

腰椎椎间盘退变过程中炎症介质作用的研究进展

袁宇飞, 彭宝淦

【关键词】腰椎; 椎间盘; 炎症介导素类; 综述

【中图分类号】R 681.533 【文献标志码】A 【文章编号】1672-2957(2012)05-0310-05

【DOI】doi:10.3969/j.issn.1672-2957.2012.05.015

椎间盘退变 (intervertebral disk degeneration, IVDD) 的过程伴随着生物力学和形态学的改变。腰椎椎间盘退变是导致下腰痛及神经根痛的主要病因并且严重的退变可以引起失能, 但是其发病的病理生理学机制仍然不是非常清楚。1934年, Mixer等^[1]首次证明了椎间盘组织突出到椎管中压迫和刺激神经根可以引起坐骨神经痛症状。这只能部分解释神经根痛的病理生理机制。IVDD是椎间盘细胞及细胞外基质减少的一种连续性改变。炎症反应是IVDD的重要因素。

椎间盘是人体内最大的封闭和无血管组织并且有很高机械压力和静水压力, 极度缺氧且营养供应非常有限。椎间盘的无血管性防止了纤维蛋白的沉积有利于软组织的修复, 但是椎间盘微弱的修复能力导致了椎间盘损伤的积累和由促炎细胞因子和蛋白水解酶等介导的慢性炎症的发生^[2]。显微镜下观察, IVDD有一些特征性的改变, 比如细胞凋亡、增殖、黏液性的退变、颗粒状的改变和神经、血管的长入。在椎间盘源性腰痛患者的疼痛椎间盘中可以观察到沿着纤维环裂隙长入髓核的血管生成^[3]。从手术中切除的椎间盘可以看出活跃的炎症反应过程是由外向内进行的, 而且动物实验也证实了有效的修复只发生在外层纤维环和终板, 而这里是细胞密度最高和代谢最活跃的地方^[4-5]。Kang等^[6]在突出的椎间盘中发现了一系列的炎症细胞因子, 包括基质金属蛋白酶类 (matrix metalloproteinases, MMPs)、NO、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6), 前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)。退变的炎症级联反应最终将导致广泛的结构缺陷和正常运动节段功能和结构的丧失。大量研究表明大量的炎症介质在IVDD的始动、进展以及炎症的消除方面起着平衡的作用。

1 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)

在退变及突出的椎间盘中, TNF- α 存在于组织细胞, 纤维组织, 内皮细胞, 和软骨细胞。TNF- α 通过旁分泌或者自分泌的方式作用于 TNF 受体, 包括 I 型 (p55) 和 II 型 (p75)。TNF- α 是可以引起神经根放射痛及 IVDD 的炎性介质^[7]。Sinclair 等^[8]将 15 名患者的退变椎间盘取出进行体外实验, 分为 TNF- α 培养组和阴性对照组, 实验组中加入不同剂量的 TNF II 型受体 (TNF receptor II, TNF-R II), 结果发现相对于对照组 TNF- α 可以显著性增加 NO, PGE2 和 IL-6 的分泌。在加入少量的 TNF-R II 后 NO, PGE2 的产生显著减少, 并呈剂量相关性, 但是 IL-6 的量并未改变。微量的 TNF-R II 就可以明显的减弱 TNF- α 的诱导作用, 表明 TNF 受体是有效的 TNF 拮抗剂并且可以减弱退变椎间盘的炎症反应。不难推测 TNF 受体及其类似物可以用于 IVDD 的临床治疗。Bachmeier 等^[9]用人尸体的椎间盘做实验, 通过免疫组化的方法分析 TNF- α 和 TNF-R I 和 TNF-R II、TNF- α 转换酶的表达和定位, 发现这 4 项指标从年轻人 (18 岁) 开始就有显著性的表达, 并且主要分布在髓核, 在老年人的椎间盘髓核中有轻度的降低, 在纤维环中表达明显减少, 表明随着年龄的增加, 椎间盘中 TNF- α 的含量增加并且与 IVDD 相关。TNF- α 被 TNF-转换酶活化而且通过受体而发挥生物学活性。Kobayashi 等^[10]建立大鼠腰椎椎间盘突出模型, 分别将 5 羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5HT), TNF, 5-HT + TNF 注射入大鼠椎间盘内, 观察大鼠的后爪痛觉敏感性, 证实了 5-HT 和 TNF 可以诱导疼痛并且二者相互作用可以延长疼痛时间。Yamashita 等^[11]通过动物实验研究证明 TNF- α 可以通过长期的刺激而引起背根神经节病理改变而引起根性痛。另外在脊柱韧带的一些成纤维细胞中也有 TNF- α 的表达。张林华等^[12]将纤维环破裂组、纤维环未破裂组与对照组相比较, 结果发现 TNF- α 和 IL-1 β 的含量在纤维环破裂组明显高于纤维环未破

作者简介: 袁宇飞 (1985—), 硕士在读, 医师
作者单位: 100039 北京, 武警总医院脊柱外科
通信作者: 彭宝淦 pengboagan@163.com

裂组,且两者都高于对照组,证明:TNF- α 和IL-1 β 均可能参与了人类椎间盘组织的退变过程。Ulrich等^[13]通过针刺法制造大鼠IVDD模型,观察到了IL-1和TNF- α 持续的增高。Takada等^[14]制造动物自体髓核移植模型,用PCR的方法检测到自体髓核移植后TNF- α ,IL-6,IL-8和环氧化酶(cyclooxygenase-2,COX-2)表达的上调及短时间内的巨噬细胞灌注,并观察到TNF- α 和IL-8的中和显著的增加了大鼠后爪的疼痛阈值。在椎间盘-巨噬细胞的相互作用下IL-6和PGE2的产生需要TNF- α 的诱导;TNF- α 和IL-8的中和可能将是椎间盘突出有效治疗方式。

2 PGE2

PGE2在引起神经根病方面起主要作用。花生四烯酸的级联反应可以合成PGE2,合成过程主要由2种酶调节,磷脂酶A2(phospholipaseA2,PLA2)和COX-2。PLA2是这个级联反应的限速酶。PG和白三烯是重要的炎症介质可以导致组织损伤及产生疼痛、降低疼痛阈值。PGE2可以提高其他致痛物质的敏感性,比如缓激肽。Vo等^[15]的研究发现PGE2可以减少椎间盘细胞蛋白聚糖的合成,并且呈剂量依赖性。用半定量RT-PCR的方法检测椎间盘细胞中关键基质结构基因、聚集蛋白聚糖、多功能蛋白聚糖、I和II型胶原的表达。结果发现PGE2可以降低抗分解代谢分子基质金属蛋白酶组织抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1,TIMP-1)的mRNA的表达,但是PGF2 α 增加分解代谢分子MMP-1和MMP-2的mRNA的表达。因此得出结论PGE2和PGF2 α 可能在保持细胞外基质的稳态方面起消极影响。

3 NO

NO最初发现是内皮细胞分泌的舒张因子,而且是一种重要的血管活性物质;NO是IVDD中新型的介质,NO可以通过抑制PGE2合酶,血栓素,IL-6而起到抗炎的作用。在骨科手术领域,Farrell等^[16]首先证明了在风湿性关节炎和骨关节炎患者的滑液中NO的含量较高,表明NO的产生和关节炎的发病机制有密切关系。徐宏光等^[17]向大鼠的椎间盘内注射L-精氨酸制造动物模型,术后3周观察X线片显示实验组椎体不稳较对照组明显减轻,证明了内源性NO的产生可能有助于减轻椎间盘的退变。Liu等^[18]的实验研究证明NO可以抑制椎间盘中蛋白聚糖酶的合成,静水力学压力可以影响椎间盘细胞NO的分泌,因此推测在机械压力下NO在椎间

盘细胞代谢及IVDD过程中起重要作用。提示NO可能参与了椎间盘的退变过程。深入研究腰椎退变性疾病不同阶段中,NO的产生和NOS活性改变的机制将有助于新的治疗方法的出现。

4 IL-1

1988年Shinmei等^[19]第1次在兔的IVDD实验模型中观察到了IL-1。正常的椎间盘细胞可以表达IL-1的2种亚型(IL-1 α ,IL-1 β)。在正常及退变的椎间盘中IL-1都是基质酶的关键调节剂。Hoyland等^[20]的研究证明IL-1是椎间盘中调节基质退变一个关键的细胞因子。Le Maitre等^[21]的研究表明在椎间盘细胞中IL-1可以增加MMP-3、MMP-13、解整链蛋白金属蛋白酶-4(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-4,ADAMTS-4)基因的表达,而且可以减少细胞基质基因(聚集蛋白聚糖、胶原蛋白II和胶原蛋白I)的表达,证明抑制IL-1的产生可以预防甚至逆转IVDD。Gorth等^[22]将IL-1受体拮抗剂(IL-1 receptor antagonist,IL-1Ra)与聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactic-co-glycolic acid),PLGA]制成微球体注射入椎间盘中观察髓核的退变情况,结果发现IL-1Ra微球体可以较长期的减轻髓核退变。这种细胞因子介导的治疗方法可以用于早期IVDD的治疗。此类研究还处于体内模型阶段,随着研究的成熟又是一项非手术治疗方法。Gilbert等^[23]将新鲜尸体退变和未退变的椎间盘取出后将纤维环分离出,分为暴露或不暴露于IL-1Ra和IL-4受体抗体(IL-4 receptor antibody,IL-4RAb)并给与CTS10%的拉紧度1.0 Hz持续20 min,分别于1 h和24 h后行tr-PCR检测聚集蛋白聚糖和I型胶原、MMP-3、ADAMTS-4的基因表达情况,结果发现未退变椎间盘的纤维环细胞MMP-3和ADAMTS-4的基因表达降低,而经过IL-1Ra和IL-4RAb预处理的纤维环细胞基因的表达则未减低;而退变的纤维环细胞无论有无经过IL-1Ra和IL-4RAb预处理聚集蛋白聚糖和I型胶原的基因表达都降低。证明退变椎间盘的纤维环细胞可能在机械力传导方面不受椎间盘内的细胞因子的影响,可能还有另一条传导通路在运行。

5 IL-6

IL-6主要由神经元细胞,胶质细胞,造血前体细胞,T细胞,B细胞,角蛋白细胞和破骨细胞分泌,而且是炎症反应的重要介质。IL-6感受器是由IL-6R和信号转导亚基(gp 130)组成。通过刺激TNF- α ,可以使IL-6的产生明显增加。在人类的关节软骨

中, IL-6 可以抑制蛋白聚多糖的产生, 蛋白聚多糖在正常椎间盘的髓核组织中的含量很高而且可以阻止血管和淋巴管的内生长。IL-6 可以上调 MMP 抑制剂的产生。Studer 等^[24] 的实验研究证明在退变的椎间盘中 IL-6 可以增加 PGE2 和 MMP-3 的合成, 证明 IL-6 可以促进椎间盘的退变。Burke 等^[25] 研究发现椎间盘源性下腰痛的病人的髓核标本可以产生高水平的促炎介质比如 IL-6 和 IL-8。IL-6 在促炎和抗炎的细胞因子中起到了中介的作用。进一步的研究还有待阐明 IL-6 在引起神经根痛方面的具体机制。

6 IL-10

IL-10 是一种抗炎因子和免疫抑制细胞因子。许多细胞包括巨噬细胞可以产生 IL-10。Holm 等^[26] 建立猪的 IVDD 模型, 3 个月的时候 IL-10 在退变的椎间盘较对照组有轻度的升高, 表明 IL-10 参与了椎间盘的退变过程。IL-10 可以有效的抑制巨噬细胞释放 TNF- α 。尽管 IL-10 有非常明显的抗炎(抗 TNF)作用, 但是 Ahn 等^[27] 的一项研究用 RT-PCR 的方法在 23 个突出的椎间盘标本中只有 2 个(9%)检测到了 IL-10 mRNA。Lin 等^[28] 调查中国人群中 IL-10 基因启动区域单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)与腰椎 IVDD 的易感性和严重性的关系, Logistic 回归分析表明 AA 在 -1082, -592 位点及 IL-10mRNA 的表达水平是 IDD 的独立危险因素, 推论 IL-10 基因启动区的 SNPs 位点的 -1082 A/G、-592 A/C 及 IL-10 mRNA 与腰椎 IVDD 的易感性有关而与严重性无关。

7 IL-17

在退变及突出的椎间盘组织中可以观察到 IL-17 和 IFN- γ 和 TNF- α 的含量协同提高, 表明这些细胞因子在椎间盘疾病中起到了一定的作用。Gabr 等^[29] 将 IVDD 和脊柱侧凸的患者的椎间盘取出, 在 IL-17 和干扰素- γ (Interferon- γ , IFN- γ) 和 TNF- α 的共同刺激下观察 NO、PGE2、IL-6 和细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达, 结果发现这些细胞因子的分泌呈显著性增加。IL-17、IFN- γ 和 TNF- α 在炎症介质释放及 ICAM-1 表达方面起协同效应。这些发现表明椎间盘细胞还可以表达表面配体招募淋巴细胞和免疫细胞到椎间盘的微环境中。而 IL-17 可能起到了重要的炎症反应调节剂的作用。

8 其他的细胞炎性因子

Jung 等^[30] 制造大鼠动物模型并观察大鼠的疼

痛行为, 挑选明显疼痛的大鼠用 RT-PCR 的方法检测背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)及丘脑中的一系列与疼痛相关的细胞因子的基因表达, 结果发现在第 4 和第 8 周时 DRG 中的 TNF- α 、和 IL-1 β 显著升高, 在第 6 周时 DRG 中的 IL-6 明显升高, 但是这些细胞因子在丘脑中的并没有显著改变, 降钙素基因相关肽和 P 物质分别在第 4 及第 8 周 DRG 中及第 2 和第 4 周丘脑中显著增加。第 2 周时 DRG 和丘脑中可以观察到胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)显著增加并且持续到底 8 周。DRG 及丘脑中 GDNF 的持续升高表明 GDNF 可能是慢性椎间盘疼痛的关键因子。

Omlor 等^[5] 用 12 只成年小型猪做实验, 将 36 个椎间盘行部分髓核摘除术, 其中 24 个椎间盘术后给与透明质酸移植, 术后 24 周将动物处死并用 X 线、MRI 观察 2 组椎间盘的高度及退变情况并作组织学及基因表达分析, 结果发现 2 组椎间盘高度降低的程度及 MRI 信号强度减低程度相同, 2 组的髓核组织退变分数较对照组显著降低, 且椎间盘经过 HA 治疗后局部纤维环出现更多的瘢痕及炎症反应, MMPs 的基因表达上调, 但是 IFN- γ , IL-6, 及 IL-1 β 的表达没有改变, 证明髓核的炎症及纤维环的损伤及瘢痕可以导致椎间盘的退变, 由此可见治疗的重点应该集中在防止纤维环的损伤或者修复损伤的纤维环以保持椎间盘的完整性方面。

9 IVDD 的生物学治疗

近年来学者们对临床症状与 IVDD 的关系的研究较多, 而致力于椎间盘再生的研究较少。患者在非手术治疗无效后大多数面临的就是手术治疗。现在的手术方式多是行椎间盘切除及椎体融合手术, 短期内可以缓解症状, 但是这将导致脊柱生物力学的改变及邻近节段椎间盘的退变等手术并发症。一些新的手术治疗方式比如人工椎间盘置换还存在争议, 因为假体的置入可以部分的干扰椎间盘的结构可能最终会导致运动节段的不稳。那么可以减轻临床症状及阻止甚至逆转 IVDD 的生物学疗法, 比如间充质干细胞移植、椎间盘注射合成代谢生长因子、基因疗法可能将会解决这些不足^[31]。

Leckie 等^[32] 将 34 只成年新西兰大白兔的 L₂/L₃/L₄/L₅ 行环形切开术制造 IVDD 模型, 然后将腺相关病毒-2(adeno-associated virus, AAV2) 载体携带基因骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 或者 TIMP-1 注射入治疗组的退变椎间盘中与无针刺假手术组及针刺对照组做比较。各

组分别在即时, 第6周和第12周时行MRI检查以确定IVDD情况; 在第12周时处死动物, L₄/L₅椎间盘行组织化学分析, 检测L₃/L₄椎间盘的粘弹性。结果发现针刺组的MRI和组织学表现为退变表现, 治疗组的MRI和组织学退变证据较针刺组较轻。生化标记物C-端肽II型胶原在针刺组中明显升高, 治疗组在术后12周时又返回到对照值。证明椎间盘中注射AAV2-BMP2或者AAV2-TIMP1可以延缓椎间盘的退行性改变。

Liang等^[33]将用针刺法制造大鼠的IVDD模型, 2组大鼠随机接受腺病毒携带的荧光素酶基因和生长分化因子-5 (growth differentiation factor-5, GDF-5), 前者即Ad-Luc组, 后者即Ad-GDF5组。术后在不同时间点行X线、MRI及组织学和生物化学检测。结果显示在第6和8周时Ad-GDF5组MRI T2加权像可以看到有高信号, 但是Ad-Luc组未观察到; 在第2周时Ad-GDF5组的椎间盘高度指数较Ad-Luc组显著增加; 术后第2周以后Ad-Luc组的糖胺聚糖 (glycosaminoglycan, GAG) 明显减低, 术后第4周DNA的含量开始减低, Ad-GDF5组一直到术后8周都没有检测到GAG和DNA的减低。证明腺病毒是一种有效的基因载体, Ad-GDF5基因疗法可以修复损伤椎间盘, 而且有可能成为IVDD的一种有效的治疗方式。

Kim等^[34]将行腰椎椎间盘切除手术患者的退变椎间盘取出并将髓核、纤维环和移行带分开, 暴露于BMP-2, 结果发现BMP-2可以促进纤维环细胞的有丝分裂, 及髓核细胞蛋白聚糖的合成。但是在椎间盘的任何区域都未见BMP-2的成骨效应。可见BMP-2可以用作同化激素类药物来促进纤维环的有丝分裂, 而且可以使髓核细胞基质在没有骨生成的情况下再生。动物实验证明向椎间盘中注射BMP-7和BMP-14, 在恢复椎间盘的结构方面是有效的^[35]。

椎间盘的退变与细胞外基质的降解有关, 而椎间盘的修复需要细胞外基质的产生及蛋白水解酶活性的下调。而这些特性是与一些生长因子有关的。一些合成肽比如Link N, 在体外实验中可以刺激椎间盘细胞中蛋白聚糖和胶原的合成。Mwale等^[36]将28只新西兰大白兔用针刺法制造L₃/L₄/L₅节段IVDD模型, 术后2周2个节段分别注射Link N和生理盐水, 2周后处死9只动物将椎间盘取出, 用PCR的方法检测聚集蛋白聚糖、ADAMTS-4, ADAMTS-5和MMP-3等; 12周后处死19只动物并将椎间盘取出做生化和组织学分析。术后每2周用X线检测一次椎间盘的高度。结果发现术后2周是椎间盘的高度下降了25%, 而随后的观察中发现Link

N组的椎间盘高度可以部分恢复。术后髓核和纤维环中的蛋白聚糖含量减少, 但是Link N组有部分恢复的趋势。Link N不能改变椎间盘中DNA的含量。Link N组相对于盐水组可以使髓核和纤维环中聚集蛋白聚糖基因表达显著增加, 而蛋白水解酶基因表达显著降低。证明Link N可以增加椎间盘中蛋白聚糖的含量, 有助于退变椎间盘的修复, Link N将会是治疗IVDD的方法之一。

Li等^[37]认为大黄酸可以提高细胞外基质的合成并且可以抑制炎症反应。尽管在IVDD过程中有细胞外基质的退变及炎症反应, 但是基于大黄酸的生物活性, 大黄酸可能是一个很有治疗前景的生物学治疗药物。另外, 根据大黄酸的作用机制, 大黄酸可能会减少IL-1引起的细胞凋亡, 抑制MMPs和蛋白聚糖酶的分泌。

但是对细胞生物学、椎间盘细胞再生、IVDD的病理学研究的有限性成为生物工程疗法介入临床治疗的障碍。这些治疗方法大多处于动物实验阶段, 且许多安全性问题需要解决。但随着生物学治疗的发展及IVDD病因研究的深入, 生物学治疗将在IVDD疾病的治疗方面发挥重要作用。

综上所述, 炎性反应在IVDD性疾病中发挥着重要作用, 但是两者的相互关系尚需进一步研究。椎间盘退行性病病因的进一步阐明有助于改善神经功能的新的治疗方法的产生, 进而减轻患者的病痛。如果能延缓甚至阻止椎间盘的退变过程就有可能减轻患者的腰腿痛症状。在已有研究的基础上有待于更深入的研究, 以指导临床对椎间盘退行性病变的预防和治疗。

参考文献

- [1] Mixer WJ, Barr JS. Rupture of the intervertebral disc with involvement of the spinal canal[J]. *New Engl J Med*, 1934, 211: 210-214.
- [2] Buser Z, Kuelling F, Liu J, et al. Biological and biomechanical effects of fibrin injection into porcine intervertebral discs[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36(18): E1201-1209.
- [3] Peng B, Hao J, Hou S, et al. Possible pathogenesis of painful intervertebral disc degeneration[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2006, 31(5): 560-566.
- [4] Adams MA, Stefanakis M, Dolan P. Healing of a painful intervertebral disc should not be confused with reversing disc degeneration: implications for physical therapies for discogenic back pain[J]. *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, 2010, 25(10): 961-971.
- [5] Omlor GW, Nerlich AG, Lorenz H, et al. Injection of a polymerized hyaluronic acid/collagen hydrogel matrix in an in vivo porcine disc degeneration model[J]. *Eur Spine J*, 2012, 21(9): 1700-1708.
- [6] Kang JD, Georgescu HI, McIntyre-Larkin L, et al. Herniated lumbar intervertebral discs spontaneously produce matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2

- [J]. Spine (Phila Pa 1976), 1996, 21(3):271-277.
- [7] Feldmann M, Brennan FM, Foxwell BM, et al. Anti-TNF therapy: where have we got to in 2005? [J]. J Autoimmun, 2005, 25 Suppl:26-28.
- [8] Sinclair SM, Shamji MF, Chen J, et al. Attenuation of inflammatory events in human intervertebral disc cells with a tumor necrosis factor antagonist[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(15):1190-1196.
- [9] Bachmeier BE, Nerlich AG, Weiler C, et al. Analysis of tissue distribution of TNF-alpha, TNF-alpha-receptors, and the activating TNF-alpha-converting enzyme suggests activation of the TNF-alpha system in the aging intervertebral disc[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1096:44-54.
- [10] Kobayashi H, Kikuchi S, Konno S, et al. Interaction of 5-hydroxytryptamine and tumor necrosis factor- α to pain-related behavior by nucleus pulposus applied on the nerve root in rats [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(3):210-218.
- [11] Yamashita M, Ohtori S, Koshi T, et al. Tumor necrosis factor-alpha in the nucleus pulposus mediates radicular pain, but not increase of inflammatory peptide, associated with nerve damage in mice [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2008, 33(17):1836-1842.
- [12] 张林华, 卜海富. TNF- α 、IL- β 在退变椎间盘组织中的表达及其意义[J]. 临床骨科杂志, 2010, 13(1):84-86.
- [13] Ulrich JA, Liebenberg EC, Thuillier DU, et al. ISSLS prize winner: repeated disc injury causes persistent inflammation [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2007, 32(25):2812-2819.
- [14] Takada T, Nishida K, Maeno K, et al. Intervertebral disc and macrophage interaction induces mechanical hyperalgesia and cytokine production in a herniated disc model in rats[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(8):2601-2610.
- [15] Vo NV, Sowa GA, Kang JD, et al. Prostaglandin E2 and prostaglandin F $_{2\alpha}$ differentially modulate matrix metabolism of human nucleus pulposus cells [J]. J Orthop Res, 2010, 28(10):1259-1266.
- [16] Farrell AJ, Blake DR, Palmer RM, et al. Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases[J]. Ann Rheum Dis, 1992, 51(11):1219-1222.
- [17] 徐宏光, 赵其纯, 姜宗元, 等. 一氧化氮在腰椎间盘退变中的作用[J]. 颈腰痛杂志, 2001, 22(1):21-23.
- [18] Liu GZ, Ishihara H, Osada R, et al. Nitric oxide mediates the change of proteoglycan synthesis in the human lumbar intervertebral disc in response to hydrostatic pressure[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2001, 26(2):134-141.
- [19] Shinmei M, Kikuchi T, Yamagishi M, et al. The role of interleukin-1 on proteoglycan metabolism of rabbit annulus fibrosus cells cultured in vitro[J]. Spine (Phila Pa 1976), 1988, 13(11):1284-1290.
- [20] 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 (Oxford), 2008, 47(6):809-814.
- [21] 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(4):R732-745.
- [22] Gorth DJ, Mauck RL, Chiaro JA, et al. IL-1ra delivered from poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres attenuates IL-1 β -mediated degradation of nucleus pulposus in vitro[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(4):R179.
- [23] Gilbert HT, Hoyland JA, Freemont AJ, et al. The involvement of interleukin-1 and interleukin-4 in the response of human annulus fibrosus cells to cyclic tensile strain; an altered mechanotransduction pathway with degeneration [J]. Arthritis Res Ther, 2011, 13(1):R8.
- [24] Studer RK, Vo N, Sowa G, et al. Human nucleus pulposus cells react to IL-6: independent actions and amplification of response to IL-1 and TNF- α [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(8):593-599.
- [25] Burke JG, Watson RW, McCormack D, et al. Intervertebral discs which cause low back pain secrete high levels of proinflammatory mediators [J]. J Bone Joint Surg Br, 2002, 84(2):196-201.
- [26] Holm S, Mackiewicz Z, Holm AK, et al. Pro-inflammatory, pleiotropic, and anti-inflammatory TNF-alpha, IL-6, and IL-10 in experimental porcine intervertebral disk degeneration[J]. Vet Pathol, 2009, 46(6):1292-1300.
- [27] Ahn SH, Cho YW, Ahn MW, et al. mRNA expression of cytokines and chemokines in herniated lumbar intervertebral discs [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2002, 27(9):911-917.
- [28] Lin WP, Lin JH, Chen XW, et al. Interleukin-10 promoter polymorphisms associated with susceptibility to lumbar disc degeneration in a Chinese cohort [J]. Genet Mol Res, 2011, 10(3):1719-1727.
- [29] Gabr MA, Jing L, Helbling AR, et al. Interleukin-17 synergizes with IFN γ or TNF α to promote inflammatory mediator release and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in human intervertebral disc cells[J]. J Orthop Res, 2011, 29(1):1-7.
- [30] Jung WW, Kim HS, Shon JR, et al. Intervertebral disc degeneration-induced expression of pain-related molecules: glial cell-derived neurotrophic factor as a key factor[J]. J Neurosurg Anesthesiol, 2011, 23(4):329-334.
- [31] Huang S, Tam V, Cheung KM, et al. Stem cell-based approaches for intervertebral disc regeneration[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2011, 6(4):317-326.
- [32] Leckie SK, Bechara BP, Hartman RA, et al. Injection of AAV2-BMP2 and AAV2-TIMP1 into the nucleus pulposus slows the course of intervertebral disc degeneration in an in vivo rabbit model[J]. Spine J, 2012, 12(1):7-20.
- [33] Liang H, Ma SY, Feng G, et al. Therapeutic effects of adenovirus-mediated growth and differentiation factor-5 in a mice disc degeneration model induced by annulus needle puncture [J]. Spine J, 2010, 10(1):32-41.
- [34] Kim H, Lee JU, Moon SH, et al. Zonal responsiveness of the human intervertebral disc to bone morphogenetic protein-2 [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2009, 34(17):1834-1838.
- [35] Zhang Y, Chee A, Thonar EJ, et al. Intervertebral disk repair by protein, gene, or cell injection: a framework for rehabilitation-focused biologics in the spine[J]. PM R, 2011, 3(6 Suppl 1):S88-94.
- [36] Mwale F, Masuda K, Pichika R, et al. The efficacy of Link N as a mediator of repair in a rabbit model of intervertebral disc degeneration[J]. Arthritis Res Ther, 2011, 13(4):R120.
- [37] Li H, Liang C, Chen Q, et al. Rhein: a potential biological therapeutic drug for intervertebral disc degeneration [J]. Med Hypotheses, 2011, 77(6):1105-1107.

(收稿日期:2012-09-26)

(本文编辑 张丽)