

## 综述

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2022.06.002

## 剪切力对椎间盘退行性变的影响及其作用机制

谢良玉 曹盛楠 李华忠 师彬 陈元振 王丹丹

**【摘要】** 椎间盘退行性变(退变)在临床诊疗中十分常见。据统计,60岁以上人群椎间盘退变的发生率高达90%以上,严重影响患者的生活和工作,给社会带来了巨大的经济负担。影响椎间盘退变的因素包括年龄、遗传、代谢物质的交换、创伤、生物力学等,其中生物力学因素(压力、牵张力、剪切力、扭转力)是重要的原因之一。而不同的作用力以及作用力大小、频率、作用时间等对椎间盘退变的影响也各不相同。该文主要总结了剪切力与椎间盘退变的相关前沿研究,旨在分析剪切力对椎间盘各个组成部分退变的影响和作用机制,为进一步阐明椎间盘退变的发生机制奠定基础,为临床诊疗和康复保健提供参考。

**【关键词】** 椎间盘退行性变;剪切力;纤维环;髓核;软骨终板

**The effect of shear stress on intervertebral disc degeneration and its mechanism** Xie Liangyu, Cao Shengnan, Li Huazhong, Shi Bin, Chen Yuanzhen, Wang Dandan. Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences; Bone Biomechanics Engineering Laboratory of Shandong Province; Department of Rrthopedics and Traumatology of Traditional Chinese Medicine, Neck-Shoulder and Lumbocrural Pain Hospital of Shandong First Medical University, Ji'nan 250062, China  
Corresponding author, Wang Dandan, E-mail: ddwang@sdfmu.edu.cn

**【Abstract】** Intervertebral disc degeneration (IDD) is a common disease in clinical practice. According to statistics, the incidence of IDD exceeds 90% in the population aged > 60 years old, which severely affect the patients' normal life and work and bring huge economic burden to the society. Age, genetics, transport of metabolites, trauma and biomechanics are the influencing factors of IDD. Among which, biomechanical factors (pressure, tension, shear force and torsion force) are the important factors affecting IDD. Different force, magnitude and frequency of force and duration of force exert different effects on IDD. In this article, relevant researches on shear force and IDD were briefly summarized, aiming to investigate the effect and mechanism of shear force on the degeneration of intervertebral disc components. The study lays important foundation for further elucidating the pathogenesis of IDD and provides reference for clinical diagnosis and treatment.

**【Key words】** Intervertebral disc degeneration; Shear force; Annulus fibrosus; Nucleus pulposus; Cartilage endplate

椎间盘退行性变(退变)是引发下腰痛的重要原因,可导致椎间盘突出、脊柱不稳、神经脊髓病变等<sup>[1]</sup>。在日常生活中,人体在运动时,椎间盘会持续受到压力、牵张力、扭转力等多种组合的循环重复载荷的影响,在扭转运动时主要受剪切力影响,生物力学因素能通过影响椎间盘细胞的代谢、细胞外基质、相关细胞因子的表达而引发椎间盘退变<sup>[2]</sup>。其中,不同强度、频率、不同作用时间的作用力对纤维环、髓核和软骨终板的外在形态及细胞微环境的改变也各不相同。处于正常状态下的椎间盘符合沃尔夫定律,适宜的载荷

刺激会促进细胞的生长、基质的重构,减轻应激反应,有利于椎间盘发挥其生理功能,而不适宜的载荷刺激会抑制细胞的活性、加剧椎间盘退变。健康和退变髓核的生物力学特性被认为是未来椎间盘修复再生策略的重点。本文主要对剪切力对纤维环、髓核和软骨终板的影响及分子作用机制等方面进行综述。

### 一、剪切力对纤维环和髓核的影响

Michalek 等<sup>[3]</sup>研究了横向和圆周方向上动态剪切力对纤维环微观结构的影响,并分析了弹性蛋

基金项目:泰山学者特聘专家计划(ts201511074);山东第一医科大学学术提升计划(2019QL003)

作者单位:250062 济南,山东第一医科大学(山东省医学科学院),山东省骨生物力学工程实验室,山东第一医科大学附属颈肩腰腿痛医院中医骨伤科

通信作者,王丹丹, E-mail: ddwang@sdfmu.edu.cn

白在调节纤维环变形时所起的作用,发现纤维环内部的剪切力可以破坏弹性蛋白,使纤维环发生放射状的断裂和纤维板层的分离,最终导致髓核疝出,使椎间盘的整体性受到破坏。

扭转过程中纤维环受力过大会使纤维环与软骨终板的连接部位发生撕裂,改变力的传导,影响椎间盘的应力分布,从而加速椎间盘退变。Barbir等<sup>[4]</sup>对组织施加频率为1 Hz的循环扭转载荷,扭转角度为5°、15°和30°,发现循环载荷刺激不仅能使弹性蛋白mRNA的表达明显上调,还能使血小板反应蛋白整合素金属肽酶4(ADAMTS-4)基因、炎症因子IL-1 $\beta$ 及TNF- $\alpha$ 、髓核内聚集蛋白聚糖、组织金属蛋白酶抑制因子3(TIMP3)表达上调,随着扭转角度的增加,相关细胞因子的表达也上调。小幅度的脊柱扭转能增加椎间盘的高度,减少椎间盘的压力,促进营养物质的运输,而大幅度的扭转会增加椎间盘损伤的风险。Chan等<sup>[5]</sup>使用伺服液压试验机对牛尾进行扭转(1 h/d,持续4 d),结果显示,当扭转角度为2°时,纤维环细胞的活力增强,髓核细胞代谢程度随着扭转幅度的增加而降低,细胞凋亡程度也显著增强。基质金属蛋白酶13(MMP-13)、双糖链蛋白多糖(BGN)和核心蛋白聚糖(DCN)基因表达随着扭转幅度的增加而不断上调。扭转时纤维环和髓核细胞蛋白聚糖(ACAN)、II型胶原A1(COL2A1)和胱天蛋白酶8(CASP8)表达也呈上调趋势。Chou等<sup>[6]</sup>对人环状纤维细胞分别施加强度为1 dyn/cm<sup>2</sup>和10 dyn/cm<sup>2</sup>流体剪切力,作用时间4 h,发现I型胶原的表达随着剪切力刺激强度的增加而上调,在强度为10 dyn/cm<sup>2</sup>时MMP-1的表达比在0或1 dyn/cm<sup>2</sup>的强度作用下明显升高,但是其在0与1 dyn/cm<sup>2</sup>强度作用下的表达无差异,MMP-3和ADAMT-4在3组中也发生类似变化。以上研究表明不同强度剪切力对纤维环细胞基因表达和细胞外基质成分有着不同的影响。

## 二、剪切力对软骨终板的影响

垂直载荷作用下椎体与终板之间也会发生与椎体平行的剪切力,使椎体与椎间盘之间发生位移,经研究发现剪切力可以引起软骨终板钙化,降低孔隙率,终板渗透率或孔隙率的异常会引发椎间盘退变<sup>[7]</sup>。有研究者发现当椎间盘受到轴向机械载荷时,软骨终板的细胞外基质会发生改变,

当椎间盘受到异常机械载荷时会刺激MMP基因表达<sup>[89]</sup>。剪切力可引起软骨终板与椎体分离,加速软骨终板细胞凋亡,减少椎间盘的营养供给,使细胞外基质结构发生改变。软骨终板退变导致相邻节段椎间盘的活性降低,椎间盘的高度降低,纤维环出现塌陷,脊索细胞和软骨细胞丢失,细胞外基质中的II型胶原减少,I型胶原增加。由于II型胶原是终板软骨细胞外基质的主要成分之一,其含量下降会使基质合成蛋白多糖的能力减弱,进一步引起其受力与应力传导的改变。

林胜磊等<sup>[10]</sup>对兔L4/L5节段的软骨终板施加50 N的剪切力引起软骨终板钙化,椎体周围形成骨赘,并且出现终板移位的现象。MRI显示终板的形态发生改变,椎间盘发生脱水退变为黑间盘。软骨终板细胞数量减少,软骨细胞异常、胶原纤维之间出现裂隙,排列紊乱,软骨下骨的骨小梁结构破坏产生了新的骨小梁。软骨终板细胞可以合成髓核的基质物质,进而影响髓核的涵水能力。软骨终板硬化、钙化、增厚会减少椎间盘有氧血液供应,抑制营养物质和代谢产物的转运,导致乳酸浓度升高,pH值降低,进一步加剧椎间盘退变。

## 三、剪切力影响椎间盘退变的分子信号传导机制

不同的剪切力对椎间盘结构、细胞功能和退变的影响不同。近年来,研究者通过体外培养髓核细胞、纤维环细胞、软骨细胞等,研究了剪切力对细胞增殖、凋亡等生物学功能的影响及其分子信号传导机制。

较多研究表明剪切力可通过调节整合素、细胞骨架、G蛋白、酪氨酸激酶受体、牵张激活离子通道等,将外界力学信号传递到细胞内进而引发细胞内生物学效应<sup>[11]</sup>。剪切力可影响内皮细胞、软骨细胞、成骨细胞等的增殖、分化、迁移、凋亡,活化离子通道和信号通路。其中整合素是生物力学敏感性感受器,可以响应机械力的刺激,激活局部黏着斑激酶(FAK),调节下游的细胞外信号调节激酶(ERK),进一步激活下游的核转录因子激活蛋白-1(AP-1),从而在细胞内产生生物学效应。

椎间盘内部受到II型胶原、糖胺多糖及糖胺聚糖等相互作用会形成多孔隙体系,将受到的压缩力转化为流体剪切力。有研究者通过给髓核细胞

加载不同强度和作用时间的剪切力来检测髓核细胞在不同的剪切力环境下的分子机制变化。Wang等<sup>[12]</sup>采用流体腔对培养的髓核细胞进行加载,发现在作用时间为1 h、剪切力强度为1 dyn/cm<sup>2</sup>时,p-ERK1/2的磷酸化水平升高,ERK1/2的蛋白水平下降;当作用时间为4 h时,肌动蛋白的信号强度增强且形成明显的应力纤维,流体剪切载荷还会使髓核细胞空泡中的细胞角蛋白8颗粒消失。姚依村<sup>[13]</sup>使用改良的流行平板流动腔室,对体外培养的髓核细胞施加不同强度剪切力(0、6、12、18、24 dyn/cm<sup>2</sup>),加载不同的作用时间(0、15、30、45、60、90 min),观察剪切力对髓核细胞骨架的影响。结果显示剪切力强度为12 dyn/cm<sup>2</sup>、持续时间为45 min时,髓核细胞凋亡相关因子BAD、Bax以及相关基因表达下调。当剪切载荷 $\geq 12$  dyn/cm<sup>2</sup>或者持续时间 $\geq 45$  min时,髓核细胞凋亡相关因子BAD、Bax以及Caspase-3基因表达上调,过度的流体剪切力会使微丝微管发生移位,细胞骨架紊乱,髓核细胞凋亡,椎间盘内细胞减少。细胞受到剪切力作用后,将机械信号转化为生物化学信号从而产生生物学效应,ERK5信号通路可因剪切力的影响直接活化,也可以由流体剪切力引发的细胞骨架的变化被激活,进而影响细胞的增殖、凋亡、分化、迁移,不同强度的流体剪切力对椎间盘细胞的生物学影响各有不同(表1)。

一定强度和持续时间的剪切力可以提高ERK5信号通路基因转录的活性,且ERK5转录活性的增高与作用强度和时间并非呈线性关系,而是先增强,再进入平台期,然后逐渐放缓。有学者证实

ERK5信号通路能够引发椎间盘退变,因为其可以激活髓核细胞c-fos,而c-fos能抑制II型胶原和黏多糖表达从而改变细胞外基质成分。Ye等<sup>[14]</sup>的研究显示剪切力可以激活FAK-MEK5-ERK5-(c-fos)-(AP-1)信号通路,剪切力作用影响AP-1,使髓核细胞IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、巨噬细胞炎症蛋白1、单核细胞趋化蛋白1和一氧化氮等炎症因子水平升高,II型胶原、蛋白多糖、细胞角蛋白8、MAP-1、MAP-2、MAP-4等骨架蛋白水平降低。Chen等<sup>[15]</sup>使用Streamer平行板流动室给大鼠髓核细胞加载流体剪切力,发现当强度为12 dyn/cm<sup>2</sup>、作用时间为2 h时,髓核细胞硫酸盐黏多糖含量和聚集蛋白聚糖水平显著升高;当强度为12 dyn/cm<sup>2</sup>、作用时间为3 h时,髓核细胞MMP-13蛋白水平明显降低;当剪切力强度为24 dyn/cm<sup>2</sup>、作用时间为3 h时,硫酸盐黏多糖含量、COL2A1和聚集蛋白聚糖的蛋白水平明显降低。缪海雄等<sup>[16]</sup>研究剪切力对髓核细胞miRNA-222及c-fos的影响,发现在剪切力的作用下,髓核细胞miRNA-222表达被抑制,c-fos表达上调,且FAK-ERK5的活性增强,进而促进了髓核细胞的凋亡。以上研究表明,适度的剪切力会促进椎间盘内部细胞外基质的合成代谢,抑制细胞内的分解代谢,而高强度的剪切力则促进细胞分解代谢进程,促进椎间盘退变。流体剪切力可以通过相关分子信号传导通路影响椎间盘退变(图1)。随着年龄的增长,椎间盘髓核内的脊索细胞逐渐演变为类软骨细胞,软骨细胞与髓核细胞从细胞形态与细胞外基质有相似之处,因而在研究剪切力对髓核细胞的影响时,

表1 剪切力对椎间盘细胞生物学功能的影响

细胞类型	剪切力强度 / (dyn/cm <sup>2</sup> )	作用时间 /min	影响
髓核细胞	0~1	60	ERK信号通路的活化,II型胶原和光蛋白聚糖水平升高
	0~12	45	肌动蛋白逐渐增粗
	12~24	45	细胞骨架的改建作用趋于平缓,中间纤维发生断裂,细胞骨架紊乱,细胞凋亡相关因子BAD、Bcl-2表达下调
	24	-	硫酸盐黏多糖、COL2A1和聚集蛋白聚糖水平降低
	12	15	肌动蛋白即开始变粗、增多、细胞骨架发生重组
		0~45	肌动蛋白逐渐增粗,水平升高
纤维环细胞		45~90	中间纤维丝发生断裂,细胞骨架紊乱,细胞凋亡因子BAD、Bax及Caspase-3基因表达上调
		$\geq 60$	硫酸盐黏多糖和聚集蛋白聚糖水平升高,MMP13、蛋白质水平降低
	1~10	240	I型胶原随着剪切应力的刺激水平升高
软骨细胞	1	-	II型胶原水平升高
	20	-	引起软骨细胞的凋亡

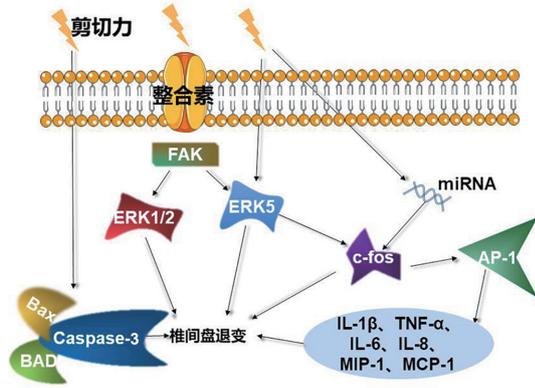


图1 剪切力影响椎间盘退变的相关分子信号传导通路

可以参照剪切力的强度与时间对软骨细胞的影响。

#### 四、展望

在众多影响椎间盘退变的生物力学作用中，剪切力是其中重要的作用力之一。脊柱在扭转过程中产生的剪切力不仅对椎间盘各组成部分的形态结构产生影响，纤维环细胞和髓核细胞受到剪切力刺激也将产生一系列生物学效应。相关研究证实，机械载荷可以激活整合素继而激活下游ERK1/2，整合素 $\alpha 1$ 的亚基也能传递力学信号，使非受体酪氨酸激酶（Src）蛋白磷酸化从而促进细胞外基质的分泌，实现力学信号向生物化学信号的转变，从而影响髓核细胞的增殖、分化、迁移、凋亡以及细胞外基质II型胶原和蛋白多糖的合成，产生一系列生物学效应<sup>[17]</sup>。机械敏感性蛋白压电式机械敏感离子通道（Piezo）在髓核细胞、软骨细胞等细胞中均有表达，可以介导剪切力、压力、牵张力等力学作用向机体生物化学方面转化<sup>[18]</sup>。

近些年，各种力学因素对椎间盘的影响方面已经取得了一定的研究进展，相对于其他力学因素，细胞对剪切力这种力学形式更为敏感。本课题组的前期研究显示，手法治疗会引起椎间盘内部流体流动，进而影响椎间盘内部的微环境<sup>[19]</sup>。流体流动产生的剪切力，会引发细胞骨架的变化，细胞骨架是影响细胞形态和力学生物学效应的主要因素。有研究显示，机械刺激对细胞病理生理的调节主要通过细胞外基质、细胞膜上的机械敏感性通道以及整合素、细胞骨架及细胞核等之间的相互联系，细胞外基质可通过细胞膜上跨膜受体与细胞内骨架相连实现，细胞骨架可作用于细胞核，引起基因表达变化，进而调节细胞的生物

学功能<sup>[1]</sup>。

机械力加载的形式、大小、频率对不同细胞的增殖、分化、凋亡等生物学效应的影响各不相同，组织剪切和流体剪切是人体广泛的受力形式。阐释剪切力的转录调控机制，有利于通过调整和矫正来逆转力学失衡所致的各种疾病。

力学整合的机械模型对于胚胎发育、人体器官组织各部分的形成有积极意义。揭示细胞的机械力学传导，内部微环境的改变，对维持组织稳态具有重要意义。深入分析剪切力对椎间盘退变的内部分子机制的影响，可为运动和相关手法治疗对椎间盘疾病的影响提供研究思路，使椎间盘的组织工程及再生医学得以发展<sup>[20]</sup>。

#### 参 考 文 献

- [1] Cherif H, Bisson D G, Mannarino M, et al. Senotherapeutic drugs for human intervertebral disc degeneration and low back pain. *Elife*, 2020, 9 : e54693.
- [2] 王丹丹, 黄伟敏, 曹盛楠, 等. 牵张微应变影响髓核细胞生物学功能和退变的研究. *中华骨科杂志*, 2021, 41 (4): 242-252.
- [3] Michalek A, Buckley M R, Bonassar L J, et al. Measurement of local strains in intervertebral disc annulus fibrosus tissue under dynamic shear: contributions of matrix fiber orientation and elastin content. *J Biomech*, 2009, 42 (14) : 2279-2285.
- [4] Barbir A, Godburn K E, Michalek A J, et al. Effects of torsion on intervertebral disc gene expression and biomechanics, using a rat tail model. *Spine*, 2011, 36 (8) : 607-614.
- [5] Chan S C, Ferguson S J, Wuertz K, et al. Biological response of the intervertebral disc to repetitive short-term cyclic torsion. *Spine*, 2011, 36 (24) : 2021-2030.
- [6] Chou P H, Wang S T, Yen M H, et al. Fluid-induced, shear stress-regulated extracellular matrix and matrix metalloproteinase genes expression on human annulus fibrosus cells. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7 : 34.
- [7] 徐浩翔, 文王强, 张泽佩, 等. 腰椎间盘生物力学体内外研究的新进展. *中国组织工程研究*, 2020, 24 (15) : 2425-2432.
- [8] Kim J, Yang S J, Kim H, et al. Effect of shear force on intervertebral disc (IVD) degeneration: an *in vivo* rat study. *Ann Biomed Eng*, 2012, 40 (9) : 1996-2004.
- [9] 丁浚哲, 鲁世保, 孙祥耀, 等. 椎体终板参与腰椎间盘退变机制及临床意义的研究进展. *中国骨与关节杂志*, 2019, 8 (6) : 434-438.
- [10] 林胜磊, 王雍力, 徐泓明, 等. 剪切应力对椎体终板的影响. *中国脊柱脊髓杂志*, 2015, 25 (3) : 245-251.
- [11] 张凯. 过度载荷诱导椎间盘退变的力学生物信号研究. 上海: 上海交通大学, 2014.

- [12] Wang P, Yang L, Hsieh A H. Nucleus pulposus cell response to confined and unconfined compression implicates mechanoregulation by fluid shear stress. *Ann Biomed Eng*, 2011, 39 (3): 1101-1111.
- [13] 姚依村. ERK5 介导流体剪切力对髓核细胞凋亡的实验研究. 广州: 暨南大学, 2014.
- [14] Ye D, Liang W, Dai L, et al. Moderate fluid shear stress could regulate the cytoskeleton of nucleus pulposus and surrounding inflammatory mediators by activating the FAK-MEK5-ERK5-cFos-AP1 signaling pathway. *Disease Markers*, 2018, 2018: 1-9.
- [15] Chen S, Qin L, Wu X, et al. Moderate fluid shear stress regulates heme oxygenase-1 expression to promote autophagy and ECM homeostasis in the nucleus pulposus cells. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 127.
- [16] 缪海雄, 叶冬平, 姚依村, 等. 流体剪切力下微小 RNA-222 调节人髓核细胞 c-fos 蛋白的表达. *中华实验外科杂志*, 2016, 33 (4): 1059-1062.
- [17] 高共鸣, 农鲁明, 周栋, 等. 周期性应力下大鼠髓核细胞中 Src 蛋白磷酸化及其作用的实验研究. *中华创伤骨科杂志*, 2014, (2): 141-144.
- [18] Zhu D, Zhang G, Guo X, et al. A new hope in spinal degenerative diseases: piezo1. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 6645193.
- [19] 李华忠, 王博, 王丹丹, 等. 瞬态载荷下 L4/L5 椎间盘内流固耦合效应. *力学学报*, 2021, 53 (7): 11.
- [20] 朱小棠, 刘沙鑫, 黎德聪, 等. 肌肉能量技术治疗非特异性下腰痛研究进展. *新医学*, 2020, 51 (5): 5.

(收稿日期: 2021-10-15)

(本文编辑: 洪悦民)

