

人退变椎间盘髓核组织中 miR-146a 的表达及对 NP 细胞增殖、凋亡和炎症细胞因子的影响作用机制

何 至¹, 颜端国¹, 严 林² (1. 湖北省监利市人民医院骨外科, 湖北监利 433300;
2. 华中科技大学同济医学院附属荆州医院骨外科, 湖北荆州 434020)

摘 要:目的 检测人退变椎间盘髓核组织中 miR-146a 的表达变化, 并探讨其可能的作用机制。方法 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测人退变椎间盘髓核组织中 miR-146a 表达。用脂多糖 (LPS) 刺激人髓核 (nucleus pulposus, NP) 细胞模拟椎间盘变性, qRT-PCR 检测 NP 细胞中 miR-146a 的表达变化。将 miR-146a mimics 或 miR-146a inhibitor 转染至 NP 细胞, 然后 LPS 刺激 NP 细胞, 观察 miR-146a 对 NP 细胞增殖活性、凋亡、TLR4 蛋白表达及 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 等炎症因子水平的影响。结果 miR-146a 在椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IVDD 组) 椎间盘髓核组织中表达 (0.65 ± 0.12) 明显低于对照组 (1.01 ± 0.10), miR-146a 在 LPS 组 NP 细胞中表达 (0.29 ± 0.11) 明显低于阴性对照组 (1.06 ± 0.07), 差异均有统计学意义 ($t=11.856, 10.229$, 均 $P < 0.01$)。与阴性对照组比较, LPS 组上清液中的 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 含量明显升高, 差异均有统计学意义 ($t=15.572 \sim 23.354$, 均 $P < 0.001$)。上调 NP 细胞 miR-146a 表达, 能够提高 LPS 刺激的 NP 细胞的增殖活性 ($t=4.436 \sim 7.995$, 均 $P < 0.05$), 降低其凋亡率 ($t=9.255, P=0.001$), 降低 TLR4 蛋白 ($t=5.881, P=0.004$) 和 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 等炎症细胞因子水平 ($t=8.854 \sim 10.772$, 均 $P < 0.01$); 而下调 NP 细胞 miR-146a 表达则出现相反的结果 ($t=2.977 \sim 6.777$, 均 $P < 0.05$)。结论 miR-146a 在退变椎间盘髓核组织中表达降低, miR-146a 可能能够通过靶向 TLR4 调控 NP 细胞的增殖、凋亡和炎症反应, 为椎间盘退变的生物治疗提供了新的方向。

关键词: 椎间盘退变; 微小 RNA146a; Toll 样受体 4; 炎症反应; 增殖; 凋亡

中图分类号: R681.53; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 01-072-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.01.015

Expression of miR-146a in the Nucleus Pulposus Tissue of Human Degenerative Intervertebral Disc and Its Effect Mechanism on the Proliferation, Apoptosis and Inflammatory Cytokines of NP Cells

HE Zhi¹, YAN Duan-guo¹, YAN Lin² (1. Department of Orthopaedic Surgery, Jianli People's Hospital of Hubei Province, Hubei Jianli 433300, China; 2. Department of Orthopaedic Surgery, Jingzhou Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Hubei Jingzhou 434020, China)

Abstract : Objective To detect the expression of miR-146a in nucleus pulposus of human degenerative intervertebral disc and explore its possible mechanism. **Methods** qRT-PCR was used to detect the expression of miR-146a in human degenerative lumbar disc nucleus pulposus. Human nucleus pulposus (NP) cells were stimulated with lipopolysaccharide (LPS) to simulate intervertebral disc degeneration. The expression of miR-146a in NP cells was detected by qRT-PCR. miR-146a mimics or miR-146a inhibitor were transfected into NP cells, and then LPS stimulated NP cells. The effects of miR-146a on proliferation, apoptosis, TLR4 protein expression and expression of IL-1 β , TNF- α and IL-6 were observed. **Results** The expression of miR-146a in the intervertebral disc nucleus pulposus tissue of the (intervertebral disc degeneration IVDD) group (0.65 ± 0.12) was significantly lower than that of the control group (1.01 ± 0.10), and the expression of miR-146a in the NP cells of the LPS group (0.29 ± 0.11) was significantly lower than that of the negative control group (1.06 ± 0.07), the difference was statistically significant ($t=11.856, 10.229$, all $P < 0.01$). Compared with the negative control group, the levels of IL-1 β , TNF- α and IL-6 in the supernatant of the LPS group were significantly increased, and the differences were statistically significant ($t=15.572 \sim 23.354$, all $P < 0.001$). Up regulation of miR-146a expression in NP cells could increase the proliferation activity ($t=4.436 \sim 7.995$, all $P < 0.05$), reduce the apoptosis rate ($t=9.255, P=0.001$), and decreased the levels of TLR4 protein ($t=5.881, P=0.004$) and inflammatory cytokines such as IL-1 β , TNF- α and IL-6 ($t=8.854 \sim 10.772$, all $P < 0.01$), while down regulating the expression of miR-146a in NP cells had the opposite effect ($t=2.977 \sim 6.777$, all $P < 0.05$). **Conclusion** The expression of miR-146a in

作者简介: 何至 (1982-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 脊柱外科疾病, E-mail: hezhigwk@126.com。

通讯作者: 严林 (1983-), 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 脊柱外科基础及临床研究, E-mail: sg4206226@126.com。

nucleus pulposus of degenerative intervertebral disc was decreased. MiR-146a may be able to regulate the proliferation, apoptosis and inflammatory reaction of NP cells by targeting TLR4, which provides a new direction for the biological treatment of intervertebral disc degeneration.

Keywords: intervertebral disc degeneration; miR-146a; TLR4; inflammatory reaction; proliferation; apoptosis

脊柱退行性疾病是目前临床上常见的慢性病之一,以颈肩痛、腰腿痛为主要临床表现,疾病进展后出现椎间盘突出、脊柱节段不稳、椎管狭窄,严重时出现脊髓神经压迫症状,对人类的生活和健康产生严重影响,并且近年来椎间盘退行性疾病的发病率逐年上升,发病年龄趋于年轻化^[1]。脊柱退行性疾病的病因复杂,椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IVDD)是脊柱退行性疾病的病理基础,各种损伤刺激作用于椎间盘,引起椎间盘营养缺乏、炎症细胞因子升高、胶原蛋白及蛋白多糖降解增多以及髓核细胞数量减少均是IVDD的发生因素^[2]。髓核(nucleus pulposus, NP)是椎间盘的核心部分,主要由NP细胞和基质构成,是承受椎间盘压力负荷的主要部位。NP细胞是类软骨细胞,富含抗压力的Ⅱ型胶原,近年来研究表明仅占椎间盘体积1%的NP细胞数量的异常减少是IVDD的关键因素^[3],而在引起NP细胞数量的异常减少的众多因素中,炎症反应因子发挥着主要的作用^[4]。

研究显示,退变椎间盘组织中存在着许多微小RNA(miRNA)表达异常,可能与IVDD的发生进展有关^[5]。微小RNA-146a(miR-146a)是目前发现的与炎症反应、固有免疫反应密切相关的miRNA家族成员之一^[6],作为负调控因子参与包括骨关节炎在内的退行性疾病的炎症反应的调控^[7-8]。但是至今,miR-146a在IVDD发生发展中的作用机制尚不十分清楚。因此,本研究通过观察miR-146a在人退变椎间盘髓核组织中的表达变化,并应用脂多糖(LPS)刺激NP细胞模拟椎间盘变性,探讨miR-146a对NP细胞增殖活性、凋亡及炎症细胞因子的影响,并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2018年1月~2020年1月于监利市人民医院和华中科技大学同济医学院附属荆州医院因腰椎间盘突出症住院行手术治疗的50例腰椎间盘突出髓核组织标本作为IVDD组,其中,男性30例,女性20例,年龄 54.18 ± 10.49 岁, Pfirrmann 分级:Ⅲ级21例,Ⅳ级23例,Ⅴ级6例。纳入标准:①患者有典型的IVDD症状和体征并经过核磁共振确诊;②无腰部激素药物注射史;③无腰椎手术史。排除标准:①并发有脊柱结核;②并发有脊柱肿瘤;③并发有类风湿关节炎。选择同期20例因外伤导致腰段骨折行手术治疗患者的腰椎间盘突出髓核组织标本作为对照组,其中男性13例,女性7例,

平均年龄 49.99 ± 8.33 岁, Pfirrmann 分级:Ⅰ级11例,Ⅱ级9例。纳入标准:①术前经核磁共振确认椎间盘无明显退变;②伤后至手术时间 < 72 h;③受伤前无激素使用史;④无腰背慢性疼痛史。排除标准:①并发有脊柱结核;②并发有脊柱肿瘤;③并发有类风湿关节炎;④并发椎管狭窄。两组患者在年龄、性别等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院伦理委员会批准并获得患者同意。

1.2 主要试剂 LPS购自美国Sigma公司; TRIzol, LipofectamineTM2000试剂均购自美国Invitrogen公司;逆转录试剂盒和qRT-PCR试剂盒均购自北京天根公司;研究所使用的PCR引物购自广州锐博公司;miR-146a mimics, NC-mimics, miR-146a inhibitor, NC-inhibitor均购自上海吉玛制药公司; CCK-8试剂盒和Annexin-V-FITC/PI试剂盒均购自武汉博士德公司;一抗TLR4, GAPDH抗体和HRP标记的二抗均购自美国Santa Cruz公司; IL-1 β , TNF- α 和IL-6 ELISA试剂盒购自江苏酶免生物公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养及转染:人NP细胞购自美国ScienCell公司,在含有10ml/dl胎牛血清的DMEM培养液中,置于37℃, 5ml/dl CO₂培养箱中常规培养。用LPS刺激NP细胞模拟椎间盘变性时,使用含LPS(终浓度1 mg/ml)^[9]的细胞培养液培养NP细胞(LPS组),阴性对照组用不含LPS的等体积培养液培养。转染操作时,选取对数生长期的NP细胞,接种到6孔细胞板,应用LipofectamineTM2000转染试剂参照说明书操作将miR-146a mimics, NC-mimics, miR-146a inhibitor, NC-inhibitor转染至NP细胞,转染6 h后用正常培养液继续培养,转染后24h,再用含LPS(终浓度1 mg/ml)的细胞培养液继续培养NP细胞24 h后,再进行后续实验,细胞分为miR-146a mimics组、NC-mimics组、miR-146a inhibitor组和NC-inhibitor组。

1.3.2 qRT-PCR检测:采用TRIzol试剂提取组织或细胞总RNA,应用总RNA逆转录为cDNA。取cDNA进行PCR反应,以U6为内参基因,按qRT-PCR试剂盒说明书建立终体积为20 μ l的PCR反应体系:1 μ l逆转录产物、10 μ l SYBR Green,上下游引物(10 μ mol/L)各1 μ l、7 μ l 0.1% 焦炭酸二乙酯(DEPC)水。PCR热循环参数为:95℃ 60s, 95℃ 5s,

60℃ 30 s, 共进行40个循环。miR-146a上游引物序列为5'-TGAGAACTGAATTCATGGGT-3', 下游引物序列为5'-TATGGCACTGGTAGAATTCAC-3'。以管家基因U6作为内参, miR-146a结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.3.3 CCK-8实验: 将NP细胞接种于96孔板, 每孔含 1×10^4 个细胞, 置于37℃, 5ml/dl CO₂培养箱中常规培养24 h。于待测前1 h向每孔加入10 μl CCK-8溶液, 于37℃培养箱中孵育3 h, 用酶标仪检测450 nm处吸光度(A_{450nm})值。

1.3.4 流式细胞术: 取NP细胞, 用预冷的PBS洗涤细胞2次, 4℃离心5 min, 收集细胞, 加入100 μl预冷的1×Annexin V结合缓冲液重悬细胞, 分别加入5 μl Annexin V-FITC和5 μl PI轻轻充分混匀, 室温避光反应15 min, 加入400 μl预冷的1×Annexin V结合缓冲液, 轻轻混匀, 将样品于冰上避光放置, 立即用流式细胞仪进行检测。

1.3.5 Western blot检测: 常规提取细胞总蛋白, 取25 μg蛋白进行SDS-PAGE、转膜、5g/dl脱脂牛奶室温封闭1 h, 洗膜后, 加入一抗TLR4抗体(工作浓度1:1 000)和GAPDH抗体(工作浓度1:1 000), 4℃孵育过夜。第2天洗涤后, 加入二抗, 室温孵育1 h, 加入适量ECL超敏发光液, 显影、定影, 采用Image J软件对蛋白条带进行灰度值分析。

1.3.6 ELISA检测: 收集细胞上清液, 严格按照ELISA试剂盒说明书步骤操作, 测定细胞上清液中的IL-1β, TNF-α, IL-6含量。

1.4 统计学分析 数据由SPSS 20.0统计软件分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

表2 不同组别NP细胞增殖活性的比较($\bar{x} \pm s$)

时间	NC-mimics组	miR-146a mimics组	t 值	P 值	NC-inhibitor组	miR-146a inhibitor组	t 值	P 值
24 h	0.435 ± 0.074	0.679 ± 0.060	4.436	0.011	0.426 ± 0.073	0.231 ± 0.037	4.127	0.015
48 h	0.739 ± 0.053	1.119 ± 0.063	7.995	0.001	0.759 ± 0.084	0.495 ± 0.079	3.965	0.017
72 h	1.182 ± 0.119	1.722 ± 0.079	6.548	0.003	1.202 ± 0.139	0.673 ± 0.072	5.853	0.004

2.3 miR-146a对LPS刺激的NP细胞凋亡率的影响 流式细胞术结果见图1。NC-mimics组、miR-146a mimics组、NC-inhibitor组、miR-146a inhibitor组NP细胞的凋亡率分别为(55.19 ± 6.14)%, (16.69 ± 3.77)%, (56.14 ± 5.48)%和(72.3 ± 7.64)%。miR-146a mimics组NP细胞的凋亡率明显低于NC-mimics组($t=9.255$, $P=0.001$), 而miR-146a inhibitor组NP细胞的凋亡率明显高于NC-inhibitor

2.1 miR-146a在退变椎间盘髓核组织和LPS刺激的NP细胞中的表达变化 见表1。qRT-PCR结果显示, miR-146a在IVDD组和对照组中的表达水平分别为 0.65 ± 0.12 , 1.01 ± 0.10 , miR-146a在IVDD组中表达较对照组明显下降, 差异有统计学意义($t=11.856$, $P < 0.001$)。并且与阴性对照组比较, LPS组NP细胞miR-146a表达水平明显降低($t=10.229$, $P=0.001$), 而细胞上清液中的IL-1β, TNF-α, IL-6含量明显升高($t=15.572 \sim 23.354$, 均 $P < 0.001$), 差异具有统计学意义。

2.2 miR-146a对LPS刺激的NP细胞增殖活性的影响 见表2。qRT-PCR结果显示, miR-146a mimics组、NC-mimics组、miR-146a inhibitor组和NC-inhibitor组NP细胞中miR-146a的表达水平分别为 3.96 ± 0.26 , 1.01 ± 0.05 , 0.40 ± 0.11 和 0.98 ± 0.06 , miR-146a mimics组NP细胞中miR-146a表达水平明显高于NC-mimics组($t=19.299$, $P < 0.001$), miR-146a inhibitor组NP细胞中miR-146a表达水平明显低于NC-inhibitor组($t=8.018$, $P < 0.001$)。CCK-8实验结果显示, miR-146a mimics组NP细胞的增殖活性明显高于NC-mimics组($t=4.436 \sim 7.995$, 均 $P < 0.05$), 而miR-146a inhibitor组NP细胞的增殖活性明显低于NC-inhibitor组($t=3.965 \sim 5.853$, 均 $P < 0.05$), 差异具有统计学意义。

表1 不同组别NP细胞miR-146a表达及细胞上清液炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

项目	阴性对照组	LPS组	t 值	P 值
miR-146a	1.06 ± 0.07	0.29 ± 0.11	10.229	0.001
IL-1β (pg/ml)	2.37 ± 0.31	8.15 ± 0.42	19.178	< 0.001
TNF-α (pg/ml)	28.35 ± 2.08	90.46 ± 4.11	23.354	< 0.001
IL-6 (pg/ml)	48.15 ± 3.98	120.78 ± 7.03	15.572	< 0.001

组($t=2.977$, $P=0.041$), 差异均有统计学意义。

2.4 miR-146a对LPS刺激的NP细胞炎症反应的影响 见表3。miR-146a mimics组NP细胞上清液中IL-1β, TNF-α, IL-6的水平明显低于NC-mimics组($t=8.854 \sim 10.772$, $P < 0.01$), 而miR-146a inhibitor组NP细胞上清液中IL-1β, TNF-α, IL-6的水平明显高于NC-inhibitor组($t=5.029 \sim 6.631$, $P < 0.01$), 差异均有统计学意义。

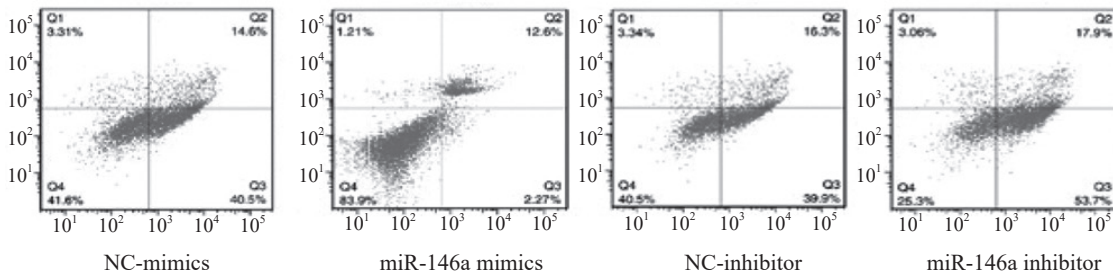


图1 不同组别 NP 细胞的凋亡率

表3 不同组别 NP 细胞上清液中炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	NC-mimics 组	miR-146a mimics 组	t 值	P 值	NC-inhibitor 组	miR-146a inhibitor 组	t 值	P 值
IL-1 β (pg/ml)	7.99 \pm 0.49	4.97 \pm 0.33	8.854	0.001	7.90 \pm 0.40	11.29 \pm 0.79	6.631	0.003
TNF- α (pg/ml)	85.70 \pm 4.06	48.96 \pm 4.36	10.681	< 0.001	84.01 \pm 3.89	107.90 \pm 5.61	6.061	0.004
IL-6 (pg/ml)	120.70 \pm 6.82	63.00 \pm 6.29	10.772	< 0.001	119.03 \pm 6.35	149.35 \pm 8.29	5.029	0.008

2.5 miR-146a 对 LPS 刺激的 NP 细胞 TLR4 蛋白表达水平的影响 Western blot 结果显示, NC-mimics 组、miR-146a mimics 组、NC-inhibitor 组、miR-146a inhibitor 组 NP 细胞 TLR4 蛋白表达水平分别为 1.16 ± 0.16 , 0.46 ± 0.13 , 1.20 ± 0.21 , 2.39 ± 0.22 。miR-146a mimics 组 NP 细胞 TLR4 蛋白表达水平明显低于 NC-mimics 组 ($t=5.881$, $P=0.004$), 而 miR-146a inhibitor 组 NP 细胞 TLR4 蛋白表达水平明显高于 NC-inhibitor 组 ($t=6.777$, $P=0.003$), 差异均有统计学意义。

3 讨论

研究显示, 近 80% 以上的人在其一生中都会发生 IVDD。目前的病因学认为 IVDD 是导致颈腰痛的主要原因。椎间盘由外周纤维环和内髓核组成。椎间盘变性主要表现为大量的 NP 细胞凋亡和细胞外基质重塑。尽管机械压迫、衰老、遗传学、自身免疫和毒物等因素在不同的动物模型中已被证实可诱导 IVDD, 但 IVDD 病情发展的机制尚不清楚。研究发现促炎症分子引发的炎症反应能够造成 NP 细胞衰老和凋亡, 从而造成 NP 细胞的异常减少, 在 IVDD 的病理生理过程中发挥着重要的作用^[10]。因此, 深入研究炎症反应在椎间盘退变机制中的作用及治疗措施意义重大。目前 IVDD 的临床治疗主要包括保守治疗和手术治疗。保守治疗分为药物治疗和物理治疗。虽然保守治疗能够减轻患者的颈腰痛, 但它不能影响椎间盘的退变过程, 不能够根除疾病的根源。手术治疗虽然可直接解决病因, 缓解脊髓压迫, 然而, 手术治疗可能会引起许多的其他并发症, 给患者带来痛苦。生物靶向治疗作为一种新的治疗选择, 越来越受到国内外学者的关注。

miRNA 是一类近年来新发现的小分子非编码 RNA, 通过与靶基因的 3'-UTR 区结合来触发靶基

因的翻译抑制或 RNA 降解, 从而调控靶基因的表达。这些 miRNA 是调节包括增殖、分化、凋亡和器官发育等各种生物过程的关键因子。近年来研究发现 miRNA 可以通过影响 NP 细胞的炎症反应和凋亡参与 IVDD 的发生进展。ZHANG 等^[11]在研究中证实 miR-222 通过调控 NP 细胞的炎症反应和凋亡, 作为椎间盘变性的启动子发挥作用。KONG 等^[12]发现 miR-194 通过调控 NF- κ B 通路影响 NP 细胞的炎症反应参与 IVDD。miR-149^[13], miR-223^[14], miR-140-5p^[15] 和 miR-107^[16] 等许多 miRNA 相继被发现与 NP 细胞的炎症反应、增殖及凋亡有关, 参与 IVDD 的发生进展, 但是至今尚未发现在 IVDD 发生发展过程中起关键作用的 miRNA。

miR-146a 是近期发现的机体炎症反应及固有免疫反应关系密切的 miRNA 成员之一^[6]。研究发现 miR-146a 在机体退行性病变的炎症反应中发挥着重要作用^[7-8], 但是 miR-146a 在 IVDD 发生发展中的研究甚少, 并且作用机制尚不明确。本研究我们发现 miR-146a 在人退变腰椎间盘组织中表达明显下降, 提示异常表达的 miR-146a 可能与 IVDD 发生发展有关。LPS 是目前公认的强力炎症促进剂, 可降低 II 型胶原和聚集蛋白聚糖含量, 从而导致椎间盘变性, 因此, 在本研究我们利用 LPS 刺激建立体外培养的 NP 细胞退行性变模型^[9], 研究发现, LPS 刺激 NP 细胞后, 细胞上清液中的 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 含量明显升高, 并且我们也发现 LPS 诱导的 NP 细胞中 miR-146a 的表达也明显下降。为了进一步探讨 miR-146a 在 IVDD 发生进展中可能的机制, 我们通过脂质体转染法, 分别上调或下调 NP 细胞 miR-146a 的表达, 然后用 LPS 刺激 NP 细胞模拟椎间盘变性, 结果发现, 上调 miR-146a 表达能够提高 NP 细胞的增殖活性, 抑制细胞凋亡和

炎症反应;反之,下调 miR-146a 表达则得到相反的结果。证实 miR-146a 能够通过调控 NP 细胞的增殖、凋亡和炎症反应参与 IVDD 的发生进展。

Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 属于一种具有识别病原体模式的受体,通过特异性识别病原体后将下游不同的信号传导链激活,进而介导炎症反应,在机体固有免疫系统中扮演重要角色^[17]。TLR4 是 TLR 家族成员中第一个被发现的病原模式识别受体,也是目前研究最多的炎症相关基因之一。目前 TLR4 与 IVDD 关系的研究较多,研究发现 TLR4 信号通路的激活,促进 IL-6, TNF- α 和 IFN- γ 等促炎细胞因子水平的升高,诱导人椎间盘退变^[18]。抑制 TLR4 能够减轻小鼠椎间盘退变并缓解疼痛^[19]。TLR4 在人 IVDD 组织中表达明显增高,抑制 TLR4 能减轻 LPS 诱导的 NP 细胞的炎症反应和凋亡^[15]。miRNAs 主要通过靶向其靶基因的 3'-UTR 发挥作用,既往研究已经表明 miR-146a 能够靶向 TLR4 参与机体的炎症反应^[20-22],我们通过 Western blot 结果发现 miR-146a 能够负向调控 NP 细胞 TLR4 蛋白的表达,提示 miR-146a 对 NP 细胞的炎症反应、增殖和凋亡的影响可能与其对 TLR4 的调控有关。

综上所述,miR-146a 在退变椎间盘髓核组织中表达降低,上调 miR-146a 能够通过调控 TLR4 促进 LPS 诱导的 NP 细胞的增殖,抑制其凋亡及炎症反应,并且下调 miR-146a 能够获得相反的结果,为椎间盘退变的生物靶向治疗提供了新的研究思路。

参考文献:

- [1] 赵英伦, 马元, 莫森, 等. 腰椎间盘突出症患者血清中 Caspase-3 和 Caspase-9 活性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(2): 13-15.
- [2] ZHAO Yinglun, MA Yuan, MO Sen, et al. Serum Caspase-3 and Caspase-9 activity in patients with lumbar intervertebral disc protrusion [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(2): 13-15.
- [3] KITIS S, COSKUN Z M, TASDEMIR P, et al. Analysis of genetic polymorphisms associated with intervertebral disc degeneration[J]. Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-Grand, France), 2018, 64(10): 61-65.
- [4] ZHANG Fan, ZHAO Xueling, SHEN Hongxing, et al. Molecular mechanisms of cell death in intervertebral disc degeneration (Review)[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2016, 37(6): 1439-1448.
- [5] NAVONE S E, MARFIA G, GIANNONI A, et al. Inflammatory mediators and signalling pathways controlling intervertebral disc degeneration[J]. Histology and Histopathology, 2017, 32(6): 523-542.
- [6] CAZZANELLI P, WUERTZ-KOZAK K. MicroRNAs in intervertebral disc degeneration, apoptosis, inflammation, and mechanobiology[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(10): 3601.
- [7] 谭俊龙, 郑明霞, 刘湘宁, 等. miR-146a 的功能及其靶基因的研究进展[J]. 生命科学, 2020, 32(4): 387-395.
- [8] TAN Junlong, ZHENG Mingxia, LIU Xiangning, et al. Advances in the function and target genes of miR-146a[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2020, 32(4): 387-395.
- [9] LI Xin, GIBSON G, KIM J S, et al. MicroRNA-146a is linked to pain-related pathophysiology of osteoarthritis[J]. Gene, 2011, 480(1-2): 34-41.
- [10] LI Xin, KROIN J S, KC R, et al. Altered spinal microRNA-146a and the microRNA-183 cluster contribute to osteoarthritic pain in knee joints[J]. Journal of Bone and Mineral Research, 2013, 28(12): 2512-2522.
- [11] GUO Yusong, TIAN Lijun, LIU Xing, et al. ERFF1 inhibits proliferation and inflammation of nucleus pulposus and is negatively regulated by miR-2355-5p in intervertebral disc degeneration[J]. Spine, 2019, 44(15): E873-E881.
- [12] WANG Hao, JIANG Zengxin, PANG Zhiying, et al. Acacetin alleviates inflammation and matrix degradation in nucleus pulposus cells and ameliorates intervertebral disc degeneration in vivo[J]. Drug Design Development and Therapy, 2020, 14: 4801-4813.
- [13] ZHANG Yang, YANG Jiujie, ZHOU Xiaoqing, et al. Knockdown of miR-222 inhibits inflammation and the apoptosis of LPS-stimulated human intervertebral disc nucleus pulposus cells[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2019, 44(4): 1357-1365.
- [14] KONG Lili, SUN Mingxiao, JIANG Zhaofu, et al. MicroRNA-194 Inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in nucleus pulposus cells of the intervertebral disc by targeting TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6).[J]. Medical Science Monitor, 2018, 24 : 3056-3067.
- [15] QIN Chuqiang, LÜ Yuming, ZHAO Hongpu, et al. MicroRNA-149 suppresses inflammation in nucleus pulposus cells of intervertebral discs by regulating MyD88.[J]. Medical Science Monitor, 2019, 25 : 4892-4900.
- [16] WANG Hua, HAO Pan, ZHANG Hu, et al. Micro RNA-223 inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response by directly targeting Irak1 in the nucleus pulposus cells of intervertebral disc[J]. IUBMB Life, 2018, 70(6) : 479-490.
- [17] ZHANG Qiang, WENG Yiping, JIANG Yuqing, et al. Overexpression of miR-140-5p inhibits lipopolysaccharide-induced human intervertebral disc inflammation and degeneration by downregulating toll-like receptor 4[J]. Oncology Reports, 2018, 40(2): 793-802.
- [18] NIU C C, LIN S S, YUAN L J, et al. Upregulation of miR-107 expression following hyperbaric Oxygen treatment suppresses HMGB1/RAGE signaling in degenerated human nucleus pulposus cells[J]. Arthritis Research & Therapy, 2019, 21(1): 42.