

退变腰椎黄韧带的病理改变与分子机制的研究进展

Progress of research in pathological alteration and molecular mechanism of lumbar degenerative ligamentum flavum

毛兆光*, 范顺武, 赵凤东

MAO Zhaoguang, FAN Shunwu, ZHAO Fengdong

摘要 腰椎黄韧带的生理性和病理性退变主要包括黄韧带肥厚、钙化和骨化,其主要表现为弹力纤维明显减少,胶原纤维显著增加,并且出现钙化、骨化及软骨细胞、成纤维细胞、毛细血管的增生等,从而黄韧带的弹性明显下降且肥厚。一般认为黄韧带的退行性改变同机体的老化、创伤、代谢异常和家族遗传等众多因素密切相关,但最近的研究表明,转化生长因子(TGFβ₃)、S 100 蛋白、骨形态发生蛋白(BMP)和成纤维生长因子(FGF)等生长因子在黄韧带退变的病理过程中起重要作用。

关键词 黄韧带退变; 病理学; 分子 **Key words** Degeneration of ligamentum flavum; Pathology; Molecule

黄韧带是脊柱后部的重要连接结构,主要由弹力纤维、胶原纤维、网状纤维和基质 4 种成分构成,其中弹力纤维和胶原纤维分别占 80% 和 20%。十几年来,由于对黄韧带形态学、生物力学及其组织化学的深入研究,对其病理状态及其发病的分子机制有了较深的认识。

Yoshiha 等^[1]把黄韧带增厚归因于三种机制: II 型胶原的增生、骨化和钙盐沉积。最近的研究表明^[2,3],转化生长因子(TGFβ₃)、S 100 蛋白、骨形态发生蛋白(BMP)和成纤维生长因子(FGF)等生长因子在黄韧带骨化和肥厚的病理过程中起重要作用。

1 黄韧带肥厚

黄韧带是一个功能活跃、易受损伤的组织,一般认为创伤是腰部黄韧带纤维化的原因,局部的反复损伤和修复,最终可导致黄韧带的退行性改变。而目前倾向于黄韧带肥厚是一种继发于年龄或腰椎不稳的退行性改变,有学者认为,由于腰椎不稳所产生的机械牵张力可导致黄韧带肥厚^[1,4,5]。已有研究证实,机械的牵张力可促进平滑肌细胞和肾小球膜细胞产生 TGFβ₁^[6,7], Nakatani 等^[8]应用腰椎管狭窄症患者的黄韧带作体外细胞培养实验也证实,机械的牵张力可明显促进黄韧带细胞产生 TGFβ₁。而 TGFβ₁ 可促进软组织中的胶原合成^[8,10]。TGFβ₁ 在损伤韧带中有较高的表达^[11],对韧带的修复具有重要的意义。TGFβ₁ 在椎管狭窄症黄韧带中也有表达,表明其与黄韧带的肥厚也存在相关性^[1,12]。许多研究表明^[1,3,13],黄韧带骨化过程中出现了 II 型胶原的大量增生;腰椎管狭窄症黄韧带的骨附着部也出现了大量 II 型胶原的增生。腰椎管狭窄症时黄韧带(SLF)的细胞培养实验中,可观察到高水平的碱性磷酸酶(ALP)表达和富含 I、III 型胶原、

FGF 和骨形成因子的基质产生。SLF 细胞也能被 S 100 蛋白、II 型胶原和 X 型胶原染色,连同一起定位的 I 型胶原和 ALP 标记反映了软骨样肥大细胞的存在,正常 SLF 细胞不合成 S 100 蛋白、II 型胶原和 X 型胶原^[14]。另外,体内雌激素水平下降、微量元素代谢的变化都是黄韧带退变的因素。

2 黄韧带钙化

Farushfaw a 等^[15]检查了椎管狭窄的黄韧带标本,认为弹性纤维的变性是由于中性粒细胞释放的弹性蛋白酶和糜蛋白酶引起的,由此继发的肉芽肿病变成为钙盐结晶沉积的部位,嗜中性粒细胞和含有 S 100 蛋白的软骨细胞的出现加速了钙盐沉积。在黄韧带中沉积的钙盐有羟基磷灰石(HAP)结晶和焦磷酸冰钙盐(CPPD)结晶两种形式。CPPD 结晶常发生在老年妇女的颈部黄韧带,有时也混有 HAP 结晶。因为机体的老化和体内雌激素水平的减低,可引起黄韧带基质成分中硫酸软骨素的升高,而增高的硫酸软骨素可以和钙离子结合,导致钙盐沉积。骨质增生是常见的老年病之一,患者常伴有黄韧带的钙化。HAP 结晶的沉积和 CPPD 结晶的沉积是相互独立的。HAP 结晶位于增生的毛细血管周围结缔组织中。Hijio ka 等^[16]研究表明黄韧带小的损伤修复过程中,其背侧的血管不断向腹侧延伸生长,形成新的毛细血管,正在生长中的毛细血管内皮细胞间缺乏特殊的连接复合体,管壁的渗透性增高,从而可以增加和钙结合的大分子物质通过内皮细胞间隙进入到周围结缔组织中,继而引起钙化。Sakamoto 等^[3]报道在韧带和骨化组织间的移行区含有大量的 S 100 蛋白,因为 S 100 蛋白是一种钙结合蛋白,而且在增生的软骨区比静止的软骨区多,所以认为 S 100 蛋白与细胞外基质钙化有关。Maruta 等^[17]报道黄韧带基质中含有一种钙化抑制因子,而且黄韧带细胞能够产生这种因子,该因子含量及活性的下降与钙化相关。

浙江大学附属邵逸夫医院骨科,浙江 杭州 310026

* 现作者单位: 江山市人民医院骨科,浙江 江山 324100

3 黄韧带骨化

黄韧带骨化的本质就是脊柱韧带内的一种异位骨化^[2], 常见于下胸椎或胸腰段, 而颈椎和下腰椎均少见。由于当今影像诊断技术的不断发展, 韧带内的任何变化可被发现。黄韧带骨化开始于椎板附着处和上关节突的内侧, 并逐渐向上方、前方和中线方向发展。最近研究表明^[2], 骨化主要发生在黄韧带的腹侧, 并以黄韧带腹侧表层向背侧的深层方向进行, 由于骨化后韧带组织的增生肥厚, 导致骨化组织由后向前对脊髓产生压迫, 这是黄韧带骨化造成椎管狭窄、脊髓受压的根本机制。

许多学者^[3, 13, 18]的研究均描述了黄韧带骨化过程中出现了 II 型胶原纤维的大量增生, 并表现为不同程度的肿胀。Yoshida 等^[1]还观察胶原纤维呈现不同程度的透明变性。Sakamoto 等^[3]研究证实黄韧带骨化时软骨细胞周围存在硫酸软骨素, 并认为其与软骨基质的钙化密切相关。黄韧带骨化过程中基质内 II 型胶原和硫酸软骨素的含量在软骨细胞增生最为活跃时最高, 随着骨化的成熟逐渐呈下降趋势。

腰椎黄韧带骨化的病因仍不十分清楚。Okada 等^[13]研究指出, 黄韧带骨化(OLF)的发生和发展是建立在黄韧带退变(HLF)的基础之上。虽然退变黄韧带中病理改变同骨化周边黄韧带的病理改变基本相似, 但黄韧带骨化与退变之间是否真正有关, 目前尚不能完全确定。一般认为黄韧带骨化和钙化是不同的独立病理过程, 少数人认为两者是同一病理过程的两个不同阶段。黄韧带钙化症以女性多见, 主要见于下颈椎, 病变位于椎板间, 呈圆形或椭圆形, 与椎板不连续, 不与硬膜粘连, 多不合并脊柱其他韧带骨化, 多合并全身其他部位的钙化。黄韧带骨化症以男性多见, 颈、胸、腰椎均有, 以下胸椎多见, 病变位于椎板附着部, 病变形态多样, 与椎板连续, 不随姿势变化而移动, 常与硬膜粘连或融合, 常合并脊柱其他韧带骨化。

以往认为黄韧带骨化由局部的反复损伤和反应性修复, 导致成纤维细胞软骨化生、软骨细胞增殖、胶原基质增生、钙化、编织骨和板层骨形成等一系列的软骨内骨化所形成。但最近 Ono 等^[2]研究表明, 导致黄韧带骨化的关键因素是生长因子或细胞因子及其反应细胞; 这些生长因子中, BMP 和 TGF β_3 在黄韧带骨化的发病机制中具有重要作用。

生长因子及其反应细胞在黄韧带骨化病理中扮演着一个非常重要的角色。最近 10 年研究表明^[2], 大量生长因子决定着软骨和骨组织的发生、发展和维持, 其中 BMP 和 TGF β_3 在黄韧带骨化的发病机制中起关键作用。BMP 能启动软骨和骨的分化及诱导体内形成新的软骨和骨组织; TGF β_3 则通过刺激体内软骨祖细胞和骨祖细胞的增殖分化来加速软骨和骨的形成。BMP 的主要生物学作用是诱导未分化的间充质细胞(反应细胞)分化形成软骨和骨, 可在骨内部位形成新骨, 也能异位形成新骨。BMP 以其独有的直接诱导软组织中未分化间充质细胞增生、分化、形成软骨细胞, 显示其在异位骨化以及骨诱导的重要性。Miyamoto 等^[19]和 Saito 等^[20]将 BMP 植入大鼠和兔的腰椎黄韧带中, 均导致黄韧带骨化, 这说明 BMP 能够直接诱导大鼠和兔黄韧带形成异位骨化。免疫组织化学证明, BMP 在未骨化区域的软骨细胞中及靠近软骨区

附近的少量成纤维细胞中呈阳性, 亦在小血管周围未间充质细胞及其移行分化的软骨细胞质中呈阳性。进一步研究表明, 在上述细胞中可以观察到 BMP I 型和 II 型受体的阳性表达, 提示 BMP 很可能就是通过作用于这些靶细胞的受体, 特别是作用于间充质细胞, 活化细胞中软骨基因从而使这些细胞增殖、分化; 同时, 靶细胞也有合成和分泌 BMP 的能力, 进一步扩大和保持韧带中骨诱导的能力, 使软骨细胞不断生成, 在其他生长因素的参与下, 软骨细胞增殖、成熟, 通过软骨内成骨, 使得骨化不断扩展、深入。

TGF β 能与靶细胞表面的特异性受体(分 I 型和 II 型)结合, 导致细胞内调节蛋白丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化, 从而激活细胞内的 I 型前胶原基因 5' 端特异的启动因子来启动基因的表达。TGF β 可促进成纤维细胞和成骨细胞外基质的合成, 并对新合成基质的降解具有显著的抑制作用, TGF β 还能增加血管的形成。王哲等^[21]认为韧带骨化初期血管组织的增生在骨化过程中有重要意义, 是韧带中大量 BMP 阳性表达的未分化间充质细胞与软骨细胞的来源。Tuyama 等^[22]用免疫染色检测了骨化黄韧带中 TGF β_1 的分布, TGF β_1 在未骨化的纤维区域中未分化的血管周细胞(pericyte)的胞浆呈弱阳性, 而在靠近已经骨化部分的纤维软骨和透明软骨区域中的软骨细胞的胞浆呈强阳性。

研究证实, 黄韧带骨化病变中除主要存在 BMP 和 TGF β 外, 尚存在成纤维生长因子(FGF)和骨碱性磷酸酶^[2]。FGF 对于病理的软骨内骨化和 BMP 的骨诱导作用是必不可少的, 另外, 据报道血浆 FGF 的浓度在黄韧带骨化的患者中提高了^[23]。骨碱性磷酸酶对于骨形成细胞是一个特定的标志物。TGF β_3 和 FGF 可能导致黄韧带的肥厚和骨化。当然, 还有其他的一些生长因子也共同起作用。黄韧带骨化症同多种代谢性疾病密切相关, 如糖尿病、家族性低磷酸盐佝偻病、氟骨症以及肥胖症等, 还同钙、铜等微量元素失调、女性内分泌失调等相关^[2]。黄韧带的骨化多发生于亚洲人, 特别是日本人, 提示该病变和基因有关, 但尚不清楚是何基因。Hadley Miller 等研究表明编码原纤维蛋白基因(位于 15 号染色体上的单基因)的突变, 会导致成纤维细胞合成的原纤维蛋白不能掺合到细胞外基质中去, 从而造成弹性纤维的异常; 另外, 异常的 XI 型胶原基因和 TGF β_1 基因的多型性^[2, 24], 这些基因的存在可能是导致黄韧带骨化的原因之一。

参考文献

- 1 Yoshida M, Shima K, Taniguchi Y, et al. Hypertrophied ligamentum flavum in lumbar spinal canal stenosis: Pathogenesis and morphological and immunohistochemical observation. Spine, 1992, 17(11): 1353-1360.
- 2 Ono K, Yonenobu K, Miyamoto S, et al. Pathology of ossification of the posterior longitudinal ligament and ligamentum flavum. Clin Orthop, 1999, 359: 18-26.
- 3 Sakamoto RT, Ikata TK, Murase M, et al. Comparative study between magnetic resonance imaging and histopathological findings in ossification or calcification of ligaments. Spine, 1991, 16(11): 1253-1261.
- 4 Fukuyama S, Nakamura T, Ikeda T, et al. The effect of mechanical stress on hypertrophy of the lumbar ligamentum flavum. J Spinal Disord, 1995, 8: 126-130.

- 5 Kirkaldy Willis WH, Farfan HF. Instability of the lumbar spine. Clin Orthop Rel Res, 1982, 165: 110-123.
- 6 Hirakata M, Kaname S, Chung U G, et al. Tyrosin kinase dependent expression of TGF- β induced by stretch in mesangial cells. Kidney Int, 1997, 51: 1028-1036.
- 7 Li Q, Muragaki Y, Hatamura I, et al. Stretch induced collagen synthesis in cultured smooth muscle cells from rabbit aortic media and a possible involvement of angiotensin II and transforming growth factor β . J Vasc Res, 1998, 35: 93-103.
- 8 Nakatani T, Marui T, Hitora T, et al. Mechanical stretching force promotes collagen synthesis by cultured cells from human ligamentum flavum via transforming growth factor β . Orthop Res, 2002, 20: 1380-1386.
- 9 Marui T, Niyibizi C, Georgescu HI, et al. Effect of growth factors on matrix synthesis by ligament fibroblasts. J Orthop Res, 1997, 15: 18-23.
- 10 Reed MJ, Vernon RB, Abrass IB, et al. TGF- β ₁ induces the expression of type I collagen and SPARC, and enhances contraction of collagen gels, by fibroblasts from young and aged donors. J Cell Physiol, 1994, 158: 169-179.
- 11 张喜善, 罗怀灿, 鲁玉来, 等. 韧带愈合过程中转化生长因子 β ₁及其 I 型受体表达的实验研究. 中国矫形外科杂志, 2001, 8(5): 472-474.
- 12 Jong Beom P, Ham C, Jir Dyung L. Quantitative analysis of transforming growth factor beta1 in ligamentum flavum of lumbar spinal stenosis and disc herniation. Spine, 2001, 26(2): 492-495.
- 13 Okada K, Oka S, Tohge K, et al. Thoracic myelopathy causes by ossification of the ligamentum flavum: Clinicopathological study and surgical treatment. Spine, 1991, 16(3): 280-287.
- 14 Specchia N, Pagnotta A, Gigante A, et al. Characterization of cultured human ligamentum flavum cells in lumbar spine stenosis. J Orthop Res, 2001, 19: 294-300.
- 15 Farushfawa N, Baba H, Maezwa Y, et al. Calcium crystal deposition in the ligamentum flavum of the lumbar spine. Clin Exp Rheum, 1997, 15(6): 416-467.
- 16 Hijioka A, Suzuki K, Nakamura T, et al. Light and electron microscopy of hydroxyapatite depositions in the ligamentum flavum. Spine, 1994, 19(23): 2626-2631.
- 17 Maruta K, Ichimura K, Matsui H, et al. Calcification inhibitors in human ligamentum flavum. J Orthop Res, 1993, 11(1): 92-103.
- 18 Yahia LH, Garzon S, Strykowski H. Ultrastructure of the human intervertebral ligament and ligamentum flavum: A preliminary study. Spine, 1990, 15: 262-268.
- 19 Miyamoto S, Takaoka K, Yonenobu K, et al. Ossification of the ligamentum flavum induced by bone morphogenetic protein, an experimental study in mice. J Bone Joint Surg(Br), 1992, 74: 279-283.
- 20 Saito K, Mimatsu K, Saito H. Changes in the evoked spinal cord potentials associated with chronic experimental cord compression. Spine, 1991, 16(11): 1283-1289.
- 21 王哲, 王全平, 张俊华, 等. 骨形成蛋白在黄韧带骨化中的表达定位. 第四军医大学学报, 2002, 23(4): 341-343.
- 22 Tuyama N, Terayama K, Kurokawa T, et al. Annual reports 1976-1997 of the investigation committee for ossification of the spinal ligaments under the auspices of Japanese ministry of health and welfare. Department of Orthopedics, University of Tokyo, Japan. 1996-1997.
- 23 Miyamoto S, Yonenobu K, Ono K. Elevated plasma fibronectin concentrations in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament and ossification of the ligamentum flavum. Spine, 1993, 18: 2267-2270.
- 24 Kamiya M, Harada A, Mizuno M, et al. Association between a polymorphism of the transforming growth factor- β ₁ gene and genetic susceptibility to ossification of the posterior longitudinal ligament in Japanese patients. Spine, 2001, 26(11): 1264-1267.

(收稿日期: 2004-04-26 本文编辑: 王宏)

国家中医药管理局有奖征集徽标

为了弘扬祖国优秀传统文化, 在国内外确定中医药的形象标志, 扩大中医药的影响, 充分体现中医药的优势特色, 国家中医药管理局决定在全国范围内征集徽标活动。

1. 征集要求 ①徽标图案要求简洁明快, 寓意适当, 积极向上, 体现继承与发展, 成就与辉煌, 文明与发展。②要体现中医药悠久的历史, 博大精深的科学性, 深厚的文化底蕴, 以人为本和健康的理念。③具有传统性、国际性的特点。④突出整体效果, 识记更利。⑤提供书面稿件 1 式 3 份, 其中彩色图案 1 份; 黑白清样图案 1 份; 黑白坐标图案 1 份; 均按 A4 纸规格, 注明标准比例和标准颜色。⑥按 1:1 输出比例提供彩色、黑白效果图、电子文件各 1 份, 存为 CMYK 或 TIF 格式。精确度为 350 dpi 请将应征作品刻在 VCD 盘上。⑦设计图稿须有设计和详细的文字说明。⑧设计者姓名、身份证号码和详细联系方式等必须用单独页作说明。

2. 参赛方式 ①稿件请用挂号邮寄并注明“徽标征集”字样。②稿件征集截止到 2005 年 6 月 30 日。通信地址: 北京市白家庄东里 13 号楼 邮政编码: 100026 联系人: 赵文华 欧阳波 联系电话: 010-65930629 010-65063322-6712。③应征人寄送的有关资料、文件等概不退还。

3. 评奖办法 ①在征集日期截止后, 国家中医药管理局将组织有关人员, 对参赛作品进行评选, 确定获奖作品。②本次活动设: 中标奖 1 名: 奖励人民币 20 000 元, 并颁发获奖证书; 入围奖 20 名: 各奖励人民币 1 000 元, 并颁发获奖证书。③评选结果将在国家中医药管理局网站、《中国中医药报》等媒体予以公布。

4. 注意事项 ①根据有关法律, 作者保留署名权, 其他权益归属国家中医药管理局, 作者不得向任何第三方转让与该作品有关权利。②如果最终设计方案有部分采纳或由多个投稿方案集合而成, 按采纳比例分摊奖金, 同时分别颁发获奖证书。③本次活动的详情可登录国家中医药管理局网站了解(www.satcm.gov.cn)。④本征集活动由国家中医药管理局负责解释。