

综述

微小 RNA 在椎间盘退变中的作用机制及治疗研究进展

Research progress in mechanism and treatment of microRNA
in intervertebral disc degeneration肖冰¹, 齐军强¹, 王浩田¹, 吴思雨², 王伟恒¹, 许国华¹

(1 海军军医大学第二附属医院脊柱微创中心; 2 皮肤科 200003 上海市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2023.03.13

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2023)-03-0274-07

椎间盘 (intervertebral disc, IVD) 是由髓核 (nucleus pulposus, NP)、纤维环 (annular fibrosus, AF) 及终板软骨 (cartilaginous endplates, CEP) 构成。在生理情况下, IVD 是人体最大的无血管器官, 营养物质只能通过 CEP 的扩散来获取。年龄的增加及机械应力改变等因素会导致 IVD 退变脱水, 并可能伴随着椎间盘血管化及神经植入等现象的发生^[1,2]。腰椎间盘突出 (intervertebral disc degeneration, IDD) 是引起腰痛的主要原因^[3,4]。目前 IDD 的发病机制尚不明确, 遗传、年龄、环境、吸烟、肥胖、糖尿病、高血压、重体力劳动等均是 IDD 的发病因素^[5]。多项研究证实细胞增殖、凋亡、炎症反应、氧化应激、自噬等在 IDD 中发挥着重要作用。微小 RNA (MicroRNA, miRNA) 是一类非编码小分子 RNA, 在真核生物中大量存在, 长度约 18~22 个核苷酸^[6]。miRNA 在人体几乎所有生理及病理活动中均发挥重要作用^[7]。近年来, 大量研究发现 miRNA 与 IDD 密切相关。目前已知的与 IDD 相关的 miRNA 种类繁多, miRNA 与 IDD 的关系错综复杂, 且仍未完全明确。笔者将不同的 miRNA 根据功能种类进行综合描述, 初步明确 miRNA 与 IDD 的关系, 为 IDD 的临床诊断治疗提供新的思路。

1 miRNA 的生物学特性

miRNA 是一类进化上高度保守的单链非编码小分子 RNA, 在真核生物中广泛存在, 主要通过完全或部分碱基配对的方式识别并结合靶基因 mRNA 的 3' 端非翻译区 (3' untranslated regions, 3'UTR), 进而诱导 mRNA 的降解或抑制 mRNA 的翻译, 在控制细胞增殖、分化和凋亡方面发挥着重要作用^[8]。1993 年, Lee 等^[9]首次在秀丽线虫内发现了 miRNA, miRNA 可通过抑制 lin-14 蛋白的表达来调节线

虫发育。随后, 越来越多的研究发现 miRNA 在转录后调控中发挥重要作用。研究发现^[10], 只有成熟的 miRNA 才能发挥其生物学功能, 它可通过与互补靶基因的 mRNA 的未翻译区域结合, 沉默靶基因的表达。miRNA 直接参与人体基因组中至少 30% 的基因调控, 在人体几乎所有生理及病理活动内均发挥重要功能^[11]。

2 miRNA 在 IDD 中的作用及机制

近年来 miRNA 与 IDD 的相关性成了研究热点。大量研究证明, miRNA 的异常表达与 IDD 之间存在明显的相关性, 异常表达的 miRNA 可作为 IDD 诊断的新型标志物。同时, miRNA 可以通过正向或者负向调控细胞凋亡、增殖、自噬、衰老、ECM 代谢及细胞炎症反应等途径参与 IDD 的过程。按功能, miRNA 可分为调控诱发 IDD 和调控抑制 IDD。

2.1 调控诱发 IDD

2.1.1 调控细胞凋亡 细胞凋亡 (apoptosis) 是指机体为维持内环境稳定, 由基因控制的细胞自主有序死亡。细胞凋亡是一个主动的过程, 涉及一系列基因的激活、表达以及调控等, 是为更好地适应生存环境而主动争取的一种死亡过程。目前研究证明^[12], IDD 与细胞凋亡密切相关, 外源性通路和内源性通路均在 IDD 过程中起着重要的作用。

miRNA 可通过调控细胞凋亡在 IDD 中发挥关键作用。研究表明, 通过调控细胞凋亡诱发 IDD 的 miRNA 包括 miR-21、miR-30d、miR-199a-5p、miR-338-3p 和 miR-494 等^[11-16]。Chen 等^[11]分别收集 20 例 IDD 患者和 5 例外伤性脊柱骨折患者的 NP 组织, 发现 miR-21 在 IDD 患者中表达上升, 同时 miR-21 的表达量与 IDD 退变程度呈正相关, miR-21 通过靶向程序性细胞死亡因子 4 (programmed cell death 4, PCD4) 基因促进 NP 细胞凋亡。Lv 等^[12]的研究表明, 退行性 NP 组织中 miR-30d 的表达显著增加, 而抑制 miR-30d 可提高体外培养的 NP 细胞的存活率, 减少细胞的凋亡率。Xia 等^[13]通过对比 IDD 患者与特发性脊柱侧凸患者的 NP 组织, 发现 miR-30d 特异性与叉头盒 O3 (forkhead box O3, FOXO3) 结合, 下调 miR-30d 通过增加

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81772363); 国家自然科学基金青年项目 (82102605)

第一作者简介: 男 (1994-), 硕士研究生在读, 研究方向: 脊柱外科
电话: (021)81885647 E-mail: Dr_xiaobing@163.com

通讯作者: 许国华 E-mail: xuguohuamail@163.com; 王伟恒 E-mail: wangweiheng01@163.com

FOXO3 的表达可抑制 NP 的凋亡。此外,有研究发现^[14]在退变的椎间盘中 miR-199a-5p 的表达水平均明显上调,沉默信息调节因子 1(sirtuin 1,SIRT1)含有 miR-199a-5p 结合位点,提示为 miR-199a-5p 的靶基因。SIRT1 是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide,NAD⁺)依赖性脱乙酰基酶,参与维持基因组稳定、基因调控、细胞凋亡、自噬、衰老、增殖和肿瘤发生等过程,而 p21 在正常细胞中作为一种成熟的细胞周期抑制剂和抗增殖效应物发挥作用。研究显示^[14],miR-199a-5p 通过抑制 SIRT1 依赖的 p21 去乙酰化促进 NP 细胞凋亡,在 IDD 中发挥重要作用。Jiang 等^[15]研究发现,IDD 患者 NP 细胞内 miR-338-3p 的表达显著上调,证明 miR-338-3p 通过直接靶向丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)/细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase,ERK)通路的负调节因子沉默信息调节因子 6(sirtuin 6,SIRT6)加重 IDD 进展。Li 等^[16]通过建立大鼠 IDD 模型,从椎间盘中分离出 NP 细胞,发现 miR-494 的表达在 IDD 大鼠中显著上调;而后通过培养人 NP 细胞验证得出 miR-494 和神经肿瘤腹侧抗原 1(neuro-oncological ventral antigen 1,NOVA1)之间存在靶向关系,miR-494 可通过靶向 NOVA1 调控 NP 细胞凋亡。目前多项研究已证明 miRNA 可以促进 NP 细胞凋亡,进而诱导 IDD 进程,通过抑制相关 miRNA 有利于缓解 IDD。因此,调控细胞凋亡相关 miRNA 可能是未来治疗 IDD 的有效手段。

2.1.2 调控细胞增殖 细胞增殖是生物体的重要生命特征,机体通过细胞分裂的方式产生新细胞,以补充体内衰老和死亡的细胞。但是,在许多病理情况下,外界环境造成某些细胞因子失调,并且通过刺激不同的信号通路导致细胞增殖失控,从而引发疾病。miRNA 通过调控细胞增殖在 IDD 过程中发挥重要作用。通过调控细胞增殖诱发 IDD 的 miRNA 包括 miR-10b、miR-338-3p 和 miR-30d 等^[13,15,17]。Yu 等^[17]通过对比 IDD 患者和特发性脊柱侧凸患者的 NP 组织发现,退行性 NP 组织中 miR-10b 显著上调,miR-10b 通过靶向同源异形盒基因(homeobox gene,HOXD10)抑制 RhoC-蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT)信号通路导致异常的 NP 细胞增殖。Jiang 等^[15]研究发现,IDD 患者的 NP 细胞中 miR-338-3p 的表达显著增加,miR-338-3p 的表达水平与 IDD 的严重程度之间存在正相关,表明 miR-338-3p 显著影响 NP 细胞的增殖。Xia 等^[13]的研究发现,FOXO3 是 miR-30d 的靶基因,下调 miR-30d 的表达可增加 FOXO3 的表达,进而促进 IDD 中 NP 细胞的增殖。说明部分 miRNA 可以抑制正常 NP 细胞增殖,部分 miRNA 可导致异常髓核的增殖,但 miRNA 如何调控 NP 细胞增殖促进 IDD 还需要进一步验证。

2.1.3 调控细胞自噬 自噬是一种依赖溶酶体的细胞分解代谢途径,参与细胞代谢、生长控制、细胞存活和死亡之间的平衡、免疫监控、退化和老化等活动,在维持体内平衡

中发挥着重要作用^[18]。目前研究表明,自噬与 IDD 关系密切,通过调控细胞自噬诱发 IDD 的 miRNA 主要包括 miR-654-5p 和 miR-21 等^[19,20]。Wang 等^[19]研究发现在 IDD 患者的退变 NP 组织中 miR-654-5p 的表达显著上调,IDD 程度越重,miR-654-5p 表达越高。自噬相关基因 7(autophagy associated gene7,ATG7)被证实是 miR-654-5p 的直接下游靶基因,miR-654-5p 可以与 ATG7 的 3'UTR 结合,抑制其 mRNA 表达并进一步降低其翻译水平,研究还证明 miR-654-5p 可通过靶向 ATG7 激活磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)信号通路来抑制自噬^[19]。Wang 等^[20]通过 miRNA 微量分析 IDD 患者 NP 细胞中差异表达的 miRNA,同时利用实时定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction,qRT-PCR)方法检测出 miR-21 表达在退变的 NP 组织中显著增加,荧光素酶报告实验检测并验证激活第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源物基因(homologous deletion phosphatase and tensin on chromosome ten,PTEN)与 miR-21 之间存在靶向联系,证明 miR-21 可通过激活第 10 号染色体缺失的 PTEN/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(protein kinase B/mammalian target of rapamycin,Akt/mTOR)信号通路抑制自噬。说明 miRNA 可调控细胞自噬促进 IDD 的进程,通过抑制相关 miRNA 可能对延缓 IDD 进程起着重要作用,miRNA 调节细胞自噬可能成为一种全新的治疗手段,但相关研究不多,miRNA 与细胞自噬之间的关系仍需要进一步探索。

2.1.4 调控细胞衰老 细胞衰老是指细胞进入相对稳定的细胞周期阻滞状态,在机体内广泛存在并贯穿于整个生命阶段,在肿瘤抑制、胚胎发育、机体衰老及组织修复等方面均发挥重要作用^[21]。IDD 是一个衰老的过程。目前研究表明,通过调控细胞衰老诱发 IDD 的 miRNA 包括 miR-143-5p 和 miR-34a-5p 等^[22,23]。Yang 等^[22]研究发现在退变的椎间盘组织中 miR-143-5p 和衰老 NP 细胞数量均明显增加,miR-143-5p 通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMP activated protein kinase,AMPK)信号通路发挥其功能。Zhu 等^[23]的研究结果显示,人来源的 NP 细胞在接受 TNF- α 处理后,miR-34a-5p 表达显著增高,miR-34a-5p 可引起 NP 细胞的衰老,双荧光素酶检验报告证明 SIRT1 是 miR-34a-5p 的有效结合靶点,SIRT1 过表达可减轻 miR-34a-5p 引起的细胞周期停滞和衰老。

2.1.5 调控 ECM (extracellular matrix,ECM) 代谢 ECM 代谢异常为 IDD 的特征表现,可引起椎间盘发生形态改变,椎间隙变窄,生物力学功能发生改变。目前研究表明,通过调控 ECM 代谢诱发 IDD 的 miRNA 包括 miR-7、miR-15b、miR-30d 和 miR-21 等^[12,20,24,25]。Liu 等^[24]发现与正常对照组相比,miR-7 在人类退行性 NP 组织和 IL-1 β 刺激的 NP 细胞中高度表达,生长分化因子 5(growth dif-

ferentiate factor 5, GDF5) 是 miR-7 的靶标基因, 进一步研究表明 miR-7 介导的 ECM 受损是通过靶向 GDF5 基因发挥功能的。Kang 等^[20]研究证实退行性 NP 组织及和 IL-1 β 刺激的 NP 细胞中 miR-15b 显著升高, miR-15b 通过靶向 SMAD 同源物 3 (mothers against decapentaplegic homolog 3, SMAD3) 促进 IDD 中的 ECM 降解。Lv 等^[12]研究发现在退行性 NP 组织中 miR-30d 的表达显著上调, 其直接靶向 SRY 相关高迁移率族蛋白 9 (SRY-related high-mobility group box 9, SOX9) 的 3'UTR, 抑制 miR-30d 可通过上调 SOX9 来减轻退行性人 NP 细胞的凋亡和 ECM 的降解。Wang 等^[20]报告 miR-21 在退变的 NP 组织中表达显著增加, miR-21 通过 PTEN/Akt/mTOR 信号通路抑制自噬, 进而促进 II 型胶原和聚集蛋白聚糖的分解代谢。说明 miRNA 可以调控 ECM 代谢, 促进 IDD, 抑制相关 miRNA 可以减少 ECM 降解进而延缓 IDD 进程。

2.1.6 调控氧化应激及炎症反应 炎症反应在 IDD 发生的过程中也起到了关键的作用, NP 细胞释放大炎症细胞因子并产生大量氧化应激产物, 这些炎症细胞因子已被证明可促进基质降解并激活宿主免疫反应, miRNA 与炎症反应及氧化应激之间存在密切关系^[26]。目前研究表明, 通过调控氧化应激及炎症反应诱发 IDD 的 miRNA 包括 miR-15a-5p、miR-640、miR-625-5p 和 miR-221 等^[27-30]。Zhang 等^[27]发现 IDD 患者中 miR-15a-5p 表达增加, 而 Sox9 表达降低; 小鼠动物模型进一步研究, 发现 miR-15a-5p 的降低可通过激活核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路升高 Sox9 的表达, 进而抑制 IDD 小鼠 NP 细胞的炎症反应及凋亡。Dong 等^[28]对比了 15 个退行性病变的椎间盘组织及 5 个健康椎间盘组织, 发现 miR-640 在退变 NP 组织中表达水平升高, 炎症环境可通过 NF- κ B 信号通路促进 miR-640 的表达, 同时, miR-640 靶向低密度脂蛋白相关受体 1 (low-density lipoprotein receptor-related protein-1, LRP1) 基因进一步增强 NF- κ B 信号活性, 从而建立了一个正反馈回路。在体外实验采用 miR-640 抑制剂治疗 IDD, 表现出良好的抗炎作用并缓解部分退行性特征^[28]。在许多炎症性疾病中 toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4)/NF- κ B 信号通路在激活调控多种细胞因子的表达中发挥着关键作用。Shen 等^[29]采用微阵列芯片分析 IDD 组织和脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 预处理的细胞中失调的 miRNA, 结果发现 miR-625-5p 的表达显著上调, 进一步研究表明激活 TLR4/NF- κ B 信号通路会诱导促炎细胞因子释放, 从而上调 miR-625-5p 的表达, 导致 I 型胶原 α 1 亚基基因 (collagen type I α 1, COL1A1) 表达下调, 产生 IDD 的病理结果。FOXO 蛋白, 特别是 FOXO3 在抑制氧化应激以及抑制炎症细胞因子起着重要的作用。Penolazzi 等^[30]的研究发现 miR-221 的表达随着退变程度的增加而增加, 进一步研究发现沉默 miR-221 可以导致 FOXO3 高水平表达, 进而减轻 IDD 的严重程度。

2.2 调控抑制 IDD

2.2.1 调控细胞凋亡 细胞凋亡在维持 IVD 组织内环境稳定方面至关重要, 多项研究表明 miRNA 也可通过调控细胞凋亡抑制 IDD 的病理过程。通过调控细胞凋亡抑制 IDD 的 miRNA 包括 miR-25-3p、miR-31-5p、miR-499a-5p 和 miR-573 等^[31-34]。Zhao 等^[31]研究发现在大鼠退行性 NP 细胞中 miR-25-3p 表达下调, 并且证明与 Bcl-2 相互作用的细胞死亡介导因子 (Bcl-2 interacting mediator of cell death, Bim) 是 miR-25-3p 的直接靶标, miR-25-3p 模拟物可减轻经由 IL-1 β 处理后 NP 细胞增殖减少和细胞凋亡增加的现象, Bim 表达上调可显著逆转 miR-25-3p 模拟物产生的效应。Zhou 等^[32]的研究表明, miR-31-5p 是 IDD 的关键调节因子, 其水平在 IDD 中表达下调, 过表达 miR-31-5p 可通过直接作用靶点基质细胞衍生因子-1 (stromal cell-derived factor-1, SDF-1)/趋化因子受体 7 (chemokine receptor 7, CXCR7) 轴过表达来抑制 NP 细胞凋亡。Sun 等^[33]从 19 例 IDD 患者中收集退变 NP 组织, 选择 5 例胸腰椎骨折患者 NP 组织作为正常对照组, 发现退变 NP 组织中 miR-499a-5p 的表达显著下调, 敲除 miR-499a-5p 可促进 NP 细胞凋亡, 进一步证实 miR-499a-5p 通过与性别决定区 Y 相关高迁移率族蛋白 4 (sex determining region Y related high-mobility group box 4, SOX4) 的 3'UTR 结合发挥其重要功能。Wang 等^[34]采用 qRT-PCR 检测特发性脊柱侧凸患者及 IDD 患者的 NP 组织, 在退变的 NP 细胞中 miR-573 的表达显著降低, Bcl-2 相关的 X 基因 (Bcl-2 associated X gene, Bax) 为 miR-573 的靶基因, 过表达 miR-573 可通过下调 Bax 来抑制 NP 细胞凋亡。综上所述, miRNA 可以保护髓核细胞免受凋亡进而抑制 IDD 进展, 细胞凋亡相关 miRNA 可能成为未来 IDD 治疗的重要研究方向。

2.2.2 调控细胞增殖 近年来, 多项研究发现 miRNA 可调控细胞增殖参与 IDD 的抑制过程, 通过调控细胞增殖抑制 IDD 的 miRNA 包括 miR-25-3p、miR-31-5p 和 miR-573 等^[31, 32, 34]。Zhao 等^[31]研究表明 miR-25-3p 在大鼠 IDD 模型中表达显著下调, miR-25-3p 可直接靶向 Bim 促进细胞增殖。Zhou 等^[32]通过 miRNA 微阵列芯片分析及 qRT-PCR 方法检测到 miR-31-5p 在 IDD 中表达下降, miR-31-5p 表达提高可促进 NP 细胞增殖。Wang 等^[34]研究发现退变 NP 细胞中 miR-573 的表达水平下调, 而过表达 miR-573 可显著增加细胞活力并促进细胞增殖。正常 NP 细胞的数量减少是 IDD 进展的重要原因之一, 过表达相关 miRNA 可能有利于改善 IDD。

2.2.3 调控细胞自噬 通过调控细胞自噬的方式抑制 IDD 的 miRNA 包括 miR-155-3p 和 miR-153-3p 等^[35, 36]。Zhou 等^[35]研究发现 IDD 中的 NP 细胞 miR-155-3p 表达降低, 同时, 提高 miR-155-3p 的表达可促进 NP 增殖和自噬, 抑制 NP 细胞的凋亡; 上调 miR-155-3p 可通过抑制低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF1 α) 促进 IDD 中 NP 细胞的增殖、自噬和抑制凋亡。Wang 等^[36]发现

IDD 患者的 NP 组织中 miR-153-3p 表达明显下调,miR-153-3p 通过靶向自噬相关基因 5 (autophagy associated gene5, ATG5) 抑制自噬及 IDD 的发生。但 miRNA 与细胞自噬在 IDD 中的作用目前尚不明确,进一步研究对理解自噬在 IDD 中的作用至关重要。

2.2.4 调控细胞衰老 IDD 是一种细胞介导的、具有年龄依赖性和遗传依赖性的异常分子变性过程,其中 NP 细胞衰老起着关键作用。研究表明,通过调控细胞衰老抑制 IDD 的 miRNA 包括 miR-4769-5p 和 miR-129-5p 等^[37,38]。Wang 等^[37]发现,miR-4769-5p 在 IDD 中的表达降低;miR-4769-5p 可直接靶向 Hepsin 基因 (Hepsin, HPN),过表达 miR-4769-5p 可抑制 HPN 表达进而抑制 NP 细胞衰老,促进 NP 细胞活力,同时促进 ECM 合成。Zhou 等^[38]收集了青少年特发性脊柱侧凸和 IDD 患者的腰椎 NP 组织进行对比,发现退变的 NP 组织中 miR-129-5p 呈低表达;miR-129-5p 靶向下调 MAPK1 表达,miR-129-5p 过表达可以抑制 NP 细胞的衰老。表明衰老的 NP 细胞易加速 IDD 的进程,通过 miRNA 调节 NP 细胞的活力可能成为治疗 IDD 的有效方法之一。

2.2.5 调控 ECM 代谢 miRNA 可以维持 ECM 代谢稳态并抑制 IDD 的过程。目前研究表明,通过调控 ECM 代谢抑制 IDD 的 miRNA 包括 miR-93、miR-193a-3p、miR-27b 和 miR-98 等^[39-42]。Jing 等^[39]通过定量 RT-PCR 研究退变 NP 组织中 miR-93 的水平,结果显示在 IDD 的 NP 组织中 miR-93 表达显著下调,且其表达水平与 IDD 程度呈负相关;基质金属蛋白酶 3 (matrix metalloproteinase 3, MMP3) 被确定为 miR-93 的靶标,miR-93 可通过靶向 MMP3 介导导致 NP 细胞 II 型胶原异常表达,进而参与 IDD。Ji 等^[40]研究发现,miR-193a-3p 在退变性 NP 组织中显著下调,荧光素酶报告基因检测和蛋白质印迹显示 miR-193a-3p 与 MMP14 之间存在直接靶向联系,下调 miR-193a-3p 可以诱导 MMP14 的表达,从而导致 II 型胶原蛋白的丢失,推动 IDD 的发展。Li 等^[41]对比 IDD 患者与腰椎骨折患者的 NP 组织发现,退行性 NP 组织中 miR-27b 表达显著下调,生物信息学分析证明 MMP13 为 miR-27b 的靶向基因,且 MMP13 的表达与退变性 NP 组织中的 miR-27b 表达呈负相关;下调 miR-27b 可通过直接靶向 MMP13 而诱导 II 型胶原蛋白丢失,最终导致 IDD 的发生。Ji 等^[42]研究表明 miR-98 表达水平与 IDD 程度呈负相关且在退变性 NP 组织中显著下调,miR-98 是通过白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)/转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 信号通路发挥其重要功能。说明 miRNA 可调控 ECM 代谢抑制 IDD,通过过表达相关 miRNA 可调节 ECM 代谢从而延缓 IDD 的进展。

2.2.6 调控氧化应激及炎症反应 抑制炎症过程也是 miRNA 抑制 IDD 进展的重要机制。通过调控氧化应激及炎症反应抑制 IDD 的 miRNA 包括 miR-146a、miR-149、miR-181a 和 miR-155-5p 等^[43-46]。Lv 等^[43]通过分析外周血

单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 中 miR-146a 表达,发现 miR-146a 在 IDD 患者的 PBMC 中表达显著下降,同时过表达 miR-146a 可显著降低 LPS 刺激后 NP 细胞中促炎细胞因子的水平,证实过表达 miR-146a 可以通过肿瘤坏死因子受体 (tumor necrosis factor receptor-associated factor, TRAF)/NF- κ B 通路抑制 IDD。Qin 等^[44]报告 LPS 作用于 NP 细胞后,miR-149 表达显著降低,miR-149 的过表达逆转了 LPS 对蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白的抑制作用,并减弱了 LPS 对 MMP3、金属蛋白酶域蛋白 4 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 4, ADAMTS4) 和炎性细胞因子水平的促进作用,并证明 miR-149 是通过靶向 NP 细胞中的 MyD88 发挥其功能的。Sun 等^[45]通过建立小鼠 IDD 模型发现 miR-181a 的表达在 IDD 小鼠中明显下调,上调 miR-181a 可通过抑制 IDD 小鼠中的肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 进而使 ERK 通路失活,从而抑制炎症反应发生。Divi 等^[46]研究发现在 IDD 患者的血清中 miR-155-5p 显著下调,而促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-6 显著升高,miR-155-5p 可作为退变性脊柱疾病的诊断标志物。证明氧化应激及炎症反应是 IDD 进展中的关键因素,miRNA 可以调控 IDD 过程氧化应激及炎症反应,研究 miRNA 与氧化应激及炎症反应之间的关系也将会是未来研究重要方向。

3 miRNA 治疗 IDD

研究发现 miRNA 无论在正常发育,还是在各种疾病 (包括癌症、IVD 退变) 中均发挥着关键作用。随着越来越多 IDD 相关的 miRNA 发现及其生物学功能验证,miRNA 转化为临床治疗的可能性逐渐成为研究热点,人们开始着手研发治疗 IDD 的 miRNA 药物。

3.1 治疗目标

miRNA 治疗的总体目标是修饰和理想地逆转病理性 miRNA 表达变化。这包括作为病理抑制因子的内源性 miRNA 的增强或重构以及作为病理驱动因素的 miRNA 的表达减少或功能阻断。为了调节 miRNA 水平,通常使用合成 miRNA (miRNA 模拟物)、携带 miRNA 编码序列的重组表达载体和基于寡核苷酸的 miRNA 抑制剂 (抗 miR) 等进行 miRNA 相关的治疗。

3.2 治疗策略

由于核酸的疏水性和负电性,细胞膜对包括 miRNA 在内的核酸具有低渗透性^[47]。优化 miRNA 药物传递方式是现阶段研究热点,目前已经开发了多种策略来改善 IDD 的 miRNA 相关。

3.2.1 病毒载体方案 目前,通过病毒载体进行 miRNA 传递优化而进行靶向治疗是一种常见的手段,采用的病毒传递系统通常包括慢病毒、腺病毒和腺相关病毒等。Yue 等^[48]开发了一种通过慢病毒载体针对生存素-转化生长因子 β 3-基质金属蛋白酶抑制剂-1 (survivin-recombinant

transforming growth factor beta 3-tissue inhibitors of metalloproteinase 1, survivin-TGFB3-TIMP1) 基因治疗, 研究结果显示, 慢病毒载体通过靶向 Survivin-TGFB3-TIMP1, 可以明显延缓退变性椎间盘的变化。尽管病毒系统具有传染效率高的优势, 但因其具有较高的免疫原性而存在安全隐患, 致使其在临床应用上受到了一定的限制, 这也是目前研究所关注的热点问题。

3.2.2 非病毒载体方案 为了更安全更有效开展 miRNA 治疗, 目前已开发出多种非病毒类载体, 包括: 脂质体载体、干细胞、细胞外囊泡、纳米载体以及聚合物载体等。Cui 等^[49]研究发现 miR-129-5p 在 IDD 后的 NP 组织中表达下调, 其构建了可递送 miR-129-5p 的间充质干细胞衍生的细胞外囊泡, 研究结果表明携带 miR-129-5p 间充质干细胞衍生的细胞外囊泡可通过靶向富亮氨酸 α -2 糖蛋白-1 (leucine rich- α -2-glycoprotein-1, LRG1) 和抑制 p38/MAPK 信号通路来抑制 IDD。近年来随着纳米材料、聚合物材料的高速发展, 研制出 miRNA 靶向以及具有特殊响应性的材料。Huang 等^[50]通过研究正常和退变的 NP 组织, 发现 miRNA-25-3p 显著降低, 双荧光素酶报告基因证实金属调节转录因子 1 (metal regulatory transcription factor 1, MTF1) 是 miRNA-25-3p 的潜在靶标, miRNA-25-3p 可以通过 MTF1 抑制 IL-1 β 的作用和 ECM 降解酶的表达, 恢复 ECM 蛋白的表达。基于此, 他们开发了热响应聚合物载体, 可以有效地将 miRNA-25-3p 递送到 NP 细胞中; 动物研究表明, 热响应载体通过递送 miRNA-25-3p 可以明显延缓 IDD 的进展。但非病毒的 miRNA 药物的传递效率较低, 后续仍需要开发出安全高效的适应于 IDD 的 miRNA 药物传递方式。

4 小结

研究发现多种 miRNA 参与了 IDD 的发病过程, miRNA 可有多个靶向的基因并通过多条途径参与 IDD 的发生发展, IDD 的决定性因素目前尚未明确。有关 miRNA 的生物治疗研究大多数仍停留在动物模型验证阶段, 用于治疗 IDD 的 miRNA 相关的靶向药物仍需要进行大型动物和 I 期/II 期临床试验, 综合评估其有效性和安全性, 距离真正的临床应用还有很大的距离。

5 参考文献

- Molladavoodi S, Memorran J, Gregory D. Mechanobiology of annulus fibrosus and nucleus pulposus cells in intervertebral discs[J]. *Cell Tissue Res*, 2020, 379(3): 429-444.
- Chen C, Jiang X, Zhao W, et al. Dual role of resveratrol in modulation of genotoxicity induced by sodium arsenite via oxidative stress and apoptosis[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 59: 8-17.
- Lyu F, Cheung KM, Zheng Z, et al. IVD progenitor cells: a new horizon for understanding disc homeostasis and repair [J].

- Nat Rev Rheumatol, 2019, 15(2): 102-112.
- Hartvigsen J, Hancock MJ, Kongsted A, et al. What low back pain is and why we need to pay attention [J]. *The Lancet*, 2018, 391(10137): 2356-2367.
- Teraguchi M, Yoshimura N, Hashizume H, et al. Progression, incidence, and risk factors for intervertebral disc degeneration in a longitudinal population-based cohort: the Wakayama Spine Study[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(7): 1122-1131.
- Beylerli O, Gareev I, Sufianov A, et al. The role of microRNA in the pathogenesis of glial brain tumors [J]. *Noncoding RNA Res*, 2022, 7(2): 71-76.
- Carregal-Romero S, Fadón L, Berra E, et al. MicroRNA nanotherapeutics for lung targeting: insights into pulmonary hypertension[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3253.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14[J]. *Cell*, 1993, 75(5): 843-854.
- Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, et al. Control of translation and mRNA degradation by MicroRNAs and siRNAs [J]. *Genes Dev*, 2006, 20(5): 515-524.
- Ni L, Wei Y, Pan J, et al. Shedding new light on methylmercury-induced neurotoxicity through the crosstalk between autophagy and apoptosis[J]. *Toxicol Lett*, 2022, 359: 55-64.
- Chen B, Huang SG, Ju L, et al. Effect of microRNA-21 on the proliferation of human degenerated nucleus pulposus by targeting programmed cell death 4[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2016, 49(6): e5020.
- Lv J, Li S, Wan T, et al. Inhibition of microRNA-30d attenuates the apoptosis and extracellular matrix degradation of degenerative human nucleus pulposus cells by up-regulating SOX9[J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 296: 89-97.
- Xia P, Gao X, Li F, et al. Down-regulation of microRNA-30d alleviates intervertebral disc degeneration through the promotion of FOXO3 and suppression of CXCL10[J]. *Calcif Tissue Int*, 2021, 108(2): 252-264.
- Sun Y, Wang X, Fu G, et al. RETRACTED: MicroRNA-199a-5p accelerates nucleus pulposus cell apoptosis and IVDD by inhibiting SIRT1-mediated deacetylation of p21[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 28: 534.
- Jiang H, Moro A, Wang J, et al. MicroRNA-338-3p as a novel therapeutic target for intervertebral disc degeneration [J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(9): 1356-1365.
- Li L, Zhang L, Zhang Y. Roles of miR-494 in intervertebral disk degeneration and the related mechanism[J]. *World Neurosurg*, 2018, S1878-8750(18)32921-8.
- Yu X, Li Z, Shen J, et al. MicroRNA-10b promotes nucleus pulposus cell proliferation through RhoC-Akt pathway by targeting HOXD10 in intervertebral disc degeneration[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83080.
- 刘方煜, 范一鸣, 张洪宇, 等. 脊髓损伤中自噬的研究进展

- [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2021, 31(4): 360–364.
19. Wang S, Guo Y, Zhang X, et al. miR-654-5p inhibits autophagy by targeting ATG7 via mTOR signaling in intervertebral disc degeneration[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6): 444.
 20. Wang WJ, Yang W, Ouyang ZH, et al. MiR-21 promotes ECM degradation through inhibiting autophagy via the PTEN/akt/mTOR signaling pathway in human degenerated NP cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 725–734.
 21. Guan L, Crasta KC, Maier AB. Assessment of cell cycle regulators in human peripheral blood cells as markers of cellular senescence[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 78: 101634.
 22. Yang Q, Guo XP, Cheng YL, et al. MicroRNA-143-5p targeting eEF2 gene mediates intervertebral disc degeneration through the AMPK signaling pathway[J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1): 97.
 23. Zhu H, Sun B, Zhu L, et al. N6-methyladenosine induced miR-34a-5p promotes TNF- α -induced nucleus pulposus cell senescence by targeting SIRT1[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 642437.
 24. Liu W, Zhang Y, Xia P, et al. MicroRNA-7 regulates IL-1 β -induced extracellular matrix degeneration by targeting GDF5 in human nucleus pulposus cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 83: 1414–1421.
 25. Kang L, Yang C, Yin H, et al. MicroRNA-15b silencing inhibits IL-1 β -induced extracellular matrix degradation by targeting SMAD3 in human nucleus pulposus cells [J]. *Biotechnol Lett*, 2017, 39(4): 623–632.
 26. Cazzanelli P, Wuertz-Kozak K. MicroRNAs in intervertebral disc degeneration, apoptosis, inflammation, and mechanobiology[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3601.
 27. Zhang S, Song S, Zhuang Y, et al. Role of microRNA-15a-5p/Sox9/NF- κ B axis in inflammatory factors and apoptosis of murine nucleus pulposus cells in intervertebral disc degeneration[J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119408.
 28. Dong W, Liu J, Lv Y, et al. miR-640 aggravates intervertebral disc degeneration via NF- κ B and WNT signalling pathway[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(5): e12664.
 29. Shen L, Xiao Y, Wu Q, et al. TLR4/NF- κ B axis signaling pathway-dependent up-regulation of miR-625-5p contributes to human intervertebral disc degeneration by targeting COL1A1[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(3): 1374–1388.
 30. Penolazzi L, Lambertini E, Bergamin LS, et al. MicroRNA-221 silencing attenuates the degenerated phenotype of intervertebral disc cells[J]. *Ageing (Albany NY)*, 2018, 10(8): 2001–2015.
 31. Zhao Z, Zheng J, Ye Y, et al. MicroRNA-25-3p regulates human nucleus pulposus cell proliferation and apoptosis in intervertebral disc degeneration by targeting Bim[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(5): 3621–3628.
 32. Zhou Y, Deng M, Su J, et al. The Role of miR-31-5p in the development of intervertebral disc degeneration and its therapeutic potential [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 633974.
 33. Sun JC, Zheng B, Sun RX, et al. MiR-499a-5p suppresses apoptosis of human nucleus pulposus cells and degradation of their extracellular matrix by targeting SOX4 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 113: 108652.
 34. Wang R, Wen B, Sun D. miR-573 regulates cell proliferation and apoptosis by targeting Bax in nucleus pulposus cells[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 2.
 35. Zhou X, Li J, Teng J, et al. microRNA-155-3p attenuates intervertebral disc degeneration via inhibition of KDM3A and HIF1 α [J]. *Inflamm Res*, 2021, 70(3): 297–308.
 36. 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]. *J Cell Physiol*, 2019, 234 (5): 7115–7127.
 37. Wang X, Li D, Wu H, et al. LncRNA TRPC7-AS1 regulates nucleus pulposus cellular senescence and ECM synthesis via competing with HPN for miR-4769-5p binding [J]. *Mech Ageing Dev*, 2020, 190: 111293.
 38. Zhou M, He SJ, Liu W, et al. EZH2 upregulates the expression of MAPK1 to promote intervertebral disc degeneration via suppression of miR-129-5p[J]. *J Gene Med*, 2022, 24(3): e3395.
 39. Jing W, Jiang W. MicroRNA-93 regulates collagen loss by targeting MMP3 in human nucleus pulposus cells [J]. *Cell Prolif*, 2015, 48(3): 284–292.
 40. Ji ML, Zhang XJ, Shi PL, et al. Downregulation of microRNA-193a-3p is involved in intervertebral disc degeneration by targeting MMP14[J]. *J Mol Med(Berl)*, 2016, 94(4): 457–468.
 41. Li HR, Cui Q, Dong ZY, et al. Downregulation of miR-27b is involved in loss of type II collagen by directly targeting matrix metalloproteinase 13 (MMP13) in human intervertebral disc degeneration[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2016, 41(3): E116–E123.
 42. Ji ML, Lu J, Shi PL, et al. Dysregulated miR-98 contributes to extracellular matrix degradation by targeting IL-6/STAT3 signaling pathway in human intervertebral disc degeneration[J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(4): 900–909.
 43. Lv F, Huang Y, Lv W, et al. MicroRNA-146a ameliorates inflammation via TRAF6/NF- κ B pathway in intervertebral disc cells[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 659–664.
 44. Qin C, Lv Y, Zhao H, et al. MicroRNA-149 suppresses inflammation in nucleus pulposus cells of intervertebral discs by regulating MyD88[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 4892–4900.
 45. Sun Y, Shi X, Peng X, et al. MicroRNA-181a exerts anti-inflammatory effects via inhibition of the ERK pathway in mice with intervertebral disc degeneration[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3): 2676–2686.

综述

颈椎间盘置换术后椎体前缘骨吸收的研究进展

Research progress of anterior bone loss after cervical disc replacement

彭俊木¹, 朱建华¹, 李磊¹, 刘玉刚¹, 林斌¹, 钟伟洋²

(1 重庆市第九人民医院脊柱外科 400700 重庆市; 2 重庆医科大学附属第一医院骨科 400016 重庆市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2023.03.14

中图分类号: R681.5, R687.3, R619 文献标识码: A

文章编号: 1004-406X(2023)-03-0280-05

在颈椎间盘退变性疾病的治疗中, 颈椎间盘置换(cervical disc replacement, CDR) 是一种可以保留颈椎活动度的技术, 相比于传统的颈椎前路间盘切除融合术(anterior cervical discectomy and fusion, ACDF), 其可以降低相邻节段颈椎间盘所受压力, 更好地模拟颈椎的生理状态^[1-3]。然而, 随着 CDR 技术的广泛使用, 其相关并发症的也报道也越来越多, 主要包括颈椎节段性后凸、异位骨化、骨溶解、假体移位及下沉等^[4-10]。近年来, 多位学者关注到 CDR 后椎体前缘骨吸收 (anterior bone loss, ABL) 是 CDR 后的一种并发症^[11, 12], 发病率约为 44%~64%^[13]。可见 ABL 是 CDR 术后一种常见的并发症。故笔者对 CDR 后 ABL 做一综述, 旨在对其临床治疗及研究提供参考。

1 ABL 的发病机制

ABL 是指在 CDR 后出现的置换节段椎体前缘出现的骨质吸收现象。在 ABL 的发展过程中, 众多研究者提出了不同的发病机制理论, 虽然这些理论各自解释了一部分可能的发病机制, 但又各有缺陷, 对 ABL 的发病机制目前

尚未达成共识。

1.1 应力屏蔽理论

多数学者认为应力屏蔽在 ABL 的发展中起着重要作用, 由于 CDR 后保留了患者的颈椎活动度, 颈椎生理曲度处于前凸状态, 置换的椎间盘壳角(人工椎间盘上、下内表面之间的夹角)向后成角, 故在 CDR 后应力集中于置换节段后方, 而前方则处于低应力状态, 根据 Wolf 理论, 低应力区域则出现骨重塑吸收, 且有研究发现壳角越大越容易出现骨吸收^[5, 14-16]。Kuo 等^[17]对 41 例 CDR 后的患者研究发现, 术后 ABL 程度越重的患者其颈椎前凸角越大, CDR 后颈椎前凸角较术前增大的患者 ABL 程度较重, 这进一步支持了应力屏蔽理论。此外, 颈椎屈曲时, 后方韧带结构限制屈曲活动, 而由于前纵韧带已切除, 所以在颈椎伸展时无这类韧带限制结构, 故原本可以经前纵韧带传递的应力消失, 这可能进一步加重置换椎间盘前后方受力不均^[4]。Heo 等^[15]对 ABL 患者行 CT 扫描发现骨吸收的椎体有着完整的骨皮质, 种植体周围并未出现溶骨性改变, 因此他们认为 ABL 是一种骨的重塑过程而非骨质溶解。Wang 等^[18]提出, CDR 术后 ABL 和该处的异位骨化可能是两种相对的现象, 其研究发现, 置换间盘的壳角成角方向不同预示着椎体前方不同的受力情况, 其向后成角时椎体前方应力低而出现骨吸收, 相反向前成角时则椎体前方发生异位骨化, 这提示了异位骨化和骨吸收均可能是一种骨重塑过

第一作者简介: 男(1995-), 医学硕士, 研究方向: 脊柱外科

电话: (023)68288011 E-mail: pengjmydb@163.com

通讯作者: 林斌 E-mail: linbindoc@163.com; 钟伟洋 E-mail: 492467112@qq.com

46. Divi SN, Markova DZ, Fang T, et al. Circulating miR-155-5p as a novel biomarker of lumbar degenerative disc disease [J]. Spine(Phila Pa 1976), 2020, 45(9): E499-E507.

47. Diener C, Keller A, Meese E. Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic[J]. Trends Genet, 2022, 38(6): 613-626.

48. Yue B, Lin Y, Ma X, et al. Survivin-TGFB3-TIMP1 gene therapy via lentivirus vector slows the course of intervertebral disc degeneration in an in vivo rabbit model [J]. Spine(Phila Pa 1976), 2016, 41(11): 926-934.

49. Cui S, Zhang L. microRNA-129-5p shuttled by mesenchy-

mal stem cell-derived extracellular vesicles alleviates intervertebral disc degeneration via blockade of LRG1-mediated p38 MAPK activation [J]. J Tissue Eng, 2021, 12: 1758511983.

50. Huang Y, Huang L, Li L, et al. MicroRNA-25-3p therapy for intervertebral disc degeneration by targeting the IL-1 β /ZIP8/MTF1 signaling pathway with a novel thermo-responsive vector[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(22): 1500.

(收稿日期: 2022-05-23 末次修回日期: 2022-10-09)

(本文编辑 姜雅浩)