

· 基础研究 ·

电离辐射诱导椎间盘纤维环细胞衰老的研究[△]李佳福¹, 钟炯彪^{1*}, Nam Vo², 孟旭东¹, 杨帆¹, 彭家睿¹

[1. 湖南师范大学附属岳阳医院(岳阳市人民医院)骨科, 湖南岳阳 414000;

2. 美国匹兹堡大学骨科, 美国宾夕法尼亚州匹兹堡 15213]

摘要: [目的] 探讨电离辐射对大鼠纤维环细胞衰老及衰老相关分泌表型表达的影响。[方法] 选取6只成熟SD大鼠, 取其腰尾段椎间盘纤维环细胞做体外细胞培养, 将同等条件下培养的纤维环细胞随机分为两组, 分别接受剂量为0 Gy、15 Gy的X线电离辐射, 检测两组纤维环细胞的衰老情况以及细胞衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)的表达。[结果] 经15 Gy电离辐射处理后, 纤维环细胞在形态学上表现出典型的衰老特征, SA-β-Gal测定显示纤维环细胞阳性染色百分比为77%。CCK-8实验显示纤维环细胞9 d内, 未辐射组的OD值逐渐增加($P<0.05$), 而辐射组OD值比较的差异无统计学意义($P>0.05$)。IF及PCR检测均显示, 辐射组衰老相关基因, 包括P16 [(5.2±0.3) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]、P21 [(12.9±0.5) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]的mRNA相对表达量均显著高于未辐射组。此外, 辐射组SASP的表达, 包括胶原蛋白Col-1 [(1.6±0.1) vs (1.0±0.1), $P=0.004$]、Col-2 [(7.0±0.4) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]、白细胞介素(interleukin, IL)-6 [(7.9±0.2) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]、IL-8 [(1.8±0.1) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-1 [(39.2±0.6) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]、MMP-3 [(4.5±0.3) vs (1.0±0.1), $P<0.001$]的相对表达量均显著高于未辐射组。[结论] 电离辐射能诱导大鼠椎间盘纤维环细胞衰老, 其衰老相关分泌表型的表达明显增加。

关键词: 椎间盘退变, 大鼠, 纤维环细胞, 电离辐射, 细胞衰老

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478(2024)20-1875-07

Senescence of annulus fibrosus cells induced by ionizing radiation // LI Jia-fu¹, ZHONG Jiong-biao¹, Nam Vo², MENG Xu-dong¹, YANG Fan¹, PENG Jia-rui¹. 1. Department of Orthopedics, Yueyang Hospital, Hunan Normal University, Yueyang 414000, China; 2. Department of Orthopedics, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15213, USA

Abstract: [Objective] To investigate the effects of ionizing radiation on aging and aging-related secretion phenotype expression of rat annulus fibrosus cells. [Methods] Six mature SD rats were selected to harvest lumbar intervertebral disc annulus fibrosus cells. The annulus fibrosus cells cultured under the same conditions were randomly divided into two groups, which received ionizing X-ray radiation in dose of 0 Gy and 15 Gy respectively. The senescence-associated secretory phenotype (SASP) was assayed to determine the senescence of annulus fibrosus cells. [Results] After being treated with 15 Gy ionizing radiation, the annulus fibrosus cells showed typical characteristics of aging morphology, and the positive staining percentage of annulus fibrosus cells was 77% by SA-β-Gal assay. The CCK-8 test showed that the OD value in the non-irradiated group increased gradually ($P<0.05$), but there was no statistical significance in the comparison of OD values in the irradiated group ($P>0.05$). Both IF and PCR tests showed that aging related genes in the radiation group, including P16 [(5.2±0.3) vs (1.0±0.1), $P<0.001$], P21 [(12.9±0.5) vs (1.0±0.1), $P<0.001$] were significantly higher than those in the non-radiation group, whereas the expression of SASP in the radiation group including Col-1 [(1.6±0.1) vs (1.0±0.1), $P=0.004$], Col-2 [(7.0±0.4) vs (1.0±0.1), $P<0.001$], IL-6 [(7.9±0.2) vs (1.0±0.1), $P<0.001$], IL-8 [(1.8±0.1) vs (1.0±0.1), $P<0.001$], matrix metalloproteinase (MMP)-1 [(39.2±0.6) vs (1.0±0.1), $P<0.001$] and MMP-3 [(4.5±0.3) vs (1.0±0.1), $P<0.001$] were significantly higher than those in the non-radiation group. [Conclusion] Ionizing radiation can induce senescence of rat intervertebral disc annulus cells, and the expression of senescence related secretion phenotype is significantly increased.

Key words: disc degeneration, rat, annulus fibrosus cells, ionizing radiation, cell senescence

DOI:10.20184/j.cnki.issn1005-8478.100782

△基金项目:湖南省自然科学基金科药联合项目(编号:2020JJ9054);湖南省卫生健康委科研课题项目(编号:202104071123);岳阳市科技基础研究指导性计划项目(编号:202012)

作者简介:李佳福, 硕士研究生, 研究方向:脊柱外科, (电子信箱)17388927834@163.com

***通信作者:**钟炯彪, (电子信箱)zhongjiongbiao@126.com

由椎间盘退行性变 (intervertebral disc degeneration, IDD) 引发的腰痛性疾病 (low back pain, LBP) 是最常见的骨骼肌肉系统疾病^[1], 全世界范围内多达80%的人在其一生中都曾受到过LBP的困扰^[2]。IDD的确切发病机制和病理过程仍不明确, 然而研究表明, IDD与纤维环细胞衰老密切相关^[3]。细胞衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 影响纤维环细胞微环境, 在其衰老调节、炎症应激中均发挥重要作用。本研究通过X射线电离辐射诱导大鼠椎间盘纤维环细胞衰老, 并进一步研究其对纤维环细胞SASP表达的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取6只清洁级12周成熟SD大鼠, 实验前均行X线检查以排除脊柱疾患。提取大鼠脊柱腰段及近尾段椎间盘纤维环细胞做原代细胞进行体外平面培养, 将同等条件下培养的大鼠纤维环细胞随机分为两组, 其中未辐射组不接受射线; 辐射组接受15 Gy的电离辐射剂量, 以下实验重复3次。本动物实验方案预先获得岳阳市人民医院(2019-S010)、美国IA-CUC(16067657)审批, 按照3R原则, 全过程给予大鼠人道关怀。

1.2 纤维环细胞分离与培养

采用腹腔注射水合氯醛麻醉SD大鼠, 然后使用颈椎脱臼法处死。常规消毒, 在无菌条件下取出整个脊柱腰段, 在显微镜下剥离腰椎间盘周围肌肉和筋膜并显露椎间盘。将脊柱标本用Hank's平衡盐溶液HBSS (Thermo) 清洗2次, 用尖刀沿椎间盘一侧软骨终板与骨性交界处仔细切断, 随后轻轻刮除软骨终板, 显露终板下椎间盘内纤维环组织, 并用尖刀小心将其挑出。将搜集起来的所有纤维环组织用HBSS溶液清洗2次, 随后置入0.2%链霉菌蛋白酶 (Calbiochem) 溶液中震荡分解1 h。再用HBSS溶液清洗2次后置入0.02%胶原蛋白水解酶 (Roche) 溶液内震荡消化30 min, 最后使用过滤网过滤并搜集细胞消化液, HBSS溶液冲洗过滤网, 将所有搜集液以2 000 r/min离心5 min, 去除上层液并留下细胞团块, 随后加入配好的细胞培养液[DMEM/F12培养基 (Gibco) +10%胎牛血清 (Atlanta Biologicals) +1%青霉素配置细胞培养液, 4°C冰箱储存]吹打均匀, 将细胞溶液按一定的浓度接种于培养瓶中(2×10⁵ Cells/25 cm², 6×10⁵ Cells/75 cm²), 将培养瓶置于37°C、CO₂

体积分数为5%、O₂体积分数5%的细胞培养箱中培养。

1.3 细胞分组与体外处理

使用X-RAD 320辐照仪(美国PXI公司)对一代纤维环细胞进行X线照射, 调整设定相关参数, 采取一次定量辐射(5 min)的方式, 按照分组要求给予辐射组15 Gy辐射剂量, 接受照射后的细胞组仍按之前的培养方法在同等条件下继续培养。每天用倒置显微镜观察纤维环细胞形态学变化并拍照记录。

1.4 检测方法

1.4.1 SA-β-Gal 测定

按照SA-β-Gal试剂盒(Sigma)说明配制好PBS、固定液和染色液, 吸净细胞培养液并用PBS液(Gibco)洗2次, 随后按一定量给予固定液室温下固定6~7 min, 吸净固定液再次用PBS洗3次, 按一定量给予染色液后, 封闭培养皿置于37°C无CO₂温箱过夜, 随后在光学显微镜下观察细胞并计数, 计算阳性染色反应细胞的百分比并进行组间比较, 评价细胞衰老程度。

1.4.2 CCK-8 检测

搜集各组纤维环细胞并用培养液配制成3×10⁴ cells/ml浓度, 接种于96孔板, 每组6个复孔, 每孔100 μl。继续培养于37.0°C、CO₂体积分数5%、O₂体积分数5%的细胞培养箱中。分别在接受射线后第1、3、5、7、9 d检测细胞活性。按照CCK-8 (Sigma)操作步骤, 每孔中加入10 μl CCK-8试剂, 混匀后于孵箱中孵育2 h, 应用酶标仪测定490 nm波长处的吸光度值。搜集各组在第1、3、5、7、9 d的吸光度值, 绘制细胞生长曲线。

1.4.3 IF 检测

吸除细胞培养液并用PBS洗细胞3次, 用4%多聚甲醛室温下固定细胞15 min, 去除多聚甲醛并用PBS洗2次, 然后加0.1% Triton X-100室温行细胞通透15 min, PBS洗3次, 按抗体浓度要求予以一抗孵育过夜, 次日用PBS清洗后给予荧光二抗并室温下孵育60 min, 再次PBS清洗3次后在室温下用DAPI避光染核5 min, 最后用PBS清洗多余的DAPI, 而后通过IF技术检测SASP的表达强度, 并采集图像。

1.4.4 PCR 检测

实验步骤: 采用胍盐法(QIAGEN, RNeasy)提取纯化纤维环细胞RNA, 测定RNA浓度, 随后可置于-80°C冰箱储存。设立PCR仪(Bio-Rad iCycle iQ5)反应流程及相关参数, 设计RNA与Mix、转录

酶、引物和水比例配制，每个基因均采取 TriPLICATE 上样检测，GAPDH 作为内参。PCR 结束后计算相关实验数据并比较组间各基因表达的差异。

1.5 统计学方法

采用 Graph Prism 9 统计和图形软件进行统计分析，每个实验至少重复 3 次。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示，资料呈正态分布时，两组间比较采用独立样本 *t* 检验；资料呈非正态分布时，采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞形态学观察

大鼠纤维环细胞在接受电离辐射后第 5 d 起出现明显形态学变化，倒置显微镜下可见，与未辐射组相比（图 1b），辐射组纤维环细胞胞质肿胀、体积变大、胞浆折光性降低，呈网状，细胞核肿大并伴有空泡，细胞间排列无序（图 1a）。

2.2 SA-β-Gal 测定

在接受电离辐射后第 5 d 行 SA-β-Gal 测定，显示辐射组纤维环细胞出现了明显的阳性染色（图

1c），其阳性染色百分比为 77%，而未辐射组细胞阳性染色为 15% ($P < 0.05$)。

2.3 CCK-8 测定

CCK-8 测定纤维环细胞增殖活力的 OD 值结果见表 1。随着时间的推移，未辐射组的 OD 值逐渐增加 ($P < 0.05$)，而辐射组的 OD 值变化不大 ($P > 0.05$)。且同一时间段内未辐射组 OD 值显著大于辐射组 ($P < 0.05$)。第 9 d 时两组间 OD 值差异达到高峰。

2.4 IF 检测

在 IF 检测中，辐射组衰老相关基因 P16、P21 表达强度均较未辐射组强（图 2a~2d），胶原蛋白（collagen, Col）-1/-2、白细胞介素（interleukin, IL）-6/-8 及基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase, MMP）-1/-3 的表达均明显增强（图 3a~3l）。

2.5 PCR 检测

PCR 检测结果见表 1。辐射组衰老相关基因，包括 P16、P21 的 mRNA 相对表达量均显著高于未辐射组 ($P < 0.05$)。此外，辐射组 SASP 的表达，包括 Col-1、Col-2、IL-6、IL-8、MMP-1、MMP-3 的相对表达量均显著高于未辐射组 ($P < 0.05$)。

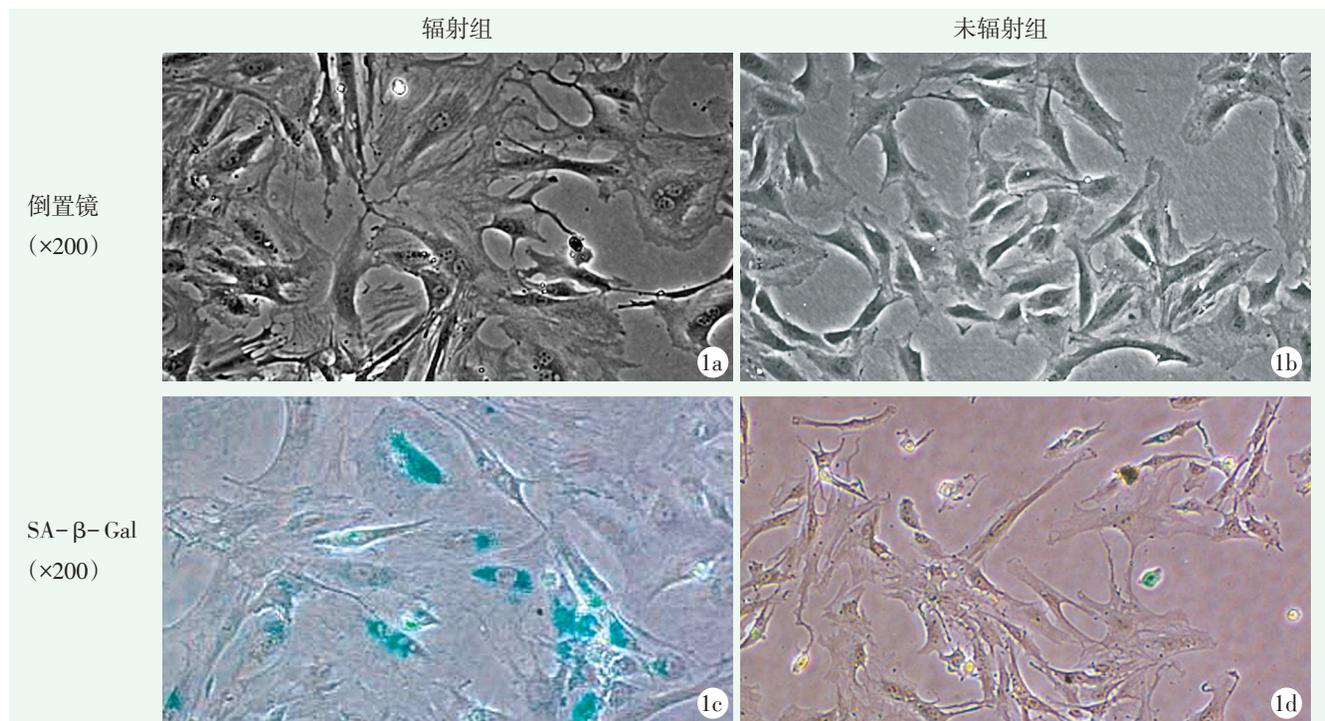


图 1. 细胞镜下图像。1a, 1b: 纤维环细胞形态学改变；1c, 1d: 纤维环细胞 SA-β-Gal 染色结果。

Figure 1. Cellular images. 1a, 1b: Morphological alterations in cells of the annulus fibrosus; 1c, 1d: The results of SA-β-Gal staining for annulus fibrosus cells were obtained.

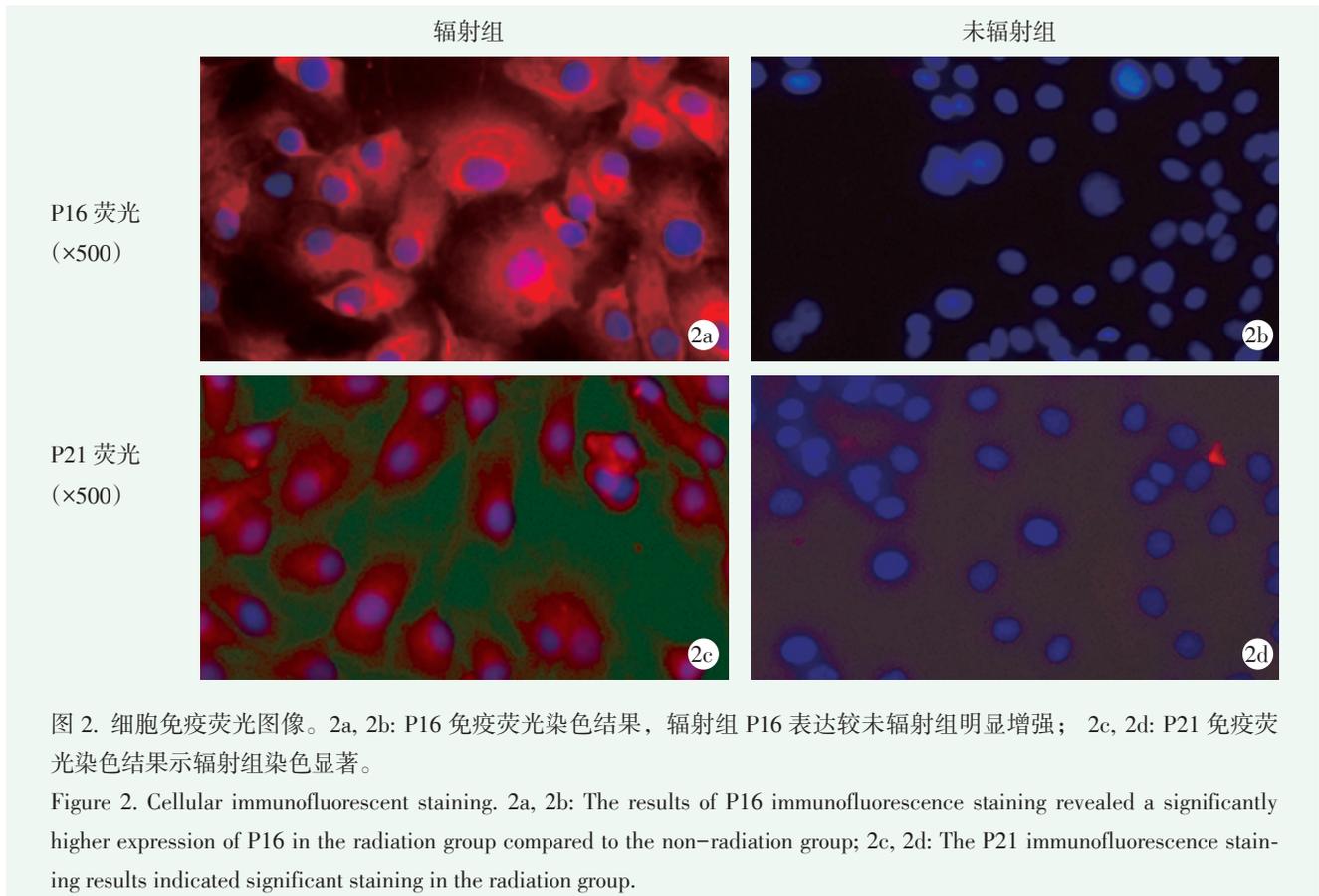


表 1. SD 大鼠椎间盘纤维环细胞细胞体是否辐射检测结果比较

Table 1. Comparison of detection results of cells radiated or not in vitro

指标	辐射组 (n=3)	未辐射组 (n=3)	P 值
5 d 时 SA-β-Gal 测定 (% , $\bar{x} \pm s$)	15.0±0.4	77.2±1.1	<0.001
CCK 检测 (OD 值, $\bar{x} \pm s$)			
1 d	0.16±0.01	0.26±0.02	0.016
3 d	0.18±0.02	0.51±0.02	<0.001
5 d	0.23±0.02	0.98±0.01	<0.001
7 d	0.22±0.03	1.92±0.10	<0.001
9 d	0.19±0.01	3.48±0.07	<0.001
P 值	0.090	<0.001	
PCR (相对表达量, $\bar{x} \pm s$)			
P16	5.2±0.3	1.0±0.1	<0.001
P21	12.9±0.5	1.0±0.1	<0.001
Col-1	1.6±0.1	1.0±0.1	0.004
Col-2	7.0±0.4	1.0±0.1	<0.001
IL-6	7.9±0.2	1.0±0.1	<0.001
IL-8	1.8±0.1	1.0±0.1	0.002
MMP-1	39.2±0.6	1.0±0.1	<0.001
MMP-3	4.5±0.3	1.0±0.1	<0.001

3 讨论

近年来, IDD 的发病率逐年上升且趋于年轻化, 从细胞分子水平探寻椎间盘纤维环的衰老机制, 从而逆转 IDD 已成为研究的热点之一。因此建立一个成熟稳定的细胞衰老模型尤为重要。目前的诱导纤维环细胞衰老的物理诱导法主要有激光照射法、γ 射线照射法等。国外学者研究证实, 过量激光照射传代培养的细胞系, 会引起细胞 DNA 碱基突变, 导致核酸遗传物质改变, 最终诱导细胞衰老甚至凋亡^[4]。国内研究也发现, 随着不同剂量梯度激光的照射, 细胞中衰老相关蛋白的表达会不断增加^[5]。此外, 已有使用 γ 射线诱导细胞衰老乃至建立细胞衰老模型报道^[6]。物理诱导方法简单、可控性强, 对细胞内外环境损伤小, 细胞更接近自然衰老时的状态。

X 射线作为最常见的辐射源, 无论在临床上还是实验室都容易获得, 已有学者应用 X 线成功诱导了关节软骨细胞、神经干细胞等细胞衰老模型^[7, 8]。X 射线通过电离辐射损伤破坏细胞的 DNA 及线粒体, 干扰细胞正常新陈代谢, 抑制细胞增殖, 促使细胞衰老并表现出一系列衰老特征^[9], 如细胞形态学改变、SA-β-gal 阳性表达增加、细胞增值率降低 (CCK-8)、衰老相关基因 (P16、P21) 表达增加等, 这些特征性改变均与本研究的结果一致, 提示电离辐射可以诱导纤维环细胞衰老。

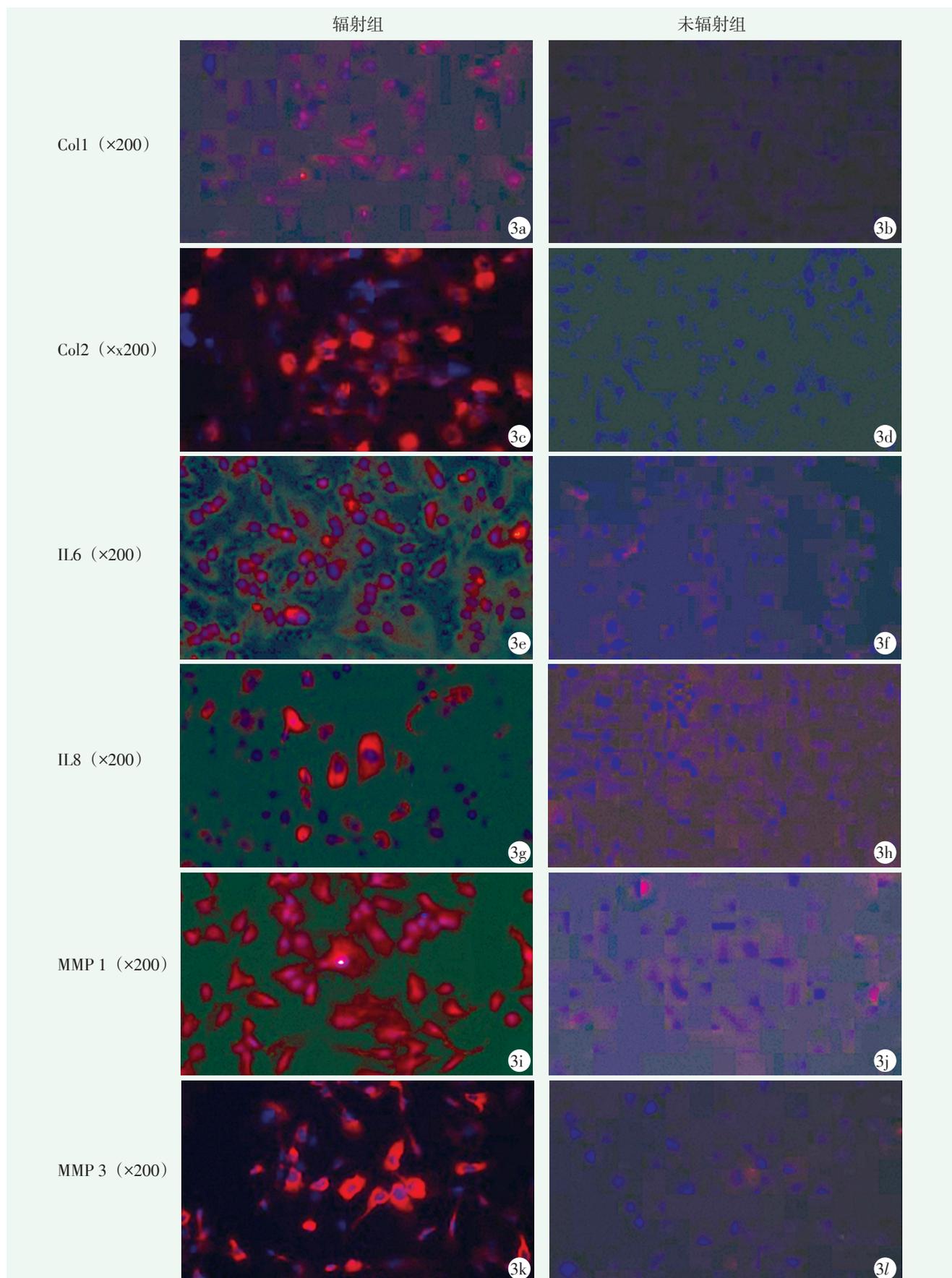


图 3. 细胞免疫荧光图像。免疫荧光检测结果显示, Col-1、Col-2、IL-6、IL-8、MMP-1、MMP-3 的表达, 辐射组荧光强度明显高于未辐射组。

Figure 3. Cellular immunofluorescent staining. The immunofluorescence detection results revealed elevated expression levels of Col-1, Col-2, IL-6, IL-8, MMP-1, and MMP-3 in the radiation group compared to the non-radiation group.

SASP 的概念是由 Coppe 等^[10]在 2008 年首次提出。衰老细胞可通过分泌 SASP 包括促炎细胞因子(如 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8)、生长因子(如 HGF、TGF- β 和 GM-CSF)、趋化因子(如 CXCL-1/3 和 CXCL-10)和基质重塑酶(如金属蛋白酶 MMP-1、MMP-3)等影响细胞微环境^[11],在体内发挥重要的调节作用。一方面 SASP 可以加强衰老细胞的生长阻滞,促进免疫系统清除衰老细胞;另一方面,当衰老细胞增多时,SASP 会表现出负性调节作用,如促进肿瘤血管生成、增加侵袭性、导致慢性炎症等。本研究中经电离辐射处理后的纤维环细胞,其 SASP 的表达包括胶原蛋白(Col-1、Col-2)、促炎细胞因子(IL-6、IL-8)、基质金属蛋白酶(MMP-1、MMP-3)等均明显高于未辐射组纤维环细胞,提示 SASP 与椎间盘纤维环细胞衰老密切相关。

SASP 分泌到细胞外引起的多种细胞外反应中,炎症反应是最重要的一种^[12]。IL-6、IL-8 是参与衰老和年龄相关疾病的关键炎症因子,其表达水平与退行性变的严重程度有关^[13]。有研究表明,在退变的椎间盘纤维环区域内炎症反应非常明显,其中以炎症因子 IL-6 和 IL-8 表达为主^[14]。此外,IL-6 也被认为是椎间盘致痛性炎症因子,其存在水平与 IDD 导致的腰痛程度相关^[15]。同时,炎症因子还可以通过促进氧化应激反应^[16],增加 MMPs 的表达,从而增加聚集蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白的降解,这也被认为是 IDD 的主要显微病理改变^[17]。MMPs 在正常的椎间盘中表达很低,甚至没有,但随着椎间盘的退变,其表达量逐渐上升^[18]。本研究通过 IF、PCR 检测发现,接受 15 Gy 辐射的纤维环细胞,其 MMP-1、MMP-3 的表达均较正常纤维环细胞明显增加,证实了其与细胞衰老的正相关性,同时 IL-6、IL-8 表达的增加,也提示电离辐射诱导纤维环细胞衰老过程中有炎症因子介入,通过氧化应激和炎症反应,加速纤维环细胞的损伤及衰老。

胶原蛋白是椎间盘组织中重要的大分子结构,I 型、II 型胶原蛋白作为椎间盘组织内最主要的两种胶原,在 IDD 的演变中发挥着重要作用,其含量的变化也可作为评判 IDD 程度的重要指标。既往研究显示,IDD 发生后整个椎间盘中 I 型胶原的总体含量升高,而 II 型胶原的含量降低,I 型胶原的比例逐渐升高,从而导致椎间盘生物学及生物力学的变化^[19]。但本研究发现 II 型胶原的增加较 I 型胶原更为显著,有学者得出了类似的结果^[18],他们认为细胞损伤衰老早期分泌的低浓度 SASP 因子可能会刺激细胞变得

更加活跃,从而增强 II 型胶原分泌以抵御损伤。作者认为这可能还与细胞自噬有关,椎间盘细胞可以通过自噬维持 ECM 的稳定性,包括增加 II 型胶原的分泌,从而预防 IDD^[20]。相关研究证实,电离辐射可以通过诱导细胞自噬促进细胞存活^[21],提示电离辐射可能通过自噬调节纤维环细胞分泌 II 型胶原抵御外来刺激,延缓细胞衰老。并且已有研究证明软骨细胞衰老过程中,软骨细胞可以通过自噬增加 II 型胶原的分泌来延缓衰老^[22]。

综上所述,电离辐射能明确诱导纤维环细胞发生衰老,同时其 SASP 的表达亦明显增高,进一步研究 SASP 的生理作用及调节机制,可以为合理干预纤维环细胞衰老奠定基础,为 IDD 疾病的防治提供了新的方向。

参考文献

- [1] 彭兵,杜立龙,张同星,等.椎间盘源性腰痛的发病机制与治疗进展[J].中国矫形外科杂志,2023,31(16):1488-1492. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.16.09.
Peng B, Du LL, Zhang TX, et al. Research progress on the mechanism and treatment of discogenic low back pain [J]. Orthopedic Journal of China, 2023, 31 (16): 1488-1492. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.16.09.
- [2] Hoy D, March L, Brooks P, et al. The global burden of low back pain: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study [J]. Ann Rheum Dis, 2014, 3 (6): 968-974. DOI:10.1136/annrheumdis-2013-204428.
- [3] 万标林,梁伟国.组织工程椎间盘纤维环的研究进展[J].中国矫形外科杂志,2011,19(19):1626-1628. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2011.19.13.
Wan BL, Liang WG. Research progress of tissue-engineered intervertebral disc annulus fibrosus [J]. Orthopedic Journal of China, 2011, 19 (19): 1626-1628. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2011.19.13.
- [4] Sato M, Ishihara M, Kikuchi M, et al. The influence of Ho: YAG laser irradiation on intervertebral disc cells [J]. Lasers Surg Med, 2011, 43 (9): 921-926. DOI: 10.1002/lsm.21120.
- [5] 郑敏, Grogan SP, Schaffner T, 等.被激光损伤软骨释放的凋亡因子诱导软骨细胞凋亡的研究[J].中华医学杂志,2007,87(21):1496-1500. DOI: 10.3760/j.issn:0376-2491.2007.21.015.
Zheng M, Grogan SP, Schaffner T, et al. The study of apoptosis factors released from laser injured cartilage inducing apoptosis of chondrocyte [J]. National Medical Journal of China, 2007, 87 (21): 1496-1500. DOI: 10.3760/j.issn:0376-2491.2007.21.015.
- [6] 金慰芳,朱文菁,王洪复,等.¹³⁷Cs γ 射线照射建立成骨细胞衰老模型的研究[J].中华放射医学与防护杂志,1996,16(3):164-166,218. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.1996.03.110.
Jin WF, Zhu WJ, Wang HF, et al. Establishing an ageing model of

- osteoblasts with ¹³⁷Csγ-ray irradiation [J]. Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection, 1996, 16 (3) : 164–166, 218. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254–5098.1996.03.110.
- [7] Hong EH, Lee SJ, Kim JS, et al. Ionizing radiation induces cellular senescence of articular chondrocytes via negative regulation of SIRT1 by p38 kinase [J]. J Biol Chem, 2010, 285 (2) : 1283–1295. DOI: 10.1074/jbc.M109.058628.
- [8] 任洁, 汪光明, 徐俊. 电离辐射诱导神经干细胞衰老的模型研究 [J]. 同济大学学报 (医学版), 2017, 38 (2) : 11–16. DOI: 10.16118/j.1008–0392.2017.02.003.
- Ren J, Wang GM, Xu J. Establishment of ionizing radiation-induced neural stem cell aging mode [J]. Journal of Tongji University (Medical Science), 2017, 38 (2) : 11–16. DOI: 10.16118/j.1008–0392.2017.02.003.
- [9] Li M, You L, Xue J, et al. Ionizing radiation-induced cellular senescence in normal, non-transformed cells and the involved DNA damage response: a mini review [J]. Front Pharmacol, 2018, 9 : 522. DOI: 10.3389/fphar.2018.00522.
- [10] Coppé JP, Patil CK, Rodier F, et al. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell–nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor [J]. PLoS Biol, 2008, 6 (12) : 2853–2868. DOI: 10.1371/journal.pbio.0060301.
- [11] Ngo K, Patil P, McGowan SJ, et al. Senescent intervertebral disc cells exhibit perturbed matrix homeostasis phenotype [J]. Mech Ageing Dev, 2017, 166 : 16–23. DOI: 10.1016/j.mad.2017.08.007.
- [12] Li X, Li C, Zhang W, et al. Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8 (1) : 239. DOI: 10.1038/s41392–023–01502–8.
- [13] Krupkova O, Sadowska A, Kameda T, et al. p38 MAPK facilitates crosstalk between endoplasmic reticulum stress and IL–6 release in the intervertebral disc [J]. Front Immunol, 2018, 9 : 1706. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01706.
- [14] Sadowska A, Touli E, Hitzl W, et al. Inflammation in cervical and lumbar degenerated intervertebral discs: analysis of proinflammatory cytokine and TRP channel expression [J]. Eur Spine J, 2018, 27 (3) : 564–577. DOI: 10.1007/s00586–017–5360–8.
- [15] Andrade P, Hoogland G, Garcia MA, et al. Elevated IL–1β and IL–6 levels in lumbar herniated discs in patients with sciatic pain [J]. Eur Spine J, 2013, 22 (4) : 714–720. DOI: 10.1007/s00586–012–2502–x.
- [16] McGarry T, Biniiecka M, Veale DJ, et al. Hypoxia, oxidative stress and inflammation [J]. Free Radic Biol Med, 2018, 125 : 15–24. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.03.042.
- [17] Bedore J, Leask A, Séguin CA. Targeting the extracellular matrix: matricellular proteins regulate cell–extracellular matrix communication within distinct niches of the intervertebral disc [J]. Matrix Biol, 2014, 37 : 124–130. DOI: 10.1016/j.matbio.2014.05.005.
- [18] 龙厚清, 陈晓亮, 胡有谷. 基质金属蛋白酶与腰椎间盘突出退变的关系 [J]. 中国矫形外科杂志, 2000, 7 (4) : 393–395. DOI: 10.3969/j.issn.1005–8478.2000.04.027.
- Long HQ, Chen XL, Hu YG. Relationship between matrix metalloproteinases and lumbar disc degeneration [J]. Orthopedic Journal of China, 2000, 7 (4) : 393–395. DOI: 10.3969/j.issn.1005–8478.2000.04.027.
- [19] 赵小丹, 刘浩, 黄富国, 等. I、II 型胶原蛋白在不同损伤类型动物模型椎间盘组织内的含量变化规律 [J]. 华西医学, 2018, 33 (9) : 1146–1152. DOI: 10.7507/1002–0179.201807150.
- Zhao XD, Liu H, Huang FG. Type I and II collagen in intervertebral discs of animal models with different injury–type changes in the content of tissues [J]. West China Medical Journal, 2018, 33 (9) : 1146–1152. DOI: 10.7507/1002–0179.201807150.
- [20] Chen F, Liu H, Wang X, et al. Melatonin activates autophagy via the NF–κB signaling pathway to prevent extracellular matrix degeneration in intervertebral disc [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2020, 28 (8) : 1121–1132. DOI: 10.1016/j.joca.2020.05.011.
- [21] Chaurasia M, Gupta S, Das A, et al. Radiation induces EIF2AK3/PERK and ERN1/IRE1 mediated pro-survival autophagy [J]. Autophagy, 2019, 15 (8) : 1391–1406. DOI: 10.1080/15548627.2019.1582973.
- [22] Lv S, Wang X, Jin S, et al. Quercetin mediates TSC2–RHEB–mTOR pathway to regulate chondrocytes autophagy in knee osteoarthritis [J]. Gene, 2022, 820 : 146209. DOI: 10.1016/j.gene.2022.146209.

(收稿:2023–11–01 修回:2024–05–08)
(同行评议专家:王丹,毛路)
(本文编辑:宁桦)