different in degenerative disc disease and disc prolapse magnetic resonance imaging analysis of 224 patients[J]. *Spine J*, 2014, 14(2): 300–307.
32. Buckwalter JA. Aging and degeneration of the human intervertebral disc[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 1995, 20(11): 1307–1314.
33. Bibby SR, Urban JP. Effect of nutrient deprivation on the viability of intervertebral disc cells[J]. *Eur Spine J*, 2004, 13(8): 695–701.
34. Stokes IA, Iatridis JC. Mechanical conditions that accelerate intervertebral disc degeneration: overload versus immobilization[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2004, 29(23): 2724–2732.
35. Kao YP, Chan D, Samartzis D, et al. Genetics of lumbar disk degeneration: technology, study designs, and risk factors [J]. *Orthopedic Clinics of North America*, 2011, 42(4): 479–486.
36. Griffith JF, Wang YX, Antonio GE, et al. Modified Pfirrmann grading system for lumbar intervertebral disc degeneration[J]. *Spine*, 2007, 32(24): E708–712.

(收稿日期: 2018-01-04 修回日期: 2018-03-22)

(本文编辑 彭向峰)