

椎间盘退变的基础

黄贇博¹ 李义凯^{2,3}

腰背痛是世界性难题。据估计,多达80%的人口正遭受着各种形式的腰背痛,是影响人类健康的首要问题^[1]。尽管腰背痛的病因多种多样,但椎间盘退变已然成为慢性腰痛的主要原因。当前对椎间盘相关的腰背痛可行性治疗方法主要集中在缓解症状方面,而非解决椎间盘退变这一根本原因,治标不治本。临床结果显示,随着治疗水平的提高,可减缓、终止,甚至可以逆转椎间盘的退变。椎间盘退变的病理变化最早可在20岁左右开始,这可在成人椎间盘的组织学和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)中观察到^[2]。退变始于髓核内部细胞的凋亡和基质的重建。随着退变的发展,外层纤维环一改它正常的板层排布结构,由此降低了椎间盘承重的机械强度。当椎间盘退变到一定程度时,放射状裂隙从内层纤维环向外层延伸,导致了椎间盘完整性的丧失,末梢神经和毛细血管沿着裂隙向内生长。这些变化使得作用到软骨终板的机械力增加,导致微损伤和骨赘的形成。椎间盘退变可产生与腰背痛有关联的细胞炎性因子^[3]。近年来研究的重点集中在椎间盘退变的基因学和分子学方面,以明确其病因并确定合适的治疗时机。本综述介绍了椎间盘的发育过程、解剖基础以及退变过程中椎间盘的生物力学、生物化学和超微结构的变化。

1 椎间盘的发育

椎间盘在胚胎第12天就开始发生。三胚层的分化导致细胞增殖扩散并从内胚层分离,而成形的原条最终发育成为脊索和中轴骨。同时,聚集在脊索周围的间叶细胞形成了脊柱和椎间盘的外部。至第10周,生骨节致密区向头端生长,部分为松散的间充质,将形成软骨盘和纤维环的原基,呈膜性结构的原始椎间盘就此生成。这个过程涉及了中胚层部分的转移,形成生骨节。这一间叶细胞柱继而明暗分带,分别发育成椎体和椎间盘^[4]。暗带的外间叶细胞排列呈板层结构,分化为成纤维细胞,组成外层纤维环;接着I型胶原蛋白开始沉积,从而减少这一区域的细胞数;而内层纤维环则为保留大量细胞成分的纤维软骨。椎间盘随着纤维环的板层厚度的增加而增长,板层数不变,一般为12至16层。

髓核源自内层细胞团,由脊索的椎间扩张和原始软骨的

生长逐步形成,是退化的脊索组织。随着髓核的发育,基质软化直接使得基质疏松排列,大量紧凑的脊索细胞分散为排列呈疏松网状结构的索网。从胚胎时期开始,脊索细胞就开始产生基质,直至10岁。由于椎体内脊索的闭合,脊索细胞不断地从椎体迁往椎间隙。至第18周,脊索组织才开始退变,成为出生前髓核的主要来源。持续增大的髓核使得纤维环向四周膨出;同时因纤维软骨性纤维环分化明显,纤维环的分层结构开始体现出来。纤维环的内层向中心生长,与髓核逐步融合而成髓核中的纤维部分,成为出生后髓核的主要来源。髓核的双重来源使得成人的纤维环和髓核之间缺乏明显的界线。

血管约在胚胎第3个月开始沿着椎体缘进入椎间盘,每隔一定距离会向髓核方向发出呈放射状排列的细支。在婴幼儿时期的软骨终板上、下面均有细小血管通过。椎间盘内的血管从出生第8个月开始闭锁,至20-30岁则完全消失。由于血管穿透软骨盘留下空隙,会促使软骨盘骨化,在血管完全退变后瘢痕组织可填补软骨的钙化环。

2 解剖结构

椎间盘是由骨终板、软骨终板、纤维环和髓核组成,其功能是转移和分散作用于脊柱的应力。由外向内,椎间盘分为外层纤维环、内层纤维环、移行区和髓核。早期髓核中能观察到两种特有的细胞:一是类似于软骨细胞的小圆细胞;二是较大且呈空泡样,即“气泡样细胞”。这种细胞有明显的细胞突起和细胞内的糖原贮存,该细胞被认为是脊索的起源。这些大型、脊索源性细胞到青春期时趋于消亡,遗留下一组可能是由软骨终板迁移而来的软骨细胞^[5]。纤维细胞按纤维环的分层方向排列,各层之间有黏合物质,以保证各层间的紧密结合。由于连续的板层纤维环从相反方向斜向交错,故可限制脊柱的旋转。各板层的纤维平行排布,在椎体之间沿其垂直面呈65°斜行。后部纤维则主要垂直排列,增加了髓核脱出的可能性。

椎间盘的主要功能是维持脊柱纵轴的稳定性,并提供一定范围内的前屈、后伸、侧弯和旋转活动。人体直立时,髓核受压。由于结构特殊,髓核能将压力经纤维环内层均匀传至

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.10.025

1 南方医科大学第一临床医学院,广州,510515;2 南方医科大学中医药学院;3 通讯作者

作者简介:黄贇博,男;收稿日期:2009-11-04

外层转化为张力,使得椎间盘能够承受压力。椎间盘兼具蠕变和应力松弛的特性,受力后的椎间盘会因内部液体的流动而发生形变。在整个运动节段中相当于椎骨之间的缓冲垫,具有储存和传递负荷的作用。由于椎间盘受压向周围膨出,外围的拉伸应力主要作用在周围的环状纤维,椎间盘纤维环后部所承受的拉伸应力甚至达到轴向负荷的5倍。

椎间盘基质主要由胶原蛋白和蛋白聚糖组成,但在椎间盘的不同位置存在着显著差异。胶原蛋白的交错构型决定了椎间盘的形态和抗张强度,并且高度水合蛋白多糖使得椎间盘具有硬度、抗压能力和黏弹性。胶原蛋白占纤维环干重的60%,而I型胶原蛋白占其中的80%;此外,髓核含有20%的胶原蛋白,以II型为主。其他型的胶原蛋白也以较少的含量存在于椎间盘当中。蛋白聚糖仅占外层纤维环的一小部分,但随着近椎间盘中部的高水合区,蛋白聚糖含量增高,甚至达到髓核干重的50%。胶原蛋白与蛋白聚糖的相对比例随着生命进程和椎间盘的退变而不断发生变化。年龄的增长导致髓核中大的蛋白聚糖聚合体的减少和非聚合型蛋白聚糖比例的增高,造成椎间盘水合能力的减弱和结构特性的损害。

毗连骨终板的是椎间盘营养物质交换来源的毛细血管。终板由一层透明软骨覆盖,在椎体和椎间盘之间起到屏障作用,限制溶质进出椎间盘。年龄、遗传和环境因素皆能影响终板脉管系统和对椎间盘的营养供应^[6]。

3 椎间盘的营养和神经支配

大多数正常椎间盘没有血管,仅靠从终板扩散作用进行营养和废物代谢。尽管可以在外层纤维环上发现一些细小的血管,但它们穿入的深度仅为1—2mm。椎间盘中心部分的细胞所在位置距最接近的血管有6—8mm的距离,因而椎间盘是人体内最大的无血管器官。然而,椎间盘的营养扩散能力相对较弱,即使是在病理状态下,且易受老化等因素的影响。单纯扩散是小分子物质转运入椎间盘内最为重要的机制,还可能是限制细胞活性最重要的因素^[7]。

大部分椎间盘细胞是无氧代谢并伴有乳酸等产生。正常椎间盘组织pH值为6.9—7.2,但在椎间盘退行性疾病时pH值可降至6.1。尽管椎间盘内测得的氧气或乳酸水平与退变之间不存在明显相关性,但酸性环境能抑制椎间盘细胞的代谢并使椎间盘基质退变。

外层纤维环可观察到有髓和无髓神经纤维末梢,但仅有游离的神经末梢穿过纤维环的最外层,故椎间盘还是缺乏神经支配。窦椎神经由腰神经的腹侧支的细小分支组成,提供感觉神经支配并与椎间盘源性疼痛有关。正常椎间盘的内层纤维环或髓核中则尚未发现神经末梢的存在。

4 椎间盘的生物力学

正常椎间盘能承担的压力比周围的骨性结构更大。即使

发生骨折,椎间盘也不易破裂。腰椎间盘在繁重的负重时承受着高达17000N的压力。为分散这些负荷,椎间盘通过组织间液施加的流体静压力,在外层纤维环将压缩力转化为张应力。纤维环不同位置的抗张性亦不同,以致在负荷过程中出现了“双相现象(关节接合中,关节面以固体面和液膜层两种接触方式混合一起支撑关节内的负载)”。由于外环纤维较内环纤维质硬,外层就将压缩负荷转化为环向应力,内层则起到“缓冲器”的作用。正常纤维环的高拉伸模量有助于防止椎间盘膨隆的发生。在退变的椎间盘中,髓核的膨胀压力减小且纤维环刚度增加,导致了负荷分散不足并使得转移至脊柱骨质的压力增加^[8]。

许多研究结果表明椎间盘的病理负荷是引发椎间盘退变的元凶^[9]。转矩负荷会导致早期的退变,包括磷脂酶A₂的增加和髓核体积的增大。退变开始时,邻近的背根神经节会出现降钙素基因相关肽及舒血管活性肠肽水平的提高,这为椎间盘退变与腰痛的关系提供了支持。研究还发现,在动物模型中,与周期性负荷相比,静态负荷更易于发生退变。还有学者认为,高频率、高振幅的负荷可促进体外椎间盘细胞合成胶原蛋白^[10]。然而,无论来自何处的病理性高负荷,都可减少椎间盘的新陈代谢并产生分解代谢酶。随之而来的是节段活动范围的短暂性增大,可进一步增加对椎间盘细胞的压力并加速椎体的退变。

5 椎间盘退变的遗传学

遗传似乎在引发一些早期或症状明显的椎间盘疾病中起到较环境因素更为重要的作用。在那些需要腰椎间盘手术的患者中,椎间盘退变普遍具有家族性,患者兄妹的发病率呈上升趋势。对孪生子的研究证明,无论是颈部还是腰部椎间盘的退变都与遗传有较大关系^[11]。

遗传研究已经证实分子缺陷对特定罹患者群的椎间盘退变起着一定作用。某些特定基因连锁与椎间盘退变存在相关性,包括维生素D受体的特定等位基因、聚集蛋白聚糖基因内串联重复序列数量上的差异、IX型胶原蛋白基因突变以及基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinase-3,MMP-3)等位基因等^[12]。

6 椎间盘源性腰痛的发生

许多因素,包括脊柱结构的改变、可溶性调控因子和神经/血管长入外层纤维环都被认为是慢性腰背痛的诱因。单核细胞浸润突出椎间盘的边缘表达炎性介质,如白介素-1(interleukin-1,IL-1)、细胞间黏附分子1(intercellular adhesion molecule-1,ICAM-1)、淋巴细胞功能相关抗原和成纤维细胞生长因子,可能导致炎症、新血管形成和疼痛^[13]。其他炎症因子,如IL-8等与脊神经根痛综合征有关^[14]。

椎间盘的改建可引起椎体、关节面、韧带和肌肉排列等

机械环境的变化,产生复杂且不甚明了的生物力学环境,这些可能均与腰背痛有关联。退变的椎间盘可产生一系列细胞因子和化学介质,刺激神经末梢产生疼痛并诱导血管和神经长入纤维环。近来,肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)被认为在椎间盘源性疼痛和坐骨神经痛的机制中起到关键作用^[15]。明确具体的炎症因子导致腰背痛似乎大有可为,因为这些介质有成为药理干预靶点的可能。

7 细胞凋亡,降解酶和炎症因子

细胞凋亡似乎在年龄相关性退变中起到举足轻重的作用,其在老龄人群中具有较高比例,可能对突出椎间盘碎片的重吸收非常重要。某些表面分子,包括 Fas 和 FasL 等参与了此过程。尽管正常椎间盘细胞没有 Fas 受体,但它们依旧在椎间盘退变开始后不久表达这类分子,提示 Fas/FasL 系统可启动椎间盘细胞凋亡^[16]。终板细胞凋亡发生于椎间盘承受较大负荷时。促生长因子(insulin-like growth factor 1, IGF-1)和血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等特定生长因子被证实对人工培养的椎间盘细胞发挥了抗细胞凋亡作用,在治疗方面有着一定的前景。

老龄人椎间盘细胞普遍存在代谢紊乱,例如聚集蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白产生减少。有人指出,那些大的、脊索源性的细胞在生命活动的早期就已经消失,而在共培养实验中却对椎间盘细胞有着积极的作用。此类效应似乎缘自一种不明可溶性介质,可能解释了此类细胞消失后不久便发生退变的原因。

退变椎间盘产生大量的炎症、降解和异化分子,包括蛋白水解酶、降解酶、氧自由基、NO、白细胞介素(interleukin, IL)和血清胰高血糖素(pancreas glucagon, PG)等。包括组织蛋白酶、溶菌酶、集硅酶和一些基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)在内的蛋白水解酶可参与椎间盘的退变^[17]。通过比较退变和正常椎间盘,可发现退变椎间盘存在较高浓度的 MMPs1、2、3、9 和溶菌酶^[18]。在退变腰椎间盘髓核组织中,表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)及表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的表达缺乏,而转化生长因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α)仍有表达。

在人工培育的椎间盘细胞中发现有膜破坏氧自由基和 NO, NO 合成酶亦被证实存在于突出的椎间盘内。这些分子能直接使细胞膜和基质蛋白受到化学损伤。当胶原蛋白和纤维连接蛋白等椎间盘内的大分子暴露于氧自由基时将发生化学裂解,随之在椎间盘内积聚为无功能的高分子量脂蛋白复合物。其他椎间盘内的大分子经过复杂的糖基化反应形成糖氨基酸副产物,从而干扰细胞基质的相互作用。退变的椎间盘堆积了大量部分降解的大分子复合物,部分降解的纤维连接蛋白碎片积累于椎间盘可能加剧椎间盘的退变进程^[19]。

在椎间盘内,IL-1 会加速基质的损坏,还能减慢椎间盘细胞蛋白聚糖合成的速度,并诱导基质降解因子-1 和前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)的表达。其他在退变椎间盘内产生的降解分子还包括 IL-6、NO 和 PGE2^[20-21]。此外,突出的椎间盘碎片还能产生高浓度的磷脂酶 A₂, 这种能诱导 PG 和 IL 生成的酶可引发炎症和疼痛。

生长因子随着年龄的增大而减少。在某些情况下,生长因子也会产生,但由于椎间盘细胞表达生长因子受体发生了改变,生长因子失去了效用,使得椎间盘的代谢环境进一步恶化。

8 椎间盘退变的生物学研究

由于生长因子在椎间盘细胞代谢中能发生刺激效应,这些分子因而被视为治疗介入的理想靶点。EGF 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)能使人工培养的髓核细胞代谢活动增加 5 倍。TGF- β 能提升 II 型胶原蛋白和蛋白聚糖的表达,对椎间盘的基质元素十分重要。成骨蛋白-1 被证实能在体外培养的椎间盘细胞中阻止 IL-1 的降解效应。不幸的是,这些因子的半衰期在体内的时间较短,因而直接将重组生长因子注射入椎间盘内并不能对椎间盘退变长期奏效^[22]。

基因疗法用于在椎间盘内长期制造生长因子。在一周龄兔模型中观察到,携带 TGF- β 基因的腺病毒能产生多出 2 倍的蛋白聚糖^[23]。然而,退变椎间盘对基因疗法带来的营养和代谢如何反应仍不甚明了。

目前,无论成熟细胞还是多潜能细胞都被列入了细胞疗法的高权范围。在将自体椎间盘细胞移植入沙鼠的椎间盘的研究中,观察到植入的细胞发育成与宿主椎间盘细胞相似的形态并在体内存活。

早期的组织工程学方法已经将细胞植入椎间盘的细胞支架做了评价。细胞支架的优点在于治疗用细胞被维持于植入位置并给其在椎间盘内提供了一个用于分裂和迁移的必需三维环境。髓核细胞活动暂停于藻酸盐纤维蛋白珠,纤维蛋白珠则能生产细胞外基质^[24]。然而,一些细胞支架没有预想中那么有效。而当使用 I 型胶原蛋白和透明质烷作为支架,并植入牛髓核和纤维环细胞时,存在着蛋白聚糖的保留问题^[25]。相反,在日本白兔试验中,把同种异体移植的纤维环细胞放置在一个膜密封的去端胶原蜂巢式梳网孔支架中,能扩增、保留 II 型胶原蛋白 mRNA,并缩小椎间盘空间^[26]。

9 小结

随着研究深入,我们可从更微观的角度对椎间盘退变进行探索,而不仅仅局限于治疗方法上,还要从根本上入手,在预防措施上寻求出路。许多分子参与椎间盘退变过程。因此在分子水平上了解这一过程至关重要,这样才能够找到合

理的生物和药物治疗方法。尽管寻求解决椎间盘退变这一难题的生物学方法仍处在早期阶段,但这一领域将会不断发展和进步,最终解决这一人类难题。

参考文献

- [1] Waddell G. Low back pain: a twentieth century health care enigma[J]. Spine, 1996,21(24):2820—2825.
- [2] Boos N, Dreier D, Hilfiker E, et al. Tissue characterization of symptomatic and asymptomatic disc herniations by quantitative magnetic resonance imaging[J]. J Orthop Res, 1997,15(1):141—149.
- [3] Freemont AJ, Watkins A, Le Maitre C, et al. Nerve growth factor expression and innervation of the painful intervertebral disc[J]. J Pathol, 2002,197(3):286—292.
- [4] Taylor JR, Twomey LT. The development of the human intervertebral disc. In: Ghosh P, editor. The biology of the intervertebral disc. Boca Raton, FL: CRC Press,1988.39—82.
- [5] Kim KW, Lim TH, Kim JG, et al. The origin of chondrocytes in the nucleus pulposus and histologic findings associated with the transition of a notochordal nucleus pulposus to a fibrocartilaginous nucleus pulposus in intact rabbit intervertebral discs[J]. Spine, 2003,28(10):982—990.
- [6] Holm S, Maroudas A, Urban JP, et al. Nutrition of the intervertebral disc: solute transport and metabolism [J]. Connect Tissue Res, 1981,8(2):101—119.
- [7] Horner HA, Urban JP. 2001 Volvo Award Winner in Basic Science Studies: effect of nutrient supply on the viability of cells from the nucleus pulposus of the intervertebral disc[J]. Spine, 2001,26(23):2543—2549.
- [8] Fujita Y, Duncan NA, Lotz JC. Radial tensile properties of the lumbar annulus fibrosus are site and degeneration dependent[J]. J Orthop Res, 1997,15(6):814—819.
- [9] Kroeber MW, Unglaub F, Wang H, et al. New in vivo animal model to create intervertebral disc degeneration and to investigate the effects of therapeutic strategies to stimulate disc regeneration[J]. Spine, 2002,27(23):2684—2690.
- [10] Kasra M, Goel V, Martin J, et al. Effect of dynamic hydrostatic pressure on rabbit intervertebral disc cells [J]. J Orthop Res, 2003,21(4):597—603.
- [11] Sambrook PN, MacGregor AJ, Spector TD. Genetic influences on cervical and lumbar disc degeneration: a magnetic resonance imaging study in twins[J]. Arthritis Rheum, 1999,42(2):366—372.
- [12] 黄玉国,马丽君,李蕊. 椎间盘退变中遗传因素的研究[J]. 中国康复医学杂志, 2007,22(8):762—765.
- [13] Doita M, Kanatani T, Harada T, et al. Immunohistologic study of the ruptured intervertebral disc of the lumbar spine [J]. Spine,1996,21(2):235—241.
- [14] Ahn SH, Cho YW, Ahn MW, et al. mRNA expression of cytokines and chemokines in herniated lumbar intervertebral discs[J]. Spine, 2002,27(9):911—917.
- [15] Onda A, Yabuki S, Kikuchi S. Effects of neutralizing antibodies to tumor necrosis factor -alpha on nucleus pulposus-induced abnormal nociceptive responses in rat dorsal horn neurons[J]. Spine, 2003,28(10):967—972.
- [16] Anderson DG, Izzo MW, Hall DJ, et al. Comparative gene expression profiling of normal and degenerative discs: analysis of a rabbit annular laceration model [J]. Spine, 2002,27(12):1291—1296.
- [17] 汪国宏,吴建贤. 椎间盘源性腰痛的免疫学及局部炎症机制研究进展[J]. 中国康复医学杂志,2007,22(4):367—369.
- [18] Roberts S, Caterson B, Menage J, et al. Matrix metalloproteinases and aggrecanase: their role in disorders of the human intervertebral disc[J]. Spine, 2000,25(23):3005—3013.
- [19] Oegema TR Jr, Johnson SL, Aguiar DJ, et al. Fibronectin and its fragments increase with degeneration in the human intervertebral disc[J]. Spine, 2000,25(21):2742—2727.
- [20] 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, 1996, 21(3): 271—277.
- [21] 樊涛,吴文. 腰椎间盘突出症的免疫学相关性研究进展[J].中国康复医学杂志, 2008,23(5):477—479.
- [22] Nishida K, Gilbertson LG, Robbins PD, et al. Potential applications of gene therapy to the treatment of intervertebral disc disorders [J]. Clin Orthop Relat Res, 2000,(379 Suppl): S234—241.
- [23] Gruber HE, Johnson TL, Leslie K, et al. Autologous intervertebral disc cell implantation: a model using Psammomys obesus, the sand rat[J]. Spine, 2002,27(15):1626—1633.
- [24] Perka C, Arnold U, Spitzer RS, et al. The use of fibrin beads for tissue engineering and subsequent transplantation [J]. Tissue Eng, 2001,7(3):359—361.
- [25] Alini M, Li W, Markovic P, et al. The potential and limitations of a cell-seeded collagen/hyaluronan scaffold to engineer an intervertebral disc-like matrix [J]. Spine, 2003,28(5):446—454.
- [26] Sato M, Asazuma T, Ishihara M, et al. An atelocollagen honeycomb-shaped scaffold with a membrane seal (ACHMS-scaffold) for the culture of annulus fibrosus cells from an intervertebral disc [J]. J Biomed Mater Res A, 2003,64(2): 248—256.