

综述

长链非编码 RNA 影响椎间盘退变机制的研究进展

Review of the mechanisms of lncRNA in intervertebral disc degeneration

赵世新, 辛超飞, 王 朕, 刘 鸣, 潘军伟, 王 丹

(郑州大学第一附属医院骨一科 450052 郑州市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2019.07.13

中图分类号: Q522, R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2019)-07-0660-06

椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)是引起腰腿痛最常见的慢性脊柱退行性病变,目前尚无较好的非手术治疗方法^[1]。IDD 的发生发展是一个多因素共同作用的过程,如遗传、衰老、外伤、过度负重、吸烟等,具体

机制目前仍未完全阐明。有学者提出,细胞因子/蛋白质注射、细胞移植和基因转入是治疗 IDD 的三个潜在策略^[2-5],但目前的研究尚存在诸多问题。基因转入治疗是通过基因转移技术将合适的外源基因插入到受体细胞内,外源基因编码产物在受体细胞内发挥功能,由于其能够持续内源性合成治疗椎间盘退变的相关分子,避免了细胞因子或蛋白质注射过程中反复椎间盘穿刺造成的损伤及细胞移植所带来的排异反应,得到了许多学者的青睐^[6-8]。选择组织特异性高、功能机制明确、疗效确切的基因是当前基因转入治疗研究的难点问题^[9]。近年来随着长链非编码 RNA

基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(联合共建项目)(编号:2018020020)

第一作者简介:男(1994-),硕士研究生,研究方向:脊柱外科

电话:(0371)67967009 E-mail:807024986@qq.com

通讯作者:王丹 E-mail:wangdan100@126.com

- sagittal plane balance following Cotrel-Dubousset instrumentation for idiopathic scoliosis[J]. Spine, 1989, 14(7): 733-737.
22. Benli IT, Akalin S, Kis M, et al. Onset idiopathic scoliosis treated kobe journal of medical frontal and sagittal balance analysis of late with third generation instrumentation [J]. Sciences, 2001, 47(6): 231-254.
23. McCance SE, Denis F, Lonstein JE, et al. Coronal and sagittal balance in surgically treated adolescent idiopathic scoliosis with the King II curve pattern: a review of 67 consecutive cases having selective thoracic arthrodesis [J]. Spine, 1998, 23(19): 2063-2073.
24. Behensky H, Cole AA, Freeman BJC, et al. Fixed lumbar apical vertebral rotation predicts spinal decompensation in lenke type 3c adolescent idiopathic scoliosis after selective posterior thoracic correction and fusion [J]. Eur Spine J, 2007, 16(10): 1570-1578.
25. 胡宗杉, 邱勇, 刘臻, 等. 单平面椎弓根螺钉联合椎体去旋转技术治疗 Lenke5C 型特发性脊柱侧凸[J]. 中华骨科杂志, 2015, 35(11): 1151-1158.
26. Lenke LG, Betz RR, Harms J, et al. Adolescent idiopathic scoliosis a new classification to determine extent of spinal arthrodesis[J]. J Bone Joint Surg Am, 2001, 83(8): 1169-1181.
27. Suk SI, Lee SM, Chung ER, et al. Determination of distal fusion level with segmental pedicle screw fixation in single thoracic idiopathic scoliosis[J]. Spine, 2003, 28(5): 484-491.
28. Wang WW, Xia CW, Zhu F, et al. Correlation of Risser sign, radiographs of hand and wrist with the histological grade of iliac crest apophysis in girls with adolescent idiopathic scoliosis[J]. Spine, 2009, 34(17): 1849-1854.
29. 丁旗, 邱勇, 孙旭, 等. 主胸腰弯或腰弯型青少年特发性脊柱侧凸行前路选择性融合术后胸弯失代偿的危险因素[J]. 中华外科杂志, 2012, 50(6): 518-523.
30. Murphy JS, Upasani VV, Yaszay B, et al. Predictors of distal adding-on in thoracic major curves with AR lumbar modifiers[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2017, 42(4): E211-E218.
31. 孙旭, 邱勇, 孙超, 等. 特发性胸椎侧凸选择性融合术后远端附加现象[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2013, 23(2): 103-108.
32. 李明, 顾苏熙, 朱晓东, 等. 全节段椎弓根螺钉系统矫治青少年特发性胸腰椎/腰椎侧凸的疗效[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17(4): 261-265.
33. 袁硕, 邱勇, 朱锋, 等. Y 形软骨闭合与否对青少年特发性脊柱侧凸患者矫形疗效及并发症的影响 [J]. 中华外科杂志, 2011, 49(5): 414-418.
34. 蒋彬, 王冰, 吕国华, 等. 胸段先天性脊柱侧凸后路长节段矫形术后远端附加现象的危险因素分析[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2018, 28(8): 682-689.
35. Zhang S, Zhang L, Feng X, et al. Incidence and risk factors for postoperative shoulder imbalance in scoliosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Spine J, 2018, 27(2): 358-369.

(收稿日期:2019-02-28 末次修回日期:2019-05-12)

(本文编辑 姜雅浩)

(lncRNA)功能研究的兴起,lncRNA 在治疗 IDD 中的潜力也日益显现出来。现就 lncRNA 如何影响 IDD 发生发展进程的相关研究进展综述如下。

1 椎间盘的退变机制

椎间盘(intervertebral disc,IVD)是相邻椎体间的弹性承重垫,在保持脊柱的稳定性及活动性方面起着至关重要的作用。IVD 由中央部分的髓核(nucleus pulposus, NP)、外周的纤维环(annulus fibrosus, AF)以及上下的软骨终板(cartilaginous end plate, CEP)构成。NP 是一种富含 II 型胶原蛋白和蛋白多糖的凝胶状基质;其外侧则由 AF 包裹,AF 分为内环和外环,外环的胞外基质(extracellular matrix, ECM)主要由 I 型胶原和少量蛋白聚糖构成,内环则主要由 I、II 型胶原蛋白构成,且较外环具有更高的蛋白聚糖含量,内外环的胶原纤维及弹性蛋白纤维组成同心排列的薄片,有助于承受压力并在受压过程中维持 NP 位置的稳定;CEP 是位于椎体上下缘的透明软骨组织,将 NP 及 AF 夹在其间并与相邻椎体连接。值得注意的是,IVD 是体内最大的无血管结构,神经末梢仅达内环,基于此种结构特征,IVD 极易发生变性。在其退变过程中,IVD 发生了复杂的生物化学以及分子水平的改变。这些改变包括蛋白聚糖含量的减少、II 型胶原向 I 型胶原的转变及 NP 细胞密度的降低等,上述改变直接导致 IVD 抗压能力降低并最终导致结构的破坏,如纤维环破裂、NP 突出等。虽然 IDD 的发病机制尚未完全阐明,但炎症反应、细胞凋亡、ECM 降解及新血管生成密切参与 IDD 的发生发展。有研究表明大量 lncRNA 在退变 IVD 内差异表达,其中一些已被证实通过影响上述病理过程从而在 IDD 中发挥作用^[10,11]。

2 lncRNA 在 IDD 发生发展过程中的作用

lncRNA 近年来被认为是真核细胞中重要的基因调控者之一。绝大多数的 lncRNA 的产生机制与 mRNA 类似,均由 RNA 聚合酶 II (RNAP II)转录产生,根据其生物学来源可将 lncRNA 粗略划分为如下几类:(1)来源于蛋白质编码基因密码子错位的转录产物;(2)由染色体重组引起基因座通读产生的转录产物;(3)由特定遗传因子如逆转座子等的转座效应产生的转录产物;(4)基因组串联重复序列的转录产物。lncRNA 的生物学功能正如其结构多样性一样繁杂,主要包括基因转录、表观基因组调控、蛋白质编码基因的翻译和基因组防御等功能的调节。即 lncRNA 通过作用于其他基因从而在细胞增殖、凋亡和新陈代谢中发挥重要作用。许多 lncRNA 在退变的髓核组织中表达差异显著^[12,13],这表明 lncRNA 可能在 IDD 的发生发展过程中起着重要的调节作用。

2.1 退变 IVD 内差异表达的 lncRNA 谱

通过基因芯片或 RNA 测序进行全基因组 lncRNA 分析,随后使用实时定量逆转录 PCR(qRT-PCR)鉴定差异表达的 lncRNA,是研究特定疾病中差异表达 lncRNA 的常用

方法。

Wan 等^[14]通过 lncRNA-mRNA 基因芯片就退变和正常 IVD 内的 NP 样本进行分析,其中差异倍数变化大于 10 的有 116 个 lncRNA (67 个上调和 49 个下调)和 260 个 mRNA,而且差异表达最为明显的 lncRNA 均参与已知退行性变化的病理进程,如软骨细胞的分化、胶原纤维组织和蛋白多糖的代谢等。Wan 等^[14]就退变 NP 细胞内过表达的 FAS 相关因子 1(FAS-associated factor 1, FAF1)基因进行研究,FAF1 是一种多结构域蛋白,是 Fas 死亡诱导信号复合体的一员,FAF1 过表达能抑制泛素化蛋白的降解并促进 Fas 介导的细胞凋亡,故而推测 IDD 中 NP 细胞过度凋亡与 FAF1 过表达有关,而 FAF1 基因附近增强子样 lncRNA RP11-296A18.3 也在退变 IVD 样本内过表达,且与 FAF1 表达量显著正相关。鉴于增强子样 lncRNA 能激活编码基因近端启动子从而刺激转录,因此 Wan 推论退变 IVD 内上调的 RP11-296A18.3 极有可能诱导 FAF1 的过表达,并最终促进退变 IVD 内 NP 细胞的异常凋亡^[14]。但这一推测与随后 Wang 等^[15]得出的结论大相径庭,后者证实 RP11-296A18.3 在 IDD 病理进程中主要通过调节 miR138-HIF1 α 轴来促进 NP 细胞增殖和 ECM 的沉积,他认为 RP11-296A18.3 可能成为治疗 IDD 的一个重要靶点。

Chen 等^[16]在随后的研究中应用 Wan 等^[14]的研究方法确定了退变 IVD 样本内 135 个上调的和 170 个下调的 lncRNA,其中 8 个过表达最为明显的 lncRNA 被证实参与 IDD 发展过程中起着关键作用(LINC00917,CTD-2246P4.1,CTC-523E23.5,RP4-639J15.1,RP11-363G2.4,AC005082.12,MIR132 和 RP11-38F22.1);继而就表达差异最为明显的 LINC00917 和 CTD-2246P4.1 进行研究,发现与二者相互作用的基因鞘氨醇激酶 1(SPHK1)也在退变样本中过表达。SPHK1 可促进内皮细胞的迁移和新血管的生成,因此 LINC00917 和 CTD-2246P4.1 可能通过调控 SPHK1 的过表达,导致 IVD 内血管的生成,但他未就该推测开展进一步的实验来论证上述猜想。Zhao 等^[17]在 Illumina 平台上就退变及正常 NP 组织进行了转录组测序,共发现 1854 个差异变化超过 2 倍的 lncRNA,其中 1530 个 lncRNA 通过顺式调节作用影响 6386 个基因的表达,这些差异表达的 lncRNA 生物学功能包括对溶酶体、粘着斑和泛素介导的蛋白水解以及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等基因表达的调控;并且证明退变 NP 组织中上调的 lncRNA PART1 可能通过“海绵吸附”作用减少 miR-34a 和 miR-148a 的含量,从而抑制相应靶基因 E2F3, VEGFA 和 ACVR1 的表达。

上述研究表明 lncRNA 含量在退变 IVD 组织内较正常 IVD 存在明显差异,这是 lncRNA 参与 IDD 发病机制的一大有力佐证。然而值得注意的是,不同的研究得出的结果不尽相同。Zhao 等^[17]通过 Illumina 平台鉴定的前 10 个上调/下调的 lncRNA 与 Wan 等^[14]通过基因芯片得出的 10

个差异表达最为明显的 lncRNA 无一重叠,这可能与实验中使用不同的临床组织样本或测序手段有关(表 1)。

2.2 lncRNA 影响 NP 细胞增殖或凋亡的机制

NP 细胞增殖/凋亡的失衡与 IDD 的病理进程存在着密切联系。Wang 等^[15]就退变 NP 组织内上调的 RP11-296A18.3 进行研究,发现在培养的人类 NP 细胞中,抑制 RP11-296A18.3 后 miR-138 表达量升高,同时 HIF1 α 的含量降低,通过 Western Blot 检测 HIF1 α 的表达,发现 HIF1 α 的表达量与 NP 细胞增殖相关。而 HIF1 α 是 miR-138 的直接靶基因,可能在 IDD 发展过程中促进 NP 细胞增殖从而发挥防御作用,而这种保护作用可被高水平的 RP11-296A18.3 通过内源竞争 RNA (competing endogenous RNAs, ceRNA) 途径抑制 miR-138 的生物学效应而被放大。这与上述 Wan^[14]的推测结果存在差异,可能该 lncRNA 不止通过一种方式在 IDD 进程中发挥作用。

Chen 等^[18]的研究发现牛磺酸上调基因 1(TUG1)在退变 NP 组织中含量明显升高,TUG1 的过表达与 Wnt1、 β 连环蛋白基因的表达丰度显著正相关。TUG1 多在人类恶性肿瘤中过表达且与 Wnt1/ β 连环蛋白的激活有关。他发现退变 NP 细胞内过表达的 TUG1 增加了 Wnt1、 β 连环蛋白和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α) 的含量;与此同时,促凋亡蛋白 Bax 和 Caspase-3 的含量增加,抗凋亡蛋白 Bcl-2 的含量却减少;此外,过表达的 TUG1 也对 ECM 降解基因 [如金属蛋白酶 3 (matrix metalloproteinase 3, MMP3) 和聚蛋白多糖酶 5 (ADAMTS5)] 起着正调控作用,但却抑制 ECM 编码基因 [蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白 (Col2)] 的表达;敲除 NP 细胞内 TUG1 后上述基因表达则呈现相反的变化。不仅如此,TUG1 过表达引起的促衰老/促凋亡以及促进 ECM 降解的效应均可被 Wnt/ β -连环蛋白抑制剂 XAV-939 所阻断^[18]。表明 TUG1 可能通过 Wnt/ β -连环蛋白通路造成 NP 细胞衰老凋亡并促进 ECM 的降解。这与下述 H19 的生物学效应相同,二者均是通过作用于下游的 Wnt/ β -连环蛋白通路进而影响 NP 细胞活性及 ECM 含量,故而推测 Wnt/ β -连环蛋白通路是 IDD 发生发展过程中的重要一环。

Xi 等^[19]发现转录自 6 号染色体的 lncRNA HCG18 在 IDD 患者 NP 样本中存在过表达情况,且其含量与 IVD 退变程度显著正相关;进一步研究发现 HCG18 通过 ceRNA 途径吸附 miR-146a-5p 从而抑制细胞增殖,促进细胞凋亡并且促进 NP 细胞释放巨噬细胞的趋化物引起炎症反应;而抑制 miR-146a-5p 表达后上述 HCG18 的生物学效应消失。此外,TNF 受体相关蛋白 6 (TNF receptor

associated factor 6, TRAF6) 的含量也随着 HCG18 的过表达而增加。众所周知,TRAF6 是 NF- κ B 基因的上游正调节因子,而且是 miR-146a-5p 的直接靶基因。当 Xi 等^[19]敲低 TRAF6 后,HCG18 过表达引起的 NP 细胞衰老和凋亡效应得到抑制。上述实验结果表明 HCG18 可通过吸附 miR-146a-5p 从而抑制 TRAF6/NF- κ B 来诱导 NP 细胞的凋亡。

Tan 等^[20]的研究证实 lncRNA SNHG1 表达量与 IDD 程度正相关,小核糖体管家基因 1 (small nucleolar RNA host gene 1, SNHG1) 过表达已被证实在肝癌、肺癌、食管癌和结直肠癌等恶性肿瘤组织中存在,且与较差的预后和表型密切相关。Tan 等^[20]指出,IDD 组织内过表达的 SNHG1 通过促进细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1) 和增殖细胞核抗原 (PCNA) 等基因的表达从而促进 NP 的细胞增殖,而针对临床 IDD 组织样本分析时发现 SNHG1 和 miR-326 的表达呈现相反趋势。上述结果表明 SNHG1 很有可能作为 ceRNA 吸附 miR-326,从而促进 cyclin D1 和 PCNA 的表达以诱导 NP 细胞增殖。

Wang 等^[21]的研究发现,在原代 NP 细胞转染 miR-155 mimic 使其过表达后,NP 细胞中 lncRNAGAS5 表达水平显著降低。而转染生长阻滞特异性转录因子 5 (growth arrest-special transcript 5, GAS5) 过表达的原代 NP 细胞凋亡率较对照组明显增加,通过 Western Blot 检测到过表达 GAS5 的 NP 细胞内 Caspase-3 表达增加,而 Bcl-2 表达水平降低,据此推测 GAS5 可能通过抑制 miR-155 来下调 Bcl-2 及上调 Caspase-3 的表达,从而促进 NP 细胞凋亡。

Wang 等^[22]提出细胞自噬也参与 IDD 的发病机制,miRNA 和 lncRNA 在细胞自噬过程中发挥着重要作用,通过对 miR-153-3p 和 LINC00641 在 IDD 过程中如何调节细胞自噬的作用研究,利用低营养条件诱导髓核细胞凋亡中发现 LINC00641 和 miR-153-3p 的表达量呈现相反态势,前者表达量显著上调;进一步的研究表明,miR-153-3p 能直接作用于 ATG5 的 3'UTR,从而抑制 NP 细胞自噬以及 IDD 的发展;但更重要的是过表达的 LINC00641 可通过 ceRNA 途径吸附 miR-153-3p,从而逆转上述生物学效应。LINC00641 影响的 miR-153-3p/ATG5 调节通路可影响 IVD 内细胞自噬,这给研究 IDD 的发病机制和治疗提供了一种全新的思路。

与上述过表达的 lncRNA 不同,Zhang 等^[23]发现核富集转录本 2 (nuclear enriched abundant transcript 2, NEAT2) 在退变 IVD 髓核细胞内的表达量下降,功能研究表明 NEAT2 能促进 Caspase 3 的活性并降低白介素 (IL)-1 和 IL-6 的分泌,这也表明 IDD 内低表达的 NEAT2 可能

表 1 退变 IVD 内差异表达的 LncRNA

参考文献	方法	样品	筛选标准	上调	下调
Wan ^[14]	基因芯片 (GSE56081) qRT-PCR	退变腰椎间盘	变化倍数>10, $P<0.05$	67 lncRNAs	49 lncRNAs
Chen ^[16]	GSE56081 数据库生物信息学分析	退变腰椎间盘	变化倍数>1.5, $P<0.05$	135 lncRNAs	170 lncRNAs
Zhao ^[17]	Illumina 平台测序	退变腰椎间盘	变化倍数>2	916 lncRNAs	938 lncRNAs

间接诱导 NP 细胞凋亡和释放炎症因子来参与 IDD 的发生发展。Yu 等^[24]通过 RT-qPCR 研究发现, TNF- α 诱导的退变 NP 细胞内 HOX 转录物反义 RNA (HOX transcript antisense RNA, HOTAIR) 表达量明显下调, 而 miR-34a 的含量则显著升高; 在体外转染 miR-34a 后, miR-34a 通过直接作用于 Bcl-2 的 3'UTR 而抑制 Bcl-2 的表达并且促进 NP 细胞的凋亡, 过表达 miR-34a 后也能诱导 NP 细胞的凋亡, 故而认为 Bcl-2 是 miR-34a 的直接靶基因, 上调的 miR-34a 通过作用于 Bcl-2 而促进 IVD 内细胞的凋亡; 但上述 miR-34a 的生物学效应可被过表达的 HOTAIR 所抑制, 所以他认为 HOTAIR 能够通过调节 miR-34a/Bcl-2 来抑制髓核细胞的凋亡。上述 lncRNA 尽管能够通过直接影响 NP 细胞的活性而影响 IDD 的发生发展, 但其本身表达改变的机制仍需进一步明确来确定其在 IDD 进程中的作用与价值。

2.3 lncRNA 影响 ECM 含量的机制

在 IVD 退变过程中, ECM 中 Col2 和蛋白聚糖的进行性丧失是其主要病理特征, 基质金属蛋白酶 (MMPs) 和聚蛋白多糖酶 (ADAMTSs) 是介导 ECM 降解的主要酶类, 鉴于 lncRNA 的广泛生物学作用, 可以肯定一些 lncRNA 通过调节 MMPs 和 ADAMTSs 的含量来影响 ECM 降解。

Wang 等^[25]首次报道退变 NP 组织内 linc-ADAMTS5 含量较正常 NP 组织明显下降, 并证明 linc-ADAMTS5 通过与富含脯氨酸和谷氨酰胺的剪接因子 (SFPQ) 相结合可招募 Ras 反应元件结合蛋白 1 (RREB1) 至 ADAMTS5 启动子的结合位点, 从而诱导染色质的重塑, 在分析临床退变髓核组织时发现, linc-ADAMTS5 和 RREB1 的含量与 ADAMTS5 的表达丰度呈负相关。上述结果表明 linc-ADAMTS5 和 RREB1 共同作用可抑制 ADAMTS5 的表达从而减少退变 IVD 内 ECM 的降解。因此, 上调 linc-ADAMTS5 或许可以在减少 ECM 降解、延缓 IVD 退变这一过程中发挥重要作用。

Wang 的团队^[26]就临床退变 IVD 样本研究时发现 lncRNA-H19 较正常 IVD 组织表达量明显增加。H19 是胚胎时期高表达的印瘤 lncRNA, 但在成人多数组织中几乎没有表达^[27]。在通过 H₂O₂ 诱导的 NP 细胞衰老过程中, 过表达的 H19 可增加 ADAMTS5 和 MMPs 的蛋白水平以及 I 型胶原蛋白的含量, 并通过激活 Wnt/ β -连环蛋白信号抑制 NP 细胞增殖来加速 H₂O₂ 诱导的退行性变化^[26]。但 miR-22 可直接作用于淋巴增强子结合因子 1 (lymphoid enhancer-binding factor 1, LEF1) 的 3'UTR 抑制 LEF1 的表达, 从而抑制 Wnt/ β -连环蛋白信号转导, 进而逆转上述 H19 的作用^[26]。所以他认为 H19 充当 ceRNA 与 LEF1 竞争 miR-22, 从而调节 NPC 中 Wnt/ β -连环蛋白信号传导, 故而 H19/miR-22/LEF1 可能是延缓 NP 细胞衰老和 ECM 降解的新靶点^[26]。

lncRNA NEAT1 已被证实人类多种肿瘤组织中存在过表达情况^[28]。Ruan 等^[29]首次报道 NEAT1、p21 和 p53

的表达均在退变 NP 组织内上调, 进一步研究表明退变 IVD 内过表达的 NEAT1 可通过 MAPK/ERK 信号通路上调 ADAMTS5 和 MMP13 的表达, 从而促进 ECM 的降解并且抑制蛋白聚糖和 Col2 基因的表达来减少 ECM 的合成。上述结果表明 NEAT1 主要通过打破 ECM 合成/降解的平衡在 IDD 的发展过程中起着重要作用。Wang 等^[30]通过 RT-qPCR 研究发现, lncRMRP 含量在退变的 NP 组织中明显升高, 而 miR-206 含量则与 RMRP 的表达量成反比; 在人的 NP 细胞转染 pcDNA-RMRP 使其过表达后, miR-206 的含量明显下降, 并且 MMP13 和 ADAMTS4 的表达量明显受到抑制; 而转染 miR-206mimic 的 NP 细胞内 RMRP 表达明显下调, 据此采用基因功能增益缺失方法确定 miR-206 与 RMRP 之间的竞争关系, 并且证明退变 NP 组织内过表达的 RMRP 可通过抑制 miR-206 来抑制 MMP13 和 ADAMTS4 的表达。故而推论 lncRNA 主要通过调节 MMPs 以及 ADAMTS 的表达来影响 ECM 的含量。

2.4 lncRNA 通过炎症信号通路参与 IDD 的发生发展

炎症是促进 IDD 进程的重要因素, 研究表明部分 lncRNA 也能通过此过程影响 IDD 的病理过程。

Xi 等^[31]报道 HCG18 可作为 ceRNA 吸附 miR-146a-5p 从而促进 NP 细胞释放巨噬细胞的趋化物引起炎症反应。Zhang 等^[32]发现 NEAT2 在退变 IVD 的 NP 细胞内的表达量下降, 而研究表明 NEAT2 能降低 NP 分泌细胞 IL-1 和 IL-6, 故而退变 IVD 内下调的 NEAT2 可间接升高 IVD 内 IL-1 和 IL-6 的含量从而加重炎症反应。

Yu 等^[33]的研究发现, 在人的退变 NP 组织中, LINC00969 和 TXNIP 表达量明显上升, 但 miR-335-3p 表达却与二者呈相反趋势, Western Blot 检测退变 NP 细胞内 TXNIP 和 IL-1 β 的含量也较对照组明显增多; 抑制 LINC00969 后, TXNIP 及 IL-1 β 的含量下降, miR-335-3p 的表达却较对照组上升, NP 细胞的凋亡也随之减少, 而 TXNIP 是 miR-335-3p 的靶基因, 可能在椎间盘退变过程中促进 IL-1 β 等炎症因子的释放从而诱导 NP 细胞的凋亡, 而这种作用可被高水平的 miR-335-3p 所抑制, 但过表达的 LINC00969 可通过调节 miR-335-3p/TXNIP 的表达来抑制 miR-335-3p 对椎间盘的保护作用。

尽管上述 lncRNA 分子能够直接影响炎症因子的表达而促进 IDD 发展, 但其涉及的炎症相关通路均不具有显著的疾病特异性。故而寻找新的具有 IDD 疾病特异性的 lncRNA 分子并明确其作用机制是今后科研工作的重点, 力求为以后 lncRNA 在 IDD 中的应用研究提供重要的理论依据。

3 总结与展望

综上所述, 虽然 lncRNA 通过多种不同的方式在 IDD 进程中起作用 (表 2), 但不难发现目前针对 IDD 中 lncRNA 的研究主要集中在 NP 领域, 而 AF 和 CEP 板却鲜有涉及。随着对 lncRNA 研究的不断深入, 越来越多差异

表 2 LncRNA 在 IDD 中的作用机制

LncRNA	在 IDD 中表达差异	对 IDD 的影响	靶基因/作用通路	影响方式	参考文献
RP11-29A18.3	增加	促进	miR-138, HIF1A	细胞增殖和 ECM 降解	Wang ^[15]
LINC00917/CTD-2246P4.1	增加	促进	SPHK1	新血管形成	Cheney ^[18]
PART1	增加	促进	miR-34a	细胞凋亡	Zhao ^[17]
TUG1	增加	促进	Wnt1/β-连环蛋白	细胞凋亡和 ECM 降解	Cheney ^[18]
HCG18	增加	促进	miR-146a-5p, TRAF6	细胞增殖/凋亡、炎症反应	Xi ^[19]
SNHG1	增加	促进	miR-326, Cyclin D1, PCNA	细胞增殖	Tan ^[20]
GAS5	增加	促进	miR-155, Bcl-2, caspase-3	细胞凋亡	Wang ^[21]
LINC00641	增加	促进	miR-153-3p, ATG	细胞自噬	Wang ^[22]
NEAT2	减少	保护		抑制细胞凋亡及炎症反应	Zhang ^[23]
HOTAIR	减少	保护	miR-34a, Bcl-2	抑制细胞凋亡	Yu ^[24]
ADAMTS5	减少	保护	RREB1, ADAMTS5	抑制 ECM 降解	Wang ^[25]
H19	增加	促进	miR-22, LEF1	细胞衰老、ECM 降解	Wang ^[26]
NEAT1	增加	促进	MAPK/ERK	ECM降解	Ruan ^[29]
RMRP	增加	促进	miR-206, MMP13, ADAMTS4	ECM降解	Wang ^[30]
LINC00969	增加	促进	miR-335-3p, TXNIP	炎症反应、细胞凋亡	Yu ^[31]

表达的 lncRNA 已被鉴别并有希望作为 IDD 诊断的生物标志物和治疗靶点。然而,这些成果欲向临床转化尚存在诸多问题,首先研究表明 IDD 内差异表达的 lncRNA 有几千个,但迄今为止仅有上述 10 余个 lncRNA 的功能得以证实,故而阐明更多 lncRNA 在 IDD 内的作用通路至关重要;其次从表 2 中不难看出 lncRNA 主要作为 ceRNA 吸附 miRNA 进而发挥调控作用,且大量证据表明 miRNA 也参与 IDD 的病理进程,因此未来研究应尽量关注 IDD 进程中 lncRNA 与 miRNA 之间的关系;缺乏相关的动物研究也使得上述成果均停留在标本及细胞水平。

lncRNA 可以通过调节 NP 细胞的增殖/凋亡、ECM 的沉积/降解参与 IDD 的发生发展。此外,失调的 lncRNA 还可改变细胞因子的释放(如 IL-1、IL-6)及 NP 细胞对细胞因子的反应性(如 TNF-α 可诱导 NP 细胞的衰老及凋亡)从而加重炎症反应。未来或许可通过靶向失调的 lncRNA 对 IDD 进行治疗,如应用纳米颗粒或脂质包封 siRNA、等位基因特异性寡核苷酸(allele-specific oligonucleotide, ASO)及小分子抑制剂等来干扰目的 lncRNA 的活性^[32-35]。除了治疗以外,IDD 的早期发现和预后判断仍然是临床上的一大难题。值得注意的是,上述纳入研究的部分 lncRNA 已作为人类癌症诊断和预后的标志物^[18,19],这也启发我们 lncRNA 在 IDD 的研究贡献中可能不止于治疗方面,某些 lncRNA 或许也可作为 IDD 早期诊断和评估预后的标志物,然而这方面尚未见报道,需要更多的研究工作来发掘其在 IDD 诊疗过程中的临床潜能。

IVD 退变往往由多种因素共同作用,发病机制复杂,迄今只有手术治疗能相对有效地解决患者病痛,但手术治疗往往以牺牲患者活动度为代价且伴随各种围手术期风险。假如我们能通过 lncRNA 早期识别并诊断 IVD 退变,做到早发现、早干预,便能最大限度地延缓 IVD 退变进程,

以期为患者减轻病痛。现有的 lncRNA 研究成果为 IDD 的早期诊断与治疗提供了坚实的理论基础。

4 参考文献

1. 王睿哲, 徐辰, 李真, 等. miRNA 影响椎间盘退变的机制研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2018, 28(10): 949-953.
2. Feng G, Zha Z, Huang Y, et al. Sustained and bioresponsive two-stage delivery of therapeutic miRNA via polyplex micelle-loaded injectable hydrogels for inhibition of intervertebral disc fibrosis [J]. Adv Healthc Mater, 2018, 7 (21): e1800623.
3. Lin H, Ma X, Wang BC, et al. Edaravone ameliorates compression-induced damage in rat nucleus pulposus cells[J]. Life Sci, 2017, 189: 76-83.
4. Jia Z, Yang P, Wu Y, et al. Comparison of biological characteristics of nucleus pulposus mesenchymal stem cells derived from non-degenerative and degenerative human nucleus pulposus[J]. Exp Ther Med, 2017, 13(6): 3574-3580.
5. Kong L, Sun M, Jiang Z, et al. MicroRNA-194 inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in nucleus pulposus cells of the intervertebral disc by targeting TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6)[J]. Med Sci Monit, 2018, 24: 3056-3067.
6. Chen WK, Yu XH, Yang W, et al. lncRNAs: novel players in intervertebral disc degeneration and osteoarthritis [J]. Cell Proliferation, 2017, 50(1): 1-12.
7. Mi D, Cai C, Zhou B, et al. Long non coding RNA FAF1 promotes intervertebral disc degeneration by targeting the Erk signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(2): 3158-3163.
8. Qu Z, Quan Z, Zhang Q, et al. Comprehensive evaluation of differential lncRNA and gene expression in patients with intervertebral disc degeneration[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(2):

- 1504–1512.
9. 马凯歌, 熊鑫茗, 邵增务, 等. 椎间盘内源性修复失效机制的研究进展[J]. 中华骨科杂志, 2017, 37(12): 763–768.
10. Kraus P, Sivakamasundari V, Olsen V, et al. Klhl14 antisense RNA is a target of key skeletogenic transcription factors in the developing intervertebral disc[J]. *Spine*, 2019, 44(5): 260–268.
11. Li Z, Li X, Chen C, et al. Long non-coding RNAs in nucleus pulposus cell function and intervertebral disc degeneration[J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(5): e12483.
12. 杨峰, 易凡, 曹慧青, 等. 长链非编码 RNA 研究进展[J]. 遗传, 2014, 36(5): 456–468.
13. 丁亚, 邹红军, 高鑫, 等. LncRNA 在神经系统发育和损伤修复中的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(2): 183–185.
14. Wan ZY, Song F, Sun Z, et al. Aberrantly expressed long noncoding RNAs in human intervertebral disc degeneration: a microarray related study[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(5): 465.
15. Wang XB, Lv GH, Li J, et al. LncRNA RP11–296A18.3/miR–138/HIF1A pathway regulates the proliferation ECM synthesis of human nucleus pulposus cells [J]. *Cell Biochem*, 2017, 118: 4862–4871.
16. Chen Y, Ni H, Zhao Y, et al. Potential role of lncRNAs in contributing to pathogenesis of intervertebral disc degeneration based on microarray data[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 3449–3458.
17. Zhao B, Lu MJ, Wang D, et al. Genome-wide identification of long noncoding RNAs in human intervertebral disc degeneration by RNA sequencing [J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 3684875.
18. Chen J, Jia YS, Liu GZ, et al. Role of lncRNA TUG1 in intervertebral disc degeneration and nucleus pulposus cells via regulating Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(3): 668–674.
19. Xi YH, Jiang TW, Wang WH, et al. Long non-coding HCG18 promotes intervertebral disc degeneration by sponging miR–146a–5p and regulating TRAF6 expression[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13234.
20. Tan H, Zhao L, Song R, et al. The long noncoding RNA SNHG1 promotes nucleus pulposus cell proliferation through regulating miR–326 and CCND1[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2018, 315(1): 21–27.
21. Wang Y, Song Q, Huang X, et al. Long noncoding RNA GAS5 promotes apoptosis in primary nucleus pulposus cells derived from the human intervertebral disc via Bcl–2 down-regulation and caspase–3 upregulation [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(3): 2164–2172.
22. Wang XB, Wang H, Long HQ, et al. LINC00641 regulates autophagy and intervertebral disc degeneration by acting as a competitive endogenous RNA of miR –153 –3p under nutrition deprivation stress[J]. *Cell Physiol*, 2019, 234(5): 7115–7127.
23. Zhang H, Li JD, Duan DP, et al. The role of lncRNA MALAT1 in intervertebral degenerative disc disease[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2017, 10: 10611.
24. Yu Y, Zhang X, Li Z, et al. LncRNA HOTAIR suppresses TNF- α induced apoptosis of nucleus pulposus cells by regulating miR–34a/Bcl–2 axis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 729–737.
25. Wang K, Song Y, Liu W, et al. The noncoding RNA linc–ADAMTS5 cooperates with RREB1 to protect from intervertebral disc degeneration through inhibiting ADAMTS5 expression[J]. *Clin Sci*, 2017, 131(10): 965–979.
26. Wang X, Zou M, Li J, et al. LncRNA H19 targets miR–22 to modulate HO– induced deregulation in nucleus pulposus cell senescence, proliferation, and ECM synthesis through Wnt signaling[J]. *Cell Biochem*, 2018, 119(6): 4990–5002.
27. Raveh E, Matouk I, Gilon M, et al. The H19 Long non-coding RNA in cancer initiation, progression and metastasis: a proposed unifying theory[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14: 184.
28. Yu X, Li Z, Zheng H, et al. NEAT1: a novel cancer related long non-coding RNA[J]. *Cell Prolif*, 2017, 50(2). doi: 10.1111/cpr.12329.
29. Ruan Z, Ma H, Li J, et al. The long non coding RNA NEAT1 contributes to extracellular matrix degradation in degenerative human nucleus pulposus cells [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2018, 243: 595–600.
30. Wang X, Peng L, Gong X, et al. LncRNA–RMRP promotes nucleus pulposus cell proliferation through regulating miR–206 expression[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(11): 5468–5476.
31. Yu L, Hao YJ, Xu CJ, et al. LINC00969 promotes the degeneration of intervertebral disk by sponging miR–335–3p and regulating NLRP3 inflammasome activation [J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(5): 611–618.
32. Zhang C, Wang P, Jiang P, et al. Upregulation of lncRNA HOTAIR contributes to IL–1 β –induced MMP overexpression and chondrocytes apoptosis in temporomandibular joint osteoarthritis[J]. *Gene*, 2016, 586(2): 248–253.
33. Zhou T, Kim Y, MacLeod AR. Targeting long noncoding RNA with antisense oligonucleotide technology as cancer therapeutics[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1402: 199–213.
34. Pastori C, Kapranov P, Penas C, et al. The Bromodomain protein BRD4 controls HOTAIR, a long noncoding RNA essential for glioblastoma proliferation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(27): 8326–8331.
35. Gutschner T, Baas M, Diederichs S, et al. Noncoding RNA gene silencing through genomic integration of RNA destabilizing elements using zinc finger nucleases[J]. *Genome Res*, 2011, 21(11): 1944–1954.

(收稿日期:2019-02-01 修回日期:2019-03-29)

(本文编辑 李伟霞)