

胸椎黄韧带骨化症的研究进展

The research progress on thoracic ossification of the ligament flavum

范天奇, 陈仲强

(北京大学第三医院骨科 100191 北京市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2020.05.12

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2020)-05-0463-06

胸椎黄韧带骨化症(thoracic ossification of the ligamentum flavum, TOLF)是脊柱韧带异位骨化性疾病之一,可导致胸椎椎管狭窄、脊髓受压,可严重影响及危害患者运动神经功能,是胸脊髓病最常见的发病原因^[1]。该病起病隐匿,多数患者在外伤诱因作用下或慢性神经损伤症状急剧加重才就诊,病情往往较重,常合并其他脊柱疾病,临床表现复杂多变,容易漏诊及误诊,手术风险及难度较大,若处理不当可能造成瘫痪。临床上针对 TOLF 尚无有效的早期诊断、预防及保守治疗方法。迄今为止 TOLF 发病机制尚不明确,但区别于以往认为退变因素为主要致病因素的观念,目前研究表明 TOLF 是一种多因素、复杂病因的慢性疾病。通过流行病学特征、临床特征及发病机制的研究发现,TOLF 发病相关因素复杂多样,包括生物力学刺激、解剖因素、遗传因素(基因多态性/表观遗传)、内分泌和代谢异常、炎性作用及相关分子调控异常等因素,均可对 TOLF 的发病产生影响^[2-6]。由于 TOLF 发病机制复杂,所以对各致病因素研究的梳理与对比有利于发现 TOLF 的主要致病机理及各致病因素之间的潜在联系。近年来,对 TOLF 发病机制的研究还包含了炎症作用,以及 microRNA、DNA 甲基化、组蛋白修饰等表观遗传调控,丰富了发病机制的理论基础^[4-6]。为了梳理 TOLF 的研究进展,笔者从其流行病学特点、相关解剖、分型、发病机制研究等方面进行回顾总结,并对相关热点进行分析。

1 TOLF 的流行病学特点

目前,TOLF 的流行病学研究主要包括发病年龄、性别、发病地域分布、患病率、节段分布等方面。TOLF 的发病较晚,多见于 40~60 岁,符合慢性病与退变性疾病的特征,性别间无明显差异^[3-6]。同时,TOLF 有明显的地域分布特点,主要出现在亚洲地区,以日韩两国报道较早,日本有报道称其患病率可达 36%^[4],韩国可达 16.9%^[5]。近年来我国报道也逐渐增多,患病率更高达 63.9%^[6]。这种人群及地区集中的高患病率也是 TOLF 遗传学发病机制的猜想依据

之一。

不过 TOLF 的患病率在不同研究中差别较大,仍有争议。早期报道其患病率较低,然而近年来随着影像学诊断技术的发展,影像学诊断精准性的逐渐提高,报道的患病率有所增高。1983 年,Kudo 等^[7]在临床使用 X 线平片检查脊柱韧带骨化情况,对 1744 名志愿者进行观察,发现 TOLF 的男性患病率为 6.2%,女性为 4.8%,并无显著性差异。2009 年,Guo 等^[8]发现 TOLF 患病率为 3.8%(66/1736)。2013 年,Lang 等^[9]通过对随机人群进行高分辨率 CT 脊柱检查,发现在 993 例志愿者中 TOLF 患病率可达 63.9%,表明我国的 TOLF 患病率在东亚国家也处于较高水平,且发现 TOLF 骨化的起始年龄可从十几岁开始,而在成年时出现症状较多。差异结果产生的主要原因为不同影像诊断方法对于 TOLF 的诊断敏感性不同。相比于 X 线片、MRI,高分辨率 CT 对 TOLF 骨化诊断的准确率更高。目前,临床上诊断 TOLF 常联合使用长节段高分辨率 CT 和 MRI,可获得较高的诊断准确性,并可观察脊髓受压情况和黄韧带骨化分布情况。

然而,TOLF 发病隐匿,常合并其他脊柱疾病症状,使得 TOLF 的诊断常发生延误,甚至漏诊。且尚无早期诊断及预防的有效措施,仍缺少对 TOLF 自然病程的了解与研究;且目前对于 TOLF 术后复发或邻近节段骨化情况的研究也不足。所以,未来对于 TOLF 的研究需要更多的样本量,更多年龄分组的长期观察,对疾病自然病程、术后康复过程等进行研究,探索 TOLF 的韧带起始骨化年龄、发病年龄、术后复发等临床特征,使临床与基础研究相结合,为 TOLF 的发病机制研究提供新的线索与依据。

2 TOLF 的相关解剖

黄韧带(ligamentum flavum)与后纵韧带不同,并不连续,而是连接相邻上下椎弓板之间的韧带,从上位椎弓板的下缘和内面连至下位椎弓板的上缘和外缘,参与围成椎管的后壁和后外侧壁,从上往下依次增厚。由于胸椎的生理性后凸及弯腰等动作,可使得胸椎黄韧带长期受到生理性拉伸,且在下胸椎可产生较大的生物牵拉应力。

临床上常通过全脊柱 MRI、CT 等影像学检查,观察

第一作者简介:男(1988-),博士研究生,研究方向:脊柱外科

电话:(010)82267011 E-mail:puth_ftq@pku.edu.cn

通讯作者:陈仲强 E-mail:puh3_czq@bjmu.edu.cn

TOLF 的骨化范围及脊髓受压迫程度,指导手术治疗。Yang 等^[9]利用 Micro-CT 对术后 TOLF 骨化韧带标本进行扫描,进一步发现黄韧带骨化形成的微结构形态学特征,韧带骨化常起始于与椎板连接处(起止点),形态学上分为成熟与未成熟型。类似于关节的起止点(韧带附着于骨的部位)周围存在炎症作用,有研究^[3,10]表明,炎症因子在 TOLF 的发病过程中也起到了一定作用,肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)可促进黄韧带的骨化形成。但脊柱关节突关节周围的炎症反应与黄韧带骨化发生的关系尚无明确结论,需要进一步研究。

在脊柱整体的力学分布中,胸椎应力集中在下胸椎,且下胸段是胸椎与腰椎的移行区域,肋骨的保护作用较上段及中段胸椎少,此段胸椎稳定性易于受损,下胸段关节突的方向趋向于矢状面,且此段椎体活动度增大,使该段黄韧带所受后方牵拉力增大^[11,12]。此种解剖特点可能是导致 TOLF 发病的直接诱因之一,通过影响韧带中类成骨细胞的代谢,促使牵拉力大的部位骨沉积,或者加速局部的退变,导致黄韧带局部炎症的发生,进而产生骨化^[13,14]。此理论与 TOLF 临床特征相符:全脊柱(颈椎、胸椎和腰椎)黄韧带附着部位均可发生,但颈椎及腰椎的黄韧带骨化发生较少,而胸椎尤其是下胸段最为常见;由于肋骨的保护作用较上段及中段胸椎少,下胸段更容易发生,并可伴相应节段胸椎间盘突出及胸椎后纵韧带骨化,这也是 TOLF 退变性病因而的理论基础。但是,解剖因素与长节段、广泛骨化 TOLF 的临床特点并不相符。目前,解剖因素与炎症反应的关系、炎症与局部退变的关系、炎症与生物力学的相关性及机制等尚无明确的研究结论。单纯解剖因素并不能解释 TOLF 的人群易感性及长节段 TOLF 发病机制,而在炎症作用、遗传因素、内分泌和代谢调控等方面仍需进一步的研究。

3 TOLF 的分型

临床上,在所有脊柱黄韧带骨化中,TOLF 是发病率最高、症状最严重的类型。TOLF 目前无统一分型,可发生于胸椎任何节段,好发于下胸椎(T9~T11),可伴胸椎间盘突出或胸椎后纵韧带骨化。根据疾病分布范围分为单节段及多节段 TOLF,其中多节段又分为连续型和间断型^[2,9]。

Li 等^[15]对 40 例 TOLF 手术患者进行回顾性研究,发现单节段 TOLF 占 25%,多节段占 75%。陈仲强等^[16]对 82 例 TOLF 手术患者进行回顾性分析,发现单节段 TOLF 占 11.0%,多节段连续型 TOLF 占 53.6%、多节段间断型占 35.4%。Guo 等^[18]对 1736 名中国南方志愿者进行了调查研究,利用 MRI 检查发现 TOLF 总发病率为 3.8%(66 例/1736 例),其中单节段 TOLF 有 45 例(68.2%),多节段 TOLF 有 21 例(31.8%),而多节段型 TOLF 中,连续型 11 例(16.7%),间断型 10 例(15.2%),认为单节段 TOLF 的发病率高于多节段 TOLF。2013 年,Lang 等^[6]对存在胸部症状的 993 例北京地区患者进行 CT 检查,利用 2008 年《北京

市 2008 年人口年龄构成统计》进行人群标准化后得到人群标准化患病率为 63.9%,单节段 TOLF 较少(占 29.3%),而多节段 TOLF 比例高达 70.7%。单节段 TOLF 与多节段型 TOLF 的统计结果差异较大的原因可能是影像诊断工具与标准的选择、人群样本量差异等原因引起的。

值得注意的是,单节段和多节段 TOLF 的临床特征有着明显的差别,对这两种 TOLF 的对比研究较少。且目前尚无研究表明单节段 TOLF 会加重向邻近节段过渡而发展成多节段 TOLF。两种类型是否在发病机制上不同,值得深入研究。一项关于生物力学对 TOLF 患者黄韧带成骨分化影响的研究证明,生物力学在 TOLF 的发病中起到重要作用,多节段 TOLF 的黄韧带成骨分化能力强于单节段的黄韧带的成骨分化能力,表明多节段与单节段 TOLF 患者发病机制可能不同,为 TOLF 分型提供了基础依据,对今后 TOLF 研究分型的科学及准确性提供了理论支持^[19]。目前无研究报道多节段中连续型与间断型 TOLF 在疾病的发生发展、成骨分化能力及手术治疗上有明显差异,所以此种单纯但按照疾病分布的分型的发病机制基础及临床意义仍有待商榷。对疾病分型的深入研究,在探索疾病发病机制、寻找可靠保守治疗方案有着重要的作用。

4 TOLF 的发病机制

TOLF 是引起胸椎管狭窄的主要病因,起病隐匿,可压迫脊髓神经引起神经功能障碍,手术是目前唯一有效的治疗方式。迄今为止其发病机制尚不明确,普遍认为和生物力学因素、遗传因素、基础代谢和炎症因素等相关。

4.1 生物力学因素

研究表明生物应力因素在 TOLF 的发生、发展过程中起着至关重要的促进作用^[16,17]。机械应力在脊柱的分布和 TOLF 发病有一定联系,从整体上看,TOLF 好发的下胸椎和胸腰段是脊柱从相对固定的胸段向活动度较大的腰段过渡的区域,主要包括 T9~T12,此区域黄韧带可能受到较大的牵张应力的影响,常发生单节段 TOLF^[2,6,8];从局部的角度观察,下胸椎的 TOLF 常伴有胸椎间盘突出,应力的集中可能导致胸椎小关节运动增多,局部微量位移加大,从而引起退变及骨化^[18]。但是两者发病机制之间的联系仍有待进一步研究确认。

Kaneyama 等^[19]回顾性研究棒球运动员脊柱黄韧带骨化发病情况时,发现脊柱固定节段持续反复的旋转机械应力可能为重要的致病因素,而通过细胞学模拟研究发现牵张力对黄韧带细胞成骨具有促进作用。陈仲强等^[16]发现存在节段不稳的患者中,该脊柱节段的韧带骨化往往发展迅速,且可伴随相同节段的胸椎间盘突出。进一步研究^[20]牵张应力诱导 TOLF 中黄韧带细胞成骨分化的分子机制发现,转录因子 SP7(也称为 Osterix)是感受应力刺激并调节成骨分化的关键细胞因子。Ning 等^[21]对 TOLF 进行分组研究发现,相对于单节段 TOLF 及健康对照组,多节段 TOLF 患者的黄韧带细胞成骨分化能力更强,而这种差异成骨分

化能力可能源于不同的遗传背景,首次将 TOLF 分型与遗传因素、生物应力因素联系在了一起。此外,Cai 等^[22]发现循环的周期性牵拉应力在细胞水平上可以促进黄韧带细胞的成骨分化,其中关键的 β -链蛋白(β -catenin)和转录因子 SOX9 的升高,促进了黄韧带细胞的软骨内成骨。

生物应力在人的日常活动中不可避免地存在,可引起各种退变性疾病,如关节的退变、椎间盘的变性等。但生物应力仅与单节段 TOLF 发病特点相符,并不适用于多节段 TOLF,且找到生物应力与好发人群的遗传或地域分布特点的相关机制,将有利于深入了解这一疾病。

4.2 遗传因素

目前认为 TOLF 是一种与遗传因素相关的复杂性疾病,主要发生在东亚黄种人,尤其高发于日本、中国等国家,少见欧美白人种与非洲地区^[4-7]。这一明显的种族地域差异现象表明,易感基因及基因多态性可能在 TOLF 发病过程中起着关键作用^[2-4]。

目前报道的与 TOLF 有关的基因主要包括 Runt 相关转录因子-2 (runt-related transcription factor 2, RUNX2)、骨形态发生蛋白-4 (bone morphogenetic protein 4, BMP4)、主要组织相容性复合体 DQ α 1 (major histocompatibility complex DQ alpha 1, HLA-DQA1)、VI 型胶原蛋白 α -1 (collagen type VI alpha 1, COL6A1) 等。其中 COL6A1 基因位于 21q22.3, 编码 VI 型胶原蛋白 α 1 肽链,而 VI 型胶原是细胞外基质中的一种纤维蛋白,对维护细胞内环境稳定及细胞分化、黏附、增殖、迁移、存活等有重要作用,被认为是纤维软骨分化的标志物^[23]。Kong 等^[24]对中国汉族 61 例黄韧带骨化患者、90 例后纵韧带骨化患者、32 例共存患者及 155 例正常对照者 COL6A1 基因的 4 个已知的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 位点进行研究,结果表明 COL6A1 内含子 32(-29)、33(+20)和启动子(-572)与黄韧带骨化明显相关。

RUNX2 基因位于 6p21, 为转录因子 RUNX 家族成员,为成骨细胞特异转录因子,对骨组织形成和重建起着重要作用,决定着多能干细胞向成骨细胞分化,促进软骨细胞成熟和软骨血管化,还能通过促进骨细胞外基质蛋白合成等调节成熟成骨细胞成骨^[25]。Liu 等^[26]通过对 12 例黄韧带骨化患者、48 例后纵韧带骨化患者、22 例共存患者及 118 例正常汉族人群的 RUNX2 基因多态性研究发现, RUNX2、BMP-2、COL6A1 等基因 19 个 SNP 位点进行研究,发现 RUNX2 基因 2 个位点(RS1321075、RS12333172)的 SNP 与对照组有差异,其中 1 个位点单倍型分型显示与后纵韧带骨化症和黄韧带骨化症的发生相关。

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)是成骨分化重要的多功能性生长因子,与大部分生理及病理的成骨分化都密切相关,能使未分化的间充质干细胞定向分化为成骨细胞,进而合成胶原,形成钙化的骨组织。BMP 有 10 多个亚型,与脊柱韧带骨化可能相关的有 BMP-2、BMP-4、BMP-7 等^[27-29]。Ning 等^[21]在基于全基因组

显子组测序的研究中,筛选出 TOLF 患者存在的新突变位点基因,发现单核苷酸变化(SNP:RS2273073, RS1049007 和 RS235768)及引起的 BMP-2 表达上调,可能是促进多节段 TOLF 患者胸椎黄韧带细胞成骨分化的机制之一。赵伟光等^[30]对 40 例 TOLF 患者和 40 例正常人(对照组) BMP-4 的两个 SNP 位点(rs17563、rs2855532)进行研究,表明 TOLF 组的基因型及等位基因型频率明显高于对照组,认为与 TOLF 的发生相关。利用机械牵拉力体外刺激 TOLF 黄韧带细胞,模拟人体黄韧带组织所受生物应力作用,发现应力刺激能增加 TOLF 黄韧带细胞中的 BMP-2 表达,促进成骨分化^[21,22],这可能是 TOLF 患者黄韧带细胞能更加积极响应生物力学刺激而导致易于骨化的机制之一。

HLA 系统是目前所知最复杂的多态系统,HLA-DQA1 基因位于 6p21.3。颜廷宾等^[31]对 TOLF 与 HLA-DQA1 等位基因的相关性研究表明,HLA-DQA1-0401 位点存在易感和抵抗双重作用,但该研究仅包含 30 例 TOLF 患者及 51 例健康对照,仍需扩大样本量,增加说服力。总体来讲,目前 TOLF 的基因多态性研究体量有限,尚无多中心、大样本量的联合研究为 TOLF 的基因多态性研究提供更有利的支撑。

4.3 基础代谢

基础代谢的异常可能与 TOLF 的发病相关,其中许多细胞因子在 TOLF 发病过程中起重要作用,包括 BMP、软骨源性形态发生蛋白 1 (cartilage-derived morphogenetic protein 1, CDMP1)及转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)等^[32-34]。Zhong 等^[32]发现,重组人生长分化因子-5 (recombinant human growth/differentiation factor-5, rhGDF-5) 可通过促进碱性磷酸酶及骨钙素的表达,激活 ERK1/2 和 p38MAPK 信号通路诱导黄韧带细胞成骨分化。Fan 等^[33]研究肥胖人群高瘦素(Leptin)血症对 TOLF 发病影响时,发现瘦素可以促进 TOLF 黄韧带细胞成骨分化,而信号转导及转录激活蛋白 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、RUNX2 和类固醇受体 coactivator-1 被认为是介导瘦素刺激 TOLF 细胞成骨的关键因子。

Hou 等^[34]尝试构建 TOLF 的动物模型,将重组人骨形态发生蛋白-2 (recombinant human bone morphogenetic protein 2, rh-BMP-2) 利用手术填充于大鼠的胸腰段黄韧带硬膜外间隙,可成功诱导鼠黄韧带的软骨内成骨。但是此种动物模型并不能完整体现拥有复杂病因的 TOLF 的发病机制,使得后续实验探索受到一定的限制。

4.4 炎症作用

近年来,炎症作用对于骨形成的影响越来越受到人们的关注。研究表明,骨折后存在由炎症反应触发的骨重建,在转基因动物模型中显示 TNF- α 在骨折愈合中起到了重要作用,表明 TNF- α 参与促进骨折修复、骨骼组织发育^[35]。而异位骨化性疾病的过度骨形成作用已证明是继发

于炎症期^[36,37],一些转录因子和炎性细胞因子在 TOLF 的发病过程中也起到了重要作用。

Ren 等^[38]认为炎症因子白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6) 和 TNF- α 在 TOLF 的发病中起到了至关重要的作用。TNF- α 可能通过抑制胰岛素样生长因子抑制小鼠颅顶前骨细胞亚克隆 14(MC3T3-E1-14)细胞的成骨分化^[39]。另有研究表明,TNF- α 刺激导致的骨髓间充质干细胞成骨分化可能是通过提高含有 PDZ 结合模体的转录共激活物(transcriptional coactivator with PDZ-binding motif,TAZ)的表达来完成的^[40]。Park 等^[41]通过体外实验发现炎性细胞因子 IL-6、前列腺素 E2(prostaglandin E2,PGE2)、TNF- α 等在黄韧带肥厚骨化中发挥重要作用,在炎性因子处理的黄韧带细胞中,I、V、XI型胶原蛋白和骨钙素的 DNA 合成以及 mRNA 表达显著增加,代表骨结节形成的 Von Kossa 染色也呈现阳性。

通过 iTRAQ 技术,Wang 等^[3]对 TOLF 黄韧带进行了蛋白组学水平分析,证实炎症因子 TNF- α 在 TOLF 成骨分化中起到重要作用,可诱导成骨细胞特异性转录因子 Osterix 在黄韧带细胞中的表达,上调其下游成骨基因 OCN 和 ALP 的表达。但是,TOLF 炎症相关的发病机制仍待进一步研究,而成熟的 TOLF 炎症相关动物模型的建立对于 TOLF 的预防及保守治疗相关研究可提供重要的实验技术支持。

4.5 其他因素

MicroRNA(miRNA)广泛调节各种生理及病理过程,在 TOLF 黄韧带细胞成骨分化的调控中同样发挥了一定作用。通过生物信息学研究^[42]发现,TOLF 的发病过程中 miRNA 与长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)也起到了作用,并与炎症因子 IL10 及韧带成骨分化相关基因 COL2A1、COL13A1 和 WNT7B 等息息相关。Qu 等发现 miR-132-3p 能通过调控 FOXO1、GDF5 和 SOX6 基因从而抑制黄韧带细胞的成骨分化^[43];miR-199b-5p 通过调控 JAG1 和 Notch 信号通路起到抑制黄韧带细胞的成骨分化的效果^[44]。Yang 等^[45]发现 miR-490-3p 通过作用于 FOXO 基因,达到抑制 TOLF 黄韧带细胞成骨分化的作用。

而 DNA 甲基化及组蛋白修饰等表观遗传学调控对 TOLF 发病的影响,同样有学者进行了探索。日本学者 Chiba 等^[46]发现 WNT5A 和 GDNF 基因启动子区域的 DNA 甲基化水平的降低可以促进脊柱韧带的成骨分化。而 Leptin 可以通过激活 RUNX2 的高表达从而促进 TOLF 患者的黄韧带细胞成骨分化^[33];进一步对其调控机制研究后发现,RUNX2 基因启动子区的组蛋白修饰(组蛋白的乙酰化)参与了该基因的表达调控。在 TOLF 黄韧带成骨过程中,起重要作用的转谷氨酰胺酶-2 的启动子区的组蛋白修饰(组蛋白的甲基化)参与了该基因的表达调控^[34]。

另有早期文献报道退变因素、饮食习惯等也与 TOLF 的发病有关^[1,2,5,6]。肥胖症、糖尿病、强直性脊柱炎、氟骨症、

钙磷代谢异常等代谢性疾病者更易发生 TOLF^[20,33,34]。

5 总结与展望

总之,TOLF 的发病机制复杂多样,生物力学刺激、解剖因素、遗传因素、内分泌和代谢异常、炎性作用及相关分子调控异常等因素均对其发病产生影响。而对易感基因的研究仍然需要多中心大样本量;生物力学应力刺激诱导黄韧带成骨分化的具体机制及动物模型的建立仍待研究;炎症作用及表观遗传学调控逐渐进入 TOLF 的研究中,并引起重视。所以,需把这些复杂的因素联系在一起,深入研究 TOLF 的发病机制,才可为寻找其临床治疗的新方法提供理论支持与依据。

6 参考文献

- Feng FB, Sun CG, Chen ZQ. Progress on clinical characteristics and identification of location of thoracic ossification of the ligamentum flavum[J]. Orthop Surg, 2015, 7(2): 87-96.
- Hou X, Sun C, Liu X, et al. Clinical features of thoracic spinal stenosis-associated myelopathy: a retrospective analysis of 427 cases[J]. Clin Spine Surg, 2016, 29(2): 86-89.
- Wang B, Chen Z, Meng X, et al. iTRAQ quantitative proteomic study in patients with thoracic ossification of the ligamentum flavum[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 487(4): 834-839.
- Mori K, Kasahara T, Mimura T, et al. Prevalence, distribution, and morphology of thoracic ossification of the yellow ligament in Japanese: results of CT-based cross-sectional study [J]. Spine(Phila Pa 1976), 2013, 38(19): E1216-1222.
- Moon BJ, Kuh SU, Kim S, et al. Prevalence, distribution, and significance of incidental thoracic ossification of the ligamentum flavum in Korean patients with back or leg pain: MR-based cross sectional study[J]. J Korean Neurosurg Soc, 2015, 58(2): 112-118.
- Lang N, Yuan HS, Wang HL, et al. Epidemiological survey of ossification of the ligamentum flavum in thoracic spine: CT imaging observation of 993 cases[J]. Eur Spine J, 2013, 22(4): 857-862.
- Kudo S, Ono M, Russell WJ. Ossification of thoracic ligamentum flavum[J]. AJR Am J Roentgenol, 1983, 141(1): 117-121.
- Guo JJ, Luk KD, Karppinen J, et al. Prevalence, distribution, and morphology of ossification of the ligamentum flavum: a population study of one thousand seven hundred thirty-six magnetic resonance imaging scans[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2010, 35(1): 51-56.
- Yang X, Chen Z, Meng X, et al. Angiopoietin-2 promotes osteogenic differentiation of thoracic ligamentum flavum cells via modulating the Notch signaling pathway [J]. PLoS One, 2018, 13(12): e0209300.
- Zhang C, Chen Z, Meng X, et al. The involvement and possible mechanism of pro-inflammatory tumor necrosis fac-

- tor alpha(TNF- α) in thoracic ossification of the ligamentum flavum[J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0178986.
11. Feng F, Sun C, Chen Z. A diagnostic study of thoracic myelopathy due to ossification of ligamentum flavum[J]. Eur Spine J, 2015, 24(5): 947-954.
 12. Zhou SY, Yuan B, Qian C, et al. Evaluation of measuring methods of spinal canal occupation rate in thoracic ossification of ligamentum flavum[J]. World Neurosurg, 2018, 110: e1025-e1030.
 13. Long P, Liu F, Piesco NP, et al. Signaling by mechanical strain involves transcriptional regulation of proinflammatory genes in human periodontal ligament cells in vitro[J]. Bone, 2002, 30(4): 547-552.
 14. Park DA, Kim SW, Lee SM, et al. Symptomatic myelopathy caused by ossification of the yellow ligament [J]. Korean J Spine, 2012, 9(4): 348-351.
 15. Li F, Chen Q, Xu K. Surgical treatment of 40 patients with thoracic ossification of the ligamentum flavum[J]. J Neurosurg Spine, 2006, 4(3): 191-197.
 16. 陈仲强, 孙垂国, 党耕町, 等. 手术治疗胸椎黄韧带骨化症的疗效及其影响因素[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2006, 16(7): 485-488.
 17. Ahn DK, Lee S, Moon SH, et al. Ossification of the ligamentum flavum[J]. Asian Spine J, 2014, 8(1): 89-96.
 18. 宁尚龙, 陈仲强, 马信龙, 等. 胸椎黄韧带骨化基础与临床研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2017, 25(11): 999-1004.
 19. Kaneyama S, Doita M, Nishida K, et al. Thoracic myelopathy due to ossification of the yellow ligament in young baseball pitchers[J]. J Spinal Disord Tech, 2008, 21(1): 68-71.
 20. Fan D, Chen Z, Wang D, et al. Osterix is a key target for mechanical signals in human thoracic ligament flavum cells [J]. J Cell Physiol, 2007, 211(3): 577-584.
 21. Ning S, Chen Z, Fan D, et al. Genetic differences in osteogenic differentiation potency in the thoracic ossification of the ligamentum flavum under cyclic mechanical stress[J]. Int J Mol Med, 2017, 39(1): 135-143.
 22. Cai HX, Yayama T, Uchida K, et al. Cyclic tensile strain facilitates the ossification of ligamentum flavum through beta-catenin signaling pathway: in vitro analysis [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2012, 37(11): E639-646.
 23. 陈仲强, 杨晓曦. 胸椎黄韧带骨化易感基因及蛋白质组学研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2018, 28(6): 562-566.
 24. 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(Phila Pa 1976), 2007, 32(25): 2834-2838.
 25. Meyer MB, Benkusky NA, Pike JW. The RUNX2 cistrome in osteoblasts: characterization, down-regulation following differentiation, and relationship to gene expression [J]. J Biol Chem, 2014, 289(23): 16016-16031.
 26. 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.
 27. Yang IH, Kim H, Kwon UH, et al. De novo osteogenesis from human ligamentum flavum by adenovirus-mediated bone morphogenetic protein-2 gene transfer [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2005, 30(24): 2749-2754.
 28. Tanaka H, Nagai E, Murata H, et al. Involvement of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) in the pathological ossification process of the spinal ligament[J]. Rheumatology(Oxford), 2001, 40(10): 1163-1168.
 29. Qu X, Chen Z, Fan D, et al. Two novel BMP-2 variants identified in patients with thoracic ossification of the ligamentum flavum[J]. Eur J Hum Genet, 2017, 25(5): 565-571.
 30. 赵伟光, 刘振武, 刘利, 等. 胸椎黄韧带骨化症与骨形态发生蛋白 4 基因单核苷酸多态性的关联 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(24): 4376-4380.
 31. 颜廷宾, 张佐伦, 于锡欣, 等. 胸椎黄韧带骨化与 HLA-DQA1 等位基因的相关性研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2002, 10(14): 1402-1404.
 32. Zhong ZM, Chen JT, Zhang Y, et al. Growth/differentiation factor-5 induces osteogenic differentiation of human ligamentum flavum cells through activation of ERK1/2 and p38 MAPK[J]. Cell Physiol Biochem, 2010, 26(2): 179-186.
 33. 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.
 34. 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.
 35. Gerstenfeld LC, Cho TJ, Kon T, et al. Impaired fracture healing in the absence of TNF- α signaling: the role of TNF- α in endochondral cartilage resorption [J]. J Bone Miner Res, 2003, 18(9): 1584-1592.
 36. Balboni TA, Gobeze R, Mamon HJ. Heterotopic ossification: pathophysiology, clinical features, and the role of radiotherapy for prophylaxis[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006, 65(5): 1289-1299.
 37. Lories RJ, Schett G. Pathophysiology of new bone formation and ankylosis in spondyloarthritis[J]. Rheum Dis Clin North Am, 2012, 38(3): 555-567.
 38. Ren L, Hu H, Sun X, et al. The roles of inflammatory cytokines in the pathogenesis of ossification of ligamentum flavum[J]. Am J Transl Res, 2013, 5(6): 582-585.
 39. Vazquez M, Evans BA, Riccardi D, et al. A new method to investigate how mechanical loading of osteocytes controls osteoblasts[J]. Front Endocrinol(Lausanne), 2014, 5: 208.
 40. Cho HH, Shin KK, Kim YJ, et al. NF- κ B activation stimulates osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue by increasing TAZ expression[J]. J Cell Physiol, 2010, 223(1): 168-177.

综述

环状 RNA 在椎间盘退变中的作用研究进展

Research progress of circRNA in mechanism of intervertebral disc degeneration

石鹏志¹, 张亮², 冯新民², 程晓非³, 王俊武², 南利平¹, 王峰¹, 王平川²

(1 大连医科大学研究生院 116044 大连市; 2 扬州大学临床医学院 225001 扬州市;

3 上海交通大学医学院附属第九人民医院 200011 上海市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2020.05.13

中图分类号: Q752 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2020)-05-0468-05

腰痛(low back pain, LBP)目前已成为全球范围内致残的第二大病因,给人们带来了极大的经济负担^[1]。目前 LBP 的具体机制尚未明确,一般认为椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IVDD)是导致腰痛的主要病因^[2]。椎间盘作为人体最大的无血管组织,由中央的髓核、外周的纤维环及上下软骨终板构成。研究^[3-5]发现,IVDD 与多种因素有关;一方面,与椎间盘解剖结构及营养供应具有独特性有关;另一方面,炎症反应、髓核细胞凋亡、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与分解代谢等多种生物过程在 IVDD 的发生、发展过程中扮演着重要的角色。

环状 RNA (circular RNA, circRNA) 是一种非编码 RNA,大量存在于自然界生物中,具有丰富性、保守性及结构稳定性等特征。2013 年 Hansen 等^[6]首先报道 circRNA 含有大量的 miRNA 反应元件,可作为 miRNA 海绵,在转

录后水平通过发挥竞争性内源 RNA (competing endogenous, ceRNA)的作用对靶基因进行调控。已有大量研究^[7-9]证实, circRNA 在心血管疾病、糖尿病以及癌症等疾病的发生、发展中发挥重要作用。2018 年 Cheng 等^[10]首次报道了 circRNA 作为 ceRNA 调控髓核细胞凋亡参与 IVDD。Lan 等^[11]研究证实在退变椎间盘中有 636 个 circRNA 表达显著失调,提示 circRNA 在 IVDD 进展中可能发挥潜在作用。差异表达的 circRNA 在 ECM 合成及分解代谢、髓核细胞凋亡及炎症反应等过程中发挥着重要调节作用。笔者主要就 circRNA 的特点与功能及其所参与 IVDD 的发生机制做如下综述。

1 circRNA 的特点与功能

circRNA 是一种不同于线性 RNA 的内源性非编码 RNA 分子,通过反向剪接所形成共价的闭合环状结构。早在 1976 年, Sanger 等^[12]就在植物类病毒中发现了 circRNA 的存在。随着生物信息学及高通量测序技术的不断成熟和发展, circRNA 的研究逐渐进入了一个崭新时代。

1.1 circRNA 的特点

目前研究发现 circRNA 具有丰富性、保守性及结构稳定性等特点。首先, circRNA 广泛存在于人体体液及细

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81972136);江苏省青年医学重点人才项目(QNRC2016342);江苏省高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才科研项目(LGY2019035)

第一作者简介:男(1995-),硕士研究生在读,研究方向:脊柱外科
电话:(0514)87373342 E-mail:shipz_1995@163.com

通讯作者:张亮 E-mail:zhangliang6320@sina.com

41. 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.
42. Kong D, Zhao Q, Liu W, et al. Identification of crucial miRNAs and lncRNAs for ossification of ligamentum flavum [J]. Mol Med Rep, 2019, 20(2): 1683-1699.
43. Qu X, Chen Z, Fan D, et al. MiR-132-3p regulates the osteogenic differentiation of thoracic ligamentum flavum cells by inhibiting multiple osteogenesis-related genes [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(8): pii: E1370.
44. Qu X, Chen Z, Fan D, et al. MiR-199b-5p inhibits osteogenic differentiation in ligamentum flavum cells by targeting JAG1 and modulating the Notch signalling pathway

[J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(6): 1159-1170.

45. Yang X, Qu X, Meng X, et al. MiR-490-3p inhibits osteogenic differentiation in thoracic ligamentum flavum cells by targeting FOXO1[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(11): 1457-1465.
46. Chiba N, Furukawa K, Takayama S, et al. Decreased DNA methylation in the promoter region of the WNT5A and GDNF genes may promote the osteogenicity of mesenchymal stem cells from patients with ossified spinal ligaments [J]. J Pharmacol Sci, 2015, 127(4): 467-473.

(收稿日期:2019-12-15 修回日期:2020-02-18)

(本文编辑 李伟霞)