

·综述·

椎间盘源性腰痛的细胞病理学研究进展

关圆¹ 倪家骥^{2,3}

1979年,Park等^[1]首先提出了椎间盘源性腰痛的概念,即不伴根性症状,无神经受压和节段不稳定,起源于椎间盘内部的腰痛,至少40%的慢性腰痛都是因此引起的。椎间盘源性腰痛的发病机制有两个非常重要的过程,即椎间盘退行性变和疼痛伤害感受神经向椎间盘内浸润生长。关于椎间盘退行性变机制的研究迄今不过短短十余年,但免疫组化、原位酶普法、原位杂交和定量图像分析等新技术的相继出现为研究提供了大量新的方法。神经的浸润生长往往并发血管的浸润生长,是引发椎间盘源性腰痛的主要原因,因此如何操控这一病理过程就成为治疗的关键。

1 椎间盘退行性变

退行性变的组织学改变包括:基质破坏增加、基质合成改变(大量Ⅱ型胶原蛋白转化为Ⅰ型胶原蛋白,蛋白聚糖合成减少)、细胞凋亡和残存细胞原位簇状复制。退变过程延伸到纤维环,导致蛋白聚糖减少和膨胀压力降低,最终导致椎间隙变窄。在这个变化中,纤维环内的胶原纤维的牵拉力下降,对运动冲击负荷的耐受性降低,从而打破了髓核与纤维环之间的力学平衡,并导致组织的微损伤和疼痛。这种微损伤表现为纤维环和骨质破坏,纤维环出现裂痕,血管和神经则通过裂痕进入髓核^[2]。当正常的髓核功能受到破坏,椎间隙变窄,会引起运动节段的异常运动和负荷变化,并导致小关节等结构的外伤性损害。

椎间盘细胞功能紊乱是退行性变最重要的过程,直接导致椎间盘基质改变,进而影响运动节段的功能。常见的引起椎间盘细胞功能紊乱的因素有:①椎间盘基质内氧和营养素的扩散;②细胞功能调节机制;③遗传学影响;④衰老和老化;⑤机械性负荷。

1.1 椎间盘基质内氧和营养素的扩散

除纤维环的外围部分外,椎间盘内细胞不受血管滋养,仅通过基质内部的弥散获取氧和营养,因此具有适应低氧和营养环境的能力^[3]。低位腰椎的椎间盘厚度在1cm左右,其扩散的路径要更长一些。

在退行性变早期,椎间盘边缘的血管内血流减少,这可

能与局部血管变化或终板物理结构破坏有关。这一现象对阐述退行性变的开始提供了线索,但需要进行进一步验证。

1.2 细胞功能调节机制

1.2.1 白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1):细胞因子IL-1的两个亚型IL-1 α 和IL-1 β 是椎间盘细胞的正常调节因子,IL-1的合成通过IL-1转化酶进行,并形成IL-1激动受体IL-1RⅡ和IL-1抑制剂IL-1Ra之间的平衡^[4]。

发生退行性变时,由于IL-1抑制剂IL-1Ra受到抑制,椎间盘内细胞产生大量的IL-1,从而引发调节紊乱。IL-1调节系统的失衡会导致一系列与退行性变有关的组织变化,包括:①降解酶活性升高,尤其是基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和解聚蛋白样金属蛋白酶(a disintegrin-like and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motifs, ADAMTs);②蛋白聚糖和Ⅱ型胶原蛋白合成异常,并被Ⅰ型胶原蛋白置换;③血管新生;④神经新生;⑤椎间盘细胞发生凋亡。此外,如果向椎间盘细胞和人体组织提供外源性的IL-1Ra,可以逆转退行性变的分子病理学过程^[5]。

目前还不确定导致IL-1系统失衡的原因,可能与负荷有关^[6]。遗传流行病学研究显示^[7],与IL-1家族相关的遗传基因与腰痛和椎间盘退行性变之间存在联系,提示如果这些基因的合成能力低下,可能导致椎间盘细胞退行性变发生。

1.2.2 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α):TNF- α 存在于发生退行性变的椎间盘内,在脱垂的椎间盘细胞中含量最高,而在正常的椎间盘内则含量较低。TNF能促进椎间盘细胞产生MMP-3,可以降解基质中的蛋白多糖和糖蛋白,TNF- α 的活性越高,椎间盘细胞的退行性变程度越重^[8]。

在动物实验中,将髓核组织直接涂抹于硬膜外腔内的神经根表面,可以导致神经根的功能形态异常及血管异常。突出的椎间盘组织可以诱发神经损伤,而TNF产生于突出的椎间盘细胞,因此可以推断TNF- α 可能是椎间盘源性神经根病的化学介质,并且与神经根损伤和坐骨神经痛有关。此外,使用TNF- α 阻断剂可以延缓病情发展和缓解症状,因此推断TNF- α 阻断剂可以治疗坐骨神经痛^[9]。Hayashi等^[10]对

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2012.07.028

1 北京华信医院-清华大学第一附属医院,100016;2 首都医科大学宣武医院;3 通讯作者

作者简介:关圆,男,主治医师;收稿日期:2012-01-11

TNF- α 缺陷的老鼠进行试验,证实了TNF- α 可以引起感觉神经向椎间盘内生长,这进一步证明神经浸润生长是痛性椎间盘退行性变的特征。

1.2.3 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族:TGF- β 超家族能够促进间充质细胞的增殖和分化,对脊柱的发育和分化有重要的作用。在兔髓核细胞试验中,TGF- β 可以增加蛋白聚糖的合成^[11]。其他研究显示,TGF- β 可以使髓核细胞增殖^[12],并出现来源于间充质干细胞的类似髓核细胞的结构^[13]。

然而近来的研究热点并非TGF- β 本身,而是其超家族中的其他成员,尤其是骨形态发生蛋白质类(bone morphogenetic proteins, BMPs)^[14],其中的BMP-7,即成骨蛋白-1(osteogenic protein-1, OP-1)受到最多关注。研究显示,在形成椎间盘退行性变时,BMP-7可能是一种高效的合成代谢介质。

1.2.4 治疗意义:随着分子医学的出现,细胞因子和细胞因子调控路径成为治疗的新方向,并且已经在类风湿病和闭塞性动脉疾病中开始得到应用。虽然调控分子路径的治疗方法还处于初级阶段,但可能成为研究热点。此外,再生医学领域中最大的挑战是如何在病变体系中修复正常组织,并改善组织的生理环境。当然,仅依靠调控细胞因子是不够的,还需要在改善负荷、滋养、代谢物输送等方面进行努力。

1.3 遗传学影响

遗传因素与椎间盘退行性变有相当重要的联系^[15],目前可以确认的基因有:维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)和胶原IX^[16]。其他可能相关的基因还有:胶原I α 1、白介素-6、蛋白聚糖、MMP3、凝血酶敏感蛋白、环加氧酶、TIMP1、软骨中间层蛋白和IL-1家族等。

1.4 细胞老化

在发生退行性变时,椎间盘细胞的数量和活性均下降,这可以归因于细胞凋亡和细胞老化。细胞老化指体细胞复制一定次数后细胞失去分裂增殖能力,功能减退。其特点是细胞仍保持一定的活力,可合成分泌基质,但由于基因表达已与正常细胞不同,所合成的基质与正常细胞有所差异。随着年龄的增长,基因结构的改变导致细胞发生老化,软骨细胞基质的稳态失衡,可增加骨关节炎的易感性。

老化分为两种类型,即细胞复制老化(replicative senescence, RS)和应激诱导早衰(stress-induced premature senescence, SIPS)。RS是指正常体细胞分裂一定次数后最终增殖能力丧失的一种现象,与染色体结构、功能失调和端粒缩短相关^[17]。而SIPS是指在一些亚致死性应激(应力、高氧浓度、过氧化氢、紫外线、细胞因子及慢性炎症等)作用下细胞提前发生衰老^[18],其中氧化应激可直接损伤DNA而引起细胞早衰。

RS与SIPS引起的细胞老化具有一些共同特征,如细胞生长停滞、细胞形态改变、衰老相关 β -半乳糖苷酶(senescence-related β -galactosidase, SA- β gal)染色阳性、细胞周期抑制因子p16INK4a表达增加。在研究中,较常检测SA- β gal染色阳性率和p16INK4a表达量。同正常椎间盘相比,已经脱垂并发生退行性变的椎间盘内的细胞显示出SA- β gal增强染色^[19]。Le等^[17]认为,无论是年龄增长还是发生老化,p16INK4a的表达量均增加,提示老化以加速的组织特异性衰老的形式存在。此外,p16INK4a蛋白的表达与两个基质分解酶MMP-13和ADAMTS5之间存在直接的联系,而这可能只是一个副现象。

1.5 机械负荷

负荷对椎间盘细胞具有重要的生物学影响,正常的机械负荷可以维持正常的组织形态,而过度的脊柱负荷(如生活习惯和体重增加)与退行性变相关^[20]。其他的一些因素,如骨折和脊柱侧弯,也会改变或降低脊柱的负载能力,从而导致椎间盘退行性变。

机械负荷与细胞功能间的联系机制非常精密,动力传导是目前的研究热点,这是一门综合研究负荷、负荷识别、细胞内信号传导路、基因转录和细胞功能(包括细胞外基质的调节机制)的学科。这些研究有助于我们理解椎间盘退行性变的力学环境变化,以及该变化对椎间盘造成的影响,还有可能在将来应用到再生治疗中。

2 神经的浸润生长

除纤维环最外层的1/3,正常成年人的椎间盘内不存在神经。然而在离体组织观察中发现,在炎症的病理作用下,由于游离的神经末梢受到了刺激,一些疼痛伤害感受神经的纤维会向椎间盘内浸润性生长,并且伴随着血管的浸润性生长,这些改变导致了疼痛症状的出现。Burke等^[21]发现,在发生疼痛的椎间盘内IL-6和IL-8均明显高于正常水平,这表明在盘内的促炎介质的生成是引起疼痛症状的重要因素。Freemont等^[22]研究了疼痛伤害感受神经的浸润生长过程,使用神经染色技术观察椎间盘组织切片,显现了伤害感受神经的形态,并且有GAP43(显示神经生长的标记物)和P物质(伤害性感受器的神经递质)的表达。

发生疼痛性椎间盘退行性变时,在椎间盘腹侧可以表达出降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)的免疫反应^[23]。CGRP一般出现于无髓鞘的慢传导感觉神经内,这些神经已被证实与痛觉传输和神经调节有关。Min Lee等^[24]将完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)注入成年白鼠椎间盘制作椎间盘退行性变的模型,并利用CGRP的免疫反应作为诊断神经浸润性生长的间接证据,发现在发生退行性变的椎间盘纤维环内出现了CGRP的

显色,而临近的正常椎间盘内则不存在,这表明椎间盘源性疼痛可能是由于疼痛伤害感受神经纤维受到刺激后,通过炎性反应向受损的椎间盘内浸润性生长的结果。

有两方面的原因可能导致神经和血管向椎间盘内浸润生长:①组织内抑制神经血管生成的因素减少;②组织内促进神经血管生成的因素增加。在发生退行性变时,两种情况同时存在。神经浸润生长的机制的特点,总体可以归纳为三个方面:①伴随血管浸润生长;②由椎间盘基质的改变所诱导;③从椎间盘细胞功能改变开始。

2.1 神经浸润生长伴随血管浸润生长

神经向发生退行性变的椎间盘内生长时,也会伴随血管浸润生长^[25]。神经会在最初阶段出现血管调控作用,但是由于某种未知的原因,在某些阶段中伤害感受性神经的纤维会向椎间盘内生长。受到神经刺激和神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的综合作用之后,血管内皮细胞会向椎间盘内蔓延,引发血管浸润生长。此外,伴生的神经表达出NGF和TrkA的高亲和性受体,这一现象和神经与血管伴生中表现出的血管调控作用完全吻合。

值得注意的是,伤害感受神经仅仅出现在临幊上所谓的“疼痛水平椎间盘”内,在受到盘内造影或直接探查等刺激时,可以复制出腰痛或坐骨神经痛症状。因此椎间盘疼痛可以反应退行性变的程度,但是其疼痛水平与神经浸润生长的程度不直接相关。

2.2 神经浸润生长由椎间盘基质的改变所诱导

Johnson等^[26]将蛋白聚糖从有神经轴突生长的纤维环和髓核中分离出来,并进行体外培养观察,认为正常椎间盘的蛋白聚糖可以抑制神经生长,但如果发生了退行性变,蛋白聚糖发生了脱糖基化,其抑制效果就会明显减弱。由此推测,正常的蛋白聚糖是神经浸润生长的抑制剂,而蛋白聚糖结构改变是导致神经浸润生长的原因。源于纤维环和髓核的蛋白聚糖都具有抑制作用,但前者作用更强。

2.3 神经浸润生长从椎间盘细胞功能改变开始

Johnson等^[27]将发生退行性变并且有神经轴突生长的椎间盘细胞进行离体培养,发现蛋白聚糖对神经浸润生长的正常抑制功能可以被退行性变椎间盘的细胞所逆转,而逆转程度与细胞数量有关。

总之,正常的椎间盘基质可以防止神经向盘内生长,但是受到退行性变的影响,蛋白聚糖的结构发生改变,椎间盘细胞发生生理改变,导致了神经向疼痛水平的椎间盘内生长,并且随着新生血管的形成,神经源性的细胞因子生成增加也加速了这一过程。

3 临床应用前景

椎间盘的退行性变已经被证实是导致腰痛的主要原因,

将来旳研究主要会集中在预防、减轻和逆转椎间盘退行性变旳方面。以往旳临床研究方向主要是防止因基质合成紊乱和细胞因子异常所导致旳机械负荷改变。目前临床研究旳两个焦点是:复原正常的椎间盘环境和再生有用的椎间盘组织。此外一个新的研究领域受到关注,即利用动力传导和遗传学技术识别椎间盘退行性变旳高危人群。

4 小结

椎间盘退行性变是腰痛旳主要原因,这是一个活动性过程,并受到细胞因子、负荷改变和细胞老化旳影响。进一步展开与退行性变相关的分子病理学研究,将会为治疗椎间盘源性腰痛提供新的思路和方法。

参考文献

- [1] Park WM, Mc Call IW, O'Brien JP, et al. Fissuring of the posterior annulus fibrosus in the lumbar spine[J]. Br J Radiol, 1979, 52 (617): 382—387.
- [2] Hilton RC, Ball J. Vertebral rim lesions in the dorsolumbar spine[J]. Ann Rheum Dis, 1984, 43: 302—307.
- [3] Soukane DM, Shirazi-Adl A, Urban JP. Computation of coupled diffusion of oxygen, glucose and lactic acid in an intervertebral disc[J]. J Biomech, 2007, 40: 2645—2654.
- [4] Le Maitre CL, Freemont AJ, Hoyland JA. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of human intervertebral disc degeneration[J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7: R732—745.
- [5] Hoyland JA, Le Maitre C, Freemont AJ. Investigation of the role of IL-1 and TNF in matrix degradation in the intervertebral disc[J]. Rheumatology, 2008, 47: 809—814.
- [6] Wang DL, Jiang SD, Dai LY. Biologic response of the intervertebral disc to static and dynamic compression in vitro[J]. Spine, 2007, 32: 2521—2528.
- [7] Solovieva S, Leino-Arjas P, Saarela J, et al. Possible association of interleukin 1 gene locus polymorphisms with low back pain[J]. Pain, 2004, 109: 8—19.
- [8] Weiler C, Nerlich AG, Bachmeier BE, et al. Expression and distribution of tumor necrosis factor alpha in human lumbar intervertebral discs: a study in surgical specimen and autopsy controls[J]. Spine, 2005, 30: 44—53.
- [9] Cooper RG, Freemont AJ. TNF-alpha blockade for herniated intervertebral discinduced sciatica: a way forward at last?[J]. Rheumatology, 2004, 43: 119—121.
- [10] Hayashi S, Taira A, Inoue G, et al. TNF-alpha in nucleus pulposus induces sensory nerve growth: a study of the mechanism of discogenic low back pain using TNF-alpha-deficient mice[J]. Spine, 2008, 33: 1542—1546.
- [11] Nishida K, Kang JD, Gilbertson LG, et al. Modulation of the biologic activity of the rabbit intervertebral disc by gene therapy: an in vivo study of adenovirus-mediated transfer of the human transforming growth factor beta 1 encoding gene [J]. Spine, 1999, 24: 2419—2425.
- [12] Zhang R, Ruan D, Zhang C. Effects of TGF-beta1 and IGF-1 on proliferation of human nucleus pulposus cells in medium with different serum concentrations[J]. Orthop Surg, 2006, 1: 9.
- [13] Steck E, Bertram H, Abel R, et al. Induction of intervertebral disc-like cells from adult mesenchymal stem cells[J]. Stem Cells, 2005, 23: 403—411.
- [14] Gilbertson L, Ahn SH, Teng PN, et al. The effects of recombinant human bone morphogenetic protein-2, recombinant hu-

- man bone morphogenetic protein-12, and adenoviral bone morphogenetic protein-12 on matrix synthesis in human annulus fibrosis and nucleus pulposus cells[J]. Spine, 2008, 8: 449—456.
- [15] Battie MC, Videman T, Levalahti E, et al. Heritability of low back pain and the role of disc degeneration[J]. Pain, 2007, 131: 272—280.
- [16] Videman T, Leppa vuori J, Kaprio J, et al. Intragenic polymorphisms of the vitamin D receptor gene associated with intervertebral disc degeneration[J]. Spine, 1998, 23: 2477—2485.
- [17] Le Maitre CL, Freemont AJ, Hoyland JA. Accelerated cellular senescence in degenerate intervertebral discs: a possible role in the pathogenesis of intervertebral disc degeneration [J]. Arthritis Res Ther, 2007, 9: R45.
- [18] Aigner T, Rose J, Martin J, et al. Aging theories of primary osteoarthritis: from epidemiology to molecular biology[J]. Rejuvenation Res, 2004, 7: 134—145.
- [19] Gruber HE, Ingram JA, Norton HJ, et al. Senescence in cells of the aging and degenerating intervertebral disc: immunolocalization of senescence-associated beta-galactosidase in human and sand rat discs[J]. Spine, 2007, 32: 321—327.
- [20] Pye SR, Reid DM, Adams JE, et al. Influence of weight, body mass index and lifestyle factors on radiographic features of lumbar disc degeneration[J]. Ann Rheum Dis, 2007, 66: 426—427.
- [21] Burke JG, Watson RW, McCormack D, et al. Intervertebral discs which cause low back pain secrete high levels of pro-inflammatory mediators[J]. J Bone Joint Surg, 2002, 84: 196—201.
- [22] Freemont AJ, Peacock TE, Goupille P, et al. Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain[J]. Lancet, 1997, 350: 178—181.
- [23] Ozawa T, Ohtori S, Inoue G, et al. The degenerated lumbar intervertebral disc is innervated primarily by peptide-containing sensory nerve fibers in humans[J]. Spine, 2006, 31: 2418—2422.
- [24] Min L, Byung-JK, Eun JL, et al. Complete Freund's adjuvant-induced intervertebral discitis as an animal model for discogenic low back pain[J]. Anesthesia & Analgesia, 2009, 109: 1287—1296.
- [25] Peng B, Wu W, Hou S, et al. The pathogenesis of discogenic low back pain[J]. Bone Joint Surg Br, 2005, 87: 62—67.
- [26] Johnson WE, Caterson B, Eisenstein SM, et al. Human intervertebral disc aggrecan inhibits nerve growth in vitro[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46: 2658—2664.
- [27] Johnson WE, Sivan S, Wright KT, et al. Human intervertebral disc cells promote nerve growth over substrata of human intervertebral disc aggrecan[J]. Spine, 2006, 31: 1187—1193.

中山大学2012年首届物理治疗学研究生课程进修班简介

办学目的:培养能适应我国康复医学发展的物理治疗学专业高级专业人才,促使国内院校及教学医院的师资达到国际物理治疗学专业的素质要求。

主办单位:中山大学研究生院、中山大学附属第一医院、中山医学院;**合作单位:**美国纽约大学;**办学内容:**该研究生课程班与美国纽约大学合作。除中大规定的学位课程外,全部专业课程按国际物理治疗学专业硕士生课程教学要求设置,由美国纽约大学及南加州大学等物理治疗学教学团队主导制定并授课。通过课程班的培训以达到符合国际专业教育标准的物理治疗学专业教学人员及具备高级专业技能的临床物理治疗师。

学位课程:马克思主义理论;基础英语;康复医学与理疗学;病理生理学进展;局部解剖学。专业课程:神经系统疾病的物理治疗评估与治疗;肌肉骨骼系统疾病的物理治疗评估与治疗;运动治疗学;进阶组织学和病理学;进阶肌动学;心肺系统疾病的物理治疗评估与治疗;操作治疗学;辅具及适应性设备。

支撑条件:中山大学附属第一医院康复医学教学团队(博导2名、硕导6名),配备运动重建实验室、语音认知神经生理实验室、物理治疗学教学实验室,近3年科研经费420万元。附属二院三院教学团队也参与教学。

中山大学-广东省人社厅博士后创新实践基地:共建单位为广东省工伤康复医院(中心)。

中山大学-广东省教育厅联合培养研究生示范基地:联合单位为中国科学院深圳先进科技研究院李光林教授团队,博导3名,硕导4名,近3年科研经费1370万元。

招生信息:首届物理治疗学研究生课程班于2012年6月开始招生,9月正式上课。课程完成并考试合格将授予中山大学研究生院课程班证书,完成国家规定的学位考试可获得康复医学与理疗学硕士学位。纽约大学初步认定完成全部物理治疗学专业课程并考试合格者将同时授予纽约大学物理治疗学专业课程证书。

详细招生简章和相关信息请浏览中山大学研究生院网页:<http://graduate.sysu.edu.cn/Item/3553.aspx>。

中山大学附属第一医院康复医学科