

· 基础研究 ·

特发性脊柱侧弯脂联素与软骨细胞增殖[△]

王昱翔, 谢江, 张宏其, 李炯, 唐明星*

(中南大学湘雅医院骨科脊柱外科, 湖南长沙 410008)

摘要: [目的] 探讨脂联素是否对特发性脊柱侧弯 (idiopathic scoliosis, IS) 患者关节突软骨细胞的增殖和肥大过程产生影响。[方法] 酶联免疫吸附测定法检测 IS 患者和正常人组的血浆脂联素水平; 提取 IS 患者和正常人组的关节突原代软骨细胞, 用蛋白质免疫印迹方法检测脂联素及其受体 Adipo R1、软骨细胞标志蛋白 Col II 和肥大标志物 Col X 的表达情况。不同浓度脂联素刺激 IS 组软骨细胞, 检测相关蛋白的表达情况。[结果] IS 患者血浆脂联素水平显著高于正常人组 [(19.3±11.5)μg/ml vs (9.5±8.4)μg/ml, $P<0.05$], 且 IS 组女性 [(19.3±11.5)μg/ml vs (11.9±8.8)μg/ml, $P<0.05$] 和男性患者 [(9.3±4.5)μg/ml vs (3.7±3.3)μg/ml, $P<0.05$] 的血浆脂联素水平分别显著高于正常人组女性和男性的水平。IS 患者软骨细胞中脂联素 [(1.4±0.3) vs (1.0±0.1), $P<0.05$]、Adipo R1 [(1.3±0.3) vs (1.0±0.2), $P<0.05$] 和 Col II [(1.8±0.7) vs (1.0±0.7), $P<0.05$] 的蛋白水平显著高于正常人组, 而 Col X [(0.2±0.1) vs (1.0±0.8), $P<0.05$] 的蛋白水平则低于正常人组。不同浓度脂联素刺激 IS 组软骨细胞后, Adipo Q、AdipoR1 的表达水平呈浓度依赖性升高 ($P<0.05$), Col II 和抗凋亡因子 Bcl2 的蛋白水平也显著升高 ($P<0.05$), 而 ColX、Bax 蛋白水平则显著降低 ($P<0.05$)。[结论] 血浆中升高的脂联素水平可能通过上调 AdipoR1、Bcl2 和 Col II, 以及下调 Bax 和 Col X 来促进 IS 患者软骨细胞的增殖并抑制其肥大进程。

关键词: 特发性脊柱侧凸, 软骨细胞, 脂联素, 脂联素受体-1 (AdipoR1)

中图分类号: R682.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2023) 10-0906-06

Adiponectin and chondrocyte proliferation in idiopathic scoliosis // WANG Yu-xiang, XIE Jiang, ZHANG Hong-qi, LI Jiong, TANG Ming-xing. Department of Orthopaedics and Spine Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China

Abstract: [Objective] To explore whether adiponectin has an effect on the proliferation and hypertrophy of articular process chondrocytes in patients with idiopathic scoliosis (IS). **[Methods]** Plasma adiponectin levels in IS patients and normal subjects were detected by ELISA. Primary chondrocytes of the articular process were isolated from IS patients and normal subjects, and the expressions of adiponectin and its receptor AdipoR1, chondrocyte marker Col II and hypertrophy marker ColX were detected by western blotting. Subsequently, the chondrocytes of IS group were stimulated by different concentrations of adiponectin, and the expression of related proteins was detected. **[Results]** The IS group was measured significantly higher plasma adiponectin than the normal group [(19.3±11.5)μg/ml vs (9.5±8.4)μg/ml, $P<0.05$], including the females [(19.3±11.5)μg/ml vs (11.9±8.8)μg/ml, $P<0.05$] and the males [(9.3±4.5)μg/ml vs (3.7±3.3)μg/ml, $P<0.05$]. In addition, the chondrocytes harvested from IS patients were significantly higher than those of normal control in terms of protein expression of adiponectin [(1.4±0.3) vs (1.0±0.1), $P<0.05$], AdipoR1 [(1.3±0.3) vs (1.0±0.2), $P<0.05$] and Col II [(1.8±0.7) vs (1.0±0.7), $P<0.05$], whereas the former had significantly lower Col X than the latter [(0.2±0.1) vs (1.0±0.8), $P<0.05$]. The protein expression of Adipo Q and AdipoR1 in chondrocytes of the IS group increased in a concentration-dependent manner after stimulation with different concentrations of adiponectin ($P<0.05$), the protein levels of Col II and anti-apoptotic factor Bcl2 also significantly increased ($P<0.05$), while the protein levels of ColX and Bax significantly decreased ($P<0.05$). **[Conclusion]** Increased adiponectin levels in plasma might promote the proliferation of chondrocytes and inhibit the hypertrophy process in IS patients by upregulating AdipoR1, Bcl2 and Col II, and downregulating Bax and Col X.

Key words: idiopathic scoliosis, chondrocytes, adiponectin, Adiponectin receptor 1 (AdipoR1)

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.10.09

[△]基金项目:湖南省自然科学基金项目(编号:2020JJ4908、2020JJ4913);中南大学研究生教育教学改革研究项目(编号:2021JGB082);中南大学研究生课程思政建设项目(编号:2022YJSKS032);中南大学教育教学改革研究项目(编号:2021jy122)

作者简介:王昱翔,副主任医师,研究方向:脊柱外科疾病,(电话)13574813226,(电子信箱)wyx3386@csu.edu.cn

*通信作者:唐明星,(电话)15874085404,(电子信箱)Tangmingxing2018@163.com

特发性脊柱侧弯 (idiopathic scoliosis, IS) 是一种病因不明的脊柱三维畸形疾病, 多发于青少年期。全世界 IS 的患病率为 0.5%~5.2%^[1]。IS 的治疗以支具和手术干预为主^[2, 3], 但是支具的作用有限而手术难度大、风险大、费用昂贵。因此, 探究 IS 的确切发病机制, 寻找更经济有效的治疗方法意义重大。

除基因遗传因素外, 生长发育因素也与 IS 发病相关^[4]。Brink 等^[5]发现 IS 患者前柱生长板软骨细胞增殖活跃, 而后柱则增生一般。IS 患者关节突软骨细胞表现出异常增殖和肥大^[6]。小鼠软骨祖细胞中蛋白质精氨酸酶甲基转移酶 5 缺失可以通过引起肥大软骨细胞分化受损和软骨内成骨异常来引起 IS 发生^[7]。

激素也被证明参与 IS 发病。松果体切除可以引起 IS 发生, 其分泌的褪黑素受到学者广泛^[8]。胃饥饿素可能通过促进 IS 患者软骨细胞增殖以及削弱其骨间充质干细胞的成骨分化能力来引起 IS 发病^[9-11]。Clark 等^[12]则发现 10 岁时的体重指数与 15 岁时出现侧弯可能性呈负相关, 瘦素与脊柱侧弯发生呈负相关, 脂联素则呈现正相关性。

脂联素是由脂肪细胞分泌的循环脂肪因子, 通过与其受体结合激活下游信号通路, 影响脂肪、肌肉、骨和软骨等结构和功能。Jiang 等^[13]发现脂联素的表

达在 IS 患者椎旁肌两侧差异显著, 而且凹侧肌肉中相对较高的脂联素水平更是与严重脊柱弯曲和起始年龄提前有关。本团队既往研究也发现脂联素可能通过干预成骨细胞并影响软骨细胞来参与 IS 患者骨量减低过程^[14]。但是, 脂联素是否对 IS 患者关节突软骨细胞的增殖和肥大产生影响并不确定, 因此本文进行了相关研究。

1 资料与方法

1.1 研究对象

用于检测血浆脂联素浓度的正常人组为 2018 年 7 月—2019 年 12 月在本科门诊就诊的非侧弯的 17 例患者, IS 患者组为同期确诊为特发性脊柱侧弯的 20 例患者, 两组年龄、性别和 Risser 征的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。而用于原代软骨细胞提取的正常人组为同期在本科通过手术治疗的 7 例非侧弯骨折或椎间盘突出患者, 侧弯组为同期在本科确诊为特发性脊柱侧凸且接受外科手术治疗的 12 例患者, 两组年龄和性别差异无统计学意义 ($P>0.05$)。本研究获得了中南大学湘雅医院伦理委员会的批准 (No.201703358), 患者及其家属均签署知情同意书。

表 1 试验对象一般资料与比较

指标	血浆脂联素浓度检测			原代软骨细胞提取		
	正常人组 (n=17)	IS 组 (n=20)	P 值	正常人组 (n=7)	IS 组 (n=12)	P 值
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	14.9±1.7	13.9±1.6	0.071	19.1±4.3	16.5±2.3	0.088
性别 (女/男)	12/5	13/7	1.000	3/4	7/5	0.650
Risser 征	3.5±1.3	3.3±1.1	0.483	-	-	-
主弯 Cobb 角 (°, $\bar{x} \pm s$)	-	48.3±22.5	-	-	45.9±15.7	-

1.2 标本获取

用 2 ml EDTA 抗凝真空采血管采集试验对象外周静脉全血, 标本采集 30 min 内于 4°C 1 000×g 离心 15 min, 取血浆上清分装保存于 -80°C。在不影响正常手术治疗的前提下, 于术中获取侧弯组和正常人组的关节突组织标本, 且收集过程无害。

1.3 血浆脂联素水平检测

利用人脂联素酶联免疫试剂盒 (CSB-E07270h, 武汉华美) 测定 IS 患者组和正常人组血浆中脂联素水平。按照试剂盒说明书: 将解冻的血浆样本进行 1 : 500 倍稀释, 按需设置标准品孔 (0, 1.56, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 ng/ml) 和待测样本

孔。每孔分别加标准品或待测样本 100 μ l, 37°C 温育 2 h。弃去液体, 甩干, 每孔加生物素标记抗体工作液 100 μ l, 37°C 温育 1 h。洗板甩干后, 每孔加辣根过氧化物酶标记亲和素工作液 100 μ l, 37°C 温育 1 h。洗板甩干后, 依序每孔加底物溶液 90 μ l, 37°C 避光显色 15 min, 然后再每孔加终止溶液 50 μ l, 5 min 内测量各孔在 450 nm 波长的光密度值。根据标准品孔数值绘制标准曲线, 计算稀释样本浓度, 再乘以稀释倍数后即为本样本实际浓度。

1.4 软骨细胞体外实验

1.4.1 软骨细胞分离

用含 1%青霉素链霉素的磷酸盐缓冲液冲洗侧弯

组和正常人组的关节突组织，仔细解剖并切碎软骨层。切取的软骨在37℃下用0.25%胰蛋白酶消化30 min，用0.1%Ⅱ型胶原酶消化4 h。过筛、离心所得细胞重悬后，在37℃/5% CO₂条件下，用添加10%胎牛血清和1%青霉素链霉素的高糖DMEM（美国HyClone）进行培养。

1.4.2 细胞分组处理

12例IS患者和7例正常人的P3代软骨细胞用于IS组和正常人组的比较实验；96孔板培养的P3代IS组和正常人组软骨细胞进行细胞增殖检测实验；将6孔板培养的P3代IS组和正常人组软骨细胞进行脂联素干预实验，磷酸盐缓冲液清洗后加入含一定浓度脂联素的完全培养基进行干预，脂联素干预的浓度分别为0、2、5 μg/ml，干预时间为24 h。

1.4.3 检测指标

CCK-8（Cell Counting Kit-8）实验：将同样数量的正常人组和IS组软骨细胞均匀接种在96孔板中并培养适当时间，然后根据浓度梯度（0，1，2，5，10，20 μg/ml）加入脂联素至板孔中刺激24 h。随后向每个板孔中加入10 μl CCK-8（翌圣生物科技公司，上海）溶液。在培养箱中孵育2 h后，测量450 nm处的吸光度。实验孔吸光度（含有细胞，培养基和CCK-8孔的吸光度）减去空白孔吸光度（只含有培养基和CCK-8的孔的吸光度）所得的吸光值用于分析比较，并选取合适浓度进行后续脂联素干预实验。

蛋白质免疫印迹反应（western blot）：各实验组软骨细胞的蛋白利用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液提取，并按照之前描述的步骤进行蛋白质免疫印迹反应操作^[6]，最后由ChemiDoc MP Imager（美国伯乐）检测印迹反应。甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH）（10494-1-AP）、B细胞淋巴瘤/白血病-2（B cell lymphoma/leukemia 2, Bcl2）（12789-1-AP）、Bcl2关联X蛋白（Bcl2 associated X, Bax）（50599-2-Ig）和Ⅱ型胶原蛋白（collagen II, Col II）（28459-1-AP）的抗体从Proteintech公司（美国）购买，脂联素（sc-136131）抗体从Santa cruz购买，脂联素受体1（adiponectin receptor 1, AdipoR1）（ab70362）和X型胶原蛋白（collagen X, ColX）（EPR13044）抗体从Abcam公司（英国）购买。用Quantity One 1-D分析软件（美国伯乐）对目标蛋白的表达水平进行定量，参照GAPDH进行标准化分析。

1.5 统计学方法

采用SSPS 22.0软件进行数据的统计分析，计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，资料呈正态分布时，组间比较采用独立样本t检验，组内比较采用单因素方差分析，两两比较采用LSD法；资料呈非正态分布时，采用非参数统计。计数资料采用 χ^2 检验或Fisher精确检验。等级资料采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆脂联素测量结果与分层比较

37例受测量者血浆中脂联素含量结果见表2，IS患者血浆脂联素水平显著高于正常人组（ $P < 0.05$ ）；女性总体血浆脂联素水平显著高于男性（ $P < 0.05$ ），女性IS患者的血浆脂联素水平显著高于女性正常人组（ $P < 0.05$ ）；男性IS患者的血浆脂联素水平也显著高于男性正常人组（ $P < 0.05$ ）。

表2 37例受测量者血浆脂联素检测结果（μg/ml, $\bar{x} \pm s$ ）与分层比较

分组因素	检测结果	P值
IS患者 vs 正常人		0.006
IS患者 (n=20)	19.3±11.5	
正常人 (n=17)	9.5±8.4	
总体 (男性 vs 女性)		0.002
女性 (n=25)	18.6±11.5	
男性 (n=12)	7.0±4.8	
女性 (IS患者 vs 正常人)		0.003
IS患者 (n=13)	24.7±10.5	
正常人 (n=12)	11.9±8.8	
男性 (IS患者 vs 正常人)		0.038
IS患者 (n=7)	9.3±4.5	
正常人 (n=5)	3.7±3.3	

2.2 IS组患者关节突软骨细胞脂联素/AdipoR1及细胞增殖和肥大标志蛋白的表达发生改变

本团队既往研究发现IS患者关节突软骨组织中AdipoR1的蛋白水平显著低于正常人组，而AdipoR2的蛋白水平则在两组间没有明显差异^[14]，但是IS组原代软骨细胞中AdipoR1的蛋白水平是否同样发生改变并不清楚，因此本研究提取了IS患者和正常人的关节突原代软骨细胞并检测了两组原代软骨细胞中脂联素和AdipoR1的蛋白水平。结果见表3，IS组中脂联素和AdipoR1的蛋白表达水平均显著高于正常人组（ $P < 0.05$ ）。

由于本团队前期研究发现 IS 组关节突软骨组织中软骨标志基因 COL2a1 和 COL10a1 的 mRNA 水平与正常人组相比差异明显^[6]，但是这两个标志物在软骨细胞中的蛋白表达水平情况还不确定。所以本研究同时检测了 IS 患者和正常人的关节突原代软骨细胞中 ColIII 和 ColX 的蛋白水平。如表 3 所示，IS 组 ColIII 的蛋白水平显著高于正常人组 ($P<0.05$)；而 IS 组 ColX 的蛋白水平则显著低于正常人组 ($P<0.05$)。

表 3 两组受试者关节突软骨细胞 Western blot 检测结果 (相对表达量, $\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	IS 组 (n=12)	正常人组 (n=7)	P 值
脂联素	1.4±0.3	1.0±0.1	0.038
AdipoR1	1.3±0.3	1.0±0.2	0.036
Col II	1.8±0.7	1.0±0.7	0.047
ColX	0.2±0.1	1.0±0.8	0.023

2.3 软骨细胞体外增殖

关节突软骨细胞 CCK-8 检测结果见表 4，与 0 $\mu\text{g/ml}$ 浓度组相比，2、5 $\mu\text{g/ml}$ 浓度 IS 组患者软骨细胞的数量显著升高 ($P<0.05$)；而在更高浓度 (10、20 $\mu\text{g/ml}$) 脂联素组，软骨细胞数量却不再持续增加。同样浓度梯度的脂联素刺激正常人组软骨细胞后，只有 2 $\mu\text{g/ml}$ 对正常人组的软骨细胞增殖有一定促进作用。而且，不管是刺激前还是刺激后，IS 组软骨细胞数量均显著高于正常人组 ($P<0.05$)。结果表明，2、5 $\mu\text{g/ml}$ 脂联素刺激都可以促进 IS 患者的软骨细胞增殖，且 5 $\mu\text{g/ml}$ 浓度刺激效果最佳。

表 4 两组受试者关节突软骨细胞 CCK-8 检测结果 (OD 值, $\bar{x} \pm s$) 与比较

脂联素 ($\mu\text{g/ml}$)	IS 组 (n=12)	正常人组 (n=7)	P 值
0	2.0±0.1	1.8±0.1	0.005
1	2.1±0.1	1.9±0.1	0.004
2	2.2±0.1	1.9±0.0	0.005
5	2.3±0.1	1.9±0.0	0.004
10	2.2±0.1	1.9±0.1	0.006
20	2.1±0.1	1.8±0.1	0.008
P 值	<0.001	0.221	

2.4 脂联素促进 IS 患者关节突软骨细胞增殖并抑制其肥大

根据 CCK-8 实验结果，选取 0、2、5 $\mu\text{g/ml}$ 的浓

度梯度进行后续脂联素干预实验。如图 1a 和表 5 所示，随脂联素浓度增加，两组 Adipo Q、AdipoR1 的表达水平均显著增加 ($P<0.05$)，Bcl2/Bax 比值显著增加 ($P<0.05$)；IS 组 Bcl2、Col II 表达量显著升高 ($P<0.05$)，Col X、Bax 显著降低 ($P<0.05$)，而正常人组 Bcl2、Col II、Bax 表达量的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。2 $\mu\text{g/ml}$ 脂联素浓度时，两组 Adipo Q、Adipo R1、Bax、Col X、Col II 表达量差异无统计学意义 ($P>0.05$)，IS 组 Bcl2、Bcl2/Bax 比值显著高于正常人组 ($P<0.05$)，但 5 $\mu\text{g/ml}$ 脂联素浓度时，IS 组 Adipo Q、AdipoR1、Bcl2、Bcl2/Bax 比值、Col II 均显著高于正常人组 ($P<0.05$)，Col X 显著低于正常人组 ($P<0.05$)，而 Bax 差异无统计学意义 ($P<0.05$) (图 1b、表 5)。

本结果表明，IS 患者关节突软骨细胞中脂联素以及 AdipoR1 的表达水平呈脂联素刺激浓度依赖性显著升高，IS 患者关节突软骨细胞的特异性标志蛋白和增殖相关因子的表达则较正常人组更容易受到脂联素刺激的影响。这表明 IS 患者关节突软骨细胞的细胞增殖活跃、肥大过程被抑制可能与 IS 患者脂联素及其受体 AdipoR1 的高表达水平相关。

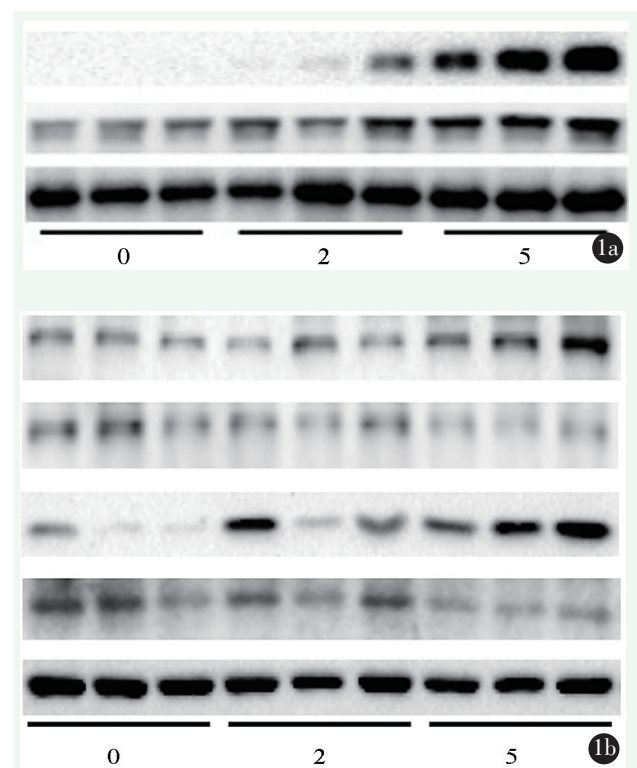


图 1 0、2 和 5 $\mu\text{g/ml}$ 脂联素刺激 IS 患者软骨细胞后不同标志物 western blot 检测电泳图 1a: 脂联素, AdipoR1 和 GAPDH 检测电泳图 1b: Col II, ColX, Bcl2, Bax 和 GAPDH 检测电泳图

表 5 不同 AdipoQ 浓度干预下两组受试者关节突软骨细胞 Western blot 检测结果 (相对表达量, $\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	IS 组 (n=12)	正常人组 (n=7)	P 值
Adipo Q			
0 ($\mu\text{g/ml}$)	1.0 \pm 0.4	1.0 \pm 0.2	>0.999
2	9.8 \pm 7.1	7.9 \pm 0.6	0.605
5	312.1 \pm 129.7	21.8 \pm 1.6	0.004
P 值	<0.001	<0.001	
Adipo R1			
0 ($\mu\text{g/ml}$)	1.0 \pm 0.5	1.0 \pm 0.5	>0.999
2	2.2 \pm 0.4	1.7 \pm 0.7	0.263
5	3.0 \pm 0.2	2.4 \pm 0.3	0.011
P 值	<0.001	0.011	
Bcl2			
0 ($\mu\text{g/ml}$)	1.0 \pm 0.9	1.0 \pm 0.3	>0.999
2	4.8 \pm 2.5	1.1 \pm 0.3	0.028
5	7.0 \pm 2.6	1.1 \pm 0.2	0.004
P 值	0.011	0.763	
Bax			
0 ($\mu\text{g/ml}$)	1.0 \pm 0.1	1.0 \pm 0.2	>0.999
2	0.8 \pm 0.2	0.7 \pm 0.3	0.622
5	0.5 \pm 0.0	0.7 \pm 0.3	0.185
P 值	<0.001	0.218	
Bcl2/Bax			
0 ($\mu\text{g/ml}$)	1.0 \pm 0.6	1.0 \pm 0.2	>0.999
2	4.3 \pm 2.1	1.7 \pm 0.5	0.010
5	11.1 \pm 3.0	1.8 \pm 0.5	0.004
P 值	0.002	0.045	
Col X			
0 ($\mu\text{g/ml}$)	1.0 \pm 0.2	1.0 \pm 0.4	>0.999
2	0.7 \pm 0.3	1.1 \pm 0.3	0.172
5	0.5 \pm 0.3	1.1 \pm 0.1	0.007
P 值	<0.001	0.881	
Col II			
0 ($\mu\text{g/ml}$)	1.0 \pm 0.4	1.0 \pm 0.2	>0.999
2	1.0 \pm 0.4	1.1 \pm 0.2	0.675
5	2.1 \pm 0.8	1.2 \pm 0.0	0.046
P 值	0.038	0.519	

3 讨论

报道显示 IS 患者在青春期生长速度较正常人更快^[15], IS 女性患者的关节与正常人组相比更松弛^[16, 17], 提示 IS 患者的骨骼生长和软骨内骨化等过程发生异常并可能在 IS 发病中起重要作用, 但是这

些异常产生的机制目前并不清楚。多种激素被发现参与 IS 患者的脊柱异常发育, 如褪黑素、瘦素、胃饥饿素和脂联素等^[11, 14, 18, 19]。脂联素是 1995 年 Scherer 等在小鼠脂肪细胞获取到一个新基因, 其编码的蛋白与补体因子 C1q 结构相似^[20]。人体血浆脂联素浓度约为 5~30 $\mu\text{g/ml}$, 是血浆中含量较高的特异性内源性脂肪细胞因子, 其在不同性别的含量差异较大, 男性血浆中脂联素含量低于女性^[21]。作者发现 IS 患者血浆脂联素含量明显高于正常人; 而根据性别不同进行的进一步分析显示, 整体女性血浆脂联素水平确实显著高于男性, 但 IS 女性患者和男性患者的血浆脂联素水平则分别显著高于正常女性和男性组。血浆脂联素水平呈现出的性别差异与临床上观察到的 IS 女性患者多于男性患者的现象相符^[22], 由此本研究推测 IS 发病的性别差异可能与血浆脂联素水平差异相关, 但还需要更多的研究来确认。

脂联素一般通过结合脂联素受体在多种生理活动中发挥重要作用, 但是关于其对 IS 患者软骨细胞具体作用的研究还鲜有报道。软骨细胞中重要的两个特异性标志物为 Col II 和 ColX, 分别由 COL2A1 和 COL10A1 基因编码。正常成人的软骨细胞一般来说不主动分泌 ColX, 只有在其肥大变性后才会主动分泌, 而软骨细胞肥大是软骨内成骨的关键步骤^[23]。既往研究结果显示 IS 患者关节突软骨层较正常人组更窄, 软骨陷窝的大小也更小, 但是 IS 组软骨表层和中间层有更多细小细胞, 增殖细胞数显著高于正常人组, 而 IS 组凹凸侧间无明显差异; 与正常人组相比, IS 组 COL2A1 的 mRNA 水平升高而 COL10A1 的 mRNA 水平则降低^[6]。在本研究中作者同样发现与正常人组相比, IS 组关节突软骨细胞中 Col II 的蛋白表达水平显著上升, 而 ColX 的蛋白水平明显下降, 这些都表明 IS 组患者关节突软骨细胞的增殖过程受到促进作用, 但其肥大过程却受到抑制。本研究同时也发现 IS 患者关节突原代软骨细胞中脂联素和受体 AdipoR1 的蛋白表达显著高于正常人组, 提示 IS 患者软骨细胞的增殖和肥大过程异常可能与脂联素及其受体 AdipoR1 表达上调相关。

为明确上述 IS 患者关节突软骨细胞的增殖和肥大过程是否受到脂联素及其受体水平升高影响, 我们利用不同浓度脂联素刺激 IS 患者关节突软骨细胞, 结果显示 Col II 的蛋白水平在高浓度脂联素刺激下显著增加; ColX 的蛋白水平则在高浓度脂联素刺激下显著降低, 同时伴随有 Bcl2/Bax 比值升高。而这种 Bcl2/Bax 比值升高标志着细胞凋亡受到

抑制, 增殖增加^[24]。提示脂联素及其受体 AdipoR1 的表达升高可以促进 IS 组患者关节突软骨细胞增殖过程, 抑制其肥大过程, 并且这种影响可能是通过上调 Bcl2/Bax 来引起的。但是, 本实验存在其局限性, 首先实验中的样本数量较少, 其次脂联素上调 Bcl2/Bax 的机制没有研究, 因此后续需要扩大样本量并更深入地探索脂联素影响 IS 患者软骨发育的确切分子机制。

综上所述, 本研究发现了 IS 患者关节突软骨细胞中 Col II 的表达较正常人组上调, 而 ColX 表达则下调, 这种改变可能与脂联素及其受体 AdipoR1 激活从而促进 Bcl2/Bax 的表达改变相关。脂联素可能通过影响关节突软骨细胞进而导致脊柱异常生长, 因此本研究在一定程度上揭示了血浆脂联素水平升高在 IS 发病中的可能作用, 为全面揭示 IS 发病机制奠定了理论基础。

参考文献

- [1] Konieczny MR, Senyurt H, Krauspe R. Epidemiology of adolescent idiopathic scoliosis [J]. *J Child Orthop*, 2013, 7 (1): 3-9.
- [2] 买硕, 曾岩, 袁磊, 等. 青少年特发性脊柱侧凸支具治疗效果影响因素的研究现状 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2020, 28 (11): 942-945.
- [3] 陈绍丰, 李雄飞, 李博, 等. 青少年特发性脊柱侧凸术后女性妊娠相关问题 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2022, 30 (4): 333-336.
- [4] Fadzani M, Bettany-Saltikov J. Etiological theories of adolescent idiopathic scoliosis: Past and present [J]. *Open Orthop J*, 2017, 11: 1466-1489.
- [5] Brink RC, Schlosser TPC, Colo D, et al. Anterior spinal overgrowth is the result of the scoliotic mechanism and is located in the disc [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2017, 42 (11): 818-822.
- [6] Li J, Yang G, Liu S, et al. Suv39h1 promotes facet joint chondrocyte proliferation by targeting miR-15a/Bcl2 in idiopathic scoliosis patients [J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11 (1): 107.
- [7] Liu Z, Ramachandran J, Vokes SA, et al. Regulation of terminal hypertrophic chondrocyte differentiation in Prmt5 mutant mice modeling infantile idiopathic scoliosis [J]. *Dis Model Mech*, 2019, 12 (12): dmm041251.
- [8] Ouellet J, Odent T. Animal models for scoliosis research: state of the art, current concepts and future perspective applications [J]. *Eur Spine J*, 2013, (22 Suppl 2): S81-95.
- [9] Liang ZT, Li J, Rong R, et al. Ghrelin up-regulates cartilage-specific genes via the ERK/STAT3 pathway in chondrocytes of patients with adolescent idiopathic scoliosis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 518 (2): 259-265.
- [10] Xiao L, Zhang H, Wang Y, et al. Dysregulation of the ghrelin/RANKL/OPG pathway in bone mass is related to AIS osteopenia [J]. *Bone*, 2020, 134: 115291.
- [11] Barre R, Beton N, Batut A, et al. Ghrelin uses the GHS-R1a/Gi/cAMP pathway and induces differentiation only in mature osteoblasts. This ghrelin pathway is impaired in AIS patients [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2020, 24: 100782.
- [12] Clark EM, Taylor HJ, Harding I, et al. Association between components of body composition and scoliosis: a prospective cohort study reporting differences identifiable before the onset of scoliosis [J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29 (8): 1729-1736.
- [13] Jiang H, Yang F, Lin T, et al. Asymmetric expression of H19 and ADIPOQ in concave/convex paravertebral muscles is associated with severe adolescent idiopathic scoliosis [J]. *Mol Med*, 2018, 24 (1): 48.
- [14] Zhang HQ, Wang LJ, Liu SH, et al. Adiponectin regulates bone mass in AIS osteopenia via RANKL/OPG and IL6 pathway [J]. *J Transl Med*, 2019, 17 (1): 64.
- [15] Guo X, Chau WW, Chan YL, et al. Relative anterior spinal overgrowth in adolescent idiopathic scoliosis--result of disproportionate endochondral-membranous bone growth? Summary of an electronic focus group debate of the IBSE [J]. *Eur Spine J*, 2005, 14 (9): 862-873.
- [16] Binns M. Joint laxity in idiopathic adolescent scoliosis [J]. *J Bone Joint Surg Br*, 1988, 70 (3): 420-422.
- [17] Czaprowski D, Kotwicki T, Pawlowska P, et al. Joint hypermobility in children with idiopathic scoliosis: SOSORT award 2011 winner [J]. *Scoliosis*, 2011, 6: 22.
- [18] 杨志洲, 杨成伟, 高瑞, 等. 腹腔注射褪黑素受体拮抗剂对鸡脊柱发育的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2009, 17 (15): 1170-1171.
- [19] Matusik E, Durmala J, Olszanecka-Glinianowicz M, et al. Association between bone turnover markers, leptin, and nutritional status in girls with adolescent idiopathic scoliosis (AIS) [J]. *Nutrients*, 2020, 12 (9): 2657.
- [20] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270 (45): 26746-26749.
- [21] Pfabigan DM, Vezzani C, Thorsby PM, et al. Sex difference in human olfactory sensitivity is associated with plasma adiponectin [J]. *Horm Behav*, 2022, 145: 105235.
- [22] Sung S, Chae HW, Lee HS, et al. Incidence and surgery rate of idiopathic scoliosis: a nationwide database study [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18 (15): 8152.
- [23] Kitagawa A, Yamaguchi M, Fujiwara A, et al. Genistein inhibits chondrogenic differentiation and mineralization of ATDC5 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 566: 123-128.
- [24] Ala M, Jafari RM, Nematian H, et al. Sodium selenite modulates IDO1/kynurenine, TLR4, NF-kappaB and Bcl2/Bax pathway and mitigates acetic acid-induced colitis in rat [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2022, 56 (S1): 24-35.

(收稿:2022-08-13 修回:2023-03-28)

(同行评议专家: 刘凌 许炜 陈小明)

(本文编辑: 宁桦)