

颈椎后纵韧带骨化症病因的研究进展

董 军, 袁 文, 王新伟

【关键词】 颈椎; 骨化; 后纵韧带; 综述文献

【中图分类号】 R 686.5 【文献标识码】 A 【文章编号】 1672-2957(2008)01-0051-04

颈椎后纵韧带骨化症 (ossification of the posterior longitudinal ligament, OPLL) 是指颈椎后纵韧带病理性异位骨化, 导致脊髓和神经根慢性压迫的一种疾病。该病在日本发病率较高, 故也被称作日本人病。OPLL 是一种由基因及环境等多因素相互作用导致的复杂疾病, 目前发病机制不明。随着生物学技术的发展, OPLL 的病理生理过程已获得初步了解。现查阅相关文献, 就 OPLL 的病因作一综述。

1 基因差异

日本研究者根据对 OPLL 双生子和家族谱系的研究, 首先分析了与 OPLL 发病相关的遗传基因。Sakou 等^[1,2]报道了位于常染色体 6 上的易感人白细胞抗原 (HLA), 就此推断 OPLL 遗传因子位于常染色体 6 上。OPLL 患者与正常人群相比某些调控骨、软骨和韧带代谢的多样性基因出现的机率较高, 这些基因可能与 OPLL 的发生有关。胶原 11A2 (COL11A2) 就是研究较早的基因之一, 该基因位于常染色体 6 的 II 型组织相容性复合体上, 完成 XI 型胶原 $\alpha 2$ 链的编码^[3,4], OPLL 患者位于 COL11A2 的内含子 6 单核苷酸比正常人群显著减少^[5]。同一作者报道了另外一个位于内含子 6 的 COL11A2 单核苷酸替代物, 这种替代物在男性中出现较多, 而女性较少见^[6]。OPLL 男女发病比例约为 2:1, 这些因素是否会造成 OPLL 明显的性别发病差异目前还不清楚。

另外, Hirakawa 等^[7]发现 18 周的 ttw 大鼠 (tip-toe walking mouse) 椎间盘间隙的后纵韧带 XI 型胶原表达增高。Tanaka 等^[8]发现 OPLL 患者位于常染色体 21q 的胶原 6A1 基因 (COL6A1) 显著增多, COL6A1 编码 VI 型胶原的 α 链, 也是一种细胞外基质。XI 和 VI 型胶原对 OPLL 的确切作用尚不清楚, 但这些作者认为过多的细胞外基质蛋白可为成骨细

胞或软骨细胞提供支架作用, 随后产生异位的软骨内成骨^[3,5,8]。

目前 OPLL 的动物模型有 ttw 大鼠和 Zuker 肥胖大鼠 2 种, 了解大鼠模型的骨化基因对人类探索 OPLL 基因本质有所帮助。ttw 大鼠是自然出现 OPLL 的突变体, 其后纵韧带免疫组化及骨代谢分析显示与人 OPLL 非常相似^[9]。Okawa 等^[10,11]沉默 ttw 大鼠的 NPPS (核苷酸焦磷酸盐), 使超过 1/3 的 NPPS 基因表达丢失, 发现 NPPS 与骨化有关。正常 NPPS 蛋白产物是一种膜结合酶, 通过产生焦磷酸盐抑制软骨的钙化和骨的矿化, ttw 大鼠的韧带产生异位骨化可能与焦磷酸盐水平降低有关^[10,11]。

人类发现有 3 种 NPPS 亚型 (NPP1-3), 其中 NPP1 与 OPLL 发病有关。人类 NPP1 基因位于常染色体 6 上, NPP1 酶在骨和软骨细胞中呈高表达^[12], 已经确定 NPP1 多样性基因对 OPLL 发病具有特异性^[13]。研究还发现一个内含子 NPP1 多样性基因在颈胸部 OPLL 出现的频率较高, 说明 NPP1 基因与 OPLL 进展有关, 而与 OPLL 起始阶段无关^[14]。虽然在后纵韧带骨化方面 ttw 大鼠和人类有众多相似性, 但是 ttw 大鼠与人不属同一种系, 与人 OPLL 不同的是 ttw 大鼠的异型性表现在不仅会出现脊柱韧带的骨化, 还会有关节囊及其韧带和软骨的骨化。

Zuker 肥胖大鼠是 OPLL 的另外一个动物模型, 它已广泛用于遗传性肥胖症、高脂血症、胆固醇血症和高胰岛素血症的研究。它的韧带骨化多发生在胸部区域, 而且组织学发现 Zuker 肥胖大鼠的骨化与人类 OPLL 非常相似^[15], 已经确定 Zuker 肥胖鼠的遗传因素主要是来普汀 (leptin) 受体的变异, 其缺乏来普汀受体的介导和细胞内信号的转导^[16]。来普汀受体有调节能量平衡和神经内分泌的功能, 可能与肥胖和代谢紊乱有关。

以上分析说明基因分析尽管可以确定某些 OPLL 的特殊基因, 但结果往往是这些多样性基因与 OPLL 无直接因果关系。显然, OPLL 不是一种单

作者简介: 董军 (1976 -), 博士, 主治医师
作者单位: 200003 上海, 第二军医大学附属长征医院骨科 (董军现于山东省医院骨科 250021)

基因病变,可能是众多基因相互作用导致的。

2 生长和转录因子

OPLL 组织化学和细胞化学的研究发现众多因子与 OPLL 的发生有关。BMP 和 TGF- β 是研究最广泛的 2 种蛋白。BMP 是一种多功能蛋白,在骨的形成中具有明确的作用。目前为止,已经发现超过 30 种类型的 BMP,其中 BMP-2 与 OPLL 关系最密切^[17,18]。OPLL 患者手术标本免疫组化结果显示:临近骨化部位的未骨化部分韧带的基质、软骨细胞和软骨区的成纤维细胞 BMP-2 均增多,而正常人群对照组后纵韧带未发现此现象^[19]。BMP-4 和 BMP-7 可能也与 OPLL 的发生有关,在 OPLL 患者的手术标本和韧带细胞系中均存在其受体^[20]。

TGF- β 在许多器官的分化中起到重要的作用。TGF- β 在临近骨化的软骨区、骨化基质和软骨细胞中存在,而在纤维细胞中不存在^[19]。体外研究发现 TGF- β 加入培养细胞中会抑制 OPLL 细胞增殖,说明其与 BMP-2 的作用完全不同^[21]。目前关于 TGF- β 的基因分析研究结果是不一致的,这些研究的差异可能与入组患者的数量及统计学差异有关^[22,23]。

其他与 OPLL 病因有关的因子还包括胰岛素样生长因子、甲状旁腺激素、血小板源性生长因子、维生素 A 类、雌激素和白介素-1。除生长因子外,cDNA 点阵分析发现几个转录因子,如锌指蛋白 145 和 MSX2,都与 OPLL 病因有关。锌指蛋白 145 是 BMP 表达的调控子和成骨细胞早期分化的激动子,其在 OPLL 患者韧带细胞中呈正调控,而在对照组则相反。在基质干细胞中沉默锌指蛋白 145 导致成骨特异性基因表达减少^[24]。相反,MSX2 基因能起到阻止成骨细胞分化和韧带骨化的重要作用,其在 OPLL 细胞系中呈负调控,减少 MSX2 基因表达诱使基质干细胞向成骨细胞分化,而增加 MSX2 则相反^[25]。这些发现说明阐释基质干细胞和成纤维细胞向成骨细胞转化的细胞内信号转导机制,可能会更好的解释 OPLL 的病因。

3 机械刺激

中等量的反复的应力刺激可能是 OPLL 进展的重要因素。Tanno 等^[26]取培养的 OPLL 和 N-OPLL 的韧带细胞,施加循环的机械应力刺激,结果 OPLL 组 ALP、BMP-2、BMP-4 及 BMP 受体 mRNA 表达升高,而 N-OPLL 组无变化。Iwasaki 等^[27]将循环的机械应力施加于 OPLL 和 N-OPLL 的韧带细胞,发现 OPLL 患者韧带细胞经刺激后成骨基因 Cbfa1、ALP、骨钙素的 mRNA 表达增加,而 N-OPLL 组无变化。

体外应力刺激的施加往往应用电机驱动非轴向的正弦循环应力刺激,这种刺激可诱导 OPLL 患者包括 BMP-2、BMP-4、前列腺素 I 2 合酶、成骨细胞特异性转录因子在内的生长因子、信号转导酶和转录因子的核苷酸转录,而 N-OPLL 组未见此现象,这个结果说明机械应力转化为生物化学反应在诱导韧带骨化的作用中可能起到一定的作用。钙通道、前列腺素/环腺苷酸-磷酸系统、促有丝分裂蛋白激酶的激活据说与此信号传导有关^[20,27,28],然而体外研究环境与临床的一致性尚值得商榷。

4 代谢异常

临床上发现部分 OPLL 患者具有颈短、肥胖、血糖增高等特征。伴有各种代谢紊乱的患者,包括甲状旁腺功能减退、低磷酸盐性佝偻病、非胰岛素依赖性糖尿病,与普通人群相比更容易患 OPLL^[29]。Shingyouchi 等^[30]通过对 OPLL 患者口服葡萄糖耐量试验发现,肥胖与葡萄糖代谢异常是 OPLL 的危险因素,推测 OPLL 可能与葡萄糖代谢异常有关。骨的代谢受各种激素、酶及生长因子的调控,其中甲状旁腺激素(PTH)是影响血钙水平的主要激素。PTH 分泌增多,可导致骨吸收>骨形成,出现具有特征性的骨膜下区骨吸收,骨溶解间接刺激骨母细胞增殖,导致后纵韧带处存在异位骨化现象。Matsui 等^[31]使用 Sandwich 酶联免疫吸收法测定 40 例颈椎 OPLL 患者的 I 型胶原肽和骨钙素(osteocalcin)的浓度,发现 I 型胶原肽和骨钙素浓度显著升高,并随颈椎后纵韧带骨化的进展而增加,提示 PTH 在 OPLL 发病机制中有一定作用。降钙素的主要生物学作用是抑制骨吸收,Okawa 等^[32]通过对 TWY 大鼠及 ICR 大鼠应用降钙素刺激研究发现降钙素可以抑制骨吸收,同时抑制骨膜成骨活动,指出降钙素对 OPLL 患者可能具有治疗作用。Ishida 等^[33]取出人后纵韧带细胞进行培养并在体外观察其形态学及生化特点,结果表明降钙素在体外可直接刺激后纵韧带骨化患者的韧带细胞成骨分化,韧带细胞的增生和分化受到甲状旁腺激素、前列腺素 2、降钙素、1,25-二羟维生素 D3 等骨相关激素的调控。

5 血液标记物

OPLL 患者骨质矿化密度要比其他部位韧带骨化密度高得多,骨吸收和合成的失衡可能与 OPLL 的发病有关。OPLL 患者骨合成可能异常增多,因此涉及骨合成的某些蛋白或细胞因子可能会升高^[34]。已经有关于此类 OPLL 标记物的报道,测量几种已知骨合成标记物,包括溶胶原的降解产物、纤

维结合素、骨钙素,这些都是成骨细胞合成的非胶原骨基质蛋白。然而大多数研究不能证实 OPLL 患者与同龄对照组的血清标志物有差异。同样,血清骨吸收标记物(如嘧啶代谢物和磷酸盐),在这 2 类人群中也没有差异。

6 生活习惯

不同的饮食生活习惯可能也与 OPLL 的发生有关。高盐和低蛋白饮食与日本和台湾的 OPLL 高发有关,而饮酒和吸烟与 OPLL 的发生无相关性^[35]。睡眠欠佳可能是 OPLL 发生的另一个风险因素。短期睡眠(≤ 5 h)与适度睡眠(6~8 h)相比患 OPLL 的机率增加。睡眠时间加长(≥ 9 h)也增加了 OPLL 的患病机率,但并无统计学意义^[29]。

尽管对 OPLL 的认识有了长足的进步,但是对于其发生机制仍然未明。新的分子生物学技术的发展和人类基因组研究的突破,使越来越多的与 OPLL 有关的基因被发现。但是 OPLL 是多因素综合作用的结果,需要多学科努力才能找到 OPLL 的病因和治疗的突破口。

参考文献

- [1] Matsunaga S, Yamaguchi M, Hayashi K, et al. Genetic analysis of ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. Spine, 1999, 24(10):937-939.
- [2] Sakou T, Taketomi E, Matsunaga S, et al. Genetic study of ossification of the posterior longitudinal ligament in the cervical spine with human leukocyte antigen haplotype[J]. Spine, 1991, 16(11):1249-1252.
- [3] Koga H, Hayashi K, Taketomi E, et al. Restriction fragment length polymorphism of genes of the alpha 2(XI) collagen, bone morphogenetic protein-2, alkaline phosphatase, and tumor necrosis factor-alpha among patients with ossification of posterior longitudinal ligament and controls from the Japanese population[J]. Spine, 1996, 21(4):469-473.
- [4] Koga H, Sakou T, Taketomi E, et al. Genetic mapping of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. Am J Hum Genet, 1998, 62(6):1460-1467.
- [5] Maeda S, Ishidou Y, Koga H, et al. Functional impact of human collagen alpha2(XI) gene polymorphism in pathogenesis of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. J Bone Miner Res, 2001, 16(5):948-957.
- [6] Maeda S, Koga H, Matsunaga S, et al. Gender-specific haplotype association of collagen alpha2(XI) gene in ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. J Hum Genet, 2001, 46:1-4.
- [7] Hirakawa H, Kusumi T, Nitobe T. An immunohistochemical evaluation of extracellular matrix components in the spinal posterior longitudinal ligament and intervertebral disc of the tiptoe walking mouse[J]. J Orthop Sci, 2004, 9(6):591-597.
- [8] Tanaka T, Ikari K, Furushima K, et al. Genomewide linkage and linkage disequilibrium analyses identify COL6A1, on chromosome 21, as the locus for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. Am J Hum Genet, 2003, 73(4):812-822.
- [9] Nakamura I, Ikegawa S, Okawa A, et al. Association of the human NPPS gene with ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL)[J]. Hum Genet, 1999, 104(6):492-497.
- [10] Okawa A, Ikegawa S, Nakamura I, et al. Mapping of a gene responsible for twy (tip-toe walking Yoshimura), a mouse model of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL)[J]. Mamm Genome, 1998, 9(2):155-156.
- [11] Okawa A, Nakamura I, Goto S, et al. Mutation in Npps in a mouse model of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. Nat Genet, 1998, 19(3):271-273.
- [12] Goding JW, Grobden B, Slegers H. Physiological and pathophysiological functions of the ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family[J]. Biochim Biophys Acta, 2003, 1638(1):1-19.
- [13] Koshizuka Y, Ikegawa S, Sano M, et al. Isolation of novel mouse genes associated with ectopic ossification by differential display method using ttw, a mouse model for ectopic ossification[J]. Cytogenet Cell Genet, 2001, 94(3-4):163-168.
- [14] Tahara M, Aiba A, Yamazaki M, et al. The extent of ossification of posterior longitudinal ligament of the spine associated with nucleotide pyrophosphatase gene and leptin receptor gene polymorphisms[J]. Spine, 2005, 30(8):877-880.
- [15] Okano T, Ishidou Y, Kato M, et al. Orthotopic ossification of the spinal ligaments of Zucker fatty rats: a possible animal model for ossification of the human posterior longitudinal ligament[J]. J Orthop Res, 1997, 15(6):820-829.
- [16] Furushima K, Shimo-Onoda K, Maeda S, et al. Large-scale screening for candidate genes of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. J Bone Miner Res, 2002, 17(1):128-137.
- [17] Hayashi K, Ishidou Y, Yonemori K, et al. Expression and localization of bone morphogenetic proteins (BMPs) and BMP receptors in ossification of the ligamentum flavum[J]. Bone, 1997, 21(1):23-30.
- [18] Hoshi K, Amizuka N, Sakou T, et al. Fibroblasts of spinal ligaments pathologically differentiate into chondrocytes induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2: morphological examinations for ossification of spinal ligaments[J]. Bone, 1997, 21(2):155-162.
- [19] Kawaguchi H, Kurokawa T, Hoshino Y, et al. Immunohistochemical demonstration of bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor-beta in the ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine[L]. Spine, 1992, 17(3 Suppl):S33-36.
- [20] Yonemori K, Imamura T, Ishidou Y, et al. Bone morphogenetic protein receptors and activin receptors are highly expressed in ossified ligament tissues of patients with ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. Am J Pathol, 1997, 150:1335-1347.

- [21] Inaba K, Matsunaga S, Ishidou Y, et al. Effect of transforming growth factor-beta on fibroblasts in ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. *In Vivo*, 1996, 10(4):445-449.
- [22] Kamiya M, Harada A, Mizuno M, et al. Association between a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene and genetic susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament in Japanese patients[J]. *Spine*, 2001, 26(11):1264-1267.
- [23] Kawaguchi Y, Furushima K, Sugimori K, et al. Association between polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with the radiologic characteristic and ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. *Spine*, 2003, 28(13):1424-1426.
- [24] Ikeda R, Yoshida K, Tsukahara S, et al. The promyelotic leukemia zinc finger promotes osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells as an upstream regulator of CBFA1[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(9):8523-8530.
- [25] Yoshizawa T, Takizawa F, Iizawa F, et al. Homeobox protein MSX2 acts as a molecular defense mechanism for preventing ossification in ligament fibroblasts[J]. *Mol Cell Bio*, 2004, 24(8):3460-3472.
- [26] Tanno M, Furukawa KI, Ueyama K, et al. Uniaxial cyclic stretch induces osteogenic differentiation and synthesis of bone morphogenetic proteins of spinal ligament cells derived from patients with ossification of the posterior longitudinal ligaments[J]. *Bone*, 2003, 33(4):475-484.
- [27] Iwasaki K, Furukawa KI, Tanno M, et al. Uni-axial cyclic stretch induces Cbfa1 expression in spinal ligament cells derived from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. *Calcif Tissue Int*, 2004, 74(5):448-457.
- [28] Ohishi H, Furukawa K, Iwasaki K, et al. Role of prostaglandin I2 in the gene expression induced by mechanical stress in spinal ligament cells derived from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, 305(3):818-824.
- [29] Washio M, Kobashi G, Okamoto K, et al. Sleeping habit and other life styles in the prime of life and risk for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine (OPLL): a case-control study in Japan[J]. *J Epidemiol*, 2004, 14(5):168-173.
- [30] Shingyouchi Y, Nagahama A, Niida M. Ligamentous ossification of the cervical spine in the late middle-aged Japanese men. Its relation to body mass index and glucose metabolism[J]. *Spine*, 1996, 21(21):2474-2478.
- [31] Matsui H, Yudoh K, Tsuji H. Significance of serum levels of type I procollagen peptide and intact osteocalcin and bone mineral density in patients with ossification of the posterior longitudinal ligaments[J]. *Calcif Tissue Int*, 1996, 59(5):397-400.
- [32] Okawa A, Goto S, Moriya H. Calcitonin simultaneously regulates both periosteal hyperostosis and trabecular osteopenia in the spinal hyperostotic mouse (twy/twy) in vivo[J]. *Calcif Tissue Int*, 1999, 64(3):239-247.
- [33] Ishida Y, Kawai S. Characterization of cultured cells derived from ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. *Bone*, 1993, 14(2):85-91.
- [34] Ishihara C, Kushida K, Takahashi M, et al. The efficacy of biochemical markers in patients with ossification of posterior longitudinal ligament of the spine[J]. *Spinal Cord*, 2000, 38(4):211-213.
- [35] Kobashi G, Washio M, Okamoto K, et al. High body mass index after age 20 and diabetes mellitus are independent risk factors for ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine in Japanese subjects: a case-control study in multiple hospitals[J]. *Spine*, 2004, 29(9):1006-1010.

(收稿日期:2007-10-25)

(本文编辑 张 丽)

· 征订启事 ·

欢迎订阅 2008 年《脊柱外科杂志》

《脊柱外科杂志》是一本经国家新闻出版总署批准,由上海市卫生局主管,中华医学会上海分会主办,上海长征医院骨科承办的高级学术期刊。本刊已被中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊全文数据库、中文科技期刊数据库、中文生物医学期刊文献数据库、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)收录为统计源期刊。本刊对脊柱外科各个领域的基础与临床研究热点、研究成果、技术与进展、经验与创新等进行全方位的报道,竭诚为脊柱外科医师、学者服务。读者对象为骨科及相关学科的临床、教学和科研人员。

本刊为双月刊,大 16 开本,正文 64 页,铜版纸印刷,双月 28 日出版,全国公开发行。邮发代号 4-750。每期定价 9.8 元,全年 58.8 元。

另有《脊柱外科杂志》合订本:第一卷(2003 年版)至第四卷(2006 版),定价(含邮费):精装本 100 元/卷,平装本 70 元/卷,需要者可直接从本刊编辑部订购。

联系地址:上海市凤阳路 415 号《脊柱外科杂志》编辑部 邮政编码:200003

联系电话:021-63610109-8288 021-63720099(传真)

E-mail:spine@sh163.net

http://www.spinejournal.org.cn