

腰椎黄韧带肥厚相关炎症介质研究概述

欧华西¹ 鲁齐林^{2△}

[关键词] 腰椎黄韧带肥厚;炎症介质;巨噬细胞移动抑制因子

[中图分类号] R681.5 [文献标志码] A [文章编号] 1005-0205(2021)08-0080-04

退行性腰椎管狭窄症是我国中老年人群的常见疾病,纤维性与骨性病理因素是导致腰椎管狭窄且引起腰部神经根和马尾神经等相关症状的主要因素^[1]。黄韧带、椎间盘两种纤维性因素尤其受研究者关注,其中黄韧带的特殊解剖结构涉及到腰椎中央椎管、椎间孔和神经根管三因素,因此腰椎黄韧带肥厚与腰椎管狭窄尤为相关^[2]。正常的黄韧带组织是由少量成纤维细胞和大量细胞外基质组成,肥厚时出现成纤维细胞增殖、分化为分泌胶原的成纤维细胞,弹力纤维降解、胶原纤维增多,增生性胶原纤维紊乱,黄韧带增厚、弹性下降、脆性增加^[3]。腰椎黄韧带肥厚实质上是结缔组织纤维化的病理过程,该纤维化过程中炎症反应在其中起重要作用^[4]。本文就黄韧带肥厚相关炎症介质及其作用综述如下。

1 转化生长因子- β 1

转化生长因子- β 1(TGF- β 1)是与腰椎黄韧带肥厚关系最为密切的因子之一。转化生长因子- β (TGF- β)是能影响细胞分化和生长过程的超家族,该超家族中包含许多亚型,在其众多亚型中与黄韧带肥厚关系最为密切的一种是 TGF- β 1^[5]。TGF- β 1 是一种多效生物学细胞因子,包括成纤维细胞在内的多种细胞可分泌该因子。反之,TGF- β 1 也有改变成纤维细胞表型的能力,进而改变成纤维细胞的生长特性并降低成纤维细胞生长过程中的接触抑制效应,其不仅具有促细胞增殖作用,还有促进细胞外基质合成的效果,因为 TGF- β 1 可促进多种组织肥厚,其与多种纤维化疾病关系密切,TGF- β 1 已成为黄韧带肥厚相关因子研究

中最为热门的因子之一^[6]。Park 等^[7]首次报道了 TGF- β 1 在肥厚与正常黄韧带中的含量差异,并揭示了该因子与腰椎黄韧带纤维化肥厚之间的关系。后续研究也证实了该因子在黄韧带肥厚病理中的作用,鉴于其与黄韧带密切相关,研究者将黄韧带内 TGF- β 1 的含量作为评估黄韧带肥厚进展的特异性指标^[8]。TGF- β 1 促进黄韧带肥厚的具体机制在于其可诱导成纤维细胞向肌纤维细胞分化,肌成纤维母细胞表达 α 平滑肌肌动蛋白(α SMA)并通过产生 I 及 III 胶原来促进黄韧带组织的纤维化^[9]。Hur 等的研究也得出相似结论且进一步揭示:离体的黄韧带成纤维细胞,培养中增加 TGF- β 1 的刺激后,呈现出成纤维细胞,明显分化及 α SMA 的强阳性表达,培养基中后续的胶原表达也显著增多^[10]。因此,TGF- β 1 对黄韧带肥厚的作用在于促进成纤维细胞的增殖及胶原纤维的生成。Takeyuki Saito 对黄韧带内 TGF- β 1 的相关研究显示其主要来源在于该组织内炎性浸润的巨噬细胞和黄韧带成纤维细胞,在体外构建的巨噬细胞耗竭模型中发现 TGF- β 1 的表达呈现明显的受抑制现象^[11]。关于巨噬细胞在肥厚黄韧带内大量浸润的相关诱因主要有以下两种:早期以脊柱力学因素占主导,腰椎后柱负荷增加,导致黄韧带微损伤;后续的炎性反应趋化诱导了巨噬细胞组织内浸润等^[11]。近年来代谢性的因素如瘦素、山梨醇、雌二醇在黄韧带内造成黄韧带内的巨噬细胞趋化聚集^[12-14]。除巨噬细胞外,免疫组织化学染色实验揭示成纤维细胞也具有表达 TGF- β 1 的功能,而且在成纤维细胞胞浆及胞核内都有分布^[15]。

2 白细胞介素-1 β

腰椎黄韧带中的白细胞介素-1 β (IL-1 β)主要对黄韧带的效应细胞产生作用,其次对细胞外的基质变性也具有一定影响。白细胞介素-1(IL-1)是一种由内皮细胞、成纤维细胞、单核细胞等细胞受刺激后产生的炎性因子。IL-1 β 能与免疫球蛋白超家族受体结合后进一步刺激细胞产生血小板生长因子与集落刺激因子,

基金项目:湖北省卫生健康科研基金资助(WJ2019H429)

武汉市卫生健康科研基金资助(WX19B06)

¹ 中国人民解放军联勤保障部队第九〇二医院骨科
(安徽 蚌埠,233000)

² 湖北六七二中西医结合骨科医院脊柱外科

[△]通信作者 E-mail:gkluql@163.com

还能刺激细胞产生其他类炎症介质来参与免疫应答与组织损伤^[16]。成纤维细胞是黄韧带的效应细胞, IL-1 β 参与黄韧带的肥厚病理过程主要是通过影响成纤维细胞数量及性质来引起黄韧带的纤维化。具体机制研究方面显示 IL-1 β 可上调成纤维细胞环氧合酶-2 (COX-2) 的表达, 诱导前列腺素 E₂ (PGE₂) 的产生、参与炎症反应, 参与腰椎黄韧带内微损伤后的瘢痕修复。此外, 成纤维细胞可被 IL-1 β 激活产生 MMP-13 来参与细胞外基质的代谢^[17]。人体黄韧带胶原纤维主要由 I 型胶原和 III 型胶原组成, 在离体黄韧带成纤维细胞的研究中发现 IL-1 β 刺激成纤维细胞 48 h 后 I 型胶原 mRNA 和蛋白表达均高于对照组^[4]。此外, 研究人员还发现 IL-1 β 与 TNF- α 可以通过核易位方式激活 MAPK 和 NF- κ B 信号通路, 促进金属蛋白酶基因表达, 在促进黄韧带基质变性方面发挥协同作用^[18]。

3 白细胞介素-6

黄韧带主要是由成纤维细胞及细胞外基质构成, 白细胞介素-6 (IL-6) 主要影响成纤维细胞的增殖及细胞外基质中胶原纤维的增生。白细胞介素-6 (IL-6) 可由巨噬细胞、成纤维细胞、B 淋巴细胞等细胞分泌产生^[19]。IL-6 是慢性炎症中最为常见的炎症介质之一, 结缔组织纤维化是一种慢性炎症, IL-6 在该慢性炎症病理过程中的作用较为显著^[20]。在结缔组织中 IL-6 可通过激活成纤维细胞和增加胶原蛋白表达诱导组织纤维化。黄韧带肥厚的病理过程是结缔组织纤维化的一种。IL-6 在该组织内可影响黄韧带成纤维细胞的增殖、分化及细胞外的基质代谢^[21]。在 IL-6 与人黄韧带组织关系的研究中, 发现相对于促进成纤维细胞的增殖, IL-6 在诱导黄韧带胶原蛋白过度表达方面的作用更为显著^[22]。过表达的胶原蛋白增加了黄韧带基质内的胶原纤维构成比, 此种蛋白构成的胶原纤维就会失去原始的致密规律的排列, 紊乱错综的排列分布纤维逐渐导致黄韧带基质的性状改变。Park 等^[4]的研究揭示了血管生成素样蛋白 2 (Angptl2) 在这一病理过程中的作用及其与 IL-6 的关系: Angptl2 通过整合素 α 5b1/NF- κ B 信号通路促进 IL-6 的表达, IL-6 一方面发挥促进黄韧带成纤维细胞的增殖作用, 另一方面可上调胶原蛋白的表达。黄韧带肥厚的病理表现主要在于以下三个方面: 1) 成纤维细胞的增殖; 2) 细胞外基质胶原纤维的增生; 3) 弹力纤维的降解。IL-6 主要影响其前两个方面, 第三方面主要受黄韧带组织内基质金属蛋白酶的影响。

4 基质金属蛋白酶

基质金属蛋白酶 (MMPs) 对腰椎黄韧带的影响在于降解基质中的弹力纤维。基质金属蛋白酶是一类锌依赖性酶的超家族, 其成员有降解或修饰细胞外基质

中弹力纤维、微纤维和蛋白多糖等成分的作用^[23]。腰椎黄韧带肥厚的病理改变中, 基质金属蛋白酶对弹力纤维的降解过程起主要作用^[24]。黄韧带的弹力纤维核心区存在有许多微纤维, 其在弹力纤维的结构中的地位较为特殊。弹力纤维形成过程中, 微纤维与弹力蛋白形成中心核结构并相互铆合形成“支架”, 该支架引导弹力纤维, 随其分布形成规律且较为紧密的排列。黄韧带肥厚发生时内部弹力纤维发生改变, 最显著的特点在于中心核结构的破坏及微纤维的减少。中心核结构的代谢周期非常缓慢, 因此弹力纤维结构的重建或重塑较为困难^[25]。MMPs 可导致弹力纤维丢失, 瘢痕重建与黄韧带的肥厚密切相关, 其中 MMP-13 的作用最为显著, 其能降解弹力纤维中的中心核、微纤维且阻止弹力纤维的再生, 进而影响了黄韧带的结构重塑^[26]。除 MMP-13 外, 该病理过程还涉及到基质金属蛋白酶家族的其他成员, MMP2 和 MMP9 被证实同样拥有降解弹力纤维的能力, 而且 MMP-13 在此过程中可与 MMP2 和 MMP9 发挥协同作用。Bum-Joon-Kim 等在人黄韧带的体外实验研究中发现 MMP-13 可以通过正反馈促进 MMP2 和 MMP9 的表达, 共同促进降解黄韧带弹力纤维的作用^[18]。2 型糖尿病患者体内高糖代谢相关的炎症环境下成纤维细胞、血管内皮细胞等受到刺激使得 MMP-13 高表达, 使得该人群黄韧带中弹力纤维的降解更加明显, 目前 2 型糖尿病被认为是黄韧带肥厚的高危因素^[27]。

5 肿瘤坏死因子 α

肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 对黄韧带肥厚的影响主要在于黄韧带基质中的胶原纤维代谢。TNF- α 是一种主要由活化的巨噬细胞分泌的多效炎症因子。TNF- α 是炎症级联反应的始动因子, 亦是炎症反应过程的关键性因子, 该因子在炎症部位的含量水平反应着炎症的严重程度^[19]。近年来, TNF- α 参与的炎症反应与黄韧带肥厚的关系备受关注。研究发现腰椎肥厚黄韧带内的 TNF- α 含量与巨噬细胞迁移抑制因子 (MIF) 的作用存在直接或间接的关系: 一方面 MIF 是 TNF- α 的上游因子, 其可直接促进 TNF- α 在成纤维细胞及基质中的表达; 另一方面, MIF 可抑制组织内巨噬细胞的游走, 聚集巨噬细胞的浸润, 进而间接增加 TNF- α 的表达量^[28]。除此之外, 一些金属蛋白酶是 TNF- α 的下游因子^[29]。TNF- α 通过正反馈作用促进下游金属蛋白酶的表达, 进一步加重黄韧带基质内弹力蛋白的降解, 共同作用于黄韧带的肥厚。研究表明结缔组织中 TNF- α 被抑制后, 可阻碍组织纤维化的进程^[18]。黄韧带的胶原纤维主要由 I 型胶原与 III 型胶原构成, 前文所述 IL-1 β 能促进 I 型胶原的表达; TNF- α 可促进成纤维细胞 III 型胶原的表达。因此, 在

多种因素引起的黄韧带炎症反应中, TNF- α 对黄韧带肥厚的影响主要在黄韧带的基质部分。

6 巨噬细胞移动抑制因子

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是一种激活 T 细胞表达的可溶性多效因子,其可能是腰椎黄韧带炎性肥厚的重要因素。除了激活 T 细胞外,成纤维细胞、巨噬细胞、胰岛 β 细胞和树突状细胞等也能分泌此种蛋白^[30]。MIF 具有抑制巨噬细胞的迁移,引起巨噬细胞在组织局部聚集的特性。后续的研究发现 MIF 对成纤维细胞的增殖有明显影响^[31]。CD74 和 CXCR 2.4 是公认的 MIF 细胞膜表面受体,其中 CD74 与 MIF 结合对下游的信号转导作用最为显著,最具代表性的是激活 PI3K/Akt 信号通路以促进细胞增殖,抑制细胞凋亡;CXCR2 和 MIF 可促进下游炎症反应, CXCR4 与之结合后会表现出炎症趋化作用^[32-33]。因此 MIF 可以直接或间接地起到促炎和趋化作用,使得其参与的炎症反应呈现“放大效应”。另外, MIF 本身也是一种生长因子,因此 MIF 还具有明显的促进细胞增殖的作用。黄韧带肥厚是结缔组织纤维化的过程, MIF 是上述黄韧带纤维化相关因子如 TGF- β 1、金属蛋白酶、IL-1 β 等的上游因子^[17,31,34]。鲁齐林团队通过对肥厚黄韧带中 MIF 含量的研究验证人黄韧带内不仅含有 MIF,而且 2 型糖尿病群体黄韧带内具有更高的表达,且 MIF 含量与黄韧带厚度显著正相关,为研究 MIF 与黄韧带肥厚的炎症关系提供了新的思路^[35]。因此, MIF 不仅可能直接促进黄韧带的退变,还可能通过提高黄韧带纤维化因子的表达,进而发挥多种因子的“网络”协同作用。

7 展望

腰椎黄韧带是厚度小于 4 mm 的结缔组织,其解剖结构决定黄韧带肥厚是腰椎管狭窄的重要病理因素。不论是力学因素还是代谢性物质聚集介导生化损伤,炎症反应是不可缺少的重要环节。因此, MIF、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、MMP-13 和 TGF- β 1 等诸项纤维化炎症介质,可单独作用于腰椎黄韧带的肥厚,其间还存在交互作用。MIF 是一种多效因子,不仅具有促炎作用,而且还可发挥趋化效能,使得 MIF 参与的炎症反应呈现出“放大效应”。此外, MIF 是诸多炎性介质的上游因子。因此,腰椎黄韧带肥厚是多种炎症介质参与的结缔组织纤维化过程, MIF 在其中的作用举足轻重,值得进一步研究。

参考文献

[1] PIECHOTA M, KROL R, ELIAS D A, et al. The nerve root sedimentation sign in diagnosis of lumbar spinal stenosis[J]. *Am J Med Sci*, 2018, 22(1): 247-252.

[2] HASHIZUME H, YOSHIDA M. Spinal stenosis[J]. *J*

Spinal Disord Tech, 2014, 72(10): 1768-1772.

[3] REYES-SÁNCHEZ A, GARCÍA-RAMOS C L, DERAS-BARRIENTOS C M, et al. Ligamentum flavum in lumbar spinal stenosis, disc herniation and degenerative spondylolisthesis[J]. *An Histopathological Description*, 2019, 33(5): 308-313.

[4] PARK J O, LEE B H, KANG Y M, et al. Inflammatory cytokines induce fibrosis and ossification of human ligamentum flavum cells[J]. *J Spinal Disord Tech*, 2013, 26(1): e6-e12.

[5] KEMANETZOGLOU E, ANDREADOU E. CNS demyelination with TNF- α blockers[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2017, 17(4): 36-39.

[6] 卢昌怀, 刘志军, 张宏波, 等. TGF- β 1 诱导的黄韧带细胞增生效应及其对结缔组织生长因子的表达影响[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2019, 33(7): 883-888.

[7] PARK J B, CHANG H, LEE J K. Quantitative analysis of transforming growth factor- β 1 in ligamentum flavum of lumbar spinal stenosis and disc herniation[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2001, 26(21): e492-e495.

[8] 卢昌怀, 段扬, 曹延林, 等. p38 丝裂原活化蛋白激酶通路介导 TGF- β 1/结缔组织生长因子调控人腰椎黄韧带增生肥厚的机制研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2019, 33(6): 730-735.

[9] SAIRYO K, BIYANI A, GOEL V, et al. Pathomechanism of ligamentum flavum hypertrophy: a multidisciplinary investigation based on clinical, biomechanical, histologic, and biologic assessments[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2005, 30(23): 2649-2656.

[10] HUR J W, BAE T, YE S, et al. Myofibroblast in the ligamentum flavum hypertrophic activity[J]. *Eur Spine J*, 2017, 26(8): 2021-2030.

[11] SAITO T, HARA M, KUMAMARU H, et al. Macrophage infiltration is a causative factor for ligamentum flavum hypertrophy through the activation of collagen production in fibroblasts[J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(12): 2831-2840.

[12] LUO J, HUANG L, CHEN Z, et al. Increased sorbitol levels in the hypertrophic ligamentum flavum of diabetic patients with lumbar spinal canal stenosis[J]. *J Orthop Res*, 2017, 35(5): 1058-1066.

[13] CHEN M H, HU C K, CHEN P R, et al. Dose-dependent regulation of cell proliferation and collagen degradation by estradiol on ligamentum flavum[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014, 15(5): 234-238.

[14] SUN C, WANG Z, TIAN J W, et al. Leptin-induced inflammation by activating IL-6 expression contributes to the fibrosis and hypertrophy of ligamentum flavum in lumbar spinal canal stenosis[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(2): 342-347.

[15] 钟招明, 陈建庭. 转化生长因子- β 1 在退变黄韧带中过度

- 表达[J]. 南方医科大学学报, 2009, 29(2): 316-318.
- [16] ZHAO C Q, LIU D, LI H, et al. Interleukin-1 β enhances the effect of serum deprivation on rat annular cell apoptosis[J]. *Apoptosis*, 2007, 12(12): 2155-2161.
- [17] KITANAKA T, NAKANO R, KITANAKA N, et al. JNK activation is essential for activation of MEK/ERK signaling in IL-1 β -induced COX-2 expression in synovial fibroblasts[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 39914.
- [18] KIM B J, HUR J W, PARK J S, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in human ligamentum flavum cells treated with tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β [J]. *J Neurosurg Spine*, 2016, 24(3): 428-435.
- [19] 陈文, 王沛明, 张祎, 等. 基于 TLR4 通路初探黄芩对内毒素血症大鼠肝肺组织中细胞因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 以及氧化应激因子 MDA、SOD 水平的影响[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(3): 87-92.
- [20] JORDAN S C, CHOI J, KIM I, et al. Interleukin-6, a cytokine critical to mediation of inflammation, autoimmunity and allograft rejection; therapeutic implications of IL-6 receptor blockade[J]. *Transplantation*, 2017, 101(1): 32-44.
- [21] SONG H K, NOH E M, KIM J M, et al. Reversine inhibits MMP-3, IL-6 and IL-8 expression through suppression of ROS and JNK/AP-1 activation in interleukin-1 β -stimulated human gingival fibroblasts[J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 10(8): 104530.
- [22] NAKAMURA T, OKADA T, ENDO M, et al. Angiopoietin-like protein 2 promotes inflammatory conditions in the ligamentum flavum in the pathogenesis of lumbar spinal canal stenosis by activating interleukin-6 expression[J]. *Eur Spine J*, 2015, 24(9): 2001-2009.
- [23] VISSE R, NAGASE H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry[J]. *Circ Res*, 2003, 92(8): 827-839.
- [24] SHEMESH S, SIDON E, KAISLER E, et al. Diabetes mellitus is associated with increased elastin fiber loss in ligamentum flavum of patients with lumbar spinal canal stenosis; results of a pilot histological study[J]. *Eur Spine J*, 2018, 27(7): 1614-1622.
- [25] NIHEI A, HAGIWARA K, KIKUCHI M, et al. Histological investigation of rabbit ligamentum flavum with special reference to differences in spinal levels[J]. *Anat Sci Int*, 2003, 78(3): 162-167.
- [26] WU G, WANG H, XIAO J, et al. Blocking of matrix metalloproteinases-13 responsive peptide in poly (urethane urea) for potential cartilage tissue engineering applications[J]. *J Biomater Appl*, 2018, 32(8): 999-1010.
- [27] CUI G, WATANABE K, MIYAUCHI Y, et al. Matrix metalloproteinase 13 in the ligamentum flavum from lumbar spinal canal stenosis patients with and without diabetes mellitus[J]. *J Orthop Sci*, 2011, 16(6): 785-790.
- [28] AMARAL F A, FAGUNDES C T, GUABIRABA R, et al. The role of macrophage migration inhibitory factor in the cascade of events leading to reperfusion-induced inflammatory injury and lethality[J]. *The American Journal of Pathology*, 2007, 171(6): 1887-1893.
- [29] LUE H, KLEEMANN R, CALANDRA T, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): mechanisms of action and role in disease[J]. *Microbes Infect*, 2002, 4(4): 449-460.
- [30] WILSON J M, COLETTA P L, CUTHBERT R J, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes intestinal tumorigenesis[J]. *Gastroenterology*, 2005, 129(5): 1485-1503.
- [31] XUE Y M, DENG C Y, WEI W, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes cardiac fibroblast proliferation through the Src kinase signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 3425-3431.
- [32] GILYAROM N, RADOMIR L, SEVER L, et al. CD74 is a novel transcription regulator[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(3): 562-567.
- [33] ALAMPOUR-RAJABI S, EL BOUNKARI O, ROT A, et al. MIF interacts with CXCR7 to promote receptor internalization, ERK1/2 and ZAP-70 signaling, and lymphocyte chemotaxis[J]. *Faseb J*, 2015, 29(11): 4497-4511.
- [34] SU Y, WANG Y, ZHOU Y, et al. Macrophage migration inhibitory factor activates inflammatory responses of astrocytes through interaction with CD74 receptor[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2): 2719-2730.
- [35] LU Q L, WANG X Z, XIE W, et al. Macrophage migration inhibitory factor may contribute to hypertrophy of lumbar ligamentum flavum in type 2 diabetes mellitus[J]. *Chin Med J*, 2020, 133: 623-625.

(收稿日期: 2021-04-14)