

非特异性下腰痛中治疗作用靶点——信号素 Sema3A 的研究进展

辛龙¹, 徐卫星¹, 王健¹, 宋红浦¹, 刘建¹, 王瑾¹, 范顺武², 杨洋¹

(1.浙江省立同德医院骨科, 浙江 杭州 310012; 2.浙江大学附属邵逸夫医院骨科, 浙江 杭州 310016)

【摘要】 神经长入和炎症反应是非特异痛性椎间盘最显著的病理改变。信号素 Sema3A (Semaphorin3A) 是一类跨膜蛋白家族, 通过与 NRP-1/plexinA 受体复合, 调控 Sema3A-NRP-1-plexinA 信号通路, 在神经元发育、损伤与修复等过程中发挥重要的化学趋化及导向作用。近来研究发现 Sema3A 抑制 DRG (dorsal root ganglion) 神经元轴突生长, 退变椎间盘中 Sema3A 显著下降, 诱导外围神经长入纤维环内层及髓核。此外, Sema3A 可抑制 KLF5 (Krüppel-like factor 5) 介导的炎症反应, 拮抗血管内皮生长因子的活性, 导致新生血管受阻, 抑制血管内皮细胞的生长和发展。因此, 通过 Sema3A 调节退变椎间盘病理性神经血管长入及炎症反应成为一个新的治疗方向。

【关键词】 腰痛; 椎间盘退行性变; Sema3A

中图分类号: R681

DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.2021.06.021

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Current advances in research of semaphorin 3A: a potential target for the treatment of nonspecific low back pain XIN Long, XU Wei-xing, WANG Jian, SONG Hong-pu, LIU Jian, WANG Jin, FAN Shun-wu, and YANG Yang*. * Department of Orthopaedics, Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, Zhejiang, China

ABSTRACT Nonspecific low back pain is closely associated with afferent nerve ingrowth into degenerated IVDs and increasing the inflammatory response. Members of the class 3 semaphorins signal their response through two prominent receptors; the NRP (Neuropilin-1) and the Plexin A. Sema3A (Semaphorin3A) is primarily known for their role in modulating neuronal survival as well as neurite outgrowth and guidance via regulation of Sema3A-NRP-1-plexinA signal pathway. Also, sema3A is shown to be conducive to innervate the inner painful degenerated IVDs (Intervertebral discs). Furthermore, sema3A is thought to act as a barrier to endothelial cells survival and migration on vascular endothelial growth factor (VEGF) and inhibition of KLF5-induced (Krüppel-like factor 5) inflammatory mediators within degenerated IVDs. Therefore, Sema3A produce a new perspective of dual-action therapeutic agent for attenuating the regulator of innervation and angiogenesis into degenerated IVDs and inhibition of KLF5-induced inflammation.

KEYWORDS Low back pain; Intervertebral disc degeneration; Sema3A

非特异性下腰痛(non-specific low back pain)是以炎症反应、进行性腰椎退变诱发神经血管长入退变椎间盘导致腰痛为主要特征的一组疾病,其病情复杂、病程漫长,残障率及复发率高,手术或药物治疗花费巨大,给患者和社会造成沉重的经济负担^[1-3]。由于发病机制尚未明确,多数患者未获确切有效的诊治。近来信号素 Semaphorin3A (简称 Sema3A)引起广泛关注,与细胞迁移、血管生成、免疫

调节及骨质代谢等多种机体病理生理现象密切相关。Sema3A 具有多种重要功能,尤其参与椎间盘内炎症反应与基质代谢,以及神经血管长入退变椎间盘病程中发挥重要调节作用^[4-6]。本文将对 Sema3A 在非特异性下腰痛调节作用中的相关病理机制和研究意义进行综述。

1 Sema3A 结构、分布及其调节作用

Sema3A 属于信号素蛋白家族,是一类分泌蛋白或跨膜蛋白家族,同其他 Sema 家族成员一样,该蛋白分子的氨基末端有 1 个长约 500 个氨基酸的 Sema 结构域,内含 17 个高度保守的半胱氨酸基团。N-末端主要由神经素 1 (neuropilin-1, NRP-1) 和神经丛蛋白 A (plexinA) 耦合组成的复合受体,通过其胞内介导系列级联反应进行信号传递,发挥 Sema3A 的功能。尤其在神经元发育、损伤与修复等过程中发

基金项目:浙江省卫计委科技计划基金(编号:2020PY003, 2020362988);浙江省中医药科技计划基金(编号:2019ZB027; 2019ZB029)

Fund program: Foundation of Zhejiang Provincial Health Commission (No. 2020PY00, 2020362988)

通讯作者:杨洋 E-mail: yangyanghz20@outlook.com.

Corresponding author: YANG Yang E-mail: yangyanghz20@outlook.com

挥重要的化学趋化及导向作用^[5,7]。Sema 3A 在椎间盘及软骨系统中也具有重要功能,对椎间盘退变的发生和发展有重要调节作用^[8]。研究发现 Sema3A 在健康的椎间盘组织中高表达,而退变椎间盘的样本中表达显著下降^[5,9]。另外,Sema 3A 与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)共享于同一跨膜受体 NRP-1,介导神经导向和血管生成 2 个截然不同的生理过程。Sema 3A 与 NRP-1 的 a1/a2 结构域结合,而 VEGF 则可以与 b1/b2 结构域结合。NRP-1 与 VEGF-A165 及 VEGFR2 等相互作用,诱导下游血管生成的过程^[10]。Sema3A 影响退变椎间盘组织中神经血管分布,提示其可能参与退变椎间盘相关的病理性神经疼痛的发生机制。

2 Sema3A 和神经血管侵入退变椎间盘

正常椎间盘神经支配仅局限于纤维环外层。然而,退变椎间盘发现一些痛觉传导纤维侵入内层纤维环甚至深及髓核或终板^[11-13]。研究证实小型神经元背根节(dorsal root ganglion,DRG)的神经纤维伴有血管逆行长入成为退变椎间盘内疼痛受体,诱发外周神经“痛觉敏化”而产生腰痛^[12-15]。Sema3A 作为神经轴突生长抑制剂,参与调控 DRG 神经元细胞凋亡,抑制疼痛纤维轴突生长,调节外层纤维环神经纤维的分布及密度,通过减少神经的病理性分布减少疼痛的发生。近来研究发现退变椎间盘组织内 Sema3A 显著下降,诱导 DRG 神经纤维通过破裂的纤维环侵入退变椎间盘^[16-17]。其次,Sema3A 通过免疫细胞活化释放多种炎性介质,如白细胞介素-1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β),肝癌坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α),神经生长因子(nerve growth factor,NGF)等,加速椎间盘基质降解,蛋白聚糖丢失,诱导神经长入退变椎间盘;同时上调与 DRG 神经元相关的炎症反应和疼痛介质(SP,CGRP)的传递,进一步敏化神经元^[9,16]。此外,Sema3A 表达增高时可抑制炎症反应,通过拮抗血管内皮生长因子的活性,导致新生血管受阻,抑制纤维环外层血管内皮细胞的生长和发展,从而降低椎间盘外周微血管密度^[10,18]。以上研究结果提示 Sema3A 通过抑制退变椎间盘病理性神经分布和微血管神经支配的方法可能是非特异性腰痛管理和治疗的新方向。

3 Sema3A 和炎症反应

炎症环境导致髓核细胞凋亡和细胞外基质代谢失衡,从而加速椎间盘退变,炎症反应在非特异性腰痛发生发展过程中发挥重要作用^[19-20]。Sema3A 通过免疫细胞活化调控多种炎症因子表达增加,如 IL-1 β ,TNF- α ,NGF,转化生长因子(transforming growth factor- β ,TGF- β),P 物质(substance P,SP),降钙素

基因相关肽(calcitonin gene related peptide,CGRP),Krüppel 样因子等^[21]。其中 IL-1 β 和 TNF- α 作为 2 个最重要的炎症因子,通过上调疼痛相关肽(SP,CGRP)及痛性炎症介质 NGF 在退变椎间盘中的表达,进一步激活表达有 TrkA 的初级传入神经,诱导新生神经纤维的生长,在非特异性腰痛的发病中发挥重要作用^[22-24]。一方面,Sema3A 表达增高时可抑制炎症反应,痛性椎间盘内炎症介质表达显著高于正常老化的椎间盘,且退变椎间盘中存在更多的伤害性感受器,炎症因子可能通过刺激位于神经末梢上的伤害性感受器,促使 DRG 神经元敏化,从而下降痛阈^[25]。另一方面,Sema3A 通过介导炎症因子可诱导神经纤维向髓核内部及终板方向侵入退变椎间盘^[8]。如应用 IL-1 β 或 TNF- α 干预髓核细胞后,退变椎间盘内过度表达炎症因子,可下调 Sema3A 表达^[25]。研究表明应用外源性 Sema3A 抑制剂(SM345431,Sema3A Inhibitor)治疗可显著缓解腰痛患者的疼痛症状,提示 Sema3A 可能与炎症性下腰痛疼痛发生相关^[6,9]。Sema3A 可作为与慢性腰痛相关的炎症及血管化抑制剂,可能机制是减少免疫介导炎症反应和直接减少炎症因子^[4,26]。此外,椎间盘发生老化退变、纤维环破裂后,随着新生血管长入,髓核与外界接触,成为自身抗原,诱发免疫反应发生^[4,25]。这些结果提示 Sema3A 通过介导炎症反应诱导神经长入,降低 DRG 传入神经末梢敏化功能治疗非特异性下腰痛。

4 Sema3A 和 Krüppel 样因子平衡体系调控疼痛机制

已有研究表明由自身椎间盘细胞产生的趋化因子 Sema3A 和 Krüppel 样转录因子(Krüppel-like factors,KLF)密切相关。退变椎间盘内炎症因子过度表达,刺激由自身椎间盘细胞产生趋化因子 Sema3A^[19]。KLF 是真核生物中一类包含锌指结构的转录家族,KLFs 家族成员通过转录调控下游靶基因的表达而在细胞生长、增殖、分化及凋亡等过程中发挥重要的调控作用^[27-28]。此外,KLF5 与胚胎发育、炎症反应、肿瘤发生等也密切相关。KLF5 在不同组织不同层次中有着广泛的表达,作为一个基本的转录因子,KLF5 调控很多重要靶基因,在不同的生物过程中可介导不同的信号通路。目前已证明 KLF5 可通过增强或抑制许多有关 DRG 细胞周期、血管生成相关基因的转录导致椎间盘退变^[27]。KLF5 在椎间盘退变的发生发展中具有双刃剑作用,通过 KLF5 的上下游调控因素的差异而产生促进或抑制神经长入两种完全相反的作用,调控 KLF5 水平可能将成为非特异性腰痛治疗的有效靶标。上述研究结果提示

信号素 Sema3A 与 KLF5 平衡体系共同参与对神经长入和炎症反应进行调节,影响 DRG 神经长入退变椎间盘导致非特异性下腰痛。KLF5 与 Sema3A 可能存在上下游关系参与非特异性腰痛相关疼痛调控机制。

5 Sema3A 和非特异性腰痛相关信号通路

以往的研究报道多个信号通路参与非特异性腰痛的发生与发展,如 NF- κ B 信号通路、Janus 激酶-信号传导及转录激活因子信号通路、MAP 激酶信号通路等,这些激活的信号转导通路将胞外信号转变为核内信号,通过转录因子的激活导致下游基因的表达或抑制,并发挥相应的生物学作用^[29]。Sema 3A 还通过激活 c-Jun/JNK 信号通路诱导脊髓背根神经元的死亡^[30]。抑制 NGF 的生物活性是治疗疼痛的有效途径,NGF/TrkA 信号通路在早期非特异性腰痛中的作用引起了研究者的关注^[23]。研究表明退变椎间盘组织中 NGF 通过与神经轴突末梢上的高亲和酪氨酸激酶 A (TrkA) 结合后形成 NGF/TrkA 复合体发挥作用,其中 TrkA 与疼痛信号传导有关,进一步激活细胞内信号传导通路,磷酸化下游分子,上调辣椒素受体 (transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1) 通道受体,参与调控释放疼痛介质 (SP 或 CGRP),影响椎间盘内疼痛受体的表达分布^[24,31]。另外,最新研究发现应用外源性 Sema3A 淬灭或降低退变组织内 IL-1 β 和 NGF 表达,有助于抑制神经长入退变椎间盘,可以明显缓解慢性下腰痛,Sema3A-NRP-1-plexinA 信号轴有望成为非特异性腰痛新的治疗靶点^[6,18]。以上结果提示 Sema 3A 参与机体自身存在多种病理性疼痛的调控机制,可以理解为一种代偿性调节作用,相互制约达到平衡,最终取决于哪个因素作用强度更强。

6 Sema3A 和椎体骨性疼痛保护作用

椎体骨性疼痛是非特异性腰痛发病机制中的潜在因素之一,Sema3A 通过调节感觉神经分布、支配来调节骨量增加,尤其在椎体自稳态的维持过程中有重要调节作用。骨骼系统持续存在旧骨吸收、新骨生成的生理活动,以维持椎体的稳定状态,其中涉及多种细胞、细胞因子、生化刺激物质共同调节,以确保骨吸收与骨形成达到动态平衡。由于胚胎时期 Sema3A 对于机体全身的神经分布(包括椎骨)均有重要作用,缺少 Sema3A 会引起椎骨神经分布异常^[32-33]。另一方面,通过对敲除神经来源的 Sema3A 小鼠的研究发现 CGRP 阳性的感觉神经纤维分布减少,同时小鼠骨量亦有明显减少;而当恢复感觉纤维分布,或使用人工合成 Sema3A 进行静脉注射治疗时,小鼠骨量明显提升。表明 Sema3A 可通过调控椎

体感觉神经分布影响脊柱系统稳定^[34]。因此,Sema3A 可能成为治疗骨性疼痛的有效靶标,发挥对非特异性腰痛积极有效治疗作用。

7 展望

Semaphorin 的发现开启了一个非常广泛的研究领域。首先,Sema3A 是一种轴突导向分子,具有抑制轴突生长的作用,参与非特异性疼痛的发展。其次,神经病理性疼痛形成的过程可能受到信号素 Sema 3A 和 KLF5 介导的炎症反应双向调节,倾向于促进还是抑制神经血管长入,最终取决于哪个因素作用强度更强。此外,Sema3A 通过神经调节机制对椎体保护作用仍有待于证实。综上所述,本文提出了一个治疗非特异性下腰痛的新靶点-Sema3A,有望为此类患者提供有效的治疗策略。

参考文献

- [1] Ohtori S, Inoue G, Miyagi M, et al. Pathomechanisms of discogenic low back pain in humans and animal models[J]. Spine J, 2015, 15(6): 1347-1355.
- [2] Maher C, Underwood M, Buchbinder R. Non-specific low back pain [J]. Lancet, 2017, 389(10070): 736-747.
- [3] Adams MA, Lama P, Zehra U, et al. Why do some intervertebral discs degenerate, when others (in the same spine) do not [J]. Clin Anat, 2015, 28(2): 195-204.
- [4] Vadasz Z, Toubi E. Semaphorin3A: A potential therapeutic tool in immune-mediated diseases [J]. Eur J Rheumatol, 2018, 5(1): 58-61.
- [5] Tolofari SK, Richardson SM, Freemont AJ, et al. Expression of semaphorin 3A and its receptors in the human intervertebral disc: potential role in regulating neural ingrowth in the degenerate intervertebral disc [J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(1): R1.
- [6] Binch ALA, Cole AA, Breakwell LM, et al. Class 3 semaphorins expression and association with innervation and angiogenesis within the degenerate human intervertebral disc [J]. Oncotarget, 2015, 6(21): 18338-18354.
- [7] Rozbesky D, Verhagen MG, Karia D, et al. Structural basis of semaphorin-plexin cis interaction [J]. EMBO J, 2020, 39(13): e102926.
- [8] Mima Y, Suzuki S, Fujii T, et al. Potential involvement of semaphorin 3A in maintaining intervertebral disc tissue homeostasis [J]. J Orthop Res, 2019, 37(4): 972-980.
- [9] Adi SD, Eiza N, Bejar J, et al. Semaphorin 3A is effective in reducing both inflammation and angiogenesis in a mouse model of bronchial asthma [J]. Front Immunol, 2019, 10: 550.
- [10] Garcia S. Role of Semaphorins in immunopathologies and rheumatic diseases [J]. Int J Mol Sci, 2019 20(2): 374.
- [11] Ohtori S, Miyagi M, Inoue G. Sensory nerve ingrowth, cytokines, and instability of discogenic low back pain: A review [J]. Spine Surg Relat Res, 2018, 2(1): 11-17.
- [12] Miyagi M, Millecamps M, Danco AT, et al. Increased innervation and sensory nervous system plasticity in a mouse model of low back pain due to intervertebral disc degeneration [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2014, 39(17): 1345-1354.
- [13] Binch ALA, Cross AK, Le Maitre CL. The regulation of nerve and blood vessel ingrowth in aneurial and avascular intervertebral disc

- and articular cartilage[J]. *OA Arthritis*, 2014, 2(1):4.
- [14] Aoki Y, Nakajima A, Ohtori S, et al. Increase of nerve growth factor levels in the human herniated intervertebral disc; can annular rupture trigger discogenic back pain[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(4):R159.
- [15] 王磊, 李家谋, 刘宝戈, 等. 慢性小关节源性腰痛与小关节囊神经纤维数量及神经肽 Y 表达变化的病例对照研究[J]. *中国骨伤*, 2014, 27(8):663-667.
WANG L, LI JM, LIU BG, et al. Case-control study on the relationship of chronic low back pain of facet joint origin with the distribution of nerve endings and neuropeptide: a quantitative histological analysis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2014, 27(8):663-667. Chinese with abstract in English.
- [16] Yang G, Liao W, Shen M, et al. Insight into neural mechanisms underlying discogenic back pain[J]. *J Int Med Res*, 2018, 46(11):4427-4436.
- [17] Wu B, Yang L, Peng B. Ingrowth of nociceptive receptors into diseased cervical intervertebral disc is associated with discogenic neck pain[J]. *Pain Med*, 2019, 20(6):1072-1077.
- [18] Yin P, Lv H, Zhang L, et al. Semaphorin 3A: a potential target for low back pain[J]. *Front Aging Neurosci*, 2015, 7:216.
- [19] Navone SE, Marfia G, Giannoni A, et al. Inflammatory mediators and signalling pathways controlling intervertebral disc degeneration[J]. *Histol Histopathol*, 2017, 32(6):523-542.
- [20] 赵赫, 俞兴, 唐向盛, 等. 炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 与椎间盘退变关系的研究进展[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(9):866-871.
ZHAO H, YU X, TANG XS, et al. Relationship between inflammatory cytokines of IL-1 β and TNF- α and intervertebral disc degeneration[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2017, 30(9):866-871. Chinese with abstract in English.
- [21] Risbud MV, Shapiro IM. Role of cytokines in intervertebral disc degeneration: pain and disc content[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10(1):44-56.
- [22] Johnson ZI, Schoepflin ZR, Choi H, et al. Disc in flames: roles of TNF- α and IL-1 β in intervertebral disc degeneration[J]. *Eur Cell Mater*, 2015, 30:104-116.
- [23] Hirose M, Kuroda Y, Murata E. NGF/TrkA signaling as a therapeutic target for pain [J]. *Pain Pract*, 2016, 16(2):175-182.
- [24] Bannwarth B, Kostine M. Nerve growth factor antagonists: is the future of monoclonal antibodies becoming clearer[J]. *Drugs*, 2017, 77(13):1377-1387.
- [25] Sumi C, Hirose N, Yanoshita M, et al. Semaphorin 3A inhibits inflammation in chondrocytes under excessive mechanical stress[J]. *Mediators Inflamm*, 2018, (2018):5703651.
- [26] Xiang R, Xu Y, Zhang W, et al. Semaphorin 3A inhibits allergic inflammation by regulating immune responses in a mouse model of allergic rhinitis [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2019, 9(5):528-537.
- [27] Chen HL, Chong IW, Lee YC, et al. Kruppel-like factor 5 mediates proinflammatory cytokine expression in lipopolysaccharide-induced acute lung injury through upregulation of nuclear factor-kappaB phosphorylation in vitro and in vivo [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, (2014):281984.
- [28] Xie Z, Jie Z, Wang G, et al. TGF-beta synergizes with ML264 to block IL-1beta-induced matrix degradation mediated by Kruppel-like factor 5 in the nucleus pulposus [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(2):579-589.
- [29] 徐涛涛, 廖菲, 金红婷, 等. 椎间盘退变与细胞死亡的相关研究进展[J]. *中国骨伤*, 2015, 28(7):673-678.
XU TT, LIAO F, JIN HT, et al. Research advance on intervertebral disc degeneration and cell death [J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2015, 28(7):673-678. Chinese with abstract in English.
- [30] Sakai D, Grad S. Advancing the cellular and molecular therapy for intervertebral disc disease [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 84:159-171.
- [31] Norman BH, McDermott JS. Targeting the nerve growth factor (NGF) pathway in drug discovery. Potential applications to new therapies for chronic pain [J]. *J Med Chem*, 2017, 60(1):66-88.
- [32] Fukuda T, Takeda S, Xu R, et al. Sema3A regulates bone-mass accrual through sensory innervations [J]. *Nature*, 2013, 497(7450):490-493.
- [33] Li Z, Hao J, Duan X, et al. The role of Semaphorin 3A in bone remodeling [J]. *Front Cell Neurosci*, 2017, 11:40.
- [34] Tang P, Yin P, Lv H, et al. The role of Semaphorin 3A in the skeletal system [J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2015, 25(1):47-57.

(收稿日期:2020-07-16 本文编辑:王宏)