

基质金属蛋白在椎间盘退变中的相关研究进展*

王家伦¹, 李大鹏²综述, 黄永辉^{2△} 审校

(1. 江苏大学医学院, 江苏镇江 212000; 2. 江苏大学附属医院骨科, 江苏镇江 212000)

[摘要] 腰椎间盘突出性变是导致腰背疼痛的常见原因之一。以往研究认为形态学变化是造成椎间盘退变的主要原因, 但近年的研究发现基质金属蛋白酶(MMPs)对细胞外基质(ECM)的降解作用与椎间盘退变密切相关, 这可能是引发椎间盘力学特性丧失的根本原因。该文主要从 MMPs 在退变椎间盘中的表达及其代谢等方面, 阐述新近研究的相关进展, 讨论研究过程中需要克服的部分问题, 并对今后的研究提出新的期望。

[关键词] 腰椎间盘突出; 基质金属蛋白酶; 细胞外基质

[中图分类号] R681.5+5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)27-3568-03

椎间盘退变相关的疾病是临床上一种常见的慢性疾病, 是脊柱大部分肌肉、骨骼疾病的病理基础。目前针对椎间盘退变的治疗方式较局限, 主要是保守治疗及外科手术干预等对症治疗, 且没有早期干预和逆转退变进程的方法, 所以急需对椎间退行性变(IDD)病理生理过程进行更深入的研究, 提出更有效的治疗策略。在过去的十年中对细胞外基质(ECM)降解理论的研究越来越受到重视, 尤其是基质金属蛋白酶(MMPs)。它是引起椎间盘中胶原和蛋白聚糖降解的至关重要的生物效应物质^[1]。所以研究 MMPs 的表达及酶之间的相互作用对 ECM 的修复再生和延缓椎间盘退变进程有深远作用, 本综述总结了 MMPs 在椎间盘退变中的作用及影响 MMPs 表达的因素。

1 MMPs 家族

MMPs 是一种广泛存在于人体的含锌的蛋白水解酶家族, 可以降解除多糖外几乎所有 ECM。MMPs 的结构组成与氨基酸类似, 都具有铰链区、大量氨基酸组成编码底物的特异序列等, 共同特征是都具有一个含锌离子结合位点的催化区, 其 cDNA 具有同源性, 主要由炎症细胞、内皮细胞、纤维细胞等以非活性形式分泌, 通过蛋白水解作用激活, 并且活性的 MMPs 可与特异性的 TIMPs 以非共价键结合而抑制。自 GROSS 和 LAPIERE 在 1962 年首次发现并报道胶原酶以来^[2], 至今已发现 28 种 MMPs 人类金属基质蛋白, 按照底物的专一性和序列相似性可分为 6 类^[3]: (1) 基质溶解因子(matrilysins) 主要为 MMP-7、MMP-26, 其作用底物包括部分生长因子、蛋白多糖等多种细胞外基质成分。(2) 间质溶解素(stromelysins) 包括 MMP-3、MMP-10、MMP-11, 其作用底物主要是胶原蛋白、明胶、蛋白多糖。(3) 明胶酶类(gel-

latinases) 包含 MMP-2、MMP-9, 主要降解变性胶原蛋白、明胶、层黏连蛋白。(4) 膜型 MMPs 包括 MMP-14、MMP-15、MMP-16、MMP-17、MMP-24、MMP-25, 不仅对纤维连接蛋白及胶原有特殊降解作用, 还能辅助激活其他 MMPs。(5) 间质胶原酶(collagenases) 包括 MMP-1、MMP-8、MMP-13 及 MMP-18, 其作用广泛, 主要包括各类胶原和大部分蛋白多糖核心。(6) 其他未归类的 MMPs 包括 MMP-12、MMP-19、MMP-20、MMP-21、MMP-23、MMP-27、MMP-28 等, 这些 MMPs 酶类在细胞及组织中的具体作用仍不太清楚, 可能具有维持细胞及组织稳定性及修复作用。

2 MMPs 在退变椎间盘的代谢

在正常椎间盘组织中, MMPs 表达最低, 在婴儿期和青春期, 用免疫组化的方式检测 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-9、MMP-10、MMP-13, 是低表达或者不表达的^[4]。MMP-19 在年轻化的椎间盘中高度表达, 在老年化的椎间盘中很少表达, 它可能和椎间盘的自我修复相关, 但在人类退化的椎间盘(IVD)组织中各种 MMPs 的表达增加, 所以这些蛋白的具体生理作用, 还有待研究。

CAMPOS 等^[5]发现 MMP-1、MMP-2 和 MMP-3 蛋白质表达与椎间盘退变形态学变化高度相关, 并且 MMP-1 和 MMP-3 只在严重退变的髓核组织中高表达。MMP-1 已经证实能完整消化 I、II、III 型胶原, 且通过分析椎间盘突出症患者的椎间盘标本发现 MMP-1 表达水平变化和椎间盘的退变等级存在正相关关系。胡峰等^[6]采用单克隆抗体染色法检测 50 例不同严重程度椎间盘病变患者的 MMP-7 表达发现, MMP-7 不仅与椎间盘病变的临床分级关联, 还与椎间盘病变的严重程度存在相关。另一项研究中运用

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81601931); 江苏省自然科学基金资助项目(BK20150475); 江苏省医学重点人才项目(QNRC2016844); 江苏省镇江市重点研发计划-社会发展(SH2015085)。 作者简介: 王家伦(1989-), 住院医师, 硕士, 主要从事脊柱外科研究。

△ 通信作者, E-mail: huangyh8855@163.com。

免疫组化方法发现 MMP-7 阳性细胞数量与椎间盘退化等级呈正相关^[7]。相比之下, MMP-13 在退变早期即出现较高表达, 并且这种表达不随退变程度的加重而变化^[8]。SOBAJIMA 等^[9]在兔子椎间盘的针刺试验中发现, 基质金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)表达大幅度下降到术前水平的十分之一, 转化生长因子- β 1(TGF- β 1)和分解代谢基因(MMP-3、IL-1 β 、iNOS)表达升高, 并表现出双峰性特征。同样的在椎间盘退变的动物试验中, WEI 等^[10]发现在猴子的退变模型中 MMP-3 的表达升高。在发生退变的椎间盘中, 免疫细胞定位方法发现 MMP-12 在纤维环和髓核中的表达均增加^[11]。

3 MMPs 在退变椎间盘的表达

椎间盘退变的过程是一个多因素相互作用的复杂过程, 相关的作用机制至今尚未完全研究清楚。椎间盘内环境的破坏是目前支持比较多的理论, 尤其是 ECM 的过度降解引起椎间盘退变的理论被广泛接受。椎间盘的内环境稳定的关键在于基质的分解合成之间的平衡, 而维持这一平衡的基质酶类 MMPs 的活动至关重要, 而机体通过基因转录, 调节酶激活以及酶的活性等方式来实现对基质酶类的调控^[12]。基因在编码蛋白质方面起着决定性作用, 所以在遗传过程中出现的变异将有可能直接影响椎间盘退变进程及病变的发生。ZHANG 等^[13]发现 MMP-2 的-735/t 多态性可能与中国汉族人口中 LDD 的风险和严重程度有关。同样的, 在 2015 年的研究表明, MMP-14 的-378T/C 多态可能影响中国汉族人口发生 IVDD 的风险。ZAWILLA 等^[14]在一项对埃及人群中椎间盘退变的研究中发现, MMP-3 的 5A 突变等位基和与维生素 D 受体(VDR)的突变等位基因 T 与 LDD 显著相关, 并且携带突变等位基因 5A 的受试者在暴露于职业风险因素时更容易受到 IDD 的影响。RNA 作为蛋白质表达经典调控成分, 同样对 MMPs 的表达具有重要影响, 从牛尾椎间盘分离的髓核细胞被 miR-146a 转染后, 能够抑制炎症因子 IL-1 介导的 MMP-13 表达, 从而增加 II 型胶原的水平, 减少椎间盘退变的发生, 这项研究也为利用内源性或外源性途径产生 miR-146a 来治疗、延缓椎间盘退变提供了思路^[15]。

细胞因子同样对 MMPs 在椎间盘中的表达有着重要的影响。在小鼠体内发现, 胰岛素样生长因子 1 受体(IGF1R)可以提高 MMP-3 水平, 并减少椎间盘中的 II 型胶原, 导致椎间盘退变的加速^[16]。但在另一项研究中发现, IGF1R 能抑制牛椎间盘细胞中 MMP-2 的合成和 TIMP-2 的表达^[17]。KAO 等^[18]发现在老鼠体内神经生长因子(NGF)能上调 MMP-3 的表达及抑制 TIMP-3, 从而提高 MMP-3 与 TIMP-3 的比值, 并且这种作用能被 Ro08-2750 这种特异性神经生长因子抑制剂阻断, 在进一步的研究中, NGF 能通过上调 IL-2 的方式来增加 MMP-9 的表达。所以 NGF

可能对 MMPs 的平衡有潜在影响, 间接地促进椎间盘退变。肿瘤坏死因子- α (TNF- α)也是促进椎间盘退变的影响因子之一, 它可以通过 ERK-1/2 途径增强 MMP-14 启动子的活性, 上调 MMP-14 的表达, 后者通过增加 MMP-2 的活性降解细胞外基质, 引发退变^[19]。同时 TNF- α 可以明显刺激体外培养的椎间盘髓核细胞多种 MMPs(MMP-3、MMP-9 和 MMP-13)的表达升高^[20]。肿瘤坏死因子样弱凋亡因子(TWEAK)的作用类似 TNF- α 可以同时增加 MMP-3 在基质中的表达及其蛋白水解活性^[21]。由此可见, 椎间盘退变是一种多重基因及多种因素相互作用的复杂疾病。

4 MMPs 潜在的靶向治疗

考虑到 MMPs 在 ECM 降解过程中起着关键作用, 这些酶类可通过生物学途径诱导和调节 ECM 的自我修复, 从而提供一条替代手术治疗, 早期干预退变进程的新途径。研究发现, 乌司他丁通过抑制 MMP-2 的表达, 增加 II 型胶原的方式, 对体外 IL-1 诱导的退变兔椎间盘髓核细胞具有保护作用^[22]。白藜芦醇(RSV)是存在于红酒和葡萄中的一种天然成分, 有研究发现它对软骨组织具有保护作用, 并且用 RSV 孵育牛椎间盘细胞能有效抑制 IL-1b 诱导的 MMP-13 表达, 使蛋白聚糖含量增加^[23]。上述物质的发现, 为抗椎间盘退变药物的开发提供了新的思路和材料。另一方面基因对蛋白质的表达起决定性作用, 利用基因的修饰和调节对影响椎间盘退变的酶类进行调节具有生物学治疗潜力。TIMPs 是 MMPs 特异性的内源性抑制因子之一, LECKIE 等^[24]发现将携带 TIMP-1 基因的腺病毒注入兔子退变椎间盘模型中, 髓核组织中 II 型胶原的含量明显增加。

5 展 望

目前的研究表明, 金属基质蛋白酶类对细胞外基质成分有重要调节作用, 通过调节 MMPs 酶类来预防和治疗 IVDD 具有巨大前景: 一方面 MMPs 含量的检测将可用作判断早期 IVDD 的标准; 另一方面针对 MMPs 研制的药物将会在延缓限制 IVDD 发展方面表现出巨大优势。总而言之, 对 MMPs 等酶类前炎症递质分子水平的深入研究, 能更清楚地揭示多种细胞因子在退变过程中的相互作用, 并有可能发现更多的 MMPs, 更进一步明确椎间盘退变的发生机制, 为生物复合材料干预和治疗 IVDD 提供理论基础, 同时为临床早期防治 IVDD 提供一条新途径。

参考文献

- [1] LI Y, LI K, HAN X, et al. The imbalance between TIMP3 and matrix-degrading enzymes plays an important role in intervertebral disc degeneration[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 469(3): 507-514.
- [2] BUCKLEY J J, JESSEN J R. Matrix metalloproteinase

- function in non-mammalian model organisms[J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2015(7):168-183.
- [3] GARGIULO S, GAMBA P, POLI G, et al. Metalloproteinases and metalloproteinase inhibitors in age-related diseases[J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(18):2993-3018.
- [4] XU H, MEI Q, XU B, et al. Expression of matrix metalloproteinases is positively related to the severity of disc degeneration and growing age in the East Asian lumbar disc herniation patients[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70(2):1219-1225.
- [5] CAMPOS M F, OLIVEIRA C P, NEFF C B, et al. Studies of molecular changes in intervertebral disc degeneration in animal model[J]. *Acta Ortop Bras*, 2016, 24(1):16-21.
- [6] 胡峰, 李康华, 孙贤德, 等. 基质金属蛋白酶-7 在椎间盘组织中的表达和意义[J]. *医学临床研究*, 2006, 23(3):311-313.
- [7] HARO H, NISHIGA M, ISHII D, et al. Experimental chemonucleolysis with recombinant human matrix metalloproteinase 7 in human herniated discs and dogs[J]. *Spine J*, 2014, 14(7):1280-1290.
- [8] HUA W B, WU X H, ZHANG Y K, et al. Dysregulated miR-127-5p contributes to type II collagen degradation by targeting matrix metalloproteinase-13 in human intervertebral disc degeneration[J]. *Biochimie*, 2017, 139(1):74-80.
- [9] SOBAJIMA S, SHIMER A L, CHADDERDON R C, et al. Quantitative analysis of gene expression in a rabbit model of intervertebral disc degeneration by real-time polymerase chain reaction[J]. *Spine J*, 2005, 5(1):14-23.
- [10] WEI F, ZHONG R, WANG L, et al. Pingyangmycin-induced in vivo lumbar disc degeneration model of rhesus monkeys[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2015, 40(4):199-210.
- [11] GRUBER H E, INGRAM J A, COX M D, et al. Matrix metalloproteinase-12 immunolocalization in the degenerating human intervertebral disc and sand rat spine: Biologic implications[J]. *Exp Mol Pathol*, 2014, 97(1):1-5.
- [12] ROBERTS S, COLOMBIER P, SOWMAN A, et al. Ageing in the musculoskeletal system[J]. *Acta Orthop*, 2016, 87(363):15-25.
- [13] ZHANG J, SUN X, JING L, et al. The role of matrix metalloproteinase 14 polymorphisms in susceptibility to intervertebral disc degeneration in the Chinese Han population[J]. *Europe PMC*, 2015, 11(4):801-806.
- [14] ZAWILLA N H, DARWEESH H, MANSOUR N, et al. Matrix metalloproteinase-3, vitamin d receptor gene polymorphisms, and occupational risk factors in lumbar disc degeneration[J]. *J Occup Rehab*, 2014, 24(2):370.
- [15] ZHOU T, LIN H, CHENG Z, et al. Mechanism of microRNA-146a-mediated IL-6/STAT3 signaling in lumbar intervertebral disc degeneration[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(2):1131-1135.
- [16] LIU Z, ZHOU K, FU W, et al. Insulin-like growth factor 1 activates pi3k/akt signaling to antagonize lumbar disc degeneration[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(1):225-232.
- [17] DAGISTAN Y, CUKUR S, DAGISTAN E, et al. Role of expression of inflammatory mediators in primary and recurrent lumbar disc herniation[J]. *J Korean Neurosurg Soc*, 2017, 60(1):40-46.
- [18] KAO T H, PENG Y J, SALTER D M, et al. Nerve growth factor increases MMP9 activity in annulus fibrosus cells by upregulating lipocalin 2 expression[J]. *Eur Spine J*, 2015, 24(9):1959-1968.
- [19] ALTUN I. Cytokine profile in degenerated painful intervertebral disc: variability with respect to duration of symptoms and type of disease[J]. *Spine J*, 2016, 16(7):857-861.
- [20] FENG C, LIU H, YANG M, et al. Disc cell senescence in intervertebral disc degeneration: Causes and molecular pathways[J]. *Cell Cycle*, 2016, 15(13):1674-1684.
- [21] PINHEIRO-DARDIS C M, RUSSO T L. Electrical stimulation based on chronaxie increases fibrosis and modulates tweak/fn14, tgfbeta/myostatin, and mmp pathways in denervated muscles[J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 2017, 96(4):260-267.
- [22] HUA G, HAIPING Z, BAORONG H, et al. Effect of ulinastatin on the expression of iNOS, MMP-2, and MMP-3 in degenerated nucleus pulposus cells of rabbits[J]. *Connect Tissue Res*, 2013, 54(1):29-33.
- [23] NGUYEN C, SAVOURET J F, WIDERAK M, et al. Resveratrol, potential therapeutic interest in joint disorders: a critical narrative review[J]. *Nutrients*, 2017, 9(1):45.
- [24] LECKIE S K, BECHARA B P, HARTMAN R A, 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.

(收稿日期:2018-02-18 修回日期:2018-05-11)