

综述

DNA 甲基化调控椎间盘退变的研究进展

Research progress on DNA methylation regulating intervertebral disc degeneration

郑振中, 王冰, 李亚伟, 李磊, 戴瑜亮

(中南大学湘雅二医院脊柱外科 410011 长沙市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2023.12.09

中图分类号: R681.5, R34 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2023)-12-1128-05

腰痛(low back pain, LBP)是一个全球性的公共健康问题^[1]。腰痛可引起躯体功能障碍和生活质量下降,造成家庭和社会极大的经济负担^[2]。LBP 的原因众多,约有 40%的 LBP 由椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IVDD)引起^[3]。椎间盘的中央为髓核,外侧包绕纤维环,上下方为软骨终板。正常椎间盘无血管和神经,营养物质通过软骨终板的渗透作用提供。IVDD 始于髓核,由于髓核细胞合成蛋白聚糖减少,细胞外基质中纤维组织比例增加,髓核吸收水分的能力下降,髓核内渗透压逐渐降低,椎间隙高度难以维持,导致脊柱正常活动度和稳定性受损^[4-5]。目前,IVDD 的机制尚不明确,已有研究表明其与椎间盘细胞的凋亡、衰老、自噬、炎症反应、细胞外基质的代谢失衡等相关^[6-7]。近年来,表观遗传学已经成为 IVDD 的重要研究方向,包括 DNA 甲基化、RNA 甲基化(N6-methyladenosine, m6A)、组蛋白修饰等^[8-10]。研究表明,将敲除富含半胱氨酸型酸性蛋白(secreted protein acidic and cysteine rich, SPARC)基因的小鼠作为腰痛模型^[11],通过自发运动可以降低退变椎间盘的总体甲基化水平,改善 IVDD 引起的腰痛症状^[12]。DNA 甲基化作为重要的表观遗传修饰方式影响 IVDD 的病理过程,在此,笔者就 DNA 甲基化参与 IVDD 的研究进展综述如下。

1 DNA 甲基化修饰

DNA 甲基化(DNA methylation)是指基因组 DNA 在甲基化转移酶(DNA-methyltransferases, DNMTs)的作用下,基因组 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 5'碳位和甲基基团共价结合。DNA 甲基化可以影响 DNA 的构象、稳定性以及 DNA 与蛋白质的结合,从而调控基因的转录过程^[13]。研究

表明,启动子区域的高甲基化可以抑制基因的表达,一方面 CpG 位点甲基化直接干扰 DNA 调控区与转录因子的结合,另一方面甲基化的 DNA 与甲基化 CpG 结合区蛋白如甲基 CpG 结合蛋白 2(methyl-CpG binding protein 2, MeCP2)特异结合形成复合物,限制了转录因子到达它们结合部位的通道,从而抑制基因表达;相反,启动子区的去甲基化可以促进基因的表达^[14]。还有研究表明,DNA 甲基化的异常与髓核细胞凋亡、自噬、代谢等失衡相关^[10,11,15-20](表 1)。

2 DNA 甲基化在退变髓核中的表达

高通量测序广泛应用于 DNA 甲基化位点的筛查,Ikuno 等^[21]首次应用 Illumina Infinium Methylation EPIC 850K Bead Chip 芯片技术检测椎间盘 DNA 甲基化表达谱,包括 8 例退变髓核和 8 例正常髓核;甲基化位点差异分析发现 4 个高甲基化位点和 216 个低甲基化位点,并且注释到了 187 个功能基因;其中多个甲基化差异基因与调控 IVDD 进程的通路相关,如细胞凋亡募集结构域蛋白 14(caspase recruitment domain family member 14, CARD14)、螺旋-环-螺旋拓扑结构域蛋白 D2(EF-hand domain family member D2, EFHD2)和 Rhotekin2 蛋白(RTKN2)可通过调控核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)通路参与 IVDD 进程^[22-24],丝裂原活化蛋白激酶 5(MAPK activated protein kinase 5, MAPKAPK5)和蛋白激酶 C ξ 亚型(protein kinase C zeta, PRKCZ)可影响丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)通路,介导髓核的分解代谢^[25,26],而无翅基因 5a(Wnt family member 5A, WNT5A)通过激活 β -catenin 依赖的 Wnt 通路可调控髓核细胞的炎症反应^[27,28];进一步对差异甲基化基因进行功能富集分析,发现差异基因与细胞粘附相关。还有文献报道髓核细胞整合素和细胞外基质蛋白受体通过细胞粘附的方式发生交互作用,从而影响细胞的生存和基质代谢,参与 IVDD 进程^[29,30]。

Ikuno 等^[21]通过 DNA 甲基化芯片表达谱分析并未发

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81871748);湖南省自然科学基金面上项目(2021JJ30938);湖南省重点研发项目(2021SK2002);湖南省卫生健康委重点项目(202204073640)

第一作者简介:男(1991-),博士研究生在读,研究方向:脊柱外科
电话:(0731)85295125 E-mail: zzz_spine@csu.edu.cn

通讯作者:王冰 E-mail: bingwang20021972@aliyun.com

现与髓核细胞分解代谢和合成代谢直接相关的蛋白酶基因存在差异甲基化位点,也未发现与炎症反应因子、细胞衰老相关基因等直接相关的差异甲基化位点。因此,DNA 甲基化可能通过调控 NF- κ B 通路、MAPK 通路和 Wnt 通路等间接参与髓核退变的调控。

3 DNA 甲基化参与髓核退变的机制

3.1 DNA 甲基化与髓核细胞凋亡

细胞凋亡又称 I 型程序性细胞死亡,以染色体浓缩、细胞萎缩、DNA 降解和凋亡小体形成为特征。有证据表明,细胞凋亡不仅存在于多种生理过程中,还涉及许多病理变性疾病,如骨关节炎^[31]、神经变性^[32]等。目前,凋亡引起的髓核细胞数量减少被认为是 IVDD 的重要机制^[33,34]。髓核细胞通过合成细胞外基质,构成椎间盘的重要组成部分与力学功能单元,髓核细胞的凋亡会引起细胞外基质合成减少,诱发细胞外基质合成代谢与分解代谢的失衡,导致椎间盘失去外力负荷下的结构稳定性^[35,36]。

2021 年,Luo 等^[15]通过构建大鼠 IVDD 模型,利用逆转录定量聚合酶链反应(real-time polymerase chain reaction,RT-qPCR)和蛋白免疫印迹(western blot,WB)检测,发现退变髓核 DNA 甲基化转移酶 3B (DNA methyltransferase 3B, DNMT3B)表达水平下降,上调 DNMT3B 的表达可促进髓核细胞增殖,合成代谢指标聚蛋白多糖和 II 型胶原蛋白表达增加,分解代谢指标基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)合成减少;焦磷酸测序(methylation-specific PCR, MSP)检测证实 DNMT3B 对瞬时受体电位离子通道蛋白(transient receptor potential cation channel subfamily A member 1, TRPA1)启动子区域进行高甲基化修饰,导致 TRPA1 表达量下降;上调 TRPA1 后,炎症分子环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)也上调;进一步研究发现 COX2 可以调控 Yes 相关转录调控因子(yes associated transcriptional regulator, YAP)/河马信号通路(Hippo),促进髓核细胞的增殖。该研究最终得出结论,退变髓核细胞中 DNA 甲基化酶 DNMT3B 低表达,导致 TR-

PA1 启动子区去甲基化,TRPA1 表达增高,激活了 COX2/YAP 轴,引起髓核细胞凋亡增加,合成代谢降低而分解代谢增强,出现 IVDD。此外,Hiyama 等^[20]在低氧分压下检测到髓核细胞中抗衰老基因 Klotho 表达减少而 Wnt 通路被激活;过表达 Klotho 后髓核细胞增殖上调,合成代谢标志物 II 型胶原和聚蛋白多糖表达增加;通过激活和抑制 Wnt 通路,检测到 Klotho 表达分别是下降和增加;使用亚硫酸氢钠测序法(bisulfite sequencing PCR, BSP)检测之后,发现 Klotho 启动子区域在 Wnt 通路激活状态下为低甲基化,表明 Wnt 通路是通过调控 Klotho 基因的甲基化状态影响 Klotho 基因的转录发挥作用。因此,该研究揭示髓核细胞在低氧条件下,Wnt 通路激活,Klotho 表达减少,髓核细胞增殖受到抑制。

DNA 甲基化不仅调控功能基因的转录,也可以调控非编码 RNA 的转录,影响髓核细胞的增殖和凋亡。Li 等^[16]首先采用长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA)芯片技术,筛选出退变髓核中异常高表达的 lncPolE,在细胞实验中过表达和敲减 lncPolE,发现 DNA 聚合酶 E1 (DNA polymerase epsilon1, PolE1)的表达受到负性调控,并且髓核细胞的凋亡水平发生改变。使用去甲基化药物 5 氮杂胞苷(5-azacytidine, 5-Aza)后,lncPolE 启动子区 CpG 岛甲基化水平下降,lncPolE 表达量增加,从而抑制了 PolE 的转录,促进髓核细胞凋亡。同样,Zhao 等^[10]发现 miRNA-143 在退变的髓核中高表达,而 B 淋巴细胞瘤-2 基因(BCL2 apoptosis regulator, BCL2)低表达,二者表达量呈负相关;在髓核细胞中过表达 miRNA-143 后,BCL2 的表达量下降,流式细胞术检测到髓核细胞凋亡增加;MSP 检测发现 miRNA-143 的启动子区域低甲基化,去甲基化之后 miRNA-143 表达增加,促进髓核细胞的凋亡。上述结果表明启动子区低甲基化促进 miRNA-143 表达,通过诱发 BCL2 mRNA 的降解,促进髓核细胞的凋亡。此外,Kang 等^[17]发现退变髓核 miR-494 表达上调,过表达 miR-494 后髓核细胞的合成代谢标志物 II 型胶原蛋白和蛋白聚糖表达量下降,分解代谢标志物基质金属蛋白酶 3(matrix

表 1 DNA 甲基化调节 IVDD 的机制

作者	甲基化水平	调控基因	表达趋势	调控机制	参与途径
Zhao 等 ^[10]	低	miRNA-143	增加	低甲基化—miRNA-143—BCL2—NF- κ B	凋亡、增殖、代谢
Tajerian 等 ^[11]	高	SPARC	减少	高甲基化—SPARC	退变
Luo 等 ^[15]	低	TRPA1	增加	DNMT3B 下调—低甲基化—TRPA1—COX2/YAP	凋亡、代谢
Li 等 ^[16]	低	lncPolE	增加	去甲基化—lncPolE—DNA 聚合酶(PolE)	凋亡、代谢
Kang 等 ^[17]	低	miR-494	增加	低甲基化—miR-494—SOX9—NF- κ B	凋亡、代谢
Zhao 等 ^[18]	高	miR-129-5p	减少	高甲基化—miR-129-5p—Beclin-1	自噬、凋亡
Zhang 等 ^[19]	高	GPX4	减少	高半胱氨酸—高甲基化—GPX4	氧化应激、铁死亡、代谢
Hiyama 等 ^[20]	高	Klotho	减少	Wnt 通路—高甲基化—Klotho	增殖、代谢

metalloproteinase 3, MMP3)、MMP13 和聚蛋白多糖酶 5 (ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 5, ADAMTS5) 表达水平升高; MSP 实验检测 miR-494 启动子区域的甲基化水平, 发现退变组的 DNA 甲基化低于正常组; 在去甲基化药物 5-Aza 的作用下, miR-494 表达水平上调, 靶基因性别决定区域 Y 相关的高迁移率族框 9 (SRY-Box transcription factor 9, SOX9) 下调, 合成代谢水平下降而分解代谢水平增加。

综上, DNA 甲基化可以直接调控功能基因的表达, 也可以通过影响非编码 RNA 的表达间接调控基因的功能, 影响髓核细胞的增殖和凋亡, 进而调控细胞外基质合成及分解代谢, 加速或延缓 IVDD。

3.2 DNA 甲基化与髓核细胞自噬

自噬是一种保守的、普遍存在的细胞保护形式, 它通过溶酶体降解细胞内异常物质以维持细胞内稳态^[37], 包括启动、延长、成熟和融合四个阶段, 这些阶段均由特定基因调控^[38-40]。例如, 自噬体的形成需要自噬相关蛋白 Beclin-1 和微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule associated protein 1 light chain 3 Alpha, LC3)^[41]。自噬的失调影响多种衰老相关疾病, 目前, 椎间盘髓核中已发现 Beclin-1 依赖性自噬。

Zhao 等^[18]通过 RT-qPCR 检测发现退变髓核的 miR-129-5P 表达水平下降, 自噬相关蛋白 Beclin-1 水平上升。在髓核细胞中过表达 miR-129-5P 后, Beclin-1 和 LC3 表达量下调, 自噬受到抑制, 髓核细胞凋亡增加; 进一步分析显示 miR-129-5P 与 Beclin-1 的 3' 非翻译区 (3' Untranslated Region, 3' UTR) 存在碱基互补配对关系, 并且通过荧光素酶报告基因实验证实了这种结合关系; 同时, miR-129-5P 抑制物对自噬的促进作用可以被 Beclin-1 siRNA 逆转, 说明 miR-129-5P 对自噬的作用需通过 Beclin-1 介导; miR-129-5P 启动子区含有 CpG 岛, 5-Aza 处理髓核细胞后, miR-129-5P 表达量增加, Beclin-1 和 LC3-II 的表达量下调。因此, 启动子区高甲基化抑制 miR-129-5p 表达, 引起靶基因 Beclin-1 上调, 促进髓核细胞自噬。研究表明, Beclin-1/Bcl-2 复合物的破坏能够增强自噬^[42]。结合 Zhao 等^[10, 18]的研究, 提示 miRNA-143 的启动子区域低甲基化抑制 Bcl-2 的表达和 miR-129-5P 启动子区的高甲基化引起 Beclin-1 上调可能通过破坏 Beclin-1/Bcl-2 复合物的形成调控髓核细胞的生物学功能。

3.3 DNA 甲基化与髓核细胞铁死亡

铁死亡是一种新的程序性细胞死亡类型, 其实质是细胞在铁离子的催化作用下产生脂质氧化代谢紊乱为特征的细胞死亡^[43]。当细胞的抗氧化能力减弱时, 脂质活性氧的积累引起氧化还原失衡, 导致细胞死亡。这个过程包括活性氧类激活、铁离子聚集、丝裂原活化蛋白激酶

(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 系统激活、胱氨酸摄取减少和谷胱甘肽耗竭。有研究已证实其与许多疾病相关, 如脑卒中、缺血再灌注损伤、神经退行性疾病、肿瘤等^[44], 是目前的研究热点。

既往研究表明, 高半胱氨酸血症 (hyperhomocysteinemia) 与基因 DNA 甲基化修饰紧密相关。Zhang 等^[19]发现高半胱氨酸是 IVDD 的独立危险因素, 高半胱氨酸水平越高, IVDD 越严重; 高半胱氨酸处理髓核细胞后, RT-qPCR 和 WB 检测髓核分解代谢指标 ADAMTS5 和 MMP13 表达增高, 合成代谢指标蛋白聚糖和 II 型胶原表达下调, 并且呈现出剂量依赖性; 同时, 高半胱氨酸可以引起氧化应激, 随着剂量增加, 线粒体超氧化物活性越强, 膜脂修复酶谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 随着高半胱氨酸剂量增加而表达减少; RT-qPCR 和 WB 检测结果显示退变髓核中 DNA 甲基化转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1)、DNA 甲基化转移酶 3A (DNA methyltransferase 3 alpha, DNMT3A) 和 DNMT3B 增高; MSP 和 BSP 检测 GPX4 启动子区为高甲基化状态, 5-Aza 和叶酸可以逆转高半胱氨酸对 GPX4 的抑制作用; 同时, 髓核细胞的氧化应激活性和脂质过氧化物密度下降, 铁死亡水平降低。

4 总结与展望

综上所述, DNA 甲基化主要通过影响功能基因和非编码 RNA 的表达介导髓核细胞的增殖、凋亡、自噬和铁死亡, 参与 IVDD 的发生和发展。就临床转化而言, DNA 甲基化应用于 IVDD 的治疗仍存在诸多挑战。既往研究表明总体去甲基化可抑制 IVDD, 但是单个功能基因的甲基化水平对退变的影响由于基因不同而有所差别。因此, 在机制研究层面, 有必要进一步寻找特异性调控目标基因甲基化的干预方式, 从而延缓或逆转 IVDD。此外, IVDD 还与终板软骨和纤维环的病变相关, 目前尚缺终板软骨和纤维环致病方向的 DNA 甲基化探索, 未来可做进一步的研究。

5 参考文献

1. Brinjikji W, Luetmer PH, Comstock B, et al. Systematic literature review of imaging features of spinal degeneration in asymptomatic populations[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2015, 36(4): 811-816.
2. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1204-1222.
3. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and in-

- juries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet*, 2017, 390(10100): 1211–1259.
4. Lv F, Leung VY, Huang S, et al. In search of nucleus pulposus-specific molecular markers [J]. *Rheumatology (Oxford, England)*, 2014, 53(4): 600–610.
 5. Peng B, Chen J, Kuang Z, et al. Expression and role of connective tissue growth factor in painful disc fibrosis and degeneration[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2009, 34(5): E178–182.
 6. Cazzanelli P, Wuertz-Kozak K. MicroRNAs in intervertebral disc degeneration, apoptosis, inflammation, and mechanobiology [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3601.
 7. 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.
 8. Li G, Luo R, Zhang W, et al. m6A hypomethylation of DNMT3B regulated by ALKBH5 promotes intervertebral disc degeneration via E4F1 deficiency[J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(3): e765.
 9. Li G, Ma L, He S, et al. WTAP-mediated m(6)A modification of lncRNA NORAD promotes intervertebral disc degeneration [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1469.
 10. Zhao K, Zhang Y, Kang L, et al. Epigenetic silencing of miRNA-143 regulates apoptosis by targeting BCL2 in human intervertebral disc degeneration [J]. *Gene*, 2017, 628: 259–266.
 11. Tajerian M, Alvarado S, Millicamps M, et al. DNA methylation of SPARC and chronic low back pain [J]. *Mol Pain*, 2011, 7: 65.
 12. Kawarai Y, Jang SH, Lee S, et al. Exercise attenuates low back pain and alters epigenetic regulation in intervertebral discs in a mouse model [J]. *Spine J*, 2021, 21(11): 1938–1949.
 13. Sun B, Hu L, Luo ZY, et al. DNA methylation perspectives in the pathogenesis of autoimmune diseases[J]. *Clin Immunol*, 2016, 164: 21–27.
 14. Dor Y, Cedar H. Principles of DNA methylation and their implications for biology and medicine[J]. *Lancet*, 2018, 392(10149):777–786.
 15. Luo Z, Ma Y, Di T, et al. DNMT3B decreases extracellular matrix degradation and alleviates intervertebral disc degeneration through TRPA1 methylation to inhibit the COX2/YAP axis[J]. *Aging(Albany NY)*, 2021, 13(16): 20258–20276.
 16. Li X, Lou Z, Liu J, et al. Upregulation of the long noncoding RNA lncPolE contributes to intervertebral disc degeneration by negatively regulating DNA polymerase epsilon[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(5): 2843–2854.
 17. Kang L, Yang C, Song Y, et al. MicroRNA-494 promotes apoptosis and extracellular matrix degradation in degenerative human nucleus pulposus cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 27868–27881.
 18. Zhao K, Zhang Y, Kang L, et al. Methylation of microRNA -129 -5P modulates nucleus pulposus cell autophagy by targeting Beclin -1 in intervertebral disc degeneration[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 86264–86276.
 19. Zhang X, Huang Z, Xie Z, et al. Homocysteine induces oxidative stress and ferroptosis of nucleus pulposus via enhancing methylation of GPX4[J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 160: 552–565.
 20. Hiyama A, Arai F, Sakai D, et al. The effects of oxygen tension and antiaging factor Klotho on Wnt signaling in nucleus pulposus cells[J]. *Arthritis Res Ther*, 2012, 14(3): R105.
 21. Ikuno A, Akeda K, Takebayashi SI, et al. Genome-wide analysis of DNA methylation profile identifies differentially methylated loci associated with human intervertebral disc degeneration[J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0222188.
 22. Zotti T, Polvere I, Voceola S, et al. CARD14/CARMA2 signaling and its role in inflammatory skin disorders [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2167.
 23. Myouzen K, Kochi Y, Okada Y, et al. Functional variants in NFKBIE and RTKN2 involved in activation of the NF- κ B pathway are associated with rheumatoid arthritis in Japanese [J]. *PLoS Genet*, 2012, 8(9): e1002949.
 24. Zhang GZ, Liu MQ, Chen HW, et al. NF- κ B signalling pathways in nucleus pulposus cell function and intervertebral disc degeneration[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(7): e13057.
 25. Ni H, Wang XS, Diener K, et al. MAPKAPK5, a novel mitogen-activated protein kinase (MAPK)-activated protein kinase, is a substrate of the extracellular-regulated kinase (ERK) and p38 kinase[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 243(2): 492–496.
 26. Monick MM, Carter AB, Flaherty DM, et al. Protein kinase C zeta plays a central role in activation of the p42/44 mitogen-activated protein kinase by endotoxin in alveolar macrophages[J]. *J Immunol*, 2000, 165(8): 4632–4639.
 27. De Santis M, Di Matteo B, Chisari E, et al. The role of wnt pathway in the pathogenesis of OA and its potential therapeutic implications in the field of regenerative medicine [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 7402947.
 28. Li Z, Zhang K, Li X, et al. Wnt5a suppresses inflammation-driven intervertebral disc degeneration via a TNF - α /NF - κ B -Wnt5a negative -feedback loop [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2018, 26(7): 966–977.
 29. 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(Phila Pa 1976)*, 2005, 30(7): 722–728.
 30. Gao Y, Liu S, Huang J, et al. The ECM-cell interaction of cartilage extracellular matrix on chondrocytes[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 648459.
 31. Zhou Y, Liu SQ, Peng H, et al. In vivo anti-apoptosis

- activity of novel berberine-loaded chitosan nanoparticles effectively ameliorates osteoarthritis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 34-43.
32. Cheng S, Hou J, Zhang C, et al. Minocycline reduces neuroinflammation but does not ameliorate neuron loss in a mouse model of neurodegeneration [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10535.
33. Huang GF, Zou J, Shi J, et al. Electroacupuncture stimulates remodeling of extracellular matrix by inhibiting apoptosis in a rabbit model of disc degeneration [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015, 2015: 386012.
34. Yang SD, Yang DL, Sun YP, et al. 17 β -estradiol protects against apoptosis induced by interleukin-1 β in rat nucleus pulposus cells by down-regulating MMP-3 and MMP-13 [J]. *Apoptosis*, 2015, 20(3): 348-357.
35. Ding F, Shao ZW, Xiong LM. Cell death in intervertebral disc degeneration[J]. *Apoptosis*, 2013, 18(7): 777-785.
36. Ma X, Lin Y, Yang K, et al. Effect of lentivirus-mediated survivin transfection on the morphology and apoptosis of nucleus pulposus cells derived from degenerative human disc in vitro[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(1): 186-194.
37. Vargas JNS, Hamasaki M, Kawabata T, et al. The mechanisms and roles of selective autophagy in mammals [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(3): 167-185.
38. Avin-Wittenberg T. Autophagy and its role in plant abiotic stress management [J]. *Plant Cell Environ*, 2019, 42 (3): 1045-53.
39. Mizushima N, Levine B. Autophagy in mammalian development and differentiation [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12 (9): 823-830.
40. Russell RC, Yuan HX, Guan KL. Autophagy regulation by nutrient signaling[J]. *Cell Res*, 2014, 24(1): 42-57.
41. Shen C, Yan J, Jiang LS, et al. Autophagy in rat annulus fibrosus cells: evidence and possible implications[J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(4): R132.
42. Fernández Á F, Sebtí S, Wei Y, et al. Disruption of the beclin 1-BCL2 autophagy regulatory complex promotes longevity in mice[J]. *Nature*, 2018, 558(7708): 136-140.
43. Stockwell BR, Friedmann Angeli JP, Bayir H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease[J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
44. Jiang X, Stockwell BR, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(4): 266-282.

(收稿日期:2022-10-26 末次修回日期:2023-04-03)

(本文编辑 卢庆霞)