

· 综 述 ·

中药延缓终板软骨细胞退变相关信号通路的研究进展

王晨宇¹, 陈双¹, 孙道喜², 谢林²

(1. 南京中医药大学第三临床医学院, 江苏 南京 210028;

2. 江苏省中西医结合医院, 江苏 南京 210028)

摘 要 终板软骨细胞退变导致终板弥散功能障碍是椎间盘退变发生与发展的始动因素。中药能够通过多条信号通路发挥促进终板软骨细胞增殖、抑制终板软骨细胞凋亡、减少终板软骨细胞外基质降解的作用, 进而延缓终板软骨细胞退变。本文对中药延缓终板软骨细胞退变相关信号通路的研究进展进行了综述, 以为后续研究提供参考。

关键词 椎间盘退化; 软骨细胞; 终板; 中药; 信号传导; 综述

椎间盘退变是脊柱退行性疾病的主要病理改变, 是导致脊柱失稳、椎间盘突出症及椎管狭窄症等疾病的重要原因^[1-2], 也是导致颈肩腰腿痛的重要因素^[3]。椎间盘由髓核、纤维环和终板组成。终板不仅是维持椎间盘稳定的重要结构, 也是椎间盘进行物质交换的重要媒介。研究表明, 终板软骨细胞退变导致终板弥散功能障碍是椎间盘退变发生与发展的始动因素^[4-5]。中药能够通过多条信号通路发挥促进终板软骨细胞增殖、抑制终板软骨细胞凋亡、减少终板软骨细胞外基质降解的作用, 进而延缓终板软骨细胞退变^[6-8]。本文对中药延缓终板软骨细胞退变相关信号通路的研究进展进行了综述, 现总结报告如下。

1 中医对椎间盘退变的认识

椎间盘退变属中医学“腰痛”“痹证”范畴。《素问·脉要精微论篇》云:“腰者, 肾之府, 转摇不能, 肾将惫矣。”该论述明确了肾与腰的密切联系。《丹溪心法·腰痛》载有“腰痛主湿热、肾虚、瘀血、挫闪, 有痰积”, 指出了湿热、肾虚、瘀血是腰痛的致病因素。现代中医学家多认为椎间盘退变的病因病机为肝肾亏虚, 加之风寒湿痰瘀内阻; 病位在筋, 与肝肾密切相关; 证属本虚标实、气血亏虚; 肝肾二脏虚损为本, 风寒湿痰瘀为标^[9-10]。因此, 中医治疗椎间盘退变以补益肝肾为基本治则。

2 中药延缓终板软骨细胞退变的相关信号通路

终板是一层薄的透明软骨, 位于椎间盘的上方和下方, 是营养物质从椎体毛细血管到达椎间盘的主要通路, 也是代谢产物排出椎间盘的重要途径^[11]。终板软骨细胞是终板内唯一的细胞类型, 其退变、凋亡将导致终板钙化, 进而阻碍椎间盘的物质交换, 并最终导致椎间盘退变^[12]。终板软骨细胞退变进程受多条信号通路调控, 当前对中药延缓终板软骨细胞退变的研究主要围绕 Fas^[13-14]、促分裂原活化的蛋白激酶 (mitogenactivated protein kinase, MAPK)^[15-16]、Wnt/ β -catenin^[17-19]、核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)^[20-22]、印第安刺猬因子 (Indian hedgehog, IHH)^[23-24]、基质细胞衍生因子 (stromal cell-derived factor, SDF)-1/CXC 趋化因子受体 (CXC chemokine receptor, CXCR)-4^[25]等信号通路。

2.1 Fas 信号通路 Fas 是肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 受体家族中典型的凋亡受体, Fas 配体 (Fas ligand, FasL) 与 Fas 在细胞膜表面结合, 进而通过激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶引起细胞凋亡^[26]。Wang 等^[27]研究发现, 椎间盘退变患者终板软骨细胞的凋亡率及 Fas 蛋白表达量均高于正常人, 认为终板软骨细胞凋亡与 Fas 信号通路密切相关。吕存贤等^[13]采用异常应力负荷及椎间失稳法建立了兔终板软骨退变模型, 并采用补阳还五汤对模型兔干预, 结果显示, 终板软骨退变模型兔的终板软骨组织中 Fas、FasL 的 mRNA 表达量显著上调, 补阳还五汤干预后终板软骨组织中 Fas、FasL 的 mRNA 表达量显著下调, 提示补阳还五汤能够抑制终板软骨细胞凋亡。吴国华等^[14]研究发现, 六味地黄丸含药血清可抑制兔退变椎间盘的终板软骨细胞凋亡及细胞外基

基金项目: 江苏省基础研究计划自然科学基金项目 (BK20221420); 江苏省中医药科技发展计划项目 (ZD202008); 江苏省名老中医药专家传承工作室建设项目 (苏中医科教 [2021]7 号)

通讯作者: 谢林 E-mail: xielin@njucm.edu.cn

质分解,且药物干预组软骨终板组织中 Fas、FasL 的 mRNA 表达水平低于模型组,提示六味地黄丸含药血清可能通过抑制 Fas 信号通路延缓终板软骨细胞的退变。

2.2 MAPK 信号通路 MAPK 信号通路广泛存在于细胞中,能够调控细胞增殖、分化、凋亡等;该信号通路可被物理刺激、炎性细胞因子等细胞外刺激或信号激活;p38MAPK、胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)是目前研究较为深入的 MAPK 家族成员^[28]。Kong 等^[29]研究发现,静态机械负荷诱导下的终板软骨细胞凋亡过程中 c-Jun 氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、ERK1/2 和 p38MAPK 磷酸化水平升高,且 JNK、p38MAPK 和 ERK 抑制剂干预可抑制终板软骨细胞的凋亡,提示 MAPK 信号通路的激活可引起终板软骨细胞的凋亡。柳根哲等^[15]研究发现,益气活血汤含药血清可促进处于高静水压下的兔终板软骨细胞增殖,抑制 p38 蛋白的磷酸化,提示益气活血汤延缓终板软骨细胞退变可能与抑制 p38MAPK 信号通路有关。付长龙等^[16]研究发现,狗脊多糖能够下调白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 诱导的大鼠椎间盘退变软骨细胞中 ERK1/2 mRNA 与蛋白的表达,提示狗脊多糖可能通过抑制 ERK1/2 通路延缓终板软骨细胞退变。

2.3 Wnt/ β -catenin 信号通路 Wnt/ β -catenin 通路是 Wnt 信号通路中的经典通路,参与细胞凋亡与坏死的过程。Wnt/ β -catenin 信号通路被激活后, β -catenin 的降解将受到抑制,细胞中游离的 β -catenin 增多; β -catenin 与 T 细胞因子、淋巴增强因子结合形成复合物后进入细胞核,进而调控与细胞凋亡相关基因的表达^[30]。郑权等^[31]研究发现,退变的终板软骨细胞中 β -catenin 表达量明显升高,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路后, β -catenin 的表达量显著降低,而终板软骨细胞外基质蛋白的表达升高,提示 β -catenin 在终板软骨细胞退变过程中起重要作用,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路可延缓终板软骨细胞的退变。韩涛等^[17]研究发现,补肾活血中药可抑制兔离体终板软骨组织中蛋白多糖和 II 型胶原的分解,且中药干预组 Wnt-3 α 、 β -catenin 的 mRNA 表达水平低于对照组。刘伯龄等^[18]在探讨独活寄生汤干预对大鼠椎间盘软骨细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路影响的研究中发现,独活寄生汤与 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂 DDK-1 对大鼠椎间盘终板软骨细胞的干预效果一致。刘志超等^[19]

研究发现,益气活血汤含药血清干预静水压诱导的兔退变终板软骨细胞 24 h 后,软骨细胞 Wnt4、 β -catenin 的蛋白表达量下调。因此,中药延缓终板软骨细胞退变与抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路密切相关。

2.4 NF- κ B 信号通路 NF- κ B 信号通路是调控细胞生长、凋亡及炎症反应的重要信号通路。在静息状态下,NF- κ B 与核因子- κ B 抑制蛋白(inhibitor of nuclear factor- κ B, I κ B)结合形成二聚体;当受到刺激信号时,I κ B 激酶激活 I κ B,I κ B 与 NF- κ B 分离,NF- κ B 进入细胞核内,促进相关基因转录。高智等^[32]研究发现,在自然传代的大鼠终板软骨细胞中加入 NF- κ B 信号通路抑制剂,可抑制基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-13 和 SRY 相关高迁移群盒-9 的表达,提高 II 型胶原、蛋白聚糖的表达,提示 NF- κ B 信号通路与终板软骨细胞退变有密切联系。付美艳等^[20]研究发现,青藤碱可显著降低 IL-1 β 诱导的大鼠退变终板软骨细胞中 IL-6、TNF- α 、MMP-13 及血小板反应蛋白解整合素金属肽酶(disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin, ADAMTS)-5 的表达,同时抑制 NF- κ B 及 I κ B 激酶的表达,提示青藤碱可能通过抑制 NF- κ B 信号通路而发挥延缓椎间盘终板软骨细胞退变的作用。薛凡^[21]研究发现,补肝肾腰方含药血清可以增强 IL-1 β 诱导的大鼠退变终板软骨细胞的增殖能力,下调 I κ B 激酶、NF- κ B p65 的 mRNA 表达。王刚良^[22]研究发现,石蒜碱能够抑制 IL-1 β 诱导的大鼠终板软骨细胞的 NF- κ B 信号通路,其作用靶点为 I κ B α /p50/p65 三聚体,进而抑制 ADAMTS-4、ADAMTS-5、MMP-3 和 MMP-13 表达上升,延缓终板软骨细胞退变。因此,多种中药单体、复方均能够通过抑制 NF- κ B 信号通路延缓终板软骨细胞的退变。

2.5 IHH 信号通路 IHH 信号通路与终板软骨细胞退变密切相关。Wang 等^[33]研究发现,IHH 配体与终板软骨细胞膜受体 Patched-1 结合后,可激活转录因子 Gli-1;Gli-1 能够激活包括刺猬因子相互作用蛋白和 Runt 相关转录因子 2 等在内的 IHH 信号通路下游靶基因的转录,进而激活 MMP-13 和 X 型胶原的表达,诱导终板软骨细胞的退变。丁慧琴等^[23]研究发现,补骨壮筋汤能够明显抑制小鼠退变终板软骨细胞中 IHH 及 MMP-13 的表达,抑制终板软骨细胞外基质降解,提示补骨壮筋汤可通过抑制 IHH 信号通路延缓终板软骨退变。徐永明等^[24]应用细胞应力加载系统在体外建立大鼠终板软骨细胞退变模型,并采用淫

羊藿素干预,结果显示淫羊藿素能够下调终板软骨细胞中 IHH mRNA 及蛋白的表达,上调软骨合成相关基因的表达,且其效果与 IHH 信号通路抑制剂环巴胺类似,提示淫羊藿素可能通过抑制 IHH 信号通路延缓终板软骨细胞退变。

2.6 SDF-1/CXCR-4 信号通路 SDF-1 是 CXCR-4 目前已知的唯一配体,SDF-1 可直接诱导软骨细胞凋亡,同时还能够提高软骨细胞 MMP-13 的表达,进而促进细胞外基质降解^[34]。抑制 SDF-1/CXCR-4 信号通路能够促进终板软骨细胞增殖和细胞外基质形成,抑制细胞凋亡,在防治终板软骨细胞退变中有重要意义^[35]。蒋伟等^[25]研究发现,桂枝加葛根汤含药血清可以增加外力刺激诱导的大鼠退变终板软骨细胞的活性,降低终板软骨细胞凋亡率,并显著抑制 CXCR-4 的蛋白表达;且在桂枝加葛根汤 + SDF-1 α 组中,桂枝加葛根汤对终板软骨细胞的改善作用被 SDF-1 α 抑制,提示桂枝加葛根汤可能通过抑制 SDF-1/CXCR4 信号通路延缓终板软骨细胞退变。

3 小 结

终板软骨细胞退变是椎间盘退变的起始阶段,而中医药在椎间盘退变的治疗中发挥了重要作用。中药能够通过 Fas、MAPK、Wnt/ β -catenin、NF- κ B、IHH、SDF-1/CXCR-4 等多条信号通路发挥延缓终板软骨细胞退变的作用。目前,针对中药延缓终板软骨细胞退变的相关信号通路的研究仍存在以下不足:①总体研究数量较少;②目前的研究以体外实验为主,对于药物能否通过体内代谢而对终板软骨细胞产生影响的问题,尚待动物实验及临床试验进一步加以证实;③终板软骨细胞退变是由多条信号通路协同作用导致的,而目前的研究多针对某一信号通路,对于多条信号通路之间的相互关系有待进一步发掘。

参考文献

- [1] CHEN H W, ZHOU J W, ZHANG G Z, et al. Emerging role and therapeutic implication of mTOR signalling in intervertebral disc degeneration [J]. Cell Prolif, 2023, 56 (1): e13338.
- [2] TAKEOKA Y, YURUBE T, NISHIDA K. Gene therapy approach for intervertebral disc degeneration: an update [J]. Neurospine, 2020, 17 (1): 3 - 14.
- [3] YANG S, ZHANG F, MA J, et al. Intervertebral disc ageing and degeneration: the antiapoptotic effect of oestrogen [J]. Ageing Res Rev, 2020, 57: 100978.
- [4] LUO L, JIAN X, SUN H, et al. Cartilage endplate stem cells

inhibit intervertebral disc degeneration by releasing exosomes to nucleus pulposus cells to activate Akt/autophagy [J]. Stem cells, 2021, 39 (4): 467 - 481.

- [5] ASHINSKY B G, BONNEVIE E D, MANDALAPU S A, et al. Intervertebral disc degeneration is associated with aberrant endplate remodeling and reduced small molecule transport [J]. J Bone Miner Res, 2020, 35 (8): 1572 - 1581.
- [6] 李凯明. 补肾活血方治疗椎间盘源性腰痛的临床研究及对人髓核细胞活性与功能的影响 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2021.
- [7] 王学楠, 湛超, 展恩雨, 等. 活性小分子和中药方剂在椎间盘退变中的作用及相关机制的研究进展 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2022, 32 (9): 854 - 858.
- [8] 吴子健, 胡昭端, 周晓红, 等. 通督活血汤含药血清可抑制椎间盘纤维环细胞的焦亡 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25 (14): 2148 - 2154.
- [9] 孙道喜, 王楠, 谢林. 椎间盘退变中阴阳理论阐释及其临床意义 [J]. 中国医药导报, 2021, 18 (20): 140 - 143.
- [10] 戚智健, 沈晓峰. 李宇卫教授辨治椎间盘源性腰痛经验介绍 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2020, 28 (3): 82 - 84.
- [11] CAZZANELLI P, WUERTZ-KOZAK K. MicroRNAs in intervertebral disc degeneration, apoptosis, inflammation, and mechanobiology [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (10): 3601.
- [12] JIANG C, SUN Z M, ZHU D C, et al. Inhibition of Rac1 activity by NSC23766 prevents cartilage endplate degeneration via Wnt/ β -catenin pathway [J]. J Cell Mol Med, 2020, 24 (6): 3582 - 3592.
- [13] 吕存贤, 吴永琴. 补阳还五汤对兔退变椎间盘软骨终板 Fas/FasL 表达的影响 [J]. 中国中医药科技, 2012, 19 (3): 214 - 215.
- [14] 吴国华, 高山凤, 狄勇, 等. 六味地黄丸对兔退变椎间盘软骨终板细胞的保护作用 [J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8 (1): 63 - 64.
- [15] 柳根哲, 孙旗, 陈江, 等. 高静水压下益气活血汤通过 p38MAPK 信号通路对兔椎体终板软骨细胞的调控作用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27 (10): 1027 - 1030.
- [16] 付长龙, 梅阳阳, 李民, 等. 基于 Ras-Raf-MEK1/2-ERK1/2 信号通路探究狗脊多糖延缓大鼠椎间盘软骨细胞退变 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34 (7): 3311 - 3314.
- [17] 韩涛, 尹逊路, 展嘉文, 等. 补肾活血中药介导 Wnt/ β -catenin 信号通路延缓椎间盘终板压力退变的机制研究 [J]. 中国全科医学, 2021, 24 (35): 4427 - 4436.
- [18] 刘伯龄, 陈齐勇, 付长龙, 等. 独活寄生汤调控对大鼠椎间盘软骨细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响 [J]. 风湿病与关节炎, 2018, 7 (1): 5 - 9.

- [19] 刘志超,祝永刚,肖辉灯,等. 益气活血方对静水压下兔椎间盘软骨细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响[J]. 环球中医药,2019,12(10):1470-1475.
- [20] 付美艳,杨镜以,温欣,等. 青藤碱通过阻止 NF- κ B 通路激活抑制 IL-1 β 诱导的椎间盘终板软骨细胞炎症及退变[J]. 中国老年学杂志,2022,42(16):4045-4049.
- [21] 薛凡. 补肝肾腰方对大鼠退变终板软骨细胞增殖能力及 IKK α /NF- κ B p65 mRNA 表达的影响[D]. 长沙:湖南中医药大学,2020.
- [22] 王刚良. 石蒜碱通过抑制 NF- κ B 通路缓解软骨终板退变和椎间盘退变[D]. 杭州:浙江大学,2018.
- [23] 丁慧琴,应俊,厉驹,等. 补骨壮筋汤通过调控 Hedgehog 信号通路延缓椎间盘退变研究[J]. 中华中医药杂志,2021,36(7):4173-4177.
- [24] 徐永明,徐宏光,高智,等. 淫羊藿素通过抑制 Hedgehog 信号通路保护终板软骨细胞退变[J]. 中国临床药理学与治疗学,2017,22(4):373-380.
- [25] 蒋伟,王镌,任政. 桂枝加葛根汤通过 SDF-1/CXCR4 信号轴改善大鼠椎间盘终板软骨细胞退变的研究[J]. 天津中医药,2022,39(1):96-103.
- [26] ZHANG X B, XU S Q, HUI Y G, et al. Lactotransferrin promotes intervertebral disc degeneration by regulating Fas and inhibiting human nucleus pulposus cell apoptosis[J]. Aging (Albany NY), 2022, 14(10):4572-4585.
- [27] WANG F, JIANG J M, DENG C H, et al. Expression of Fas receptor and apoptosis in vertebral endplates with degenerative disc diseases categorized as Modic type I or II[J]. Injury, 2011, 42(8):790-795.
- [28] ZHANG H J, LIAO H Y, BAI D Y, et al. MAPK/ERK signaling pathway: a potential target for the treatment of intervertebral disc degeneration[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 143:112170.
- [29] KONG D, ZHENG T, ZHANG M, et al. Static mechanical stress induces apoptosis in rat endplate chondrocytes through MAPK and mitochondria-dependent caspase activation signaling pathways[J]. PLoS One, 2013, 8(7):e69403.
- [30] WU Z L, CHEN Y J, ZHANG G Z, et al. SKI knockdown suppresses apoptosis and extracellular matrix degradation of nucleus pulposus cells via inhibition of the Wnt/ β -catenin pathway and ameliorates disc degeneration[J]. Apoptosis, 2022, 27(1/2):133-148.
- [31] 郑权,徐宏光,张晓玲,等. Wnt/ β -catenin 信号通路在终板软骨细胞体外自然退变模型中的表达[J]. 中华医学杂志,2014,94(31):2464-2467.
- [32] 高智,徐宏光,张晓玲,等. 调控转录因子 NF- κ B 信号通路对体外自然退变终板软骨细胞的影响[J]. 中华医学杂志,2016,96(27):2182-2186.
- [33] WANG S, YANG K, CHEN S, et al. Indian hedgehog contributes to human cartilage endplate degeneration[J]. Eur Spine J, 2015, 24(8):1720-1728.
- [34] DONG Y, LIU H, ZHANG X, et al. Inhibition of SDF-1 α /CXCR4 signalling in subchondral bone attenuates post-traumatic osteoarthritis[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(6):943.
- [35] GAO Z Y, YU L L, SHI B X, et al. T140 inhibits apoptosis and promotes proliferation and matrix formation through the SDF-1/CXC Receptor-4 signaling pathway in endplate chondrocytes of the rat intervertebral discs[J]. World Neurosurg, 2020, 133:e165-172.

(收稿日期:2023-04-19 本文编辑:吕宁)

(上接第 56 页)

- [18] 曾安琪,华桦,陈朝荣,等. 金银花、山银花抗炎药理作用研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(16):3938-3944.
- [19] 李伟霞,泥文娟,王晓艳,等. 当归化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 中华中医药学刊,2022,40(6):40-47.
- [20] 曹颜冬. 当归化学成分及药理作用的分析[J]. 世界最新医学信息文摘,2019,19(2):93.
- [21] 胡妮娜,张晓娟. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息,2021,38(1):76-82.
- [22] EL-SABER BATIHA G, MAGDY BESHBIHY A, EL-MLEEHA A, et al. Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of glycyrrhiza glabra L[J]. Biomolecules, 2020, 10(3):352.
- [23] 时永健,杜全红,隋明军,等. 基于网络药理学探究清热解毒与补气养血中药配伍对骨髓炎的分子作用机制[J]. 陕西中医,2021,42(6):797-801.
- [24] 崔喜喜,韩宗昌,李记天,等. 基于网络药理学和分子对接研究金银花-黄芪药对治疗骨髓炎的分子机制[J]. 云南中医学院学报,2021,44(3):79-88.
- [25] 青杰超,林子然,莫开林. 金银花和蒲公英抑菌、抗氧化以及抗紫外作用初探[J]. 四川林业科技,2018,39(6):55-57.
- [26] 彭熙炜,阎卉芳,黄娟,等. 黄芪-当归配伍对大鼠血管内膜增生模型炎症反应的影响[J]. 中华中医药杂志,2019,34(2):580-584.

(收稿日期:2022-11-26 本文编辑:时红磊)