

综述

非编码 RNA 在椎间盘退变中的作用机制及应用前景

The mechanism and application of non-coding RNA in intervertebral disc degeneration

姜超¹, 张永远¹, 黄大耿¹, 王晓晖¹, 尹思², 郝定均¹

(1 西安交通大学附属红会医院脊柱外科 710054 西安市; 2 西安交通大学第一附属医院骨科 710061 西安市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2020.11.11

中图分类号: R681.5, Q74 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2020)-11-1046-09

目前,腰痛在人群中非常常见且病因多样,严重影响患者生活质量甚至致残、降低预期寿命,同时也加重了经济社会负担,而椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)是引起腰痛的主要原因,约占 40%^[1,2]。椎间盘退变是在椎间盘自然老化、退化时所发生的一系列生理及病理过程,是导致脊柱退行性病变的病理基础,可引起椎间盘突出、脊柱失稳、椎间盘源性腰痛等一系列脊柱外科的常见疾病。研究表明,在<30 岁群体中 40% 的个体存在不同程度的椎间盘退变,而在>50 岁的群体中这一比例则高达 90%^[3]。由于社会老龄化加速及生活、工作方式的改变,椎间盘退变相关疾病的发病率不断上升,并且呈现出低龄化趋势,给家庭和社会造成了巨大的经济负担^[4]。目前针对椎间盘退变性疾病的治疗方法众多,但这些治疗方法仅可以部分改善症状,不能从根本上延缓或逆转椎间盘退变病理过程。因此,在分子水平研究椎间盘退变的发病机制,通过分子生物学技术在细胞水平阻止或逆转其病理改变,修复椎间盘结构,恢复其生物学功能,是目前国际骨科乃至医学界发展的重大挑战及研究的热点^[5]。哺乳动物绝大多数的基因组通过转录产生大量非编码 RNA (noncoding RNA, ncRNA), 这些 ncRNA 无开放阅读框或有一个保守性差的短开放性阅读框,且不编码蛋白质,包括长度为 19~24 个核苷酸的微小 RNA (micro RNA, miRNA) 和长链非编码 RNA (long-non coding RNA, lncRNA) 等多种 RNA。大量研究证实,内源性 ncRNA 包括 miRNA、lncRNA 和环状 RNA (circular RNA, circRNA) 参与基因调控及细胞代谢等过程^[6,7],并且在 IDD 的发生发展过程中发挥了重要作用。笔者将目前对 ncRNA 在椎间盘退变中的作用研

究做一综述,以期进一步明确未来研究方向,为寻求 IDD 的生物治疗策略提供思路。

1 椎间盘退变的病理生理机制

椎间盘(intervertebral disc, IVD)是位于脊柱椎体之间的纤维软骨组织,对维持脊柱的稳定性起着重要作用。IVD 从形态学上可分为三个区域:位于中央的髓核(nucleus pulposus, NP),侧面包绕髓核细胞的纤维环(annulus fibrosus, AF),上方和下方的软骨终板(cartilaginous endplates, CEPs)。这一结构既保证了椎间盘的灵活性,也保证了脊柱的稳定性,但由于椎间盘本身没有血管结构,只能通过软骨终板的渗透来获取营养物质^[8]。

椎间盘退变是由多种因素共同作用引起的,受遗传及环境因素等多种因素影响,但其具体发病机制尚不清楚^[9]。目前研究表明,椎间盘退变的分子学机制是由多种细胞因子、蛋白和信号通路互相作用,以具有活力的椎间盘细胞数量减少、功能下降、细胞外基质(主要是蛋白聚糖和 II 型胶原)代谢异常为特征,从而引起椎间盘形态改变,间隙变窄,生物力学功能改变^[10,11]。目前分子生物层面的研究热点集中于 miRNA、lncRNA 及 circRNA 在 IDD 中的作用及其靶点。

2 miRNA 调节 IDD 的机制

miRNA 是一种内源性 ncRNA,分子长度约 19~24bp,通过与靶基因 mRNA 3'端非编码区(3'-UTR)结合发挥调控作用。miRNA 不但参与了调控细胞增殖、凋亡、自噬与分化,还在组织退变和再生等方面发挥重要作用^[12,13]。miRNA 在 IDD 中的作用是目前研究最多的,当前研究揭示了很多 miRNA 参与的 IDD 的调控机制^[14]。miRNA 影响椎间盘退变的发生主要通过三种途径:①通过相关靶基因或信号通路调节 NP 细胞增殖和凋亡;②直接影响 NP 细胞外基质的代谢,改变 NP 细胞生存的微环境;③促进或抑制 NP 细胞炎症反应。

2.1 miRNA 调控 NP 细胞的凋亡

基金项目:陕西省科技厅自然科学基金基础研究计划(2019JM-558);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(xjh012019062);国家自然科学基金面上项目(81772357)

第一作者简介:男(1991-),硕士研究生在读,研究方向:脊柱外科
电话:(029)62818374 E-mail:jiangchao@stu.xjtu.edu.cn

通讯作者:郝定均 E-mail:haodingjun@mail.xjtu.edu.cn

共同通讯作者:尹思 E-mail:yinsi168@163.com

NP能够合成细胞外基质,对于NP细胞的生存,维持椎间盘的正常结构、承载机体运动产生的负荷至关重要。凋亡是程序性死亡,是机体代谢所必不可少的,以染色体聚集、细胞皱缩、DNA降解、凋亡小体形成为特点。研究表明凋亡不仅参与了正常的生理过程,而且在病理性退变疾病中广泛存在(如骨关节炎、神经性退变),近年来研究发现其也是引起椎间盘退变的重要机制^[15]。

2.1.1 miRNA促进NP细胞凋亡的机制 NP细胞的过度凋亡,使得髓核组织脱水、变性,加速了IDD的发展。Wang等^[16]检测IDD患者和对照组NP组织中miR-138-5p的表达,发现miR-138-5p在退变的NP组织中表达明显上调,进一步研究证实miR-138-5p通过PTEN/PI3K/Akt信号通路靶向作用于SIRT1促进TNF- α 介导的NP凋亡。Cai等研究发现miR-15a表达在退变的NP组织中明显上调,并且miR-15a和MAP3K9在NP细胞中的表达呈负相关,miR-15a通过靶向作用于MAP3K9调控NP细胞的增殖与凋亡^[17]。Lv等^[18]认为抑制miR-30d能够促进NP细胞的存活、减少其凋亡,并且促进了II型胶原蛋白和蛋白聚糖的表达,而过表达则相反,并证实抑制miR-30d可通过靶向上调SOX9的表达来减少退变NP细胞的凋亡及细胞外基质降解。Ji等^[19]研究表明,miR-141通过与SIRT1/NF- κ B信号通路互相作用诱导NP细胞凋亡,沉默或抑制miR-141能够保护椎间盘免受破坏,并通过IDD大鼠模型进行了验证。Yang等^[20]通过IDD大鼠模型研究发现,miR-143-5P可通过eEF2激活AMPK信号通路促进NP细胞的凋亡。Chen等^[21]认为miR-24-3p上调可能通过Igfbp5和ERK信号通路促进IDD的发生,且miR-24-3p上调水平与椎间盘退变的分级相关。上述研究表明miRNA能够通过相关通路直接或间接促进NP细胞的凋亡,影响IDD的病理过程。

2.1.2 miRNA抑制NP细胞凋亡的机制 Chai等^[22]发现在脂多糖(LPS)诱导的NP细胞中miR-486-5p表达下调,并且其直接靶向作用于FOXO1抑制NP细胞的凋亡、细胞外基质的降解和炎症反应。Zhou等^[23]发现不论有无氧化应激,miR-145能够减少NP细胞的凋亡;其过表达和抑制能够增加和抑制基质合成,ADAM17是miR-145的作用靶点。Yang等^[24]发现在IDD患者中,miR-129-5p的表达下调,而BMP2的表达上调;转染miR-129-5p模拟物或BMP2 siRNA处理的NP细胞的存活率明显提高,其凋亡受到抑制;结果表明miR-129-5p通过靶向作用于BMP2调控IDD的发生。Wang等^[25]研究发现,miR-573过表达通过下调Bax抑制NP细胞凋亡。上述研究表明miRNA能够通过相关基因或通路抑制NP细胞的凋亡,在IDD过程中起保护作用。

2.1.3 miRNA调控软骨终板细胞凋亡的机制 软骨终板作为NP细胞营养物质交换通道以及阻挡体内损伤性因子进入椎间盘内的天然屏障,CEP的钙化可导致弥散障碍,影响物质交换,使椎间盘内部稳态失衡,引起或加速椎

间盘退变,相关研究已经证明软骨终板退变与椎间盘退变关系密切^[26]。

程细高等^[27]以颈椎软骨终板退变的患者为病例组,颈椎椎体爆裂骨折且无颈椎软骨终板退变患者为对照组,进行microRNA芯片差异表达分析发现,在病例组中有22种表达上调,19种表达下调,以miR-140下调最显著,进一步研究发现Adamts-5/Dnep在病例组呈高表达,miR-140通过靶向作用于Adamts-5/Dnep参与调节软骨终板退变。Chen等^[28]发现在退化的CEP中,其表达显著升高,miR-34a可通过Bcl-2可增强Fas介导的终板软骨细胞凋亡。上述研究表明miRNA可以通过调节CEP细胞的凋亡来参与IDD,但是目前相关研究不多,还需要进一步进行研究。

2.2 miRNA调控ECM的代谢

椎间盘NP细胞中细胞外基质代谢的失衡是椎间盘退变的一个重要特征,主要表现为合成减少、分解增加,细胞赖以生存的微环境发生改变,促进了IDD的发生发展。

2.2.1 miRNA通过基质金属蛋白酶(MMP)调节ECM的代谢 基质金属蛋白酶因其需要 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 等金属离子作为辅助因子而得名,同一种MMP可降解多种细胞外基质成分,而某一种细胞外基质成分又可被多种MMP降解。王磊等^[29]研究发现,在退变性腰椎侧凸患者的椎间盘组织中,miR-491-5p表达显著下调,且其表达水平与椎间盘退变的评分密切相关,进一步研究结果证实下调的miR-491-5p通过调控MMP-9降低II型胶原的表达,从而引起椎间盘退变。Hua等^[30]研究证实,miR-127-5p在退变NP组织中表达明显下调,表达水平与MMP-13mRNA水平呈负相关,进一步研究表明失调的miR-127-5p通过靶向MMP-13参与IDD II型胶原的降解。Wang等^[31]研究认为miR-210可以靶向调节ATG7抑制自噬,然后上调MMP-3和MMP-13的表达,导致II型胶原和蛋白聚糖降解增加。Wang等^[32]认为miR-21的表达在退变的NP组织中显著上调,并与椎间盘退变程度呈正相关,miR-21可以激活的PTEN/Akt/MTOR信号通路抑制自噬,上调MMP-3和MMP-9的表达,从而促进II型胶原和蛋白聚糖降解。上述研究表明miRNA能够通过促进MMP的表达,促进ECM降解。

2.2.2 miRNA通过生长分化因子(growth differentiation factor,GDF)调节ECM的代谢 GDF是转化生长因子 β (transforming growth factor- β ,TGF- β)超家族中的一员,在体内作用广泛。Liu等^[33]发现miR-7在退变NP组织和IL-1 β 刺激的NP细胞中高表达,增强了IL-1 β 诱导的细胞外基质变性,抑制miR-7功能则抑制IL-1 β 介导的ECM分解代谢,进一步研究发现GDF5是其靶点。Liu等^[34]实验结果表明,miR-132在IDD中表达上调miR-132,促进NP细胞对ECM的降解,而GDF5是miR-132的直接作用靶点,MAPK/ERK信号通路也与此相关,并通过大鼠IDD模型进行了验证。研究发现GDF5参与了ECM的

降解, 而是否还有其他生长因子参与 IDD 的调控值得关注。

2.3 miRNA 调控炎症反应

炎症反应同样在 IDD 中起着关键作用, 近年来的研究成果也表明多种 miRNA 参与了 IDD 中的炎症反应调控。

Shen 等^[35]发现 IDD 组织和 LPS 处理的细胞中 miR-625-5p 上调最显著, miR-625-5p 的过表达或下调分别能抑制或诱导 I 型胶原 $\alpha 1$ 的表达, 而且 TLR4/NF- κ B 信号通路的激活诱导了促炎因子的产生, 从而上调了 miR625-5p 的表达, 下调 I 型胶原 $\alpha 1$ 。Chen 等^[36]发现 cullin 家族基因 CUL4A 和 CUL4B 在 IDD 患者中显著高表达, 且与其严重性呈正相关, miR-194-5p 在 IDD 患者中显著下调且能够与 CUL4A 和 CUL4B 的 3'-UTRs 结合下调其表达。体外过表达或下调 miR-194-5p 可引起 CUL4A 和 CUL4B 的抑制或诱导, 表说明炎症性依赖的 miR-194-5p 通过 CUL4A 和 CUL4B 促进 IDD 的发生。Cai 等^[37]研究表明, 抑制 miR-203-3p 的表达通过上调 ER- α 能够抑制 LSP 诱导的椎间盘炎症反应及退变。Sun 等^[38]通过建立 IDD 小鼠模型研究发现 miR-181a 下调而 TRAIL 上调, miR-181a 上调和 ERK 通路抑制能够减少 TRAIL 和 ERK 通路相关基因、炎症因子和 I 型胶原的表达, 但促进 II 型胶原的表达, 基于此表明上调 miR-181a 通过抑制 TRAIL 抑制 ERK 通路抑制 IDD 小鼠的炎症反应。上述分子通过调节炎症反应参与了 IDD 的发展。

上述 miRNA 及其作用靶点和机制, 为寻求生物治疗策略提供了广阔的前景。然而大部分研究都集中于 NP 细胞 (CEP) 凋亡方面的研究, 对于细胞赖以生存的微环境 ECM 的研究以及炎症反应的研究相对较少, 而对于纤维环的研究则尚未见报道, 并且研究比较单一, 对于细胞凋亡、ECM 代谢及炎症反应之间的相互作用鲜有提及, 后续可以在这方面进一步研究。

3 lncRNA 调节 IDD 的机制

lncRNA 是长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA, 在组织分化发育过程中, 都具有明显的时空表达特异性, 在基因调控、细胞周期调控和细胞分化调控等众多生命活动中发挥着重要作用。近年来很多研究证实 lncRNA 在 IDD 的发生发展中扮演了重要角色, 参与了 NP 细胞的增殖与凋亡、ECM 的合成与降解、炎症反应等多种病理生理过程。

3.1 lncRNA 通过 miRNA 参与 IDD 过程

Xi 等^[39]发现在 IDD 患者、椎间盘突出或膨出的患者中 HCG18 表达水平上调, 其在 NP 细胞中作为 ceRNA, 能够吸附 miR-146a-5p, 通过 miR-146a-5p/TARF6/NF- κ B 轴在 NP 细胞的增殖和凋亡, 巨噬细胞的募集和成骨分化中起着重要作用。Wang 等^[40]发现敲除 RP11-296A18.3 基因能够抑制人 NP 细胞增殖, 并且使 ECM 的标志物、

MMP-13 和 I 型胶原表达也降低; 生物信息学、qPCR 和荧光素酶分析表明 lncRNA-RP11-296A18.3 与 miR-138 相互作用, 通过 miR-138 调节人 NP 细胞的增殖和 ECM 的合成以及 HIF1A。Wang 等^[41]通过对 H_2O_2 诱导的 NP 细胞衰老模型研究发现 lncRNA H19 在 IDD 的髓核组织中上调最显著, lncRNA H19 与 LEF1 竞争 miR-22, 从而调控 NP 细胞 Wnt/ β -catenin 下游信号转导, 调节 H_2O_2 诱导的 NP 细胞衰老、增殖和 ECM 合成。Wang 等^[42]研究发现, 和正常的 NP 组织相比, lncRNA-RMRP 的表达在 IDD 中上调而 miR-206 下调, 且二者均与 IDD 分级相关, 进一步研究表明 RMRP 通过 miR-206 促进了 IDD 的发展。Yu 等^[43]发现 lncRNA-HOTAIR 在退变的髓核组织和 IDD 患者中低表达, 过表达 HOTAIR 明显抑制 TNF- α 、NP 细胞凋亡、Caspase-3 和 Bax 的表达, 但促进 Bcl-2 的表达; miR-34a 在 IDD 患者退变的 NP 组织中过表达; 凋亡抑制基因 Bcl-2 是 miR-34a 的靶基因, 与 miR-34a 表达呈负相关, 认为 lncRNA-HOTAIR 通过调节 miR-34a/Bcl-2 轴抑制 TNF- α 诱导的 NPCs 凋亡。Wang 等^[44]探讨了营养应激下 miR-153-3p 和 lncRNA-00641 的表达, 发现 lncRNA-00641 通过靶向作用于 miR-153-3p 和自噬相关基因 5 (ATG5) 抑制自噬和 IDD。Zhao 等^[45]认为 lncRNA-LINC00958 在退变的 NP 组织中表达上调, 并且随着椎间盘退变加重逐渐升高, 在体内通过调控 miR-203 及 Smad3 的表达促进 NP 细胞增殖及 MMP-2 和 MMP-13 的表达, 但是抑制 II 型胶原和蛋白聚糖的表达, 加速了 ECM 的降解。

上述研究表明, lncRNA 可通过 miRNA 调节 IDD 的发生发展。值得注意的是 LINC00958 在促进 NP 增殖的同时, 也促进了 ECM 的降解, 这看似矛盾, 实际上也说明了 ECM 在 IDD 中的重要作用, 虽然 LINC00958 能够促进“种子”(NP) 细胞的增殖, 但却加速了“土壤”(ECM) 的降解。

3.2 lncRNA 通过靶基因或信号通路调节 IDD 过程

Wang 等^[46]通过数据库发现 RAS 反应元件结合蛋白 1 (RREB1) 是调节 NP 细胞中 ADAMTS5 基因表达的关键转录因子, RNA 免疫沉淀 (RIP)、体外结合实验等研究表明, linc-ADAMTS5 通过和 SFPQ 相互作用促进了 RREB1 与 ADAMTS5 启动子的结合, 从而诱导染色质重构, 在 NP 组织中 linc-ADAMTS5 和 RREB1 与 ADAMTS5 表达呈负相关, 认为 RREB1 与 linc-ADAMTS5 共同作用抑制 ADAMTS5 的表达, 从而影响椎间盘细胞外基质 (ECM) 的变性。Ruan 等^[47]发现 NEAT1、p53 和 p21 在退变髓核组织中显著上调, NEAT1 过表达后, MMP13 和 ADAMTS5 表达紊乱, II 型胶原和蛋白聚糖下调, 而转染 si-NEAT1 可逆转这一效应, 并且 NEAT1 影响 ERK/MAPK 通路的激活, 认为 lncRNA NEAT1 通过 ERK/MAPK 通路参与 ECM 的降解。Li 等^[48]发现 Pol 的负性调控因子 lncRNA-PoIE 的表达在 IDD 组织中上调, 而 PoIE1 表达水平下调, lncRNA-PoIE 的表达水平与 IDD 严重性显著相关; 缺铁或补充铁剂能够影响 lncRNA-PoIE 的表达, lncRNA-PoIE 在髓核

细胞(HNPC)中的异位表达可降低 PolE1 的表达从而导致细胞凋亡,而在 IDD 患者的原代 NP 细胞中特异性敲除 lncRNA-PolE 可恢复 PolE1 表达水平,表明缺铁情况下异常表达的 lncRNA-PolE 通过负性调控 PolE1 促进 IDD 的发展。Wei 等^[49]发现与退变的 NP 细胞相比 lncRNA FAM83H-AS1 在正常的 NP 细胞中表达下调,用 IL-1 β 和 TNF- α 处理 NP 细胞后 FAM83H-AS1 表达增加,异位表达 FAM83H-AS1 诱导 NP 细胞生长及调节 ECM 的表达,并且 FAM83H-AS1 过表达促进 NP 细胞中 Notch1 和 Hes1 的表达,这些说明 lncRNA FAM83H-AS1 靶向作用于 Notch 1 通路促进 NP 细胞的生长及 ECM 的合成。Zhan 等^[50]收集特发性脊柱侧凸和腰椎间盘突出患者的 NP 组织研究发现 lncRNA-HOTAIR 在 IDD 中表达增加,能够诱导 NP 细胞的衰老、凋亡及 ECM 的降解,Wnt/ β -catenin 通路参与了这一过程,并通过 IDD 大鼠模型进行了验证。Zhan 等^[51]认为 lncRNA-HOTAIR 能够通过自噬作用促进 NP 细胞的衰老、凋亡并且体外 NP 细胞实验表明 lncRNA-HOTAIR 的表达水平与 IDD 分级正相关,其过表达增强了细胞自噬;AMPK 抑制剂通过调节 AMPK/mTOR/ULK1 途径抑制 lncRNA-HOTAIR 诱导的自噬,从而逆转 lncRNA-HOTAIR 引起的细胞衰老、凋亡和 ECM 分解,通过大鼠 IDD 模型发现沉默 lncRNA-HOTAIR 能够改善大鼠的 IDD 情况。

lncRNA 的研究拓宽了 ncRNA 参与调节 IDD 的机制,通过作为 ceRNA 来吸附 miRNAs 得到了验证,表明 ncRNA 之间的作用是密切相关的。

4 circRNA 调节 IDD 的机制

circRNA 是一类特殊的非编码 RNA,也是目前 RNA 领域的研究热点。circRNA 分子呈封闭环状结构,不受 RNA 外切酶影响,表达更稳定,不易降解。circRNA 分子富含 miRNA 结合位点,通过竞争性内源 RNA(ceRNA)机制在细胞中起到 miRNA 海绵(miRNA sponge)的作用,进而解除 miRNA 对其靶基因的抑制作用,升高靶基因的表达水平,circRNA 在疾病中发挥着重要的调控作用。近两年来关于 circRNA 在 IDD 中的相关研究表明其在 IDD 中发挥着重要的作用。

Wang 等^[52]于 2018 年率先发现 72 种 circRNA 在正常和退变的 NP 组织中存在差异表达,正常的 NP 组织中 circRNAs-4099 上调最显著。进一步研究发现,TNF- α 通过 MAPK 和 NF- κ B 途径促进了 circRNAs-4099 的表达,从而增加了 II 型胶原和蛋白聚糖的表达;circRNAs-4099 作为海绵 RNA 吸附 miR-616-5p 逆转了其对于 SOX9 的抑制,参与 NP 细胞中 ECM 的合成。这一研究结果为后续关于 circRNA 在 IDD 的作用机制提供了思路,也为进一步明确 IDD 病因、寻求生物疗法奠定了基础。

Cheng 等^[53]发现 XIAP 在炎症因子处理的 NP 细胞和退变的 NP 细胞中的表达均下降且与细胞的凋亡及 ECM

代谢失衡直接相关,miR-200c 通过抑制 XIAP 来调节 NP 细胞的生存和功能,circVMA21 作为 miR-200c 的 ceRNA 通过靶向作用于 miR-200c 和 XIAP 在 NP 细胞中发挥作用,腹腔注射 circVMA21 可减轻大鼠的 IDD,综上可认为 CircVMA21 可通过 miR-200c-XIAP 通路缓解炎症细胞因子诱导的 NP 细胞凋亡及 ECM 代谢失衡。Guo 等^[54]认为 circ-GRB10 通过抑制 miR-328-5p 上调 ERBB2 的表达促进了营养缺乏情况下 NP 细胞的存活。Wang 等^[55]研究表明 circ-SEMA4B 在 IDD 组织中明显下调,过表达 circ-SEMA4B 能够逆转 IL-1 β 通过 Wnt 通路诱导的 NP 细胞衰老,circ-SEMA4B 作为 miR-431 的 ceRNA 能够竞争性结合 FRP1 和 GSK-3 β 从而通过 Wnt 通路抑制 IL-1 β 诱导的 NP 细胞凋亡。Xiang 等^[56]发现过表达 circRNA-CIDN 能抑制压力负荷诱导的 NP 细胞凋亡和 ECM 降解,circRNA-CIDN 是 miR-34a-5p 的海绵 RNA,并且 miR-34a-5p 能够通过 SIRT1 促进压力负荷诱导的 NP 细胞凋亡和 ECM 降解。

Song 等^[57]研究证实 circRNA-104670 直接与 miR-17-3p 结合,而后 miR-17-3p 靶向作用于 MMP-2。ROC 曲线提示 circRNA-104670 和 miR-17-3p 对 IDD 具有良好的诊断意义。siRNA 抑制 circRNA-10467 后能够抑制 NP 细胞凋亡及 MMP-2 的表达,而促进 ECM 的合成,而 miR-17-3p 可以逆转,并通过大鼠 IDD 模型进行了验证。因此表明 circRNA-10467 在 IDD 的 NP 组织中上调并作为 ceRNA 通过 miR-17-3p 调控 MMP-2 的表达。

通过上述研究不难发现 circRNA 对于 IDD 的调控途径(图 1)。目前研究表明,circRNA 主要是通过作为 ceRNA 吸附 mi-RNA 来调控 IDD,并且发现 circRNA-104670 具有良好的诊断意义,如何进一步评价其诊断意义,是否可以作为诊断 IDD 的特异标志物或筛查的标志物值得进一步研究。

5 miRNA、lncRNA 及 circRNA 的相互作用

综上,非编码 RNA(miRNA、lncRNA 及 circRNA)参与了 IDD 发生发展的多个环节(表 1~3),但其之间的作用及机制并分完全割裂。可以看到在 lncRNA 及 circRNA 可以通过 miRNA 来调节 NP 及 CEP 组织、ECM、炎症反应、自噬功能等来促进或抑制 IDD 的发生。miRNA 处于调节的中心,是否可以通过构建一个调控网络来进一步阐明非编码 RNA 在 IDD 中的作用机制亟待解决。

Zhu 等^[58]利用数据库中收集的基因芯片数据构建 lncRNA/circRNA-miRNA-mRNA ceRNA 调控网络,探索 miRNA、lncRNA 及 circRNA 之间的相互作用,结果表明 MALAT1/hsa -circRNA -102348 -hsa -miR -185 -5p -TGFB1/FOS、MALAT1 -hsa -miR -155 -5p -HIF1A、hsa -circRNA -102399 -hsa -miR -302a -3p -HIF1A、MALAT1 -hsa -miR -519d -3p -MAPK1 以及 hsa -circRNA -100086 -hsa -miR -509 -3p -MAPK1 在 IDD 中起着重要作用,可能

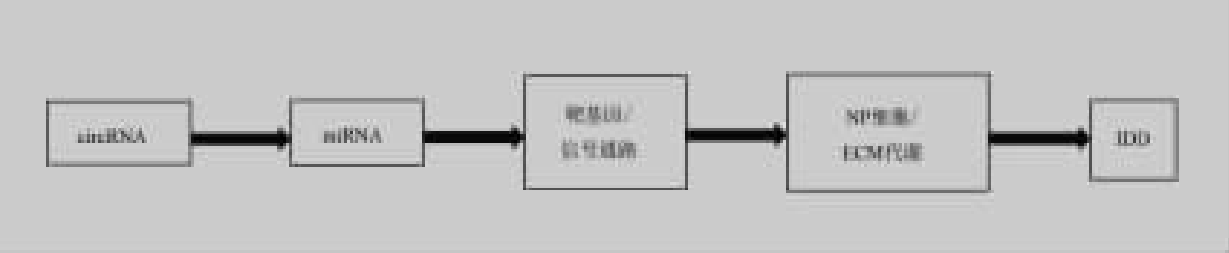


图 1 circRNA 调控 IDD 的途径

表 1 miRNA 调节 IDD 的机制

miRNA	靶基因/通路	功能	在 IDD 中的表达	对 IDD 的作用	参考文献
miR-138-5p	PTEN/PI3K/Akt/SIRT1	促进 TNF- α 介导 NP 细胞凋亡	上调	促进	Wang ^[16]
miR-15a	MAP3K9	促进 NP 细胞凋亡	上调	促进	Cai ^[17]
miR-30d	SOX9	促进 NP 细胞凋亡及 ECM 降解	上调	促进	Lv ^[18]
miR-141	SIRT1/NF- κ B	促进 NP 细胞凋亡	上调	促进	Ji ^[19]
miR-143-5p	eEF2/AMPK	促进 NP 细胞的凋亡和衰老	上调	促进	Yang ^[20]
miR-24-3p	Igfbp5/ER	促进 NP 细胞凋亡	上调	促进	Chen ^[21]
miR-486-5p	FOXO1	抑制 NP 细胞凋亡、ECM 降解及炎症	下调	抑制	Chai ^[22]
miR-145	ADAM17	抑制 NP 细胞凋亡、增加 ECM 合成	下调	抑制	Zhou ^[23]
miR-129-5p	BMP2	抑制 NP 细胞凋亡	下调	抑制	Yang ^[24]
miR-573	Bax	抑制 NP 细胞凋亡	下调	抑制	Wang ^[25]
miR-140	Adamts-5/Dne	参与软骨终板退变	下调	抑制	程细高 ^[27]
mi-R34a	Bcl-2	促进 Fas 介导的 CEP 细胞凋亡	上调	促进	Chen ^[28]
miR-491-5p	MMP-9	抑制 II 型胶原表达	下调	抑制	王磊 ^[29]
miR-127-5p	MMP-13	抑制 II 型胶原表达	下调	抑制	Hua ^[30]
miR-210	ATG7/MMP-3/MMP-13	促进 ECM 降解	上调	促进	Wang ^[31]
miR-21	PTEN/Akt/MTOR/MMP-3/MMP-9	促进 ECM 降解	上调	促进	Wang ^[32]
miR-7	GDF5	促进 IL-1 β 诱导的 ECM 降解	上调	促进	Liu ^[33]
miR-132	GDF5	促进 ECM 降解	上调	促进	Liu ^[34]
miR-625-5p	TLR4/NF- κ B	促进炎症反应	上调	促进	Shen ^[35]
miR-194-5p	CUL4A/CUL4B	抑制炎症反应	下调	抑制	Chen ^[36]
miR-203-3p	ER- α	促进炎症反应	上调	促进	Cai ^[37]
miR-181a	TRAIL/ERK	抑制炎症反应	下调	抑制	Sun ^[38]

是治疗 IDD 的关键。然而该研究缺乏进一步的体内及体外实验的验证,这也为后续研究提供了方向。

6 ncRNA 治疗 IDD 的方法

随着对 ncRNA 在 IDD 中机制研究的不断深入,采用载体传递 ncRNA 靶向治疗 IDD 取得了一定的进展,并在动物模型上得到了验证。

6.1 病毒载体

病毒载体具有转染效率高的特点,常见的有腺相关病毒 (adeno-associated viral vector, AAV)、慢病毒 (lentivirus) 和逆转录病毒 (retrovirus) 载体,但逆转录病毒能够将自己的遗传物质整合到宿主的 DNA,导致机体组织恶变,而腺相关病毒和慢病毒具有安全性高和潜在不良反应少的特点,应用比较广泛。研究表明注射腺相关病毒

载体携带的 miRNA-590-3p 和 miRNA-190-3p 能促进心肌梗死后细胞的增生和修复^[59]。慢病毒具有感染非分裂期细胞、容纳外源性基因片段大及长期稳定表达等特点,并且其免疫原性低,因而应用广泛^[60]。Zhang 等^[61]通过体内和体外实验发现慢病毒具有更高的转导效率和更长的转导时间,可以作为高效稳定的载体将目标基因转导致椎间盘细胞。此外, Liu 等^[62]通过对兔体内及体外实验研究表明杆状病毒可作为椎间盘疾病基因治疗的载体。虽然病毒作为载体具有一定的优点,但因其免疫原性和全身毒性,在应用上受到了一定的限制^[63],这也是目前研究所关注的热点。

6.2 纳米微粒载体

纳米材料和纳米技术的发展使得其在医学领域显示出了极大的前景,纳米载体转导 ncRNA 已被证明是癌症

表 2 lncRNA 调节 IDD 的机制

lncRNA	靶基因/通路	功能	在 IDD 中的表达	对 IDD 的作用	参考文献
HCG18	miR-146a-5p/TARF6/NF- κ B	抑制 NP 细胞生长	上调	促进	Xi ^[39]
RP11-296A18.3	miR-138/HIF1A	抑制 NP 细胞增殖和 ECM 合成	上调	促进	Wang ^[40]
H19	miR-22/LEF1/Wnt/ β -catenin	促进 NP 细胞衰老、ECM 降解	上调	促进	Wang ^[41]
RMRP	miR-206/MMP13/ADAMTS4	促进 NP 细胞生长、ECM 合成	上调	促进	Wang ^[42]
HOTAIR	miR-34a/Bcl-2	抑制 NP 细胞凋亡	下调	抑制	Yu ^[43]
Linc00641	miR-153-3p/ATG5	促进自噬	上调	促进	Wang ^[44]
LINC00958	miR-203/Smad3	促进 NP 细胞生长、ECM 降解	上调	促进	Zhao ^[45]
ADAMTS5	RREB1/ADAMTS5	抑制 ECM 降解	下调	抑制	Wang ^[46]
NEAT1	ERK/MAPK	促进 ECM 降解	上调	促进	Ruan ^[47]
lncRNA-PolE	PolE1	促进 NP 细胞凋亡	上调	促进	Li ^[48]
FAM83H-AS1	Notch 1	促进 NP 细胞生长及 ECM 合成	下调	抑制	Wei ^[49]
HOTAIR	Wnt/ β -catenin	促进 NP 细胞衰老凋亡及 ECM 降解	上调	促进	Zhan ^[50]
HOTAIR	AMPK/mTOR/ULK1/AMPK/mTOR/	促进 NP 细胞衰老凋亡及 ECM 降解	上调	促进	Zhan ^[51]

表 3 circRNA 调节 IDD 的机制

circRNA	靶基因/通路	功能	在 IDD 中的表达	对 IDD 的作用	参考文献
circRNAs-4099	miR-616-5p/SOX9	促进 ECM 合成	上调	抑制	Wang ^[52]
circ-VMA21	miR-200c/XIAP	抑制 NP 细胞凋亡及 ECM 降解	下调	抑制	Cheng ^[53]
circ-GRB10	miR-328-5p/ERBB2	促进 NP 细胞生长	下调	抑制	Guo ^[54]
circ-SEMA4B	miR-431/FRP1/GSK-3 β /Wnt	抑制 NP 细胞凋亡	下调	抑制	Wang ^[55]
circRNA-CIDN	miR-34a-5p/SIRT1	抑制 NP 细胞凋亡及 ECM 降解	下调	抑制	Xiang ^[56]
circRNA-104670	miR-17-3p	促进 NP 细胞凋亡及 ECM 降解	上调	促进	Song ^[57]

患者的有力治疗策略^[63]。Feng 等^[64]设计了一种两阶段 miRNA 传递系统,通过 miR-29a 抑制 IVD 纤维化,以减缓或逆转 IDD 过程,该系统由多聚体胶束和可注射水凝胶组成。同时,大鼠的体内实验结果表明 miR-29a 能抑制 MMP-2 的表达,抑制纤维化过程,逆转椎间盘退变。Fang 等^[65]发现在大鼠中干细胞膜包被的纳米凝胶可有效降低机体免疫系统清除率,从而提高负载阿霉素的纳米凝胶的抗肿瘤效果。纳米材料所展现的优异性能决定其在生物医学领域具有良好的应用前景,但纳米材料在生物医学中的应用仍面临着问题,如细胞毒性,要获得安全稳定高效的纳米微粒载体还需要深入研究。

6.3 外泌体载体

外泌体(exosome)是由多种细胞分泌的具有脂质双层膜的微小膜泡,直径约 40~150nm,富含核酸(miRNA、lncRNA、circRNA)、蛋白、胆固醇等,在机体内广泛存在。近年来,研究发现外泌体能够通过携带生物活性分子调节受体细胞功能,特别是其富含的 ncRNA 参与的病理生理过程受到人们的广泛关注^[66]。外泌体中的生物活性物质能够被选择性地包裹、分泌和转移到细胞之间,并且能依赖于亲代细胞和病理生理条件而发生变化^[66]。研究发现,外泌体作为 ncRNA 的天然载体参与肿瘤细胞间信息传递,

能调节胶质瘤的增殖、侵袭、免疫逃逸和耐药性^[67]。Cheng 等^[68]通过大鼠 IDD 模型研究表明,间充质干细胞介导的外泌体传递外源性 miR-21,能抑制髓核细胞凋亡,延缓椎间盘退变。尽管外泌体作为 ncRNA 的载体具有天然的优越性,但其来源广泛,分离鉴别困难,临床应用仍需进一步研究。

目前关于 ncRNA 在 IDD 生物治疗的研究,还停留在体内和体外实验阶段,并且主要是大鼠和兔的 IDD 模型。虽然研究表明能够改善或延缓 IDD,但由于大鼠和兔椎间盘的生物力学特性与人的相差较大,如何设计开发符合人体生物力学特性的椎间盘退变模型值得研究。

7 应用前景和展望

ncRNA 在体内广泛存在,能够在转录后水平参与体内病理生理过程的调控,其作为生物治疗的靶点,特别是 miRNA 在肿瘤及心血管疾病的治疗上取得了较大的突破,研发的药物已进入临床试验阶段^[69]。通过识别肿瘤患者体内的“驱动基因”,然后将 ncRNA 通过载体递送至体内能够在基因水平抑制肿瘤^[63]。近年来在 IDD 领域 ncRNA 的相关作用研究如雨后春笋,可以说是绝对的热点,也是众多学者聚焦的方向。首先,分子生物学的突破为此提供

了基础,关于 miRNA、lncRNA 及 circRNA 的作用及其机制的研究取得了重大突破,为在 IDD 中的研究提供了研究方向。其次,IDD 发生率高,其导致的脊柱外科疾病尚无特效药物或者靶向药物,在疾病发生的初期及进展期采用对症保守治疗、晚期采用手术治疗的阶梯疗法。这与目前精准医学的趋势相左,治的是“症”而不是“病”。最后,近年来关于基础领域的研究越来越受到重视,如何从基因层面解决问题成为研究者的突破口。这些为研究 ncRNA 在 IDD 的作用机制及未来应用提供了强有力的支撑。

综上所述,可以发现 ncRNA 主要通过调节 NP 细胞的凋亡、ECM 的代谢、炎症反应来参与 IDD 的发生发展,并通过大鼠模型进行了验证。另外,也有研究表明对 CEP 的影响同样参与了 IDD。这些为进一步从分子基础明确 IDD 的病因,为 IDD 的生物治疗提供了潜在的靶点,可以说是结果令人欣喜,并且在研究中发现多种 ncRNA 作用于同一靶点,或同一 ncRNA 作用于不同靶点,或 ncRNA 之间相互作用,形成了一个“网络”,共同参与 IDD。

目前的研究虽然发现多种 ncRNA 参与了 IDD 的过程,并通过细胞实验和动物模型对其机制进行了进一步研究,但是目前并未明确 IDD 中的决定性因素。大多数研究仍停留在动物模型验证阶段,并未开发出靶向药物成品并进行大规模的动物实验,距离应用于临床还有很大距离。

未来研究应该关注的方向:①进一步明确 ncRNA 在 IDD 中的作用及其机制,更应该着力进一步的研究,通过大样本的体内及体外模型探索 ncRNA 之间的相互作用及其机制;②寻求能够作为早期筛查、诊断的标志物,反映病情进展变化的检测指标;③设计符合人体生物力学特征的 IDD 模型;④寻求如何构建在体内稳定表达的载体来逆转 IDD 的发生发展。

相信通过进一步的研究,能够设计出符合人体生物力学特性的椎间盘退变模型,研发设计出能用于临床的靶向药物。

8 参考文献

1. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. *Lancet*(London, England), 2017, 390(10100): 1211–1259.
2. Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. *Lancet* (London, England), 2015, 386(9995): 743–800.
3. Cheung KM, Karppinen J, Chan D, et al. Prevalence and pattern of lumbar magnetic resonance imaging changes in a population study of one thousand forty-three individuals [J].

Spine, 2009, 34(9): 934–940.

4. Wang H, Cheng J, Xiao H, et al. Adolescent lumbar disc herniation: experience from a large minimally invasive treatment centre for lumbar degenerative disease in Chongqing, China[J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2013, 115(8): 1415–1419.
5. Dowdell J, Erwin M, Choma T, et al. Intervertebral disk degeneration and repair[J]. *Neurosurgery*, 2017, 80(3S): S46–S54.
6. Beermann J, Piccoli MT, Viereck J, et al. Non-coding RNAs in development and disease: background, mechanisms, and therapeutic approaches[J]. *Physiol Rev*, 2016, 96(4): 1297–1325.
7. Yao RW, Wang Y, Chen LL. Cellular functions of long non-coding RNAs [J]. *Nat Cell Biol.*, 2019, 21(5): 542–551.
8. Boubriak OA, Watson N, Sivan SS, et al. Factors regulating viable cell density in the intervertebral disc: blood supply in relation to disc height [J]. *J Anat*, 2013, 222(3): 341–348.
9. Kadow T, Sowa G, Vo N, et al. Molecular basis of intervertebral disc degeneration and herniations: what are the important translational questions[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2015, 473(6): 1903–1912.
10. Kepler CK, Ponnappan RK, Tannoury CA, et al. The molecular basis of intervertebral disc degeneration [J]. *Spine J*, 2013, 13(3): 318–330.
11. Singh K, Masuda K, Thonar EJ, et al. Age-related changes in the extracellular matrix of nucleus pulposus and annulus fibrosus of human intervertebral disc[J]. *Spine*, 2009, 34(1): 10–16.
12. Teague EM, Print CG, Hull ML. The role of microRNAs in endometriosis and associated reproductive conditions[J]. *Hum Reprod Update*, 2010, 16(2): 142–165.
13. Smyth LA, Boardman DA, Tung SL, et al. MicroRNAs affect dendritic cell function and phenotype[J]. *Immunology*, 2015, 144(2): 197–205.
14. Li Z, Yu X, Shen J, et al. MicroRNA in intervertebral disc degeneration [J]. *Cell proliferation*, 2015, 48(3): 278–83.
15. Wang C, Wang WJ, Yan YG, et al. MicroRNAs: New players in intervertebral disc degeneration [J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 450: 333–341.
16. Wang B, Wang D, Yan T, et al. MiR-138-5p promotes TNF- α -induced apoptosis in human intervertebral disc degeneration by targeting SIRT1 through PTEN/PI3K/Akt signaling [J]. *Exp Cell Res*, 2016, 345(2): 199–205.
17. Cai P, Yang T, Jiang X, et al. Role of miR-15a in intervertebral disc degeneration through targeting MAP3K9 [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 87: 568–574.
18. 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.
19. Ji ML, Jiang H, Zhang XJ, et al. Preclinical development of a microRNA-based therapy for intervertebral disc degeneration

- tion[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 5051.
20. 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.
 21. Chen Z, Liu M, Zhang W, et al. miR-24-3p induces human intervertebral disc degeneration by targeting insulin-like growth factor binding protein 5 and the ERK signaling pathway[J]. *Life Sci*, 2020, 243: 117288.
 22. Chai X, Si H, Song J, et al. miR-486-5p inhibits inflammatory response, matrix degradation and apoptosis of nucleus pulposus cells through directly targeting FOXO1 in intervertebral disc degeneration[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2019, 52(1): 109-118.
 23. Zhou J, Sun J, Markova DZ, et al. MicroRNA-145 overexpression attenuates apoptosis and increases matrix synthesis in nucleus pulposus cells [J]. *Life Sci*, 2019, 221: 274-283.
 24. Yang W, Sun P. Downregulation of microRNA-129-5p increases the risk of intervertebral disc degeneration by promoting the apoptosis of nucleus pulposus cells via targeting BMP2[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(12): 19684-19690.
 25. 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.
 26. 程实, 贾治伟. 椎间盘软骨终板干细胞及其在椎间盘退变和修复中作用的研究进展[J]. *中国骨与关节杂志*, 2019, 8(10): 791-795.
 27. 程细高, 贾惊宇, 吴添龙, 等. miR-140-5P 参与调控颈椎软骨终板退变[J]. *南昌大学学报(医学版)*, 2014, 54(5): 1-5.
 28. Chen H, Wang J, Hu B, et al. MiR-34a promotes Fas-mediated cartilage endplate chondrocyte apoptosis by targeting Bcl-2[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 406(1-2): 21-30.
 29. 王磊, 李天旺, 刘建强, 等. MicroRNA-491-5p 调控基质金属蛋白酶 9 参与退变性腰椎侧凸的发病机制[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(2): 248-253.
 30. Hua WB, Wu XH, Zhang YK, et al. Dysregulated miR-127-5p contributes to type II collagen degradation by targeting matrix metalloproteinase -13 in human intervertebral disc degeneration[J]. *Biochimie*, 2017, 139: 74-80.
 31. Wang C, Zhang ZZ, Yang W, et al. MiR-210 facilitates ECM degradation by suppressing autophagy via silencing of ATG7 in human degenerated NP cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 470-479.
 32. 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.
 33. 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.
 34. Liu W, Xia P, Feng J, et al. MicroRNA-132 upregulation promotes matrix degradation in intervertebral disc degeneration[J]. *Exp Cell Res*, 2017, 359(1): 39-49.
 35. 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.
 36. Chen Z, Han Y, Deng C, et al. Inflammation-dependent downregulation of miR-194-5p contributes to human intervertebral disc degeneration by targeting CUL4A and CUL4B [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 19977-19989.
 37. Cai Z, Li K, Yang K, et al. Suppression of miR-203-3p inhibits lipopolysaccharide induced human intervertebral disc inflammation and degeneration through upregulating estrogen receptor α [J]. *Gene Ther*, 2020, 27(9): 417-426.
 38. 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.
 39. Xi Y, Jiang T, Wang W, 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.
 40. Wang X, Lv G, Li J, et al. LncRNA-RP11-296A18.3/miR-138/HIF1A pathway regulates the proliferation ECM synthesis of human nucleus pulposus cells(HNPCs)[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(12): 4862-4871.
 41. Wang X, Zou M, Li J, et al. LncRNA H19 targets miR-22 to modulate H₂O₂-induced deregulation in nucleus pulposus cell senescence, proliferation, and ECM synthesis through Wnt signaling[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(6): 4990-5002.
 42. 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.
 43. 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.
 44. 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.
 45. Zhao K, Zhang Y, Yuan H, et al. Long noncoding RNA LINC00958 accelerates the proliferation and matrix degradation of the nucleus pulposus by regulating miR-203/SMAD3 [J]. *Aging*, 2019, 11(23): 10814-10825.
 46. 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(Lond)*, 2017, 131(10): 965–979.
47. 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(7): 595–600.
 48. 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.
 49. Wei R, Chen Y, Zhao Z, et al. LncRNA FAM83H-AS1 induces nucleus pulposus cell growth via targeting the Notch signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12): 22163–22171.
 50. Zhan S, Wang K, Song Y, et al. Long non-coding RNA HOTAIR modulates intervertebral disc degenerative changes via Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1): 201.
 51. Zhan S, Wang K, Xiang Q, et al. LncRNA HOTAIR upregulates autophagy to promote apoptosis and senescence of nucleus pulposus cells[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3): 2195–2208.
 52. Wang H, He P, Pan H, et al. Circular RNA circ-4099 is induced by TNF- α and regulates ECM synthesis by blocking miR-616-5p inhibition of Sox9 in intervertebral disc degeneration[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(4): 27.
 53. Cheng X, Zhang L, Zhang K, et al. Circular RNA VMA21 protects against intervertebral disc degeneration through targeting miR-200c and X linked inhibitor-of-apoptosis protein [J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77(5): 770–779.
 54. Guo W, Zhang B, Mu K, et al. Circular RNA GRB10 as a competitive endogenous RNA regulating nucleus pulposus cells death in degenerative intervertebral disk[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3): 319.
 55. Wang X, Wang B, Zou M, et al. CircSEMA4B targets miR-431 modulating IL-1 β -induced degradative changes in nucleus pulposus cells in intervertebral disc degeneration via Wnt pathway[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(11): 3754–3768.
 56. Xiang Q, Kang L, Wang J, et al. CircRNA-CIDN mitigated compression loading-induced damage in human nucleus pulposus cells via miR-34a-5p/SIRT1 axis[J]. *EBioMedicine*, 2020, 53: 102679.
 57. Song J, Wang HL, Song KH, et al. CircularRNA_104670 plays a critical role in intervertebral disc degeneration by functioning as a ceRNA[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(8): 94.
 58. Zhu J, Zhang X, Gao W, et al. LncRNA/circRNA-miRNA-mRNA ceRNA network in lumbar intervertebral disc degeneration[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(4): 3160–3174.
 59. Zaccogna S, Zentilin L, Giacca M. Adeno-associated virus vectors as therapeutic and investigational tools in the cardiovascular system[J]. *Circ Res*, 2014, 114(11): 1827–1846.
 60. 黄勇, 丰干钧, 刘立岷, 等. 椎间盘退变中微小 RNA 及其非病毒载体的研究进展[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2017, 31(1): 116–121.
 61. Zhang YH, Zhao YL, Li B, et al. Lentivirus is an efficient and stable transduction vector for intervertebral disc cells[J]. *World Neurosurg*, 2018, 111: e348–e354.
 62. Takeoka Y, Yurube T, Nishida K. Gene therapy approach for intervertebral disc degeneration: an update[J]. *Neurospine*, 2020, 17(1): 3–14.
 63. Wang Y, Sun S, Zhang Z, et al. Nanomaterials for Cancer Precision Medicine[J]. *Adv Mater*, 2018, 30(17): e1705660.
 64. 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.
 65. Fang PY, Gómez Ramos LM, Holguin SY, et al. Functional RNAs: combined assembly and packaging in VLPs[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(6): 3519–3527.
 66. Pegtel DM, Gould SJ. Exosomes[J]. *Annu Rev Biochem*, 2019, 88: 487–514.
 67. Cheng J, Meng J, Zhu L, et al. Exosomal noncoding RNAs in Glioma: biological functions and potential clinical applications[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 66.
 68. Cheng X, Zhang G, Zhang L, et al. Mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-21 via exosomes to inhibit nucleus pulposus cell apoptosis and reduce intervertebral disc degeneration[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(1): 261–276.
 69. Christopher AF, Kaur RP, Kaur G, et al. MicroRNA therapeutics: discovering novel targets and developing specific therapy[J]. *Perspect Clin Res*, 2016, 7(2): 68–74.

(收稿日期:2020-03-18 修回日期:2020-08-18)

(本文编辑 彭向峰)