

纤维环损伤后椎间盘退变的力学信号转导途径研究进展

Research progress of mechanotransduction pathway in degenerated intervertebral disc after annulus injury

王志强, 彭宝淦

(武警总医院脊柱外科 100039 北京市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2014.02.17

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2014)-02-0183-03

椎间盘退变的具体原因及机制至今不是很明确。一般认为是多方面、多层次的, 年龄、遗传、环境、精神、机械应力、吸烟等因素可能都发挥了作用^[1]。Iatridis 等^[2]的研究表明, 局部纤维环的损伤可使椎间盘内压力降低, 细胞结构及代谢发生器质性变化, 导致椎间盘退变。笔者就纤维环损伤后椎间盘退变可能的力学信号转导途径的研究进展综述如下。

1 生物力学因素在椎间盘退变中的作用

Peng 等^[3]对人椎间盘退变病理解剖学观察结果表明, 椎间盘退变往往伴有纤维环撕裂, 组织学上引起疼痛的退变椎间盘的特征性改变是形成自纤维环后方外层到髓核的伴有广泛神经分布的肉芽组织条带区, 其对应于腰椎间盘造影术显示的裂隙, 纤维环损伤产生的炎症反应是导致椎间盘退变的主要发病基础。

正常椎间盘细胞内富含蛋白聚糖, 退变的椎间盘细胞较正常细胞内含更多的金属蛋白酶(metalloprotease), 而后者被认为是椎间盘退变的主要因素之一^[4]。正常椎间盘中, 生理性的液体静压力(hydrostatic pressure)能刺激蛋白聚糖的合成并抑制金属蛋白酶的合成, 蛋白聚糖是椎间盘髓核中主要化学成分之一, 可有效维持椎间盘的功能^[5]。椎间盘退变以细胞外基质蛋白聚糖的丢失、椎间盘脱水、结构改变和功能受损为主要机制, 椎间盘退变关键环节是化学合成的不平衡和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)质量和数量的特异变化, 包括出现炎症刺激因子和金属蛋白酶活化增加, 这些变化可由椎间盘所受到的机械负荷调控, 异常的机械负荷可影响椎间盘细胞代谢、基因表达、翻译的异常和细胞骨架重塑, 所以异常应力状态是引起或加剧椎间盘退变的主要因素之一^[6-8]。

2 力学信号转导可能的途径

力学信号转导是指将生物力学刺激转化为细胞反应的过程, 它是活体组织适应周围力学环境而具有广泛生理

功能的重要机制, 这是一个非常复杂的过程, 涉及到很多细胞内、外成分, 细胞表面存在对应力敏感的受体, 可将所感应的力学信号通过细胞表面特殊的分子通道传递至细胞内, 实现力-化学转变, 从而调节细胞的生理机能^[9]。

2.1 整合素途径

Wang 等^[9]利用一种磁力扭曲装置直接将力学刺激作用于整合素(integrins), 发现整合素可以发挥力学传感器的作用, 它是外力传向细胞骨架的通道。细胞通过其表面的整合素受体及时响应机械应力, 以张力改变的形式将相应的力学信号有选择地转换到细胞内不同结构部件上, 实现力-化学转化, 从而对细胞的功能进行调控^[9]。

整合素是由 α 和 β 两个亚单位组成的异二聚体, 目前已发现 20 余种亚型, β 亚基和 α 亚基分为长的细胞外区、跨膜区和短的细胞内区, 细胞外区的 α 、 β 链共同构成与特异性配体相结合的受体部分, 通过其折叠内旋改变其构型, 识别包含精氨酸-甘氨酸-门冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)序列的多肽位点, 与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中特异的配体结合, 如胶原蛋白(collagen)、纤维粘连蛋白(fibronectin)、层粘连蛋白(laminin)、玻璃粘连蛋白(vitronectin)等^[9,10]。胞内区的 α 链氨基酸序列分散, 调节整合素与细胞外基质的结合, 而 β 链高度保守, 除与结构蛋白结合外, 还可与 β -肌动蛋白(β -actinin)、踝蛋白(talin)、纽蛋白(vinculin)、焦点粘附蛋白酪氨酸激酶(focal adhesion protein tyrosine kinase, FAK)、蛋白激酶 C(PKC)等多种信号蛋白结合, 其中 FAK 及其相关酶可能是整合素转导途径中的关键蛋白, 是力学信号整合的结构基础^[11,12]。FAK 可活化的下游分子有细胞外信号调节激酶(ERK)、c-Jun 氨基端激酶(C-Jun N-terminal kinase, JNK)等, 这些分子可以激活核转录因子, 如转录因子、活化蛋白 1(activator protein-1, AP-1)^[13,14]。Ellman 等^[15]在活体内及体外, 通过蛋白聚糖沉积、PKC 下游信号检测以及在敲除大鼠 PKC 基因后对椎间盘退变模型的影响, 从而证明 PKC 信号肽能调节髓核内蛋白聚糖的表达, 激活 PKC 信号可增加基质合成和细胞增殖, 从而抑制椎间盘退变, PKC 在平衡稳定椎间盘退变信号传导中起重要作用。整合素的胞外区与

第一作者简介: 男(1987-), 硕士研究生, 研究方向: 脊柱外科
电话: (010)57976605 E-mail: wangzq870618@qq.com

ECM相连,胞内区则与细胞骨架相接,形成粘附斑,并介导细胞内外信号的传递。ECM-整合素-细胞骨架蛋白所构成的复合体是整合素信号转导的结构基础,是介导细胞内外信息传递的桥梁,许多信号蛋白通过与该复合体结合,在整合素介导的信号转导中发挥重要作用^[9]。

与整合素相关的信号通路包括:(1)分裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路,可以通过连续的磷酸化的级联响应外部刺激(如椎间盘压力、异常应力)^[16];(2)环氧化酶(COX2)信号通路^[8,17]。两条通路最终引起 ERK1/2 的磷酸化和细胞增殖,磷酸化的 ERK1/2 能够激活 AP-1 转录因子家族,这些激活的转录因子可以上调 c-fos 基因、血小板源生长因子(PDGF)、类胰岛素生长因子(IGF-1)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、环氧化酶(cyclooxygenase, COX)和骨钙素(BGP)的表达,从而诱导椎间盘退变细胞的 DNA 合成,引起椎间盘的退变^[17,18]。

Wang 等^[19]的研究表明,整合素途径也不是孤立的,不同信号路经间常存在交叉串话(cross-talk),例如,整合素可以参与 Ca^{2+} 信号转导途径,细胞外 Ca^{2+} 内流可能是力学转导的独特之处;此外,整合素还能促使 Rho 张力纤维形成、磷脂酶 C 活化,进一步水解磷脂酰肌醇二磷酸(PIP2)产生二酰基甘油(DAG)和三磷酸肌醇(IP3)等第二信使物质,进一步发挥信号转导作用,但具体细节和如何改变细胞的环境适应性问题还未明确。另外,Salter 等^[20]研究发现,在幼年猪的髓核和纤维环及成人的椎间盘纤维组织中,存在整合素分子的表达,其中, $\alpha 1$ 、 $\beta 1$ 可与胶原结合, $\alpha 5$ 、 $\alpha 6$ 、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 、 $\beta 5$ 可与纤维素结合, $\alpha 6$ 、 $\beta 1$ 在髓核细胞可与层粘连蛋白结合。

2.2 其他信号转导途径

近年一项有关整合素在人类退变椎间盘髓核组织中对机械信号转导的研究发现,退变和非退变的髓核细胞在压力的作用下蛋白聚糖基因表达均下降,在非退变的髓核细胞中这种基因表达下降可以被 RGD 所抑制,但在退变的髓核细胞中 RGD 却没有这种作用。免疫组化检查发现,退变椎间盘组织和非退变椎间盘组织中 $\alpha 5\beta 1$ 整合素的表达并没有异常,说明在退变间盘可能存在除 $\alpha 5\beta 1$ 整合素组合之外其他的信号转导途径^[21]。值得注意的是,当外界的压力或渗透压改变时,纤维环细胞可以通过改变自身的基因表达来适应,但髓核细胞却没有这种功能^[22-24]。Gilbert 等^[25]的研究也证实了椎间盘还存在其他的信号转导途径,他们将人退变与正常的椎间盘组织在体外给予 1.0Hz 的周期性压力后发现,纤维环对机械应力的应答是不同的,非退变组纤维环细胞蛋白聚糖的表达下降,而退变组纤维环胶原蛋白基因表达降低,非退变组用 RGD 干预后可以阻止蛋白聚糖的下降,而 RGD 在退变组却不起作用,证明整合素在正常椎间盘中起作用而在退变椎间盘可能存在其他的信号转导通路。另外,Sharp 等^[26]通过免疫染色评估了人椎间盘细胞的压力感受器(stress sensing, HSF-1)的分布区域,通过病理染色对椎间盘内压力抗原

(stress antigen)检测结果表明,压力抗原仅局限于髓核细胞内,而在髓核细胞外周及外基质却没有明显染色,而且较普遍的以细胞集群的方式存在,而不是单独或成对出现。另外,Gruber 等^[27]发现人类和沙鼠椎间盘内存在能恒定机械应力的骨膜蛋白(periostin),其在椎间盘分布有明显差异:外环中比例最高占 88.8%,内环占 61.4%,而髓核中最少占 18.5%;随着年龄的增长,椎间盘内的骨膜蛋白随之减少,但其是否与异常生物应力引起椎间盘退变有关仍待验证。具体哪种途径在椎间盘细胞信号转导中起主要作用,目前尚不确定。

压力负荷的改变是造成椎间盘发生退变的主要因素之一,但压力改变如何引起相应的生物化学改变的机理目前还不清楚。终板细胞、髓核细胞和纤维环细胞哪种最先感受到应力负荷异常,哪种细胞在应力异常导致退变过程中起主要作用,整合素是如何传递力学信号的,细胞间是否还存在其他重要的力-化学转导途径,能否中断或逆转可能导致终板及椎间盘退变的信号转导途径?目前还没有一个确切的答案,需要进一步的实验与临床验证。

3 总结与展望

目前针对腰痛的治疗方法多种多样,但疗效不确定,归根结底与目前椎间盘退变的病因和发病机制不清密切相关,因而给诊断和治疗带来了很大困难。随着现代医学的不断发展,人们希望在保持脊柱力学结构和生理完整性的前提下进行椎间盘退变的防治,并利用诸如分子生物学、细胞化学、基因治疗等方法早期阻止或逆转椎间盘退变,促进椎间盘再生^[28]。令人欣喜的是,信号转导抑制剂的发现为研究和治疗椎间盘退变带来了希望。细胞转导通路抑制剂包括:①SP600125,为氨基端激酶(JNK)抑制剂;②SB203580,为 p38 丝裂素活化蛋白激酶(p38MAPK)抑制剂;③UO126,为 ERK 抑制剂;④IMD0354,为 NF- κ B 抑制剂。其中,p38MAPK 抑制剂 SB203580 可以通透细胞,抑制 p38MAPK,抑制后续蛋白激酶激活蛋白(MAPKAP)磷酸活化酶-2(Kinase-2)和 MAPKAP 磷酸活化酶-3(Kinase-3)的激活。通过抑制 p38MAPK,SB203580 可以有效抑制一些炎症因子[如白介素 1(IL-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]诱导的部分信号转导^[29,30]。找到并抑制椎间盘退变过程中信号转导通路中的关键环节,并将其靶向打断和抑制可能是治疗椎间盘退行性病变引起腰痛的最理想方法^[25]。研究并明确异常应力的作用特点和异常应力导致椎间盘组织退变的信号转导途径,有可能从更深层面预防椎间盘退变和治疗椎间盘退变引起的腰痛。

4 参考文献

1. Peng B. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of discogenic low back pain[J]. World J Orthop, 2013, 4(2): 42-52.
2. Iatridis JC, Michalek AJ, Purmessur D, et al. Localized intervertebral disc injury leads to organ level changes in structure,

- cellularity, and biosynthesis[J]. *Cell Mol Bioeng*, 2009, 2(3): 437–447.
3. Peng B, Chen J, Kuang Z, et al. Expression and role of connective tissue growth factor in painful disc fibrosis and degeneration[J]. *Spine*, 2009, 34(5): E178–182.
 4. Freemont AJ. The cellular pathobiology of the degenerate intervertebral disc and discogenic back pain [J]. *Rheumatology*, 2009, 48(1): 5–10.
 5. Gilbert HT, Hoyland JA, Millward-Sadler SJ. The response of human annulus fibrosus cells to cyclic tensile strain is frequency-dependent and altered with disc degeneration [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(11): 3385–3394.
 6. Neidlinger-Wilke C, Wurtz K, Urban JP, et al. Regulation of gene expression in intervertebral disc cells by low and high hydrostatic pressure[J]. *Eur Spine J*, 2006, 15(Suppl 3): 372–378.
 7. Sowa GA, Coelho JP, Vo NV, et al. Cells from degenerative intervertebral discs demonstrate unfavorable responses to mechanical and inflammatory stimuli[J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 2012, 91(10): 846–855.
 8. Wang N, Buler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton [J]. *Science*, 1993, 260(5111): 1124–1127.
 9. Grancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling [J]. *Science*, 1999, 285(5430): 1028–1033.
 10. Xia M, Zhu Y. Fibronectin fragment activation of ERK increasing Integrin $\alpha 5$ and $\beta 1$ subunit expression to degenerate nucleus pulposus cells[J]. *J Orthop Res*, 2011, 29(4): 556–561.
 11. Hoyland JA, Maitre L, Freemont AJ. Investigation of the role of IL-1 and TNF- α in matrix degradation in the intervertebral disc[J]. *Rheumatology*, 2008, 11(4): 809–814.
 12. Pratsinis H, Kletsas D. PDGF, bFGF and IGF-I stimulate the proliferation of intervertebral disc cells in vitro via the activation of the ERK and Akt signaling pathways [J]. *Eur Spine J*, 2007, 16(11): 1858–1866.
 13. Lotz JC, Ulrich JA. Innervation, inflammation, and hypermobility may characterize pathologic disc degeneration: review of animal model data[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88(Suppl 2): 76–82.
 14. Thurmond RL, Wadsworth SA, Schafer PH, et al. Kinetics of small molecule inhibitor binding to p38 kinase [J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(22): 5747–5754.
 15. Ellman MB, Kim JS, An HS, et al. The pathophysiologic role of the protein kinase C δ pathway in the intervertebral discs of rabbits and mice[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(6): 1950–1959.
 16. Huang H, Kamm RD, Lee RT. Cell mechanics and mechanotransduction: pathways, probes, and physiology[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(1): C1–11.
 17. Jácamo RO, Rozengurt E. A truncated FAK lacking the FERM domain displays high catalytic activity but retains responsiveness to adhesion-mediated signal [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334(4): 1299–1304.
 18. Mavrogenatou E, Kletsas D. Effect of varying osmotic conditions on the response of bovine nucleus pulposus cells to growth factors and the activation of the ERK and Akt pathways[J]. *J Orthop Res*, 2010, 28(10): 1276–1282.
 19. Wang Z, Fong KD, Phan TT, et al. Increased transcriptional response to mechanical strain in keloid fibroblasts due to increased focal adhesion complex formation[J]. *J Cell Physiol*, 2006, 206(2): 510–517.
 20. Salter DM, Millward-Sadler SJ, Nuki G, et al. Integrin-interleukin-4 mechanotransduction pathways in human chondrocytes[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2001, 391 Suppl: 49–60.
 21. Le Maitre CL, Frain J, Millward-Sadler J, et al. Altered integrin mechanotransduction in human nucleus pulposus cells derived from degenerated discs[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(2): 460–469.
 22. Loeser RF. Integrins and cell signaling in chondrocytes[J]. *Biorheology*, 2002, 39(1–2): 119–124.
 23. Kudirka JC, Panupinthu N, Tesseyman MA, et al. P2Y nucleotide receptor signaling through MAPK/ERK is regulated by extracellular matrix: involvement of beta3 integrins[J]. *J Cell Physiol*, 2007, 213(1): 54–64.
 24. Gilbert HT, Hoyland JA, Millward-Sadler SJ. The response of human annulus fibrosus cells to cyclic tensile strain is frequency-dependent and altered with disc degeneration [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(11): 3385–3394.
 25. Gilbert HT, Nagra NS, Freemont AJ, et al. Integrin-Dependent Mechanotransduction in mechanically stimulated human annulus fibrosus cells: evidence for an alternative mechanotransduction pathway operating with degeneration [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e72994.
 26. Sharp CA, Roberts S, Evans H, et al. Disc cell clusters in pathological human intervertebral discs are associated with increased stress protein immunostaining [J]. *Eur Spine J*, 2009, 18(11): 1587–1594.
 27. Gruber HE, Norris RA, Kern MJ, et al. Periostin is expressed by cells of the human and sand rat intervertebral discs[J]. *Biotech Histochem*, 2011, 86(3): 199–206.
 28. Masuda K, An HS. Prevention of disc degeneration with growth factors[J]. *Eur Spine J*, 2006, 15(Suppl 3): 422–432.
 29. Hashimoto S, Matsumoto K, Gon Y, et al. p38 MAP kinase regulates TNF alpha, IL-1 alpha and PAF induced RANTES and GM-CSF production by human bronchial epithelial cells [J]. *Clin Exp Allergy*, 2000, 30(1): 48–55.
 30. Thurmond RL, Wadsworth SA, Schafer PH, et al. Kinetics of small molecule inhibitor binding to p38 kinase [J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(22): 5747–5754.

(收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2013-12-24)

(本文编辑 李伟霞)