

天然小分子治疗椎间盘退变的作用机制研究进展

Research progress of mechanism of natural small molecules in the treatment of intervertebral disc degeneration

郭佳霖¹,何志伟¹,杨学军²

(1 内蒙古医科大学研究生学院 010000 呼和浩特市;2 内蒙古医科大学附属医院骨科 010010 呼和浩特市)

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2022.10.11

中图分类号:R681.5 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2022)-10-0945-09

腰椎间盘突出(intervertebral disc degeneration,IDD)已被证实是引起腰痛(low back pain,LBP)的主要原因之一^[1]。椎间盘(intervertebral disc,IVD)是位于脊柱椎体间可适度移动的组织,由三部分组成,包括中央高度水合的髓核(nucleus pulposus,NP)、周围弹性的纤维环(annulus fibrosus,AF)及软骨终板(cartilaginous endplate,CEPs)^[2];IDD的发生是一个复杂病理变化过程,炎症反应、氧化应激、细胞凋亡和细胞外基质(extracellular matrix,ECM)合成与分解代谢等多种生物过程在IDD发生发展中起着重要作用^[3]。迄今为止,大多数IDD的治疗方式,主要包括卧床休息、非甾体抗炎药和镇痛药等保守治疗,以及腰椎间盘摘除术和椎间融合术等外科手术干预,这些方法主要侧重于暂时缓解症状而不是针对发病机制,因此IDD的进展不会被逆转^[4]。近年来,干细胞、基因和分子治疗等新策略被用于IVD的再生。尽管这些方法带来了新的治愈可能性,但仍有大量困难需要克服^[5]。

天然小分子是广泛存在于动植物及其他天然物质中具有药理活性的物质,如多酚类、黄酮类和生物碱等,因其具有抗炎、抗氧化等作用受到越来越多学者的关注。随着现代医学研究的不断发展,使用天然小分子药物治疗IDD目前已被视为常规疗法的可能替代方案^[6]。此外,天然小分子具有独特的药物动力学优势,当其分子量<500Da时,具有更高的生物利用度,更易穿透细胞进而发挥作用,部分分子量较大者也同样在IDD治疗中发挥着重要作用^[7]。目前,基于天然小分子的治疗是一个相对缺乏研究却有潜力的领域;在这方面,一些天然小分子已经在体外、体内研究中展现出作为治疗IDD药物的潜力^[8]。这些小分子治疗药物具有诱导椎间盘细胞再生和防止IDD进展的多种作用,包括抗氧化、抗炎、抗衰老、抗凋亡、抗分解代谢、调节自噬和抗衰老。笔者就天然小分子对IDD治疗的作用机制综述如下。

1 抗炎作用

炎症被认为是IDD过程中的关键因素,一些炎症细胞因子和相关信号通路被认为是IDD潜在的治疗靶点^[9]。白细胞介素1(interleukin-1,IL-1)是一种与IDD密切相关的细胞因子,在IL-1家族的11种细胞因子中,研究最多的是IL-1 α 和IL-1 β ;IL-1 α 和IL-1 β 可以激活核因子 κ B(nuclear factor kappa-B,NF- κ B)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)信号通路,作为下游效应,这些细胞因子激活退变相关基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMPs)和解聚蛋白样金属蛋白酶(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs,ADAMTS),最终促进ECM降解;其中IL-1 β 可上调多种炎症因子的表达,来扩增炎症反应,因此,认为IL-1 β 可能是炎症级联事件的关键启动子^[10]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)是一种多效性细胞因子,也参与IVD变性的多种病理过程;TNF- α 可以诱导IVD产生多种促炎细胞因子,从而进一步放大炎症反应,同时,TNF- α 主要通过NF- κ B/MAPK信号通路刺激ECM降解和细胞凋亡^[10]。MAPK信号通路,在IDD中起着关键作用,包括细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated protein kinase1/2,ERK1/2)、c-Jun N末端激酶(c-jun N-terminal kinase,JNK)、p38 MAPK和ERK5这4条信号通路。其中,JNK和p38与炎症联系较密切,MAPK信号通路参与调节细胞活性并介导了IDD的炎症反应。NF- κ B通路在调节炎症介质、细胞凋亡以及ECM的传导中发挥着重要作用,在IDD中,NF- κ B信号被显示异常上调,而抑制NF- κ B信号有助于增加NP细胞的活性,从而使蛋白聚糖合成增多,改善IVD中的炎症反应和抑制NP细胞的凋亡。磷脂酰肌醇-3激酶(phosphatidylinositol-3-kinase,PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B,AKT)信号通路是哺乳动物中一种重要的信号转导途径,具有多种生物学功能,参与了IDD的生物进程^[11]。

在各种研究中,包括柚皮苷、大麻二醇、淫羊藿苷、白藜芦醇、小檗碱、虎杖苷、芒果苷、芹菜素、桃叶珊瑚苷、川芎内酯和灵芝酸A对IVD细胞中IL-1和TNF- α 水平的

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:(0471)2576360 E-mail:1134052142@qq.com
通讯作者:杨学军 E-mail:yangxuejun2004@126.com

下调有影响,进而抑制炎症反应^[12-18]。根据文献报道,淫羊藿苷、白藜芦醇和脱氢木香内酯可以抑制 NF- κ B 和 p38/MAPK 信号通路,从而调节炎症反应并防止退行性级联反应的发展^[18,19]。而常山酮、芒果苷、雷公藤红素、水苏碱、绿原酸、穿心莲内酯、川芎内酯、山柰酚、小檗碱和姜黄素专门阻断 NF- κ B 信号通路^[16-18,20-24]。Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4,TLR4)作为 I 型跨膜蛋白受体,参与炎症反应,通过胞内相关信号转导途径激活 NF- κ B;在 Chen 等^[25]研究中,发现氧化苦参碱可以通过 TLR4/NF- κ B 通路来减轻 NP 细胞的炎症。另一方面,细胞内 p38/MAPK 信号可被染料丹参酮 II A 和芝麻素阻断^[26,27]。上述细胞因子和相关信号通路与炎症反应的关系密切,使得天然小分子针对相关因子和通路的靶向治疗变得尤为重要。

在 IDD 的进展过程中,NF- κ B 信号通路位于 PI3K/AKT 信号通路的下游处,因此,PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路也被认为是治疗 IDD 的主要途径,而 PI3K 是潜在的重要靶点;酪醇可通过激活 PI3K/AKT 通路抑制 IL-1 β 刺激的人 NP 细胞的炎症反应^[28]。核因子红系 E2 相关因子 2(nuclear factor-erythroid 2-related factor-2,Nrf2)在骨关节炎炎症反应的调节中起着至关重要的作用,其缺失会导致对炎症性疾病的易感性增加;Lin 等^[29]研究证明,木樨草苷促进 Nrf2 在细胞核中的表达,而 Nrf2 通过激活 NP 细胞中的 Nrf2/血红素加氧酶-1(haeme oxygenase-1,HO-1)信号传导发挥作用,并通过抑制 NF- κ B 信号级联反应来减轻炎症。汉黄芩素^[30]亦可通过激活 Nrf2-抗氧化反应元件(antioxidant response element,ARE)信号通路和阻断 IL-1 β 诱导的 P38 和 JNK 信号通路,在体内外发挥抗炎作用。另有报道^[31]小豆蔻素也可通过激活 IL-1 β 诱导的大鼠 NP 细胞中的 Nrf2 来抑制 NF- κ B 信号传导而发挥抗炎作用。Nrf2 是调节 IDD 的关键因子,在小分子治疗 IDD 中发挥重要作用。调节前列腺素 E2(prostaglandin E2,PGE2)合成的环氧合酶-2(Cyclooxygenase-2,COX-2)是调节 IVD 炎症反应的另一种炎症因子,目前研究表明,大麻二酚、小檗碱、淫羊藿苷、木樨草苷、姜黄素、雷公藤红素、汉黄芩素、穿心莲内酯、川芎内酯和灵芝酸 A 通过抑制 COX-2 和诱导性一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase,iNOS)表达使 PGE2 合成减少,实现对 NP 细胞的抗炎作用,达到缓解 IDD 的目的^[13,17,18,21,23,29,30]。

NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein3,NLRP3)炎性小体在 IDD 中被广泛激活,激活的 NLRP3 炎性小体主要参与 IDD 的炎症反应、焦亡、ECM 降解和 IVD 细胞凋亡,激活后产生的炎症效应因子进一步介导了 IDD 的发生^[32];和厚朴酚可通过抑制过氧化氢(H₂O₂)刺激的 NP 细胞中 NF- κ B 和 JNK 的磷酸化以及硫氧还蛋白相互作用蛋白(Thioredoxin-interacting protein, TXNIP)-NLRP3 炎性小体的激活,抑制下游炎症介质如 IL-1 β 的激活,进而缓解 IDD^[33]。芦荟素治疗也可以通过转化生长因子- β -活化激酶 1 (transforming growth factor- β -activated kinase 1,

TAK1)/NF- κ B/NLRP3 途径逆转 TNF- α 诱导的 NP 细胞中促炎因子的产生^[34]。据报道,环状 GMP-AMP 合酶(cyclic GMP-AMP synthase,cGAS)和 IFN 基因刺激剂(stimulator of IFN gene,Sting)在各种退行性疾病中发挥着重要作用,因此抑制 cGAS/Sting 通路为各种退行性疾病提供了治疗方法,表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechin gallate,EGCG)可通过下调 cGAS/Sting /NLRP3 途径,发挥显著的抗炎作用^[35]。此外,EGCG 发挥抗炎作用可通过阻断 IL-1 受体相关激酶 1 (IL-1 receptor associated kinase1, IRAK-1)和抑制 NF- κ B/p38/JNK 信号通路来实现的^[36]。综上,经典细胞因子和信号通路已被证实是天然小分子抗炎治疗过程中的重要靶点;此外,Nrf2,NLRP3 炎症小体等细胞因子和信号通路等也被发现在炎症中发挥作用,而天然小分子也能通过它们发挥抗炎作用(图 1),为 IDD 个体化治疗提供了新的解决方案。

2 抗氧化作用

氧化应激在 IDD 发病机制中起着至关重要的作用,活性氧(reactive oxygen species,ROS)是与氧化应激密切相关的一类自由基,ROS 的产生是有氧代谢不可避免的结果^[37];在 IDD 过程中,局部通常会产生和释放过量的 ROS,提示氧化应激参与了 IDD 的过程^[38];ROS 可以改变基质蛋白并引发 ECM 的氧化损伤,从而破坏 IVD 的机械性能^[37]。值得注意的是,使用抗氧化剂可以有效地防止氧化应激对细胞的损伤,众多天然小分子正在因其抗氧化的特性被研究,例如,柚皮苷、大麻二酚、木樨草苷、小檗碱、芦荟素、芒果苷、马里苷和淫羊藿苷都可以抑制 IL-1 β 、TNF- α 、H₂O₂ 等诱导的 NP 细胞氧化应激水平,以达到缓解氧化应激下 IDD 的作用^[16,18,29,34,39]。Krupkova 等^[40]的研究发现,EGCG 处理的 IVD 细胞在严重氧化应激下的存活率显著提高,其治疗作用是通过激活 PI3K/AKT 通路和抑制线粒体释放细胞色素 c 来实现的。另一项研究中葛根素亦可通过激活 PI3K/Akt 通路,稳定线粒体膜电位,抑制 ROS 积聚,从而减轻体外和大鼠体内 NP 间充质干细胞受压迫后的凋亡,维持细胞内稳态^[41]。另有报道,大蒜素和丹参酮 IIA 可通过 p38-MAPK 通路来缓解氧化应激反应,进而逆转 IDD^[27,42]。天然小分子也可通过经典信号通路来抑制氧化应激来延缓 IDD。

低温保存可以用来延长细胞的保存时间,但在冷冻和解冻过程中,会积累过量的 ROS;为此,Chan 等^[43]研究了淫羊藿苷作为低温保存培养基添加剂的效果,他们发现淫羊藿苷提高了人类 NP 来源间充质干细胞的活力、减少了 ROS 的含量和细胞凋亡,为人类 NP 来源间充质干细胞的冷冻保存提供了解决方案。去乙酰化酶(Sirtuins)是介导衰老相关疾病延长或延缓寿命的主要分子,SIRT1 和 SIRT3 通过参与炎症、氧化应激和线粒体功能障碍等过程介导 IDD^[44]。白藜芦醇可通过刺激 SIRT1 和在不同环境下激活 PI3K/AKT 通路,来实现对 NP 细胞的抗氧化作用^[18]。在另

一项研究^[45]中,和厚朴酚可通过 AMPK/PGC-1 α /SIRT3 信号通路增强线粒体抗氧化和线粒体动力学,挽救了氧化应激诱导的细胞凋亡和衰老,并改善了线粒体功能障碍。SIRT3 在通过多种病理生理过程参与 IDD 进展,而通过刺激 SIRT3 缓解氧化应激是缓解 IDD 的重要途径。

Nrf2 可调节抗氧化基因并诱导细胞防御氧化应激的危害;例如,染料木黄酮和淫羊藿苷通过激活 Nrf2 有效地减轻了氧化应激下的 IDD^[46,47];另一项研究,观察到 Nrf2 的表达水平随着 IDD 的发展而显著降低,基苯醚苷通过 AKT 和 ERK1/2 信号通路激活 Nrf2 增强了 NP 细胞的抗氧化能力^[48]。Bai 等^[49]研究发现,矢车菊素-3-葡萄糖苷通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路,对人 NP 细胞中 ROS 介导的细胞损伤发挥了保护作用;另外,虎杖苷也可通过激活 NP 细胞中的 Nrf2/HO-1 信号通路来缓解 ROS 介导的线粒体功能障碍^[12]。Song 等^[50]的研究表明,茶多酚可通过激活 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Kelch-like ECH associating protein1, Keap1)/Nrf2/ARE 通路减轻 H₂O₂ 诱导的 NP 细胞氧化应激反应。Nrf2 因子在抗氧化应激中的应用也更加被人们所重视,逐渐成为 IDD 抗氧化治疗中的关键。综上,越来越多的天然小分子作为抗氧化剂被人们所熟知,其抗氧化作用所涉及相关因子和通路等及作用机制的研究也越来越完善(图 2),通过天然小分子缓解氧化应激来治疗 IDD 也必将是未来治疗重要方向。

3 抗凋亡作用

细胞凋亡在 IDD 发病机制中起着重要的作用,IDD 相关的细胞凋亡途径包括外源性死亡受体途径、内源性线粒体途径和 ERS 途径。这些途径通过介导 IVD 细胞死亡诱导 IDD;细胞凋亡调节是 IDD 有吸引力的治疗策略^[51]。几项研究^[15,17,18,33,47,48,52]报道了天然小分子的抗凋亡作用,大麻二醇、矢车菊素-3-葡萄糖苷、基苯醚苷、芹菜素、和厚朴酚、染料木黄酮和川芎内酯可以上调抗凋亡蛋白 B 细胞淋巴瘤 2(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)的细胞浓度,并下调启动子蛋白的凋亡作用,包括裂解的半胱天冬酶 3 (caspase 3)和 BCL 相关 X(BCL-associated X, Bax),以降低人 NP 细胞的凋亡率。一些研究发现,小檗碱和穿心莲

内酯通过抑制 NF- κ B 通路活化来实现对 NP 细胞凋亡的保护作用^[18,23];最新研究表明,过度的压力刺激可诱导 AF 细胞凋亡,而应用柚皮苷可减少循环拉伸诱导的 AF 细胞凋亡来缓解 IDD,其机制可能与抑制氧化应激和激活 NF- κ B 通路相关^[53]。在 Yu 等^[54]的研究中, α -山竹素通过调节 NF- κ B 通路,对脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导的 NP 细胞中 NLRP3 炎症小体介导的细胞凋亡发挥保护作用。高级氧化蛋白产品 (Advanced oxidation protein products, AOPP) 通过激活 p38-MAPK 途径诱导细胞中的氧化应激并激活线粒体凋亡,而大蒜素可以通过抑制该信号通路发挥保护作用^[42]。

白藜芦醇、葛根素、去甲乌头碱、柚皮苷和淫羊藿苷,可以诱导抗凋亡基因(例如 Bcl-2)高表达,同时降低 Bax 或 caspase 3 等促凋亡基因的表达水平,在用上述小分子治疗后,PI3K/AKT 信号通路被明显激活;当应用 PI3K/AKT 的强抑制剂 LY294002 时,它们在 IL-1 β 诱发的 NP 细胞中的抗凋亡作用会减弱;因此,可以得出结论,白藜芦醇、葛根素、去甲乌头碱和淫羊藿苷通过激活 PI3K/AKT 信号通路,从而减少了 NP 细胞凋亡^[18,41,55]。此外,白藜芦醇也可通过抑制 ERK1/2 途径来缓解 NP 细胞凋亡^[56]。在退行性 NP 组织中 SIRT1 的表达降低,SIRT1 的激活抑制了退行性 NP 细胞的凋亡,白藜芦醇和酪醇可以激活 SIRT1,从而减少退化的人 NP 细胞的凋亡,是通过 PI3K/AKT 抗凋亡信号通路激活 SIRT1 来实现治疗效果的^[18,28]。激活 PI3K/AKT 信号通路是抗凋亡治疗的重要途径,众多小分子已展现出治疗潜力。由 Fas(也称为 CD95)或 Fas 配体 (FasL)介导的细胞凋亡是导致 IVD 细胞减少的原因之一。在患有 IDD 疾病的患者中观察到 Fas 和 FasL 的高表达;芍药苷降低了 Fas 和 caspase-3 蛋白的表达,证明芍药苷抑制 Fas-FasL 信号通路的激活并减少 FasL 诱导的 AF 细胞凋亡^[57]。Fas-FasL 信号通路是治疗 IDD 的重要靶点。

焦亡是另一种形式的程序性细胞死亡,可导致促炎介质的产生;NLRP3 炎症小体与焦亡过程密切相关,并且已经证实抑制 NLRP3 炎症小体的激活可以延缓 IDD 的进展^[58]。最近的研究发现,TXNIP 参与了 NLRP3 炎症性细胞焦亡,而 TXNIP 的抑制剂桑色素能减轻 NP 细胞焦亡,是



图 1 天然小分子通过抗炎作用机制 图 2 天然小分子抗氧化作用机制

通过 TXNIP/NLRP3/caspase-1/IL-1 β 信号通路来抑制 NP 细胞的焦亡^[59]。在 Dai 等^[60]的研究中,证实芍药苷降低了细胞内钙水平,抑制了 NP 细胞的焦亡,进而延缓了 IDD。靶向针对细胞焦亡会成为治疗 IDD 的新方向。综上,上述小分子已展现出作为抗凋亡药物的潜力,抑制凋亡已成为 IDD 治疗的新思路(图 3),对凋亡机制的进一步研究,也将为抗凋亡治疗提供理论基础。

4 调节自噬作用

自噬是一种进化上保守的分解代谢途径,是维持细胞稳态和完整性的最重要机制之一,通过这个机制,细胞可以去除不必要或功能失调的成分。研究表明,正常 IVD 细胞中自噬的基础水平对于维持细胞间稳态至关重要;自噬在 IDD 中起保护作用,抑制 NP 细胞氧化损伤、凋亡和 ECM 降解^[61]。此外,雷帕霉素的哺乳动物靶标(mammalian target of rapamycin,mTOR)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,充当自噬的负调节因子,参与了细胞生长和增殖的调节^[11]。在 Kang 等^[62]研究中,自噬激动剂姜黄素在体外和体内均对 IDD 有影响;在用姜黄素处理的人 NP 细胞中自噬指标 LC3-II/I 比值与 Beclin-1(自噬标记物)表达增加和 p62(p62 是一种在自溶酶体中降解的特定底物,用于研究自噬通量的状态)的降解呈剂量和时间依赖性;化合物 C(一种特定的 AMPK 抑制剂)和 si-AMPK 均抑制了姜黄素诱导的 AMPK 与 ULK1 磷酸化的上调和 mTOR 磷酸化的下调,以及逆转了姜黄素对自噬的调节,因此可认为姜黄素是以 AMPK/mTOR/ULK1 依赖性方式诱导自噬和增强的自噬通量;此外在另一项新的研究中发现,间歇性循环张力刺激可导致软骨终板细胞的变性,姜黄素可上调自噬水平,增强软骨终板细胞对高强度张力负荷的适应性,从而缓解软骨终板退变^[63]。

Wang 等^[64]研究中,发现槲皮素治疗可恢复了 TBHP 诱导的 NP 细胞 SIRT1 降低,活化自噬(LC3-II/LC3-I 比值增加,p62 水平降低),槲皮素治疗是以 SIRT1 依赖性方式诱导自噬。另外,槲皮素也可通过抑制大鼠 NP 细胞中的 p38MAPK/mTOR 激活来改善自噬,从而减少细胞凋亡和 ECM 降解^[65]。在 Wang 等^[45]的研究中,证实和厚朴酚给药通过 AMPK/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator

1 α ,PGC-1 α)/SIRT3 信号通路增强了线粒体自噬,阻止了体内 IDD 的发展。在 Zhang 等^[66]研究中,柚皮苷可以通过 MAPK 介导途径激活自噬来抑制氧化应激诱导的细胞凋亡,并改善针刺大鼠模型的 IDD;柚皮苷也可通过 MAPK 激活 SIRT1 上调来增强自噬通量,从而保护 NP 细胞免受炎症反应、氧化应激和细胞稳态受损的影响^[67]。通过 SIRT3 调节自噬水平成为研究重点,天然小分子作为相应自噬调节剂也得到重视。Xie 等^[15]的研究,证实芹菜素通过 MAPK-mTOR 信号通路恢复转录因子(TFEB)水平来调节自噬通量,进而延缓 NP 细胞的凋亡、衰老和 ECM 降解。Guo 等^[68]实验发现,桑辛素 M 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进自噬,可达到延缓 IDD 的作用。此外,在 Nan 等^[69]研究中,6-姜辣素也可通过 PI3K/Akt 途径刺激自噬来抑制 NP 来源的间充质干细胞凋亡和 ECM 变性。PI3K/Akt 信号通路在 IDD 进展过程中起到了重要作用。

在 Luo 等^[70]研究中发现,钙离子失调与应激条件下的内质网应激和自噬激活密切相关,细胞溶质中钙离子水平的持续升高是在氧化应激时触发的,而这种作用在施用小檗碱后得到显著抑制,同时小檗碱下调 H₂O₂ 诱导的 NP 细胞中 LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 的表达,上调 p62 的表达,小檗碱正是通过调节钙离子来下调内质网应激和自噬途径来抑制氧化应激诱导的细胞凋亡;但在另一项研究中,却证实小檗碱增加了髓核细胞中 LC3-II/LC3-I 比值和 Beclin-1 的表达,降低了 p62 的表达,也通过激活自噬来减轻 NP 细胞凋亡和 ECM 降解^[71];两项研究对自噬的调节结果相反,但均对缓解 IDD 有益。综上,上述实验中展现出了天然小分子对自噬的调节作用(图 4),但应进一步探究自噬与 IDD 相关机制,彻底了解疾病,也为天然小分子能作为 IVD 再生药物奠定基础。

5 调节细胞外基质合成与分解代谢作用

尽管 IVD 的 ECM 仅含有少量细胞,但其生物生理功能至关重要。在退变 IVD 中,ECM 无法维持平衡,因此会发生 ECM 组分或浓度的变化。随着构成内部 NP 的主要胶原蛋白(包括 II 型胶原蛋白和凝聚糖)的合成减少,IVD 逐渐失去其独特的表型特征、解剖结构和功能。在 IDD 中,ECM 降解的过程是由 MMP 和 ADAMTS 引起和促进的;在这些分子中,MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和



图3 天然小分子抗凋亡作用机制

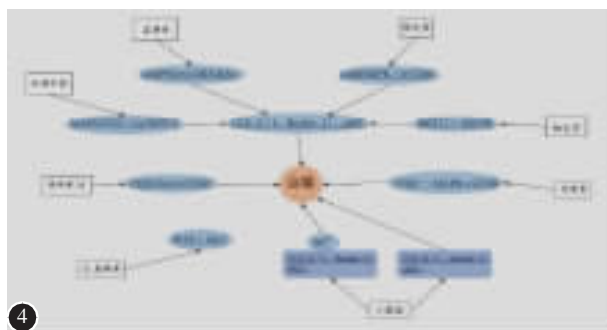


图4 天然小分子调节自噬的作用机制

ADAMTS-5 是降解基质组分的特定典型代表,已被证实存在于 IDD 组织中高度表达^[72]。一些研究评估了小分子对椎间盘 ECM 合成和分解代谢的影响,并报告了它们对 IDD 的治疗作用,评价了淫羊藿苷、木樨草苷、白藜芦醇、矢车菊素-3-葡萄糖苷、雷公藤红素、芒果苷、汉黄芩素、虎杖苷、绿原酸、灵芝酸-A、脱氢木香内酯、小豆蔻素和染料木黄酮对退行性 NP 细胞生长的影响及其对蛋白质和基因表达的再生作用^[12,13,16,18,19,21,22,29-31,47,49],它们可降低 MMPs 和 ADAMTS 的表达水平,并促进 II 型胶原蛋白和凝集糖合成代谢基因的表达。实现延缓 ECM 分解的作用。Li 等^[26]研究中,芝麻素治疗显著抑制 LPS 诱导 NP 细胞的 MMP-3 和 MMP-13 的 mRNA 和蛋白质产生,在体内试验中,也可抑制 LPS 诱导的大鼠椎间盘 ECM 降解,主要通过抑制 JNK 通路来保护 IVD 免受 ECM 分解代谢的影响。

在一些研究中,发现穿心莲内酯和川芎内酯抑制了 LPS 在髓核细胞中诱导的 ADAMTS4,ADAMTS5,MMP-13 和 MMP-3 的表达,是通过阻断 NF- κ B 途径逆转了 ECM 降解的^[17,23]。另一研究中,马里昔亦可通过抑制 ROS/NF- κ B 通路来保护人 NP 细胞免受高糖诱导 ECM 降解^[39]。Chen 等^[34]的研究证明,芦荟素治疗可以通过 TAK1/NF- κ B/NLRP3 途径逆转 TNF- α 诱导的 ECM 代谢紊乱,上调 II 型胶原蛋白和下调 MMPs 和 ADAMTS 的表达水平。与 NF- κ B 通路类似,TLR4/髓质分化原应答蛋白(MyD88)/NF- κ B 信号通路被证实在分子调节中至关重要,Zhang 等^[72]研究发现,穿心莲内酯可通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路来减弱 IL-1 β 诱导的 NP 细胞 ECM 变性以及 MMPs 和 ADAMTS 的表达。上述小分子均通过抑制 NF- κ B 信号通路来延缓 ECM 的降解,再次印证了其作为治疗 IDD 的靶点作用。微小 RNA(micro RNA,miRNA)是影响 IDD 的众多因素之一;Yang 等^[14]研究发现,miR-140 是与 TNF- α 或 IL-1 β 信号传导相关的 miRNA,cAMP 反应性元素结合蛋白 1(cAMP responsive elementbinding1,CREB1)是免疫相关信号传导中的主要转录因子,并且是 miR-140 的直接下游靶标,桃叶珊瑚苷可通过 miR-140/CREB1 轴改善 ECM 降解,显著减弱 IL-1 β 或 TNF- α 刺激对 MMP-3 和 ADAMTS5 的促进作用以及对 II 型胶原蛋白的抑制作用。

转录因子 SOX9 对于 IVD 细胞存活和表型维持至关重要,成年小鼠 SOX9 缺失导致蛋白聚糖丢失和各种 ECM 相关基因的下调,因此,SOX9 将成为延缓 IDD 的潜在治疗靶点^[73];在一些研究中,证实山柰酚、和厚朴酚和茶多酚可以挽救 ECM 降解和基质降解蛋白酶的激活,下调 MMP3、MMP13、ADAMTS5 和 ADAMTS4mRNA 的表达,并上调 II 型胶原蛋白和 SOX9 的 mRNA 表达^[18,33,50]。另一项研究,酪醇可抑制人 NP 细胞的 MMP-3、MMP-9、MMP-13mRNA 表达以及促进人 NP 细胞中 II 型胶原蛋白、SOX-9 和聚集素的 mRNA 和蛋白的表达,此作用可在 si-sirt1 引导下被逆转,实验证实,酪醇通过激活 PI3K/AKT 通路,上调 Sirt1 的表达,从而抑制 ECM 降解^[28]。随着研究的不断深

入,转录因子 SOX9 的将广泛应用在 IDD 的治疗当中。综上所述,ECM 的分解代谢在 IDD 进展中起重要作用,在大多数天然小分子均在治疗 IDD 过程中发挥着延缓 ECM 分解的作用(图 5),但仍需临床试验验证其有效性及可行性。

6 抗衰老作用

衰老加速了 IDD 的发生发展过程,在对人体组织和小鼠模型的研究发现,在 IVD 老化和变性期间,衰老细胞的发生率增加,衰老细胞的特征在于细胞周期停滞、凋亡抵抗和分泌衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype,SASP)的产生,衰老可以被多种刺激触发,包括端粒损耗、癌基因、细胞应激和机械负荷异常等,这些刺激可促进 SASP 激活和衰老转化,通过衰老相关的 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)染色和 p16 表达证实细胞衰老,其中细胞周期抑制剂 p16 等表达的增加,负责维持稳定的衰老周期停滞^[74]。

一些可以选择性杀死衰老细胞的药物被称为抗衰老药物,在 Novais 等^[74]研究中,长时间应用槲皮素+达沙替尼治疗可减少 IVD 中衰老细胞的数量,使衰老标志物 p16 显著降低,降低了 SASP,并在衰老过程中保留了 NP 细胞表型和活力,进而缓解 IDD。据报道,Nrf2 通路的激活可能会抑制 SASP 相关的细胞衰老,而 NF- κ B 通路激活可促进 SASP 相关细胞衰老,应用槲皮素治疗后会抑制 NF- κ B 通路和增加 Nrf2 的积累,同时降低衰老表型,减少 SA- β -gal 阳性细胞数量,当 Nrf2 敲低会损害槲皮素抗衰老作用,也会增强 NF- κ B 通路表达,由此得出结论,槲皮素可能通过 Nrf2 抑制 NF- κ B 途径来实现抗衰老作用^[75]。在 Cherif 等^[76]研究中,使用姜黄素和邻草香醛处理后,衰老细胞的数量和 SASP 因子表达减少,而促进增殖和凋亡的表达,这些支持姜黄素和邻草香醛在退化性 IVD 细胞中的发挥抗衰老药物的作用。新研究表明,在 IDD 中 TLRs 的表达增加与衰老细胞之间存在关系,Mannarino 等^[77]研究中,使用 TLR 激活剂增加了 TLR-2 在衰老细胞中的表达,而邻草香醛减少了表达 TLR-2 衰老细胞的数量,降低了 SASP 因子的释放,实现缓解 IDD 的目的。其他研究中,和厚朴酚、脱氢木香内酯、芹菜素、虎杖苷和基苯醚苷都可下调 p16 的表达水平,减少 SA- β -gal 阳性细胞数量,缓解 NP 细胞的衰老,从而达到缓解 IDD 的作用^[12,15,19,45,48]。衰老与 IDD 过程关系密切,上述天然小分子作为抗衰老药物已初步展示出抗衰老潜力(图 6),随着 IVD 细胞衰老研究的深入和抗衰老治疗的不断开发,将为 IDD 提供新的治疗策略。

7 其他

最新研究表明,IVD 的高度、渗透压和机械特性等表现出生物节律性,而生物节律的破坏可能是 IDD 发生发展的危险因素,与之密切相关的是存在于外周器官中的生物钟,是由几个核心生物钟基因组成的转录-翻译负反馈环(transcriptional-translational feedback loop,TTFL)来发挥

功能,包括时钟昼夜调节因子(circadian locomotor output cycles kaput,Clock)、大脑和肌肉芳基羟受体核易位器样 1(circadian locomotor output cycles kaput,Bmal1)、周期基因(Per1 和 Per2)以及隐色素基因(Cry1 和 Cry2)^[78];NP 组织中的自主生物钟会随着衰老而出现失调和抑制,过度的机械负荷也会破坏生物钟^[79]。IVD 小鼠模型中的生物钟遗传被破坏,特别是通过 Bmal1 破坏,增强了小鼠对 IDD 的易感性。Mei 等^[78]进行了相关研究,发现 Bmal1 的表达水平在 H₂O₂ 处理后的 NP 细胞中被逐渐抑制,同时 Bmal1、Clock 以及时钟相关基因(Per1、Per2)的振荡幅度显著减弱,也引起了生物钟成分(Cry1、Clock、Cry2)表达节律的相移,而应用 EGCG 后,H₂O₂ 的作用被逆转;此外,在应用 EGCG 后,减缓了 H₂O₂ 诱导的 NP 细胞的凋亡和 ECM 的降解,而在敲低 Bmal1 后显著损害了 EGCG 治疗作用。因此表明,EGCG 可以作为一种天然生物钟调节剂,以 Bmal1 依赖性方式缓解 NP 细胞凋亡和 ECM 降解(图 6)。自主生物钟节律与 IDD 之间的关系也越来越被人们所熟知,而调节生物钟节律成为 IDD 的潜在治疗方式,目前天然小分子作为生物调节剂正在发挥重要的作用。

随着人们对天然小分子治疗 IDD 相关研究的深入,发现部分小分子可通过多靶点和多通路来发挥作用,如淫羊藿苷、白藜芦醇、柚皮苷和 EGCG 等小分子同时参与炎症、氧化应激、凋亡和细胞外基质合成和分解等多种退变机制,并涉及 IL-1、TNF- α 、Nrf2 等因子和 NF- κ B、MAPK 等多种信号通路;这将使这些小分子在 IDD 治疗的新策略中发挥关键作用。

8 总结和展望

现如今,医学的重点是个体化治疗,需要明确加重个体患者退行性过程的因素,而天然小分子已展现出了针对不同退变机制延缓 IDD 的潜力。迄今为止,本文所涉及的研究,仍只是体外和体内实验,还没有临床试验的记录,且目前 IDD 动物模型的选择仍是小型哺乳动物(大鼠和兔子),这两种动物 IVD 生物力学特性与人的相差较大,所以模型存在局限性;在动物实验和临床实验方面,天然小分子治疗 IDD 的研究仍有着巨大的潜力。

IVD 是体内最大的缺血管组织,如何提高天然小分子在 IVD 的局部药物浓度是巨大的挑战。在 Shen 等^[80]的

一项研究中,搭载白藜芦醇的纳米气泡与 NP 细胞表面特异性标志物 CDH2 结合,可以增强对 NP 细胞的靶向趋化作用,将其注射到 NP 组织,并用超声照射,对缓解 IDD 有明显效果,这是一种高效的给药方式。此外,还有微粒和水凝胶可被用作局部药物释放的载体,可以随时间或内源性(例如酶活性、温度等)或外源性刺激(例如超声)持续释放药物,以在治疗窗口内长时间维持药物浓度。另一方面,不同细胞和组织在 IDD 发病过程中具有不同作用,而使用靶向药物递送可以将药物递送到特定的细胞和组织^[81]。目前已有微粒和水凝胶搭载非甾体类药物、生物制剂和细胞输送到 IVD 中,取得良好效果^[82]。Loepfe 等^[83]研究中,微粒搭载 EGCG 递送到 IVD 中,提高了药物释放的稳定性。这些发现为实现更高效的 IVD 内给药提供了一种范例。

未来研究应关注的方向:①设计出更加符合人体力学的 IDD 动物模型;②通过体内实验及 I、II 临床试验进一步探究天然小分子治疗 IDD 的作用机制;③设计构建出能提高天然小分子生物利用度的递送途径。

总之,天然小分子已展现出来治疗 IDD 的潜力,相信通过进一步的研究,能研发出基于天然小分子延缓甚至逆转 IDD 的药物。

9 参考文献

- Liao Z, Luo R, Li G, et al. Exosomes from mesenchymal stem cells modulate endoplasmic reticulum stress to protect against nucleus pulposus cell death and ameliorate intervertebral disc degeneration in vivo[J]. Theranostics, 2019, 9(14): 4084-4100.
- 王睿哲,徐辰,李真,等. miRNA 影响椎间盘退变的机制研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2018, 28(10): 949-953.
- 石志鹏,张亮,冯新民,等. 环状 RNA 在椎间盘退变中的作用研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2020, 30(5): 468-472.
- Binch ALA, Fitzgerald JC, Growney EA, et al. Cell-based strategies for IVD repair: clinical progress and translational obstacles[J]. Nat Rev Rheumatol, 2021, 17(3): 158-175.
- Roh EJ, Darai A, Kyung JW, et al. Genetic therapy for intervertebral disc degeneration[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 1-14.
- Yu Y, Shen M, Song Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural re-

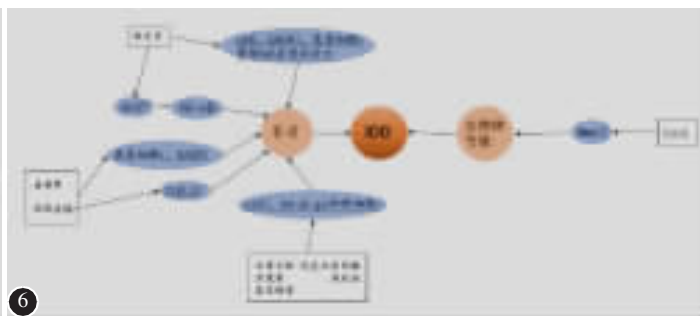
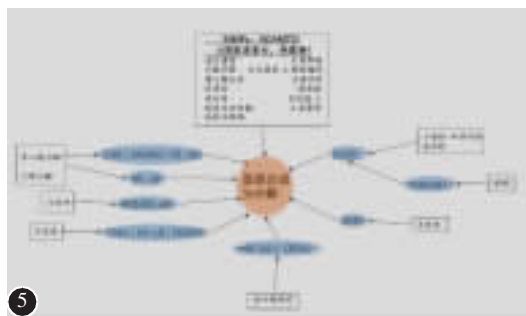


图 5 天然小分子调节细胞外基质合成与分解的作用机制 图 6 天然小分子抗衰老和调节生物钟节律的作用机制

- sources: a review[J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 183: 91–101.
7. Li Q, Kang C. Mechanisms of action for small molecules revealed by structural biology in drug discovery [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 1–18.
 8. Sun Y, Leung VY, Cheung KM. Clinical trials of intervertebral disc regeneration: current status and future developments [J]. *Int Orthop*, 2019, 43(4): 1003–1010.
 9. Molinos M, Almeida CR, Caldeira J, et al. Inflammation in intervertebral disc degeneration and regeneration [J]. *J R Soc Interface*, 2015, 12(104): 20141191.
 10. Wang Y, Che M, Xin J, et al. The role of IL-1 β and TNF- α in intervertebral disc degeneration[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110660.
 11. 钱嘉铭, 祝永刚, 肖辉灯, 等. 髓核细胞退变相关信号通路的研究进展[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2021, 31(6): 561–566.
 12. Wang J, Huang C, Lin Z, et al. Polydatin suppresses nucleus pulposus cell senescence, promotes matrix homeostasis and attenuates intervertebral disc degeneration in rats [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(11): 5720–5731.
 13. Zheng S, Ma J, Zhao X, et al. Ganoderic acid attenuates IL-1 β -induced inflammation in human nucleus pulposus cells through inhibiting the NF- κ B pathway[J]. *Inflammation*, 2021, 45(2): 851–862.
 14. Yang S, Li L, Zhu L, et al. Aucubin inhibits IL-1 β - or TNF- α -induced extracellular matrix degradation in nucleus pulposus cell through blocking the miR-140–5p/CREB1 axis [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 13639–13648.
 15. Xie C, Shi Y, Chen Z, et al. Apigenin alleviates intervertebral disc degeneration restoring autophagy flux in nucleus pulposus cells[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 787278.
 16. Yu H, Hou G, Cao J, et al. Mangiferin alleviates mitochondrial ROS in nucleus pulposus cells and protects against intervertebral disc degeneration via suppression of NF- κ B signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6632786.
 17. Wang K, Chen T, Ying X, et al. Ligustilide alleviated IL-1 β induced apoptosis and extracellular matrix degradation of nucleus pulposus cells and attenuates intervertebral disc degeneration in vivo[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69: 398–407.
 18. Kamali A, Ziadlou R, Lang G, et al. Small molecule-based treatment approaches for intervertebral disc degeneration: current options and future directions[J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 27–47.
 19. Chen Z, Yang X, Zhou Y, et al. Dehydrocostus lactone attenuates the senescence of nucleus pulposus cells and ameliorates intervertebral disc degeneration via inhibition of STING–TBK1/NF- κ B and MAPK signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 641098.
 20. Luo L, Gao Y, Yang C, et al. Halofuginone attenuates intervertebral discs degeneration by suppressing collagen I production and inactivating TGF β and NF- κ B pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101: 745–753.
 21. Chen J, Xuan J, Gu Y–T, et al. Celastrol reduces IL-1 β induced matrix catabolism, oxidative stress and inflammation in human nucleus pulposus cells and attenuates rat intervertebral disc degeneration in vivo [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91: 208–219.
 22. Ge Q, Ying J, Shi Z, et al. Chlorogenic Acid retards cartilaginous endplate degeneration and ameliorates intervertebral disc degeneration via suppressing NF- κ B signaling [J]. *Life sciences*, 2021, 274: 119324.
 23. Liu J, Jiang T, He M, et al. Andrographolide prevents human nucleus pulposus cells against degeneration by inhibiting the NF- κ B pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(6): 9631–9639.
 24. Shao Z, Lu J, Zhang C, et al. Stachydrine ameliorates the progression of intervertebral disc degeneration via the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway: in vitro and in vivo studies [J]. *Food Funct*, 2020, 11(12): 10864–10875.
 25. 陈桢. 氧化苦参碱通过 TLR4/NF- κ B 信号通路抑制 IL-1 β 诱导的髓核细胞和细胞外基质降解 [C]. 华中科技大学, 2019. 1–50.
 26. Li K, Li Y, Xu B, et al. Sesamin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation and extracellular matrix catabolism in rat intervertebral disc[J]. *Connect Tissue Res*, 2016, 57(5): 347–359.
 27. Dai S, Shi X, Qin R, et al. Sodium tanshinone IIA sulfonate ameliorates injury-induced oxidative stress and intervertebral disc degeneration in rats by inhibiting p38 MAPK signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 5556122.
 28. Qi W, Ren D, Wang P, et al. Upregulation of Sirt1 by tyrosol suppresses apoptosis and inflammation and modulates extracellular matrix remodeling in interleukin-1 β -stimulated human nucleus pulposus cells through activation of PI3K/Akt pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 106904.
 29. Lin J, Chen J, Zhang Z, et al. Luteoloside inhibits IL-1 β -induced apoptosis and catabolism in nucleus pulposus cells and ameliorates intervertebral disk degeneration [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 868.
 30. Fang W, Zhou X, Wang J, et al. Wogonin mitigates intervertebral disc degeneration through the Nrf2/ARE and MAPK signaling pathways[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 65: 539–549.
 31. Xie C, Ma H, Shi Y, et al. Cardamonin protects nucleus pulposus cells against IL-1 β -induced inflammation and catabolism via Nrf2/NF- κ B axis[J]. *Food Funct*, 2021, 12(6): 2703–2714.
 32. Chao–Yang G, Peng C, Hai–Hong Z. Roles of NLRP3 inflammasome in intervertebral disc degeneration [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29(6): 793–801.
 33. Tang P, Gu JM, Xie ZA, et al. Honokiol alleviates the

- degeneration of intervertebral disc via suppressing the activation of TXNIP-NLRP3 inflammasome signal pathway[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 120: 368–379.
34. Chen T, Li P, Qiu J, et al. Aloin regulates matrix metabolism and apoptosis in human nucleus pulposus cells via the TAK1/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway[J]. *Stem Cells Int*, 2022, 2022: 5865011.
 35. Tian Y, Bao Z, Ji Y, et al. Epigallocatechin-3-gallate protects HO₂-induced nucleus pulposus cell apoptosis and inflammation by inhibiting cGAS/Sting/NLRP3 activation [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 2113–2122.
 36. Krupkova O, Sekiguchi M, Klasen J, et al. Epigallocatechin 3-gallate suppresses interleukin-1 β -induced inflammatory responses in intervertebral disc cells in vitro and reduces radiculopathic pain in rats [J]. *Eur Cell Mater*, 2014, 28: 372–386.
 37. Feng C, Yang M, Lan M, et al. ROS: crucial intermediators in the pathogenesis of intervertebral disc degeneration [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 5601593.
 38. Zhao Y, Qiu C, Wang W, et al. Cortistatin protects against intervertebral disc degeneration through targeting mitochondrial ROS-dependent NLRP3 inflammasome activation [J]. *Theranostics*, 2020, 10(15): 7015–7033.
 39. Yao M, Zhang J, Li Z, et al. Marein protects human nucleus pulposus cells against high glucose-induced injury and extracellular matrix degradation at least partly by inhibition of ROS/NF- κ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80: 106126.
 40. Krupkova O, Handa J, Hlavna M, et al. The natural polyphenol epigallocatechin gallate protects intervertebral disc cells from oxidative stress[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 7031397.
 41. Huang D, Peng Y, Ma K, et al. Puerarin relieved compression-induced apoptosis and mitochondrial dysfunction in human nucleus pulposus mesenchymal stem cells via the PI3K/Akt pathway[J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 7126914.
 42. Xiang Q, Cheng Z, Wang J, et al. Allicin attenuated advanced oxidation protein product-induced oxidative stress and mitochondrial apoptosis in human nucleus pulposus cells [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 6685043.
 43. Chen S, Deng X, Ma K, et al. Icaritin improves the viability and function of cryopreserved human nucleus pulposus-derived mesenchymal stem cells [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 3459612.
 44. Zhang GZ, Deng YJ, Xie QQ, et al. Sirtuin and intervertebral disc degeneration: roles in inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 508: 33–42.
 45. Wang J, Nisar M, Huang C, et al. Small molecule natural compound agonist of SIRT3 as a therapeutic target for the treatment of intervertebral disc degeneration [J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(11): 1–14.
 46. Hua W, Li S, Luo R, et al. Icaritin protects human nucleus pulposus cells from hydrogen peroxide-induced mitochondrial α -mediated apoptosis by activating nuclear factor erythroid 2-related factor 2[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(1): 165575.
 47. Wang K, Hu S, Wang B, et al. Genistein protects intervertebral discs from degeneration via Nrf2-mediated antioxidant defense system: an in vitro and in vivo study [J]. *J Cell Physiol*, 2019. doi: 10.1002/jcp.28301. Online ahead of print.
 48. Wang Y, Zuo R, Wang Z, et al. Kinsenoside ameliorates intervertebral disc degeneration through the activation of AKT-ERK1/2-Nrf2 signaling pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(18): 7961–7977.
 49. Bai X, Lian Y, Hu C, et al. Cyanidin-3-glucoside protects against high glucose-induced injury in human nucleus pulposus cells by regulating the Nrf2/HO-1 signaling [J]. *J Appl Toxicol*, 2022, 42(7): 1137–1145.
 50. Song D, Ge J, Wang Y, et al. Tea polyphenol attenuates oxidative stress-induced degeneration of intervertebral discs by regulating the Keap1/Nrf2/ARE pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6684147.
 51. Zhang X-B, Hu Y-C, Cheng P, et al. Targeted therapy for intervertebral disc degeneration: inhibiting apoptosis is a promising treatment strategy[J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(13): 2799–2813.
 52. Yang S, Liao W. Hydroxysafflor yellow A attenuates oxidative stress injury-induced apoptosis in the nucleus pulposus cell line and regulates extracellular matrix balance via CA XII[J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(2): 182.
 53. Zhang YH, Shangguan WJ, Zhao ZJ, et al. Naringin inhibits apoptosis induced by cyclic stretch in rat annular cells and partially attenuates disc degeneration by inhibiting the ROS/NF- κ B pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 6179444.
 54. Chen J, Bian M, Pan L, et al. α -Mangostin protects lipopolysaccharide-stimulated nucleus pulposus cells against NLRP3 inflammasome-mediated apoptosis via the NF- κ B pathway[J]. *J Appl Toxicol*, 2022, 42(9): 1467–1476.
 55. Zhu X, Liu S, Cao Z, et al. Higenamine mitigates interleukin-1 β -induced human nucleus pulposus cell apoptosis by ROS-mediated PI3K/Akt signaling[J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(11): 3889–3897.
 56. Zhang Z, Wen F, He C, et al. Resveratrol attenuates mechanical compression-induced nucleus pulposus cell apoptosis through regulating the ERK1/2 signaling pathway in a disc organ culture[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(2): 1–23.
 57. Chen SQ, Lin JP, Zheng QK, et al. Protective effects of paeoniflorin against FasL-induced apoptosis of intervertebral disc annulus fibrosus cells via Fas-FasL signalling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(6): 2351–2355.

58. He D, Zhou M, Bai Z, et al. Propionibacterium acnes induces intervertebral disc degeneration by promoting nucleus pulposus cell pyroptosis via NLRP3-dependent pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526(3): 772–779.
59. Zhou Y, Chen Z, Yang X, et al. Morin attenuates pyroptosis of nucleus pulposus cells and ameliorates intervertebral disc degeneration via inhibition of the TXNIP/NLRP3/Caspase-1/IL-1 β signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 559: 106–112.
60. Dai WY, Luo ZP. Paeoniflorin inhibits pyroptosis of nucleus pulposus cells in an acidic environment and alleviates the degeneration of the intervertebral disc in rats[J]. *Cell Signal*, 2022, 91: 110243.
61. Xu G, Liu C, Jiang J, et al. A novel mechanism of intervertebral disc degeneration: imbalance between autophagy and apoptosis[J]. *Epigenomics*, 2020, 12(13): 1095–1108.
62. Kang L, Xiang Q, Zhan S, et al. Restoration of autophagic flux rescues oxidative damage and mitochondrial dysfunction to protect against intervertebral disc degeneration [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7810320.
63. Xiao L, Ding B, Gao J, et al. Curcumin prevents tension-induced endplate cartilage degeneration by enhancing autophagy[J]. *Life sciences*, 2020, 258: 118213.
64. Wang D, He X, Wang D, et al. Quercetin suppresses apoptosis and attenuates intervertebral disc degeneration via the SIRT1-autophagy pathway[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 613006.
65. Zhang S, Liang W, Abulizi Y, et al. Quercetin alleviates intervertebral disc degeneration by modulating p38 MAPK-mediated autophagy [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 6631562.
66. Zhang Z, Wang C, Lin J, et al. Therapeutic potential of naringin for intervertebral disc degeneration: involvement of autophagy against oxidative stress-induced apoptosis in nucleus pulposus cells [J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(8): 2049–2052.
67. Chen R, Gao S, Guan H, et al. Naringin protects human nucleus pulposus cells against TNF- α -induced inflammation, oxidative stress, and loss of cellular homeostasis by enhancing autophagic flux via AMPK/SIRT1 activation [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 7655142.
68. Guo F, Zou Y, Zheng Y. Moracin M inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in nucleus pulposus cells via regulating PI3K/Akt/mTOR phosphorylation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 58: 80–86.
69. Nan LP, Wang F, Liu Y, et al. 6-gingerol protects nucleus pulposus-derived mesenchymal stem cells from oxidative injury by activating autophagy[J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(12): 1603–1622.
70. Luo R, Liao Z, Song Y, et al. Berberine ameliorates oxidative stress-induced apoptosis by modulating ER stress and autophagy in human nucleus pulposus cells [J]. *Life Sci*, 2019, 228: 85–97.
71. Chen Y, Zheng Z, Wang J, et al. Berberine suppresses apoptosis and extracellular matrix(ECM) degradation in nucleus pulposus cells and ameliorates disc degeneration in a rodent model[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(6): 682–692.
72. Zhang L, Chen Q, Wang H, et al. Andrographolide mitigates IL-1 β -induced human nucleus pulposus cells degeneration through the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(6): 5427–5436.
73. Tsingas M, Ottone OK, Haseeb A, et al. Sox9 deletion causes severe intervertebral disc degeneration characterized by apoptosis, matrix remodeling, and compartment-specific transcriptomic changes[J]. *Matrix Biol*, 2020, 94: 110–133.
74. Novais EJ, Tran VA, Johnston SN, et al. Long-term treatment with senolytic drugs dasatinib and quercetin ameliorates age-dependent intervertebral disc degeneration in mice [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5213.
75. Shao Z, Wang B, Shi Y, et al. Senolytic agent quercetin ameliorates intervertebral disc degeneration via the Nrf2/NF- κ B axis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29(3): 413–422.
76. Cherif H, Bisson DG, Jarzem P, et al. Curcumin and o-vanillin exhibit evidence of senolytic activity in human IVD cells in vitro[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(4): 1–19.
77. Mannarino M, Cherif H, Li L, et al. Toll-like receptor 2 induced senescence in intervertebral disc cells of patients with back pain can be attenuated by o-vanillin[J]. *Arthritis Res Ther*, 2021, 23(1): 117.
78. Mei L, Zheng Y, Ma T, et al. (–)-Epigallocatechin-3-gallate ameliorates intervertebral disc degeneration through reprogramming of the circadian clock[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 753548.
79. Ding SL, Zhang TW, Zhang QC, et al. Excessive mechanical strain accelerates intervertebral disc degeneration by disrupting intrinsic circadian rhythm[J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(12): 1911–1923.
80. Shen J, Zhuo N, Xu S, et al. Resveratrol delivery by ultrasound-mediated nanobubbles targeting nucleus pulposus cells [J]. *Nanomedicine(Lond)*, 2018, 13(12): 1433–1446.
81. Colella F, Garcia JP, Sorbona M, et al. Drug delivery in intervertebral disc degeneration and osteoarthritis: Selecting the optimal platform for the delivery of disease-modifying agents[J]. *J Control Release*, 2020, 328: 985–999.
82. Blanquer SBG, Grijpma DW, Poot AA. Delivery systems for the treatment of degenerated intervertebral discs[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 84: 172–187.
83. Loepfe M, Duss A, Zafeiropoulou KA, et al. Electrospray-based microencapsulation of epigallocatechin 3-gallate for local delivery into the intervertebral disc [J]. *Pharmaceutics*, 2019, 11(9): 1–15.

(收稿日期:2022-04-09 末次修回日期:2022-07-04)

(本文编辑 彭向峰)