

综述

纳米微球在治疗脊柱退行性疾病应用中的研究进展

Research progress of nano-microspheres in the treatment of spinal degenerative diseases

王泽斌¹, 张钟巍¹, 吴蔚¹, 王森辉², 常峰¹

(1 山西医科大学附属山西省人民医院骨科 030012 太原市; 2 湖北省宜昌市中心人民医院核医学科 443000)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2024.05.14

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2024)-05-0536-04

目前脊柱退行性疾病的发生率逐年升高, 典型的临床表现主要是神经根或脊髓受累所导致的疼痛和神经功能障碍^[1]。其发生机理多是椎间盘退变导致微环境发生变化, 产生炎症反应, 释放大量炎症因子, 引起疼痛^[2]; 骨赘、终板硬化和椎间盘突出压迫后方脊髓或神经根导致神经或脊髓受损^[3]。目前主流的手术治疗方法是通过脊柱内镜下椎间盘切除术或腰椎融合术等手术方式解除神经和脊髓受到的压迫, 避免对神经造成进一步损伤, 但这些手术方式不能修复神经根减压后纤维环(annulus fibrosus, AF)缺损和神经的损伤^[4-5]。如何更好地恢复椎间盘、神经或脊髓的功能以及延缓脊柱的退变, 一直是医学界及药学界研究的热点。纳米微球(nanoparticles, NPs)是一种微型纳米材料^[6], 在临床中的应用越来越广泛, 并有望在脊柱退行性疾病的临床治疗中发挥独特的作用。NPs 是用生物聚合物或高分子聚合材料将药物或其他材料包裹而成的纳米颗粒或是生物机体本身所产生的纳米级别的生物微粒, 其在到达作用部位后与靶向配体生物偶联, 特异性结合细胞膜上的互补受体, 释放所包裹的物质^[7]。目前应用在临床领域的 NPs 包括: 水凝胶、脂质体、外泌体^[8]、无机纳米微粒^[9]、磁性纳米颗粒等。NPs 因其种类丰富、与机体相容性好、具有丰富的载药特性、可以缓释等诸多优点, 可以结合不同类型的治疗药物, 调节释放的位置和时间, 选择集中大剂量或者分散缓释给药, 从而提高药物的治疗效果, 在新的治疗策略中发挥关键作用^[10]。目前, 针对脊柱退行疾病治疗的多种基于 NPs 与传统的治疗相比, 不仅能够有效地作用于退变部位, 更好地发挥药理作用, 还可以减小创伤, 降低感染的发生率^[11]。笔者围绕 NPs 在脊柱退行疾病中应用时可能的作用及在治疗方面的应用进行综述。

1 NPs 在治疗脊柱退行性疾病应用时可能的作用

1.1 提供机械支持, 恢复退变区生理结构

第一作者简介: 男(1999-), 硕士研究生在读, 研究方向: 骨科
电话: (0351)4960465 E-mail: wangzb4164@163.com
通讯作者: 常峰 E-mail: cfmedmail@163.com

椎间盘退行性变(intervertebral disc degeneration, IVDD)是脊柱退行性疾病发生发展的重要因素。椎间盘主要是由 AF、髓核(nucleus pulposus, NP)和软骨终板(cartilage endplate, CE)组成^[12]。AF 来源于间质, NP 来源于脊索。AF 的基本成分是胶原纤维, 具有良好的韧性; NP 呈凝胶状, 具有各向同性, 且富含水分, 软骨终板是椎间盘与相邻椎体之间的界面, 具有吸收负荷和缓解冲击的作用^[13]。椎间盘位于椎体之间, 承受来自上下位椎体的压力, 当压力过大时, 椎间盘受损^[14, 15], 导致椎间盘细胞微环境发生变化, 从而发生变性。水凝胶 NPs 和无机 NPs 本身具备一定的负载能力, 它们在应用于椎间盘时, 能够为椎间盘提供一定的机械支持, 有助于恢复椎间盘的自然结构、生物功能和力学性能^[16]。

1.2 提升退变部位生物因子效能, 降低副作用

由于椎间盘细胞的再生能力有限, 很难自我修复。在 IVDD 早期, 由于椎间盘本身封闭的环境, 外部促进椎间盘修复和再生的生物活性分子无法抵达作用部位或形成有效的作用浓度, 难以在椎间盘发挥作用。而一些类型的 NPs[如外泌体(exosome, Exo)等], 其本身是一种细胞外膜囊泡, 生物自身的生命活动就有该物质的参与, 故生物相容性极高, 且内含物不易被机体代谢, 是一种应用前景广阔的作用介质。Exo 可以通过递送多种生物活性分子(mRNA、miRNA 和蛋白质)和脂质来实现对 AF 以及 NP 的修复^[17, 18]。此外, 脊柱的退行性变会压迫脊髓并导致其损伤, 脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种严重的神经系统疾病, 会对机体造成严重损伤甚至导致残疾, 且其治疗方式相对匮乏。SCI 会导致神经元的坏死和脱髓鞘。目前解决神经元再生障碍或直接促进轴突延伸和髓磷脂再生的治疗策略往往由于血管系统药物不稳定、非靶器官积聚或未能穿过血脊髓屏障而未能到达损伤部位等原因, 使得药物无法在损伤部位达到有效的药物浓度^[19]。以 Exo 为代表的仿生 NPs 可以改善这一缺点, 提供了一种潜在的微创模式治疗策略, 在 SCI 治疗领域显示出独特的优势。

1.3 改善退变区微环境, 减小创伤

在退变晚期, AF 发生撕裂, NP 会发生新生血管和神

经支配,从而导致活性氧(reactive oxygen species,ROS)等炎症粒子的释放,新定植的免疫细胞引起的炎症进一步损害微环境,加速组织变性。无机 NPs 可以有效地抑制 ROS 的释放,抑制炎症反应。巨噬细胞是参与炎症反应的关键免疫细胞之一,主要有两个亚群:促炎型(M1)和抗炎型(M2),M1 型巨噬细胞会释放促炎因子和神经生长因子(nerve growth factor,NGF),促炎因子会促进炎症反应,加剧损伤,NGF 会诱导神经生长进入纤维内环,形成慢性炎症微环境,导致持续性痛觉过敏^[20];M2 型巨噬细胞在组织的稳定状态恢复中起主导作用^[21]。M2 巨噬细胞可分泌 Th2 型免疫相关细胞因子,包括 IL-10 和 IL-13,对炎症具有抑制作用^[22]。而一些种类的 NPs(如 Exo)可以诱导巨噬细胞由 M1 表型向 M2 表型转化,进而改善椎间盘免疫微环境,减缓 IVDD 的发生^[23]。此外,NP 中的新生血管和神经导致 ROS 等炎症粒子的释放。ROS 进而介导 MAPK/NF- κ B 及 p53-p21 等信号通路激活,导致细胞外基质(extracellular matrix,ECM)的降解,加剧 IVDD^[24,25];Exo 可以促进 ECM 的生成,从而减缓 IVDD。还有一些类型的 NPs(如无机 NPs)本身具有优良的抗炎、抗氧化特性,可以有效抑制微环境的炎症。此外,NPs 可以通过微创注射的方式注入退变区,减小了对机体的创伤,降低了感染风险。

2 NPs 在恢复椎间盘生理结构方面的应用

Cheng 等^[26]运用微流体制备了一种 NPs,这种 NPs 可以抑制炎症反应和 M1 极化,同时增强 M2 巨噬细胞的极化,有效减轻了椎间盘的损伤,有助于恢复椎间盘的生理结构;此外,还具有良好且可控的力学性能和生物相容性,能够模拟椎间盘的微环境,改善聚合化合物的生物相容性差的缺点。但该 NPs 成本较高,需改进制备工艺,降低成本。DiStefano 等^[27]制备了一种 Exo NPs,发现该 NPs 有促增殖 AF 细胞的作用,并且在后续的培养进程中,展现出显著的持久性效能,其在体内的生物学作用保持了将近 3 个月,在修补 AF 缺损的同时,提供干细胞来源的囊泡,可以增强内源性 AF 修复并减缓退化级联反应。该 NPs 是当前热点的仿生制剂,生物相容性高,且可以促进细胞的增殖,但其无法增强椎间盘的支撑能力。Yang 等^[28]制备了一种 NPs,这种 NPs 可通过微创方式注入退变椎间盘,并提供适当的机械支持,利用该 NPs 中普鲁士蓝纳米粒子(prussian blue nanoparticles,PBNPs)的持续释放,可以实现 PBNPs 在椎间盘中的长时间滞留和有效的抗氧化作用,相较于空白对照组,应用该凝胶的 IVDD 大鼠模型的 AF 结构更加完整,其椎间盘高度指数下降更少,其组织学评分也较高,证明该 NPs 可以保护 NP 细胞,防止 ROS 过量产生,恢复椎间盘高度,减缓水分含量的下降,逆转 IVDD 紊乱的微环境。Han 等^[29]制备了一种复合水凝胶 NPs,该 NPs 在大鼠 IVDD 模型中表现出明显的调节 AF 缺损区微环境的能力,包括清除 ROS,驱动巨噬细胞极化为抗炎 M2 表型,以及抑制炎症反应,此外这种 NPs 可促

进 ECM 分泌,为 AF 持续修复提供了坚实的基础,并且它提供机械应激,促进 NP 再生,并对椎间盘的结构进行了重塑。该 NPs 为延缓 IVDD 的应用提供了新的思路,突出了生物材料在氧化应激下的局部酸性微环境中的再生应用,有望成为 AF 缺陷的有效治疗方法。NPs 还可以直接作用于 NP 细胞。Li 等^[30]通过研究 NP 细胞中炎症反应的相关通路,制备了一种 NPs,可以精确调控 IVDD 中 ROS 的失衡,实现 IVDD 中 ECM 的稳定,恢复组织功能,促进 NP 再生。Han、Li 等都是通过研究炎症反应的相关分子生物学机制,从而针对性的研制 NPs,降低 ROS 水平,抑制炎症反应,从而延缓 IVDD 的发展,但研究均局限于实验层面,仍需进一步研究。

3 NPs 在抑制椎间盘源性疼痛方面的应用

椎间盘源性疼痛是腰痛的常见原因^[31],严重影响人们生活。如何治疗椎间盘源性疼痛是目前亟待解决的问题。Peng 等^[32]制备了一种复合水凝胶,它在水溶液中自然形成阳离子纳米颗粒(cNP),疏水性核心装载了 TrkA-in-1[一种抗 NGF 受体(TrkA)的拮抗剂]。在 IVDD 大鼠模型上进行实验,发现植入该 NPs 的实验组大鼠 3d 的急性疼痛反应部分缓解,且 NGF 的下降明显,此外,还发现痛觉神经肽出现下调,而实验组比其他组表现出更少的疼痛传递,证明该 NPs 能有效介导炎症环境,抑制神经向内生长和致敏,在治疗椎间盘源性腰痛方面具有很大的潜力。

4 NPs 在 IVDD 导致的 SCI 修复中的应用

IVDD 会压迫脊髓导致物理性的创伤及血供减少,进而促进炎症介质释放引发局部炎症反应,最终导致 SCI 的发生。细胞趋化因子配体 2 (cell Chemokine Ligand 2, CCL2) 是一种负责大多数外周免疫细胞炎症趋化性的主要调节因子,细胞趋化因子受体 2 (cell Chemokine Receptor 2,CCR2) 是单核巨噬细胞中广泛表达的主要受体之一,CCL2 可以与 CCR2 结合,参与巨噬细胞向炎症部位趋化。阻断 CCL2-CCR2 轴已显示出对 SCI 治疗潜力。Gu 等^[33]提出了一种专用于靶向 CCL2-CCR2 轴的 NPs,该 NPs 由具有增强 CCR2 表达的工程巨噬细胞膜(MM)微囊泡和包裹治疗药物的纳米颗粒组成,可以增强药物靶向运送到损伤部位的能力,而且可以减弱巨噬细胞浸润、小胶质细胞极化和神经元凋亡,在 SCI 小鼠模型上实验发现,它可以促进模型小鼠的神经再生和运动功能恢复,为 SCI 提供了全面的治疗方法。此外,干细胞 Exo 也对 SCI 修复具有一定的作用。Luo 等^[34]从大鼠身上分离脂肪来源的间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells, ADMSC),然后从细胞中提取 Exo,并在 SCI 大鼠模型进行实验,发现该 NPs 对 SCI 后轴突再生和再髓鞘形成有积极作用,还可抑制 M1 小胶质细胞中炎症因子的表达,促进 M2 小胶质细胞的表达。Yuan 等^[35]通过研究内皮祖细胞产生的外泌体(endothelial progenitor cells-exosomes,EPC-

EXOs) 对巨噬细胞极化的作用机制发现,EPC-EXOs 在 SCI 后 7d 和 14d 降低了巨噬细胞的促炎标志物表达,并增加了其抗炎标志物的表达,促进了 SCI 的修复,揭示了 EPC-EXOs 在巨噬细胞表型调控中的作用,明确了 EPC-EXO 可用于改善 SCI 的预后。上述两种 NPs 具有较强的生物相容性,但制备难度较大。

5 NPs 在抑制骨赘生成方面的应用

有研究发现^[36],miR-199a 可以直接靶向 HIF-1 α ,并证明过表达 miR-199a 可显著下调 HIF-1 α 的表达。Feng 等^[37] 制备了一种携带 miR-199a 且具有独特纳米结构的 NPs,通过在 IVDD 兔模型上进行实验,发现该 NPs 可以有效地降低 HIF-1 α 的表达,在维持体内正常 NP 细胞形态、抑制异常组织增生和钙化方面发挥着重要作用;与其他普通结构的 NPs 相比,该 NPs 通过模拟 ECM 结构能够更好地与 MSC 结合,促进了 NP 的再生且有效恢复了椎间盘高度。

6 小结及展望

NPs 作为一种微型纳米材料,其相关的生物学作用及临床应用于脊柱退行性疾病方面目前尚有较多需要研究的问题,首先,目前新兴的 NPs 如 Exo、促巨噬细胞极化 NPs 等已成为当前研究的热点,但现有的研究仍局限于离体培养或动物试验中,临床研究较少,如何更加有效地作用于人体,仍需要更多的临床研究验证。其次,NPs 具备独特的定制化属性,目前经实验证明有效的 NPs 较多且繁杂,需要针对某一机制进行深入研究,确立行之有效的 NPs 类型。最后,开发更为先进的、更接近人体的 IVDD 模型也是目前此类研究急需的。随着 NPs 相关研究的不断深入,相信该材料能够在脊柱退行性疾病的临床治疗中发挥更大的作用。

7 参考文献

- Jiang Z, Davies B, Zipser C, et al. The value of clinical signs in the diagnosis of degenerative cervical myelopathy: a systematic review and Meta-analysis[J]. *Global Spine J*, 2023, 21925682231209869.
- Wang N, Mi Z, Chen S, et al. Analysis of global research hotspots and trends in immune cells in intervertebral disc degeneration: a bibliometric study[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2023, 19(3): 2274220.
- Song Q, Zhu B, Zhao W, et al. Full-endoscopic lumbar decompression versus open decompression and fusion surgery for the lumbar spinal stenosis: a 3-year follow-up study [J]. *J Pain Res*, 2021, 14: 1331-1338.
- Shi K, Huang Y, Huang L, et al. Research progress of hydrogel used for regeneration of nucleus pulposus in intervertebral disc degeneration[J]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2020, 34(3): 275-284.
- Long RG, Ferguson SJ, Benneker LM, et al. Morphological and biomechanical effects of annulus fibrosus injury and repair in an ovine cervical model[J]. *JOR Spine*, 2020, 3(1): e1074.
- Yu Y, Kim SM, Park K, et al. Therapeutic nanodiamonds containing icariin Ameliorate the progression of osteoarthritis in rats[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(21): 15977.
- Zheng JJ, Jiang XC, Li YS, et al. Inorganic nanoparticle-integrated mesenchymal stem cells: a potential biological agent for multifaceted applications[J]. *MedComm(2020)*, 2023, 4(4): e313.
- Shao M, Jin X, Chen S, et al. Plant-derived extracellular vesicles -a novel clinical anti-inflammatory drug carrier worthy of investigation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 169: 115904.
- Zhang Y, Zhu Y, Habibovic P, et al. Advanced synthetic scaffolds based on 1D inorganic Micro-/Nanomaterials for bone regeneration [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024, 13 (5): e2302664.
- Liu W, Ma Z, Wang Y, et al. Multiple nano-drug delivery systems for intervertebral disc degeneration: current status and future perspectives[J]. *Bioact Mater*, 2023, 23: 274-299.
- Shuai C, Chen X, He C, et al. Construction of magnetic nanochains to achieve magnetic energy coupling in scaffold [J]. *Biomater Res*, 2022, 26(1): 38.
- Yamada K, Iwasaki N, Sudo H. Biomaterials and cell-based regenerative therapies for intervertebral disc degeneration with a focus on biological and biomechanical functional repair: targeting treatments for disc herniation[J]. *Cells*, 2022, 11(4): 602.
- Cr H, WL, De K, et al. Evaluation of nucleus pulposus fluid velocity and pressure alteration induced by cartilage endplate sclerosis using a poro-elastic finite element analysis[J]. *Biomech Model Mechanobiol*, 2021, 20(1): 281-291.
- Soufi KH, Castillo JA, Rodriguez FY, et al. Potential role for stem cell regenerative therapy as a treatment for degenerative disc disease and low back pain: a systematic review [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(10): 8893.
- Ying Y, Cai K, Cai X, et al. Recent advances in the repair of degenerative intervertebral disc for preclinical applications [J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1259731.
- Christiani T, Mys K, Dyer K, et al. Using embedded alginate microparticles to tune the properties of in situ forming poly(N-isopropylacrylamide)-graft-chondroitin sulfate bioadhesive hydrogels for replacement and repair of the nucleus pulposus of the intervertebral disc[J]. *JOR Spine*, 2021, 4(3): e1161.
- Cazzanelli P, Wuertz-Kozak K. MicroRNAs in intervertebral disc degeneration, apoptosis, inflammation, and mechanobiology[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): 3601.
- Hu ZL, Li HY, Chang X, et al. Exosomes derived from stem

- cells as an emerging therapeutic strategy for intervertebral disc degeneration[J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(8): 803–813.
19. Song YH, Agrawal NK, Griffin JM, et al. Recent advances in nanotherapeutic strategies for spinal cord injury repair [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2019, 148: 38–59.
20. Leimer EM, Gayoso MG, Jing L, et al. Behavioral compensations and neuronal remodeling in a rodent model of chronic intervertebral disc degeneration [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1): 3759.
21. Li XC, Luo SJ, Fan W, et al. Macrophage polarization regulates intervertebral disc degeneration by modulating cell proliferation, inflammation mediator secretion, and extracellular matrix metabolism[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 922173.
22. Zhang Y, Ji Q. Macrophage polarization in osteoarthritis progression: a promising therapeutic target [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1269724.
23. Yamamoto Y, Kokubo Y, Nakajima H, et al. Distribution and polarization of hematogenous macrophages associated with the progression of intervertebral disc degeneration [J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2022, 47(4): E149–E158.
24. Han Y, Li X, Yan M, et al. Oxidative damage induces apoptosis and promotes calcification in disc cartilage endplate cell through ROS/MAPK/NF- κ B pathway: Implications for disc degeneration [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(3): 1026–1032.
25. Zhou C, Yao S, Fu F, et al. Morroniside attenuates nucleus pulposus cell senescence to alleviate intervertebral disc degeneration via inhibiting ROS-Hippo-p53 pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 942435.
26. Cheng H, Guo Q, Zhao H, et al. An injectable hydrogel scaffold loaded with dual-drug/sustained-release PLGA microspheres for the regulation of macrophage polarization in the treatment of intervertebral disc degeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 24(1): 390.
27. DiStefano TJ, Vaso K, Panebianco CJ, et al. Hydrogel-embedded poly (Lactic-co-Glycolic Acid) microspheres for the delivery of hMSC-Derived exosomes to promote bioactive annulus fibrosus repair [J]. *Cartilage*, 2022, 13 (3): 19476035221113959.
28. Yang L, Yu C, Fan X, et al. Dual-dynamic-bond cross-linked injectable hydrogel of multifunction for intervertebral disc degeneration therapy[J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20 (1): 433.
29. Han F, Tu Z, Zhu Z, et al. Targeting endogenous reactive oxygen species removal and regulating regenerative microenvironment at annulus fibrosus defects promote tissue repair [J]. *ACS Nano*, 2023, 17(8): 7645–7661.
30. Li Z, Cai F, Tang J, et al. Oxygen metabolism-balanced engineered hydrogel microspheres promote the regeneration of the nucleus pulposus by inhibiting acid-sensitive complexes [J]. *Bioact Mater*, 2023, 24: 346–360.
31. Beall DP, Amirdelfan K, Nunley PD, et al. Hydrogel augmentation of the lumbar intervertebral disc: an early feasibility study of a treatment for discogenic low back pain [J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2024, 35(1): 51–58.
32. Peng Y, Chen X, Rao Z, et al. Multifunctional annulus fibrosus matrix prevents disc-related pain via inhibiting neuroinflammation and sensitization [J]. *Acta Biomater*, 2023, 170: 288–302.
33. Gu C, Geng X, Wu Y, et al. Engineered macrophage membrane-coated nanoparticles with enhanced CCR2 expression promote spinal cord injury repair by suppressing neuroinflammation and neuronal death [J]. *Small*, 2023, 20(10): e2305659.
34. Luo Y, He YZ, Wang YF, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell exosomes ameliorate spinal cord injury in rats by activating the Nrf2/HO-1 pathway and regulating microglial polarization[J]. *Folia Neuropathol*, 2023, 61(3): 326–335.
35. Yuan F, Peng W, Yang Y, et al. Endothelial progenitor cell -derived exosomes promote anti -inflammatory macrophages via SOCS3/JAK2/STAT3 axis and improve the outcome of spinal cord injury[J]. *J Neuroinflammation*, 2023, 20(1): 156.
36. Gueguen J, Girard D, Rival B, et al. Spinal cord injury dysregulates fibro-adipogenic progenitors miRNAs signaling to promote neurogenic heterotopic ossifications[J]. *Commun Biol*, 2023, 6(1): 932.
37. Feng G, Zhang Z, Dang M, et al. Nanofibrous spongy microspheres to deliver rabbit mesenchymal stem cells and anti-miR-199a to regenerate nucleus pulposus and prevent calcification[J]. *Biomaterials*, 2020, 256: 120213.
- (收稿日期:2023-11-23 末次修回日期:2024-01-30)
(本文编辑 姜雅浩)