

· 综述 ·

microRNA 在椎间盘退行性变中的研究进展

孙宝, 朱浩, 沈强

南京医科大学附属上海一院临床医学院骨科, 上海 200080

摘要: 微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类长度在 18~24 bp 的小型非编码 RNA 分子,它主要调节转录后基因表达,通过特异性识别相关序列阻断蛋白翻译或诱导 mRNA 的降解,miRNA 分子参与髓核细胞增殖、凋亡、细胞外基质成分改变、软骨终板细胞变性等调控椎间盘退变的发生和发展。本文综述 miRNA 在椎间盘退行性变(IDD)发病机制中的研究进展,希望能为 IDD 的诊断和临床治疗提供新的参考依据和思路。

关键词: 椎间盘退变; 微小核糖核酸; 髓核细胞; 软骨终板; 靶向治疗

中图分类号: R 681.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2020)08-1131-04

椎间盘退行性变(intervertebral disc degeneration, IDD)是临床上引起腰痛的主要原因,是椎间盘突出、椎管狭窄、脊柱畸形等疾病发生的病理基础。腰痛严重影响人们的工作能力和生活质量,全球范围内有 5.4 亿人因腰痛长期丧失活动能力^[1],在 300 多种导致人类残疾发生的疾病中腰痛是最主要致病原因^[2]。IDD 的确切发病机制尚未阐明,一些流行病学研究认为是由遗传、年龄、性别、易感损伤、环境等多种因素共同引起的 IDD 内环境变化的结果。有研究认为遗传因素椎间盘退行性变的主要危险因素约占 70%^[3]。微小 RNAs (microRNAs, miRNAs)是一类小型非编码 RNA,在哺乳动物体内,miRNAs 调控多达 50% 的蛋白质编码基因的活性^[4]。近年来,大量研究发现 miRNA 与椎间盘退变发生相关基因的表达有关。miR-532 和 miR-27a 的上调诱导椎间盘髓核细胞凋亡^[5-6];miR-10b 和 miR-21 的上调促进椎间盘髓核细胞的异常增殖^[7-8];miR-194 表达可以通过抑制脂多糖诱导的炎症反应,增加胶原和蛋白多糖的合成^[9]。本文综述近年 miRNA 在椎间盘退行性变中的研究进展,了解椎间盘退变的分子生物学机制,以期为 IDD 诊断和治疗提供新的思路。

1 miRNA 的生物学特征及作用机制

miRNAs 是一类长度 18~24 个核苷酸序列的单链非编码小分子 RNA,在真核生物中广泛存在,1993 年,Leer 等^[10]在线虫中发现第一个 miRNA 并命名为 lin-4 的基因,它可以通过抑制 lin-14 基因的表达来调节线虫的发育。随着分子生物学技术的发展,越来越多的 miRNA 被人们所观察到,迄今已发现 2 675 个人类成熟 miRNA,其中超过 1 500 个 miRNA 可以调控基因的表达^[11]。细胞核 miRNA 基因在 RNA 聚合酶 II 作用下转录生成初始 miRNA,长度大约为 300~1 000 个核苷酸的 Pre-miRNA 经过 Drosha 酶处理后,成为具有茎环结构,长度为 70~90 个核苷酸的前体初级 miRNA,前体初级 miRNA 在 Ral1-GTP 依赖的核质/细胞质转运蛋白 Export-in5 蛋白的作用

下被转运至细胞质,又在 RNA 酶 III Dicer 核酸内切酶的进一步切割作用下,形成成熟的 miRNA,它通过与互补靶基因的 mRNA 的未翻译区域结合而导致转录后沉默或 mRNA 降解来抑制基因的表达^[12]。miRNA 可以调控生物个体的许多生理活动,如增殖、分化、凋亡、生长、自噬、炎症反应等诸多过程^[13]。

2 IDD 的发病机制

正常椎间盘由中央的髓核(nucleus pulposus, NP)、外层的纤维环(annulus fibrosus, AF)和上下软骨终板组成。椎间盘的退变一般自 20 岁开始,它是机体最早退变且随年龄增长程度不断加重的组织,IDD 的特征改变是 NP 内蛋白聚糖和 II 型胶原的减少及其导致的 NP 含水量下降,目前认为椎间盘退变是由椎间盘 NP 细胞减少,细胞外基质含量如蛋白聚糖减少和 II 型胶原转变成 I 型胶原。共同作用使得软骨终板发生变性、纤维环破裂和髓核突出等改变^[14],最终使得椎间盘机械作用强度下降,结构破坏发生退行性变。

2.1 miRNA 与髓核细胞异常增殖机制 越来越多的学者认为髓核细胞的异常增殖与 IDD 的进展密切联系,IDD 的病理特征之一就是 NP 细胞的异常增殖,形成细胞簇,抑制椎间盘细胞的自我修复能力^[15]。近年来研究表明,miRNA 可通过调控 NP 细胞异常增殖影响 IDD 的进程。Yu 等^[8]研究从椎间盘退变患者 NP 组织中 miR-10b 的表达高于特发性脊柱侧弯患者,miR-10b 含量与椎间盘退变分级程度呈正相关,miR-10b 过表达,可通过 HOXD10 来抑制 Rhoc-Akt 信号通路来增加 NP 细胞增殖。Liu 等^[7]研究证实 miR-21 负向调控磷酸酶和紧张素同源物(PTEN)基因表达来激活 PI3K/Akt 信号通路,促进 NP 细胞异常增殖;Li 等^[16]发现 miR-184 直接靶向特异性生长抑制蛋白-1(growth arrest specific 1, GAS1),GAS1 是一种肿瘤抑制蛋白,它可通过抑制 Akt 的活性负向调控肿瘤细胞的增殖,而 miR-184 过表达可降低 GAS1,从而诱导 Akt 磷酸化,促

进 NP 细胞增殖。Tan 等^[17]发现退行性人类 NP 样本中 miR-665 的表达水平上调,随着椎间盘退变的加重,miR-665 表达水平逐渐升高,而且 miR-665 表达水平与椎间盘退变分级呈正相关。miR-665 的表达升高促进了 NP 细胞的增殖。Tao 等^[18]学者采用逆转录定量聚合酶链反应研究检测 miR-96 在 IDD 患者的 NP 组织和创伤性腰椎骨折患者的健康组织中表达情况,使用双荧光素酶分析证实富含 AT 结构域 2(AT-rich interaction domain 2, ARID2)是 miR-96 的直接靶基因,结果表明,miR-96 可能通过作用于靶向 ARID2 激活 Akt 通路磷酸化可促进人退化 NP 细胞增殖,这可能成为 IDD 的治疗靶点。上述研究表明 miRNA 与髓核细胞异常增殖密切相关,可通过调控 miRNA 作用的靶基因活性,来延缓 IDD 的发生。

2.2 miRNA 与髓核细胞凋亡机制 细胞凋亡是机体为了维持内环境的稳态,由基因控制的细胞自主程序性死亡。在人 NP 细胞凋亡过程中外源性和内源性通路均起重要的作用。髓核细胞的凋亡使得椎间盘组织中髓核细胞的数量减少,破坏了椎间盘的结构和功能,椎间盘容易发生退变。外源性信号通路主要是 FasL-Fas 信号通路,其由 Fas 相关的含死亡域蛋白(FADD)和 caspase 3 通路组成, NP 细胞表达 FasL 可诱导侵袭性 FasL 阳性活化细胞毒性 T 淋巴细胞(CTLs)凋亡,从而增强了 NP 的免疫功能。而内源性凋亡信号通路起源于线粒体,涉及抗凋亡蛋白(B-cell lymphoma leukemia-2, Bcl-2)家族的活化。髓核细胞中磷酸化的存活蛋白 AKT 过分表达。激活磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/AKT 信号通路调控细胞生长、增殖、迁移和粘附。PIK3 以抑制 PI3K/Akt 信号通路的激活, PIK3 的低表达可以抑制磷酸化 Akt 蛋白的表达 PI3K/AKT 信号通路的激活调控着包括细胞生长、增殖、迁移和粘附在内的各种细胞过程,而髓核细胞则强烈表达磷酸化的生存蛋白 AKT。Liu 等^[6]研究结果表明,miR-27a 在椎间盘退变个体中过表达,miR-27a 上调以 PI3K 为靶点,诱导髓核细胞凋亡。研究发现,miR-155 能抑制 GAS5 的表达,而 GAS5 过表达可下调 Bcl-2 的表达和上调 caspase 蛋白的表达,促进髓核细胞的凋亡,因此,miR-155 可负向调控髓核细胞的凋亡^[19-20]。Sun 等^[21]研究发现,与健康组织相比,miR-499a-5p 在人退变髓核组织中表达下降,miR-499a-5p 通过直接靶点 sex-determining region Y-box(SOX4)可抑制 TNF- α 延缓 NP 细胞凋亡和细胞外基质的降解。Wang 等^[22]发现,在退行性 NP 细胞中 miR-573 含量过表达,作用于促凋亡蛋白 Bax 使其表达下调,抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达上升,同时细胞凋亡蛋白酶 caspase-3 和 caspase-9 表达量下降,共同作用抑制 NP 细胞凋亡。Zhang 等^[23]对 12 例脊柱侧弯患者的髓核组织和椎间盘退变髓核组织分别用反转录定量聚合酶链反应检测 miR-210 的表达水平,发现退变椎间盘髓核组织中 miR-210 表达水平明显下降,他们认为 miR-210 的低表达可抑制靶蛋白 HOXA9 的表达,进而负向调控髓核细胞的凋亡,抑制椎间盘退变的发展。此外,miR-143, miR-494, miR-145 也可通过相应调控髓核细胞的凋亡,加快或延迟椎间盘退变的发生^[24-26]。

2.3 miRNA 调控细胞外基质降解和合成 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是细胞产生并生存的微环境,正常的细

胞外基质由胶原、蛋白聚糖、非胶原蛋白、弹性纤维、水分和糖蛋白等组成,其中主要成分是蛋白聚糖和 II 型胶原,蛋白聚糖与水结合提供膨胀力,可对抗椎间盘受到的压缩和防止水的过度流失。目前认为 IDD 主要病理特征为椎间盘内胶原蛋白和蛋白聚糖的含量减少,诸多学者研究发现 miRNA 调控细胞外基质主要通过基质金属蛋白酶和炎症反应等过程。

2.3.1 miRNA 与基质金属蛋白酶 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一类广泛存在于人体的含锌的蛋白水解酶家族,可以降解大部分细胞外基质成分,到目前已发现 28 种基质金属蛋白酶,它和具有血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTSs)是降解胶原蛋白和蛋白聚糖的主要酶,两者共同作用使得细胞外基质含量减少,椎间盘退变进一步发展^[27]。Xu 等^[28]发现 miR-133a 可通过抑制 MMP-9 的表达增加细胞外基质中 II 型胶原蛋白的合成,延缓椎间盘退变的发生。Tan 等^[17]发现生长分化因子 5(growth differentiation factor 5, GDF5)是 miR-665 在 NP 细胞中的直接靶基因,miR-665 的过表达通过抑制 NP 细胞中 GDF5 的表达而增加了 MMP-3 和 MMP-13 的合成,进而降低 II 型胶原蛋白和蛋白聚糖的合成,促进椎间盘退变的发生。Zhang 等^[29]利用免疫组织化学法和免疫蛋白印迹法显示,髓核细胞中 miR-155 过表达导致小鼠髓核细胞中 MMP-16 的表达下调同时 II 型胶原蛋白和蛋白聚糖的含量增加;而 miR-155 的下调导致小鼠 NP 中 MMP-16 的表达上调, MMP-16 进一步降解细胞外基质中蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白的含量,导致椎间盘脱水和退变。Shi 等^[30]发现 miR-202-3p 可通过下调靶点基因 MMP-1 的含量来增加 II 型胶原蛋白的合成,延缓 IDD 的发展。Wang 等^[22]研究显示,miR-223 过表达后, MMP(ADAMTS4, ADAMTS5, MMP-3 和 MMP-13)表达下降,抑制了细胞外基质成分的降解。上述 miRNA 可通过调节相应靶基因,最终作用于 MMP 家族来调控细胞外基质的动态平衡,虽然目前实验发现通过 MMP 途径来调控细胞外基质含量的 miRNA 越来越多,但多局限于表达水平,相互关联及调节过程的级联方式尚不明确需要进一步实验佐证以期辅助临床治疗。

2.3.2 miRNA 与炎症反应 虽然 IDD 的发生机制尚不明确,但越来越多的研究表明炎症反应在 IDD 的发生发展中起着关键作用^[31],炎症因子相互作用和异常表达可破坏细胞外基质代谢的平衡,引起炎症反应,加快 IDD 的发生。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素(interleukin, IL)、一氧化氮、前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)等炎症因子是椎间盘组织发生炎症反应的主要因素。目前研究认为 miRNA 可多向调控作用于炎症因子,加快或延缓 IDD 的进程。Sun 等^[32]研究用 miR-181a 处理小鼠 NP 细胞时, TNF-a、TGF-B1、IL-6 和 IL-13 的表达显著降低,进一步研究证实 miR-181a 的上调可以缓解炎症反应。通过抑制 TRAIL 使 ERK 通路失活,从而抑制炎症反应,延缓 IDD 发生。Qin 等^[33]发现 miR-149 通过靶向蛋白 Myb8 抑制 TLR4 信号通路,抑制脂多糖诱导的炎症细胞因子包括 TNF-a、IL-1、IL-6 的产生,导致 ECM 降解降低和 NP 细胞凋亡。Zhang 等^[34]研究认为 miR-140-5p 的过表

达也可抑制 TLR 通路, TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 炎症细胞因子分泌降低, 抑制了 NF-KB 信号的活化, 增加了胶原和蛋白聚糖的合成, 减少细胞外基质降解, 维持细胞外基质的平衡。此外, miR-194 也通过靶向 TRAF6 抑制脂多糖诱导的椎间盘 NP 细胞炎症反应, 这可能有助于 IDD 生物治疗的发展。

2.4 miRNA 在软骨终板中作用 椎体在生长发育过程中椎体上下面的骨骺板骨化停止后形成轻度凹陷的骨板即为椎体终板, 软骨终板是覆盖在椎体终板中央的薄层透明软骨, 椎间盘突出发展过程中最重要的是软骨终板的退变。Nachemson 等^[35]首次提出 IDD 最早开始于软骨终板, 且椎体与软骨终板的分离是最先发生得病理学改变。椎间盘作为体内最大的无血管组织, 其获取营养的主要途径是营养物质通过软骨终板的骨髓腔-血窦-软骨终板扩散进入髓核组织。软骨终板的主要细胞外基质成分为 II 型胶原蛋白和蛋白聚糖, 负责维持软骨基质的合成与代谢, 软骨终板基质成分的破坏阻碍髓核营养运输的同时使得代谢产物在椎间盘内积累, 加速 IDD。此外, 间歇性循环机械张力 (intermittent cyclic mechanical tension, ICMT) 可通过相关信号通路诱导终板软骨细胞变性。目前诸多研究表明, miRNA 可以使软骨终板细胞变性或破坏终板基质成分, 加速 IDD。Zheng 等^[36]检测颈椎病组患者和颈椎骨折组患者软骨终板内相关基因表达, 发现颈椎病组患者终板软骨 2A-胶原蛋白和蛋白聚糖含量较颈椎骨折组患者低, 表明 IDD 伴有明显的终板软骨退变。且通过微阵列的方式获取终板软骨细胞基因表达谱, 发现应用 ICMT 后, 软骨终板的 miR-365 的表达变化最为显著, miR-365 可能和组蛋白去乙酰化酶有关, 组蛋白去乙酰化酶是通过调节染色质结构和抑制关键转录因子的活性来调节细胞的生长发育和增殖分化。进一步研究发现 miR-365 可以通过促进组蛋白去乙酰化酶-4 的过表达来抑制 ICMT 诱导软骨终板细胞的变性。有文献报道, miR-34a、miR-21 和 miR-675 等也与软骨细胞的凋亡、增殖或软骨基质的产生密切相关, 上述 miRNA 分子也可影响软骨终板退变的进程^[27-29]。

3 miRNA 治疗腰椎间盘突出退变的可行性

由于 miRNA 在细胞异常增殖和凋亡、调控细胞基质外基质稳态平衡以及调控 NP 细胞炎症反应因子的分泌中均发挥重要的调控功能, 使其在 IDD 诊断和治疗上具有广泛的应用前景。已有诸多研究探索 miRNA 在临床应用的可行性, 间充质干细胞 (MSCs) 移植到 IVD (椎间盘) 可能有利于抑制 NP 细胞的凋亡, 减轻 IDD 的退变, Cheng 等^[37]将富集 miRNA-21 的间充质干细胞外泌体注射到小鼠的椎间盘内, 通过 miR-21 在椎间盘中表达, 阻止 NPCs 通过炎症细胞因子 TNF- α 诱导的凋亡过程; 外泌体 miR-21 抑制抑癌基因 (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN), 从而激活凋亡性 NP 中的 PI3K/Akt 通路, 抑制 NP 细胞的凋亡, 减轻 IDD。Ji 等^[38]通过对临床收集到椎间盘标本进行 miRNA 微阵列分析和动物模型实验证实 miR-141 通过调控 SIRT1/NF- κ B 通路促进 NP 细胞的凋亡, 加快 IDD, 研究人员然后将 miR-141 抑制剂处理小鼠 NP 细胞, 显著降低椎间盘的凋亡, 抑制金属蛋白

酶-13 的表达, 增加 II 型胶原蛋白的合成, 延缓 IDD 的发生。目前基于 miRNA 的药物在肿瘤和慢性丙型肝炎中已经进入 I 期临床试验^[11], 但在 IDD 疾病的治疗上, miRNA 的相关研究仍停留在细胞水平, 药物的靶向传递、安全剂量的评估、减轻 miRNA 修饰分子的毒性等诸多基础技术问题尚未解决, 此外相关动物研究模型主要为大鼠、兔子等小型动物, 尚未见大型动物模型上, 因此研制 miRNA 相关的靶向药物用于治疗 IDD 疾病前需要进行大型动物和 I 期/II 期临床试验, 综合评价其有效性和安全性。

4 结语

近年来, IDD 疾病的发病率呈逐年上升状态, 且患病人群呈现年轻化趋势, 其较高的致残率严重影响人类健康, 手术治疗是目前 IDD 疾病较为有效的治疗措施, 但由于手术治疗只能消除或减轻患者的临床症状, 不能逆转 IDD 的发生, 该病的治疗仍然缺乏特效的治疗措施, 而 miRNA 在 IDD 的发生机制中有着重要基因调控作用, 对其进行调控可用于 IDD 的临床治疗, 此外, 由于 miRNA 在组织中可以耐受高温、高渗、强酸和强碱等环境, 且不受性别、年龄等影响, 其还可用于 IDD 的诊断及判断预后的生物标志物。总之, 了解 miRNA 参与 IDD 的相关信号通路和作用机制, 不但有助于对该病分子机制的研究, 而且能为其诊断和治疗提供新的参考依据和实践指南。

参考文献

- [1] Hartvigsen J, Hancock MJ, Kongsted A, et al. What low back pain is and why we need to pay attention [J]. *Lancet*, 2018, 391 (10137): 2356-2367.
- [2] Global Burden of Disease, Injury Incidence, Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries [J]. *Lancet*, 2016, 388(10053): 1545-1602.
- [3] Battié MC, Videman T, Kaprio J, et al. The twin spine study: contributions to a changing view of disc degeneration [J]. *Spine*, 2009, 9 (1): 47-59.
- [4] Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay [J]. *Nature reviews (Genetics)*, 2010, 11(9): 597-610.
- [5] Sun Z, Jian Y, Fu H. MiR-532 downregulation of the Wnt/ β -catenin signaling via targeting Bel-9 and induced human intervertebral disc nucleus pulposus cells apoptosis [J]. *Journal of pharmacological sciences*, 2018, 138(4): 263-270.
- [6] Liu G, Cao P, Chen H, Yuan W, et al. MiR-27a regulates apoptosis in nucleus pulposus cells by targeting PI3K [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (9): e75251.
- [7] Liu H, Huang X, Liu X, et al. miR-21 promotes human nucleus pulposus cell proliferation through PTEN/AKT signaling [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(3): 4007-4018.
- [8] Yu X, Li Z, Shen J, et al. MicroRNA-10b promotes nucleus pulposus cell proliferation through RhoC-Akt pathway by targeting HOXD10 in intervertebral disc degeneration [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (12): e83080.

- [9] Kong L, Sun M, Jiang Z, et al. MicroRNA-194 inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response in nucleus pulposus cells of the intervertebral disc by targeting TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6) [J]. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 2018, 24: 3056 – 3067.
- [10] Leer C, Feinbaum RL, Ambros V et al. *Elegans* heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14 [J]. *Cell*, 1993, 75 (5) : 843 – 854.
- [11] Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S. An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods [J]. *Cell physiol*, 2019, 234 (5) : 5451 – 5465.
- [12] Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions [J]. *Cell*, 2009, 136 (2) : 215 – 233.
- [13] Wang H, Hao P, Zhang H, et al. MicroRNA-223 inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response by directly targeting Irak1 in the nucleus pulposus cells of intervertebral disc [J]. *IUBMB life*, 2018, 70 (6) : 479 – 490.
- [14] 王睿哲, 徐辰, 李真, 等. miRNA 影响椎间盘退变的机制研究进展 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2018, 28 (10) : 949 – 953.
- [15] Pratsinis H, Constantinou V, Pavlakis K, et al. Exogenous and autocrine growth factors stimulate human intervertebral disc cell proliferation via the ERK and Akt pathways [J]. *J Orthop Res*, 2012, 30 (6) : 958 – 964.
- [16] Li W, Wang P, Zhang Z et al. MiR-184 regulates proliferation in nucleus pulposus cells by targeting GASI [J]. *World Neurosurgery*, 2017, 97: 710 – 715.
- [17] Tan H, Zhao L, Song R, et al. MicroRNA-665 promotes the proliferation and matrix degradation of nucleus pulposus through targeting GDF5 in intervertebral disc degeneration [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119 (9) : 7218 – 7225.
- [18] Tao B, Yi J, Huang C, et al. microRNA-96 regulates the proliferation of nucleus pulposus cells by targeting ARID2/AKT signaling [J]. *Molecular medicine reports*, 2017, 16 (5) : 7553 – 7560.
- [19] Sun J, Hong J, Sun S, et al. Transcription factor 7-like 2 controls matrix degradation through nuclear factor κ B signaling and is repressed by microRNA-155 in nucleus pulposus cells [J]. *Biomed pharmacother*, 2018, 108: 646 – 655.
- [20] Wang Y, Song Q, Huang X, et al. Long noncoding RNA GAS5 promotes apoptosis in primary nucleus pulposus cells derived from the human intervertebral disc via Bel-2 downregulation and caspase-3 upregulation. [J]. *Molecular medicine reports*, 2019, 19 (3) : 2164 – 2172.
- [21] Sun JC, Zheng B, Sun RX, et al. MiR-499a-5p suppresses apoptosis of human nucleus pulposus cells and degradation of their extracellular matrix by targeting SOX4 [J]. *Biomed pharmacother*, 2019, 113: 108652.
- [22] Wang R, Wen B, Sun D. MiR-573 regulates cell proliferation and apoptosis by targeting Bax in nucleus pulposus cells [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24: 2.
- [23] Zhang DY, Wang ZJ, Yu YB, et al. Role of microRNA-210 in human intervertebral disc degeneration [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11 (6) : 2349 – 2354.
- [24] Zhao K, Zhang Y, Kang L, et al. Epigenetic silencing of miRNA-143 regulates apoptosis by targeting BCL2 in human intervertebral disc degeneration [J]. *Gene*, 2017, 628: 259 – 266.
- [25] Kang L, Yang C, Song Y, et al. MicroRNA-494 promotes apoptosis and extracellular matrix degradation in degenerative human nucleus pulposus cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (17) : 27868 – 27881.
- [26] Zhou J, Sun J, Markova DZ, et al. MicroRNA-145 overexpression attenuates apoptosis and increases matrix synthesis in nucleus pulposus cells [J]. *Life sciences*, 2019, 221: 274 – 283.
- [27] 周小莉, 洪莹莹, 詹玉林. 金属蛋白酶在椎间盘退行性变中的研究进展 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2019, 25 (3) : 212 – 216.
- [28] Xu YQ, Zhang ZH, Zheng YF, et al. Dysregulated miR-133a mediates loss of type II collagen by directly targeting matrix metalloproteinase 9 (MMP9) in human intervertebral disc degeneration [J]. *Spine (Phila Pa 1976)* 2016, 41 (12) : E717 – 724.
- [29] Zhang WL, Chen YF, Meng HZ, et al. Role of miR-155 in the regulation of MMP-16 expression in intervertebral disc degeneration [J]. *J Orthop Res*, 2017, 35 (6) : 1323 – 1334.
- [30] Shi C, Wu L, Lin W, et al. MiR-202-3p regulates interleukin-1 β -induced expression of matrix metalloproteinase 1 in human nucleus pulposus [J]. *Gene Therapy*, 2019, 687: 156 – 165.
- [31] Monchaux M, Forterre S, Spreng D, et al. Inflammatory processes associated with canine intervertebral disc herniation [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1681.
- [32] Sun Y, Shi X, Peng X, et al. MicroRNA-181a exerts anti-inflammatory effects via inhibition of the ERK pathway in mice with intervertebral disc degeneration [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235 (3) : 2676 – 2686.
- [33] Qin C, Lv Y, Zhao H, et al. MicroRNA-149 suppresses inflammation in nucleus pulposus cells of intervertebral discs by regulating myD88 [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 4892 – 4900.
- [34] Zhang Q, Weng Y, Jiang Y, et al. Overexpression of miR-140-5p inhibits lipopolysaccharide-induced human intervertebral disc inflammation and degeneration by downregulating toll-like receptor 4 [J]. *Oncology reports*, 2018, 40 (2) : 793 – 802.
- [35] Nachemson A, Lewin T, Maroudas A, et al. In vitro diffusion of dye through the endplates and the annulus fibrosus of human lumbar intervertebral disc [J]. *Acta Orthop Scand*, 1970, 41 (6) : 589 – 607.
- [36] Zheng Q, Li XX, Xiao L, et al. MicroRNA-365 functions as a mechanosensitive microRNA to inhibit end plate chondrocyte degeneration by targeting histone deacetylase 4 [J]. *Bone*, 2019, 128: 115052.
- [37] Cheng X, Zhang G, Zhang L, et al. Mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-21 via exosomes to inhibit nucleus pulposus cell apoptosis and reduce intervertebral disc degeneration [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22 (1) : 261 – 276.
- [38] Ji ML, Jiang H, Zhang XJ, et al. Preclinical development of a microRNA-based therapy for intervertebral disc degeneration [J]. *Nature communications*, 2019, 9 (1) : 5051.