

生物钟与椎间盘退变的研究进展

杜牧 王栋 杨柳 罗卓荆

【摘要】 椎间盘退变在老年群体的发病率很高,且呈现出年轻化趋势,是导致下腰痛最常见的原因。在椎间盘退变的过程中,椎间盘细胞的功能出现异常,细胞合成和分解代谢异常,细胞外基质成分降解,细胞死亡增加,最终导致椎间盘结构和功能异常。椎间盘是高度节律化的器官,每日经历着运动和休息状态产生的周期性力学载荷变化,而工作倒班或者飞行时差等节律扰乱行为,增加了慢性下腰痛的发生率,这提示生物钟破坏可能是导致椎间盘退变的重要因素。本文对生物钟紊乱如何导致椎间盘退变进行了系统回顾,并总结了靶向生物钟基因调控网络各个环节的干预策略,为预防和治疗椎间盘退变提供时间治疗学新思路。

【关键词】 生物节律;椎间盘退变;分子靶向治疗;髓核;调控机制

生物钟是地球生物普遍存在的节律性生理现象,这种内在的时间控制系统让组织和器官产生了周期性的功能波动,使生理功能顺应了外界环境的变化^[1],从而维持了器官及内环境稳态。生物钟的异常容易诱发疾病,目前已经发现生物钟紊乱会导致心血管疾病、阿尔茨海默症和代谢综合征等疾病^[2-5]。研究发现,经常工作倒班和飞行倒时差的人群,容易罹患下腰痛和椎间盘退变。因此,研究生物钟与椎间盘的关系,恢复椎间盘生物钟,延缓椎间盘退变进程,为椎间盘退变寻找靶向的生物钟治疗方案将会为脊柱外科提供新的治疗思路和方案。

一、文献检索策略

本文以“生物钟”、“椎间盘退变”、“下腰痛”为关键词在中文数据库中国知网和万方数据库中展开检索;以“circadian clock”,“intervertebral disc degeneration”,“low back pain”为关键词在PubMed、Web of Science 中进行检索。文献的纳入标准:①发表在学术期刊的论著和综述以及相关的学位论文;②研究内容相似的文献中,优先选择有高证据等级的文献和同时涉及椎间盘的文献;③研究内容涉及生物钟和椎间盘。排除标准:①中文和英文以外其他语种的文献;②文献类型为评论、会议论文;③重复发表的文献和无法获取全文的文献。本文一共检索到中文文献20篇(中国知网3篇,万方17篇),英文文献1155篇(PubMed 508篇,Web of Science 647篇)。经筛选后最终有86篇文献纳入,其中英文85篇,中文学位论文1篇(图1)。

二、生物钟调控机制的概述

(一)生物钟的基本构成

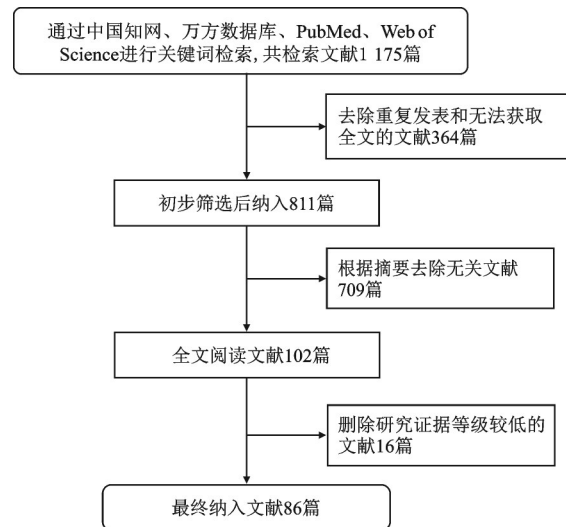


图1 文献纳入流程图

哺乳动物的生物钟系统由中枢生物钟和外周生物钟构成,中枢生物钟位于下丘脑视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN),外周生物钟存在于各组织器官中,维持稳态以及发挥生理功能^[6-7]。

中枢生物钟主要受外界光线变化调控。视网膜感受外界光线变化,将光线变化转化为电冲动,通过视网膜-下丘脑神经传导束将这一时间线索传递至中枢生物钟^[7-9]。除光线能调控中枢生物钟外,非光照因素如行为觉醒、褪黑素和血清素的刺激通过膝状体下丘脑束、中缝背核、中缝中核也能调控中枢生物钟^[7,10-11]。中枢生物钟主要通过神经-体液向外周生物钟传递时间信息,从而实现对外周生物钟的调控^[12-13]。

生物钟基因分为生物钟核心基因和钟控基因。生物钟核心基因,如脑和肌肉芳香烃受体核转运蛋白1基因(brain and muscular arnt-like protein-1, *Bmal1*)、时钟节律调节因子(circadian locomotor output cycles kaput, *Clock*)分子在各组织器官中均有表达^[7]。全基因组转录组研究提示,大约有

DOI: 10.3969/j.issn.1674-8573.2024.03.017

基金项目:国家自然科学基金重点国际(地区)合作项目(82020108019);国家自然科学基金重点项目(81730065)

作者单位:空军军医大学附属西京医院骨科,西安 710032

通信作者:杨柳, E-mail: yangliu@fmmu.edu.cn; 罗卓荆, E-mail: zjliao@fmmu.edu.cn

3%~16%的基因在外周组织中呈现节律性表达^[7,14-19],并且在不同组织之间,这些基因的表达很少有重叠,说明了节律调控的组织特异性^[7,20-22],这些组织特异性的基因称为时钟控制基因(clock controlled genes, CCGs)。尽管中枢生物钟对器官内各细胞乃至实现全身不同器官细胞的同步化有非常重要的作用^[23],但局部时间线索对外周生物钟的影响是直接和巨大的,如乳腺组织的机制硬度增加可以抑制局部组织细胞的节律振荡,这些不同来源的时间信息,依赖于外周生物钟整合,参与组织稳态的调控^[24-25]。钟控基因对于维持组织结构和功能稳态具有十分重要的意义,但目前研究较少,仍需要大量研究去发现各钟控基因调控各组织器官生理功能的具体机制。

(二)生物钟调控的分子机制

哺乳动物生物钟的分子调控网络十分精细且复杂,主要包括了一个自调控转录翻译反馈环,它们的相互作用使钟控基因得以节律性地表达^[7,26-27]。这个反馈回路如图2所示,包括正向调控环,由 BMAL1 和 CLOCK 构成^[7,28-29]。BMAL1-CLOCK 复合物结合在基因启动子的 E-box 元件上,调控下游基因的表达,包括负向调控基因,如周期昼夜节律调节器基因(Period, *Per*)、隐花色素基因(Cryptochrome, *Cry*)^[7,30-31]。PER 和 CRY 相互作用形成抑制复合物,与 BMAL1-CLOCK 复合物结合,抑制 BMAL1-CLOCK 复合物的转录调控作用,形成负反馈环路抑制 BMAL1 和 CLOCK 的表达,一旦 PER 和 CRY 的表达水平急剧下降, BMAL1-CLOCK 新一轮的转录调控便又重新开始^[7,29,32]。除了 *Per* 和 *Cry*, BMAL1-CLOCK 复合物也会激活核受体 REV-ERB 的转录,而 REV-ERB 可以结合在 *Bmal1* 启动子的 RRE 元件,抑制 BMAL1 的表达^[33]。同时, BMAL1-CLOCK 复合物也转录维甲酸受体相关孤儿受体(Retinoic acid receptor-related orphan receptor, *Ror*)基因, ROR 会与 REV-ERB 竞争结合 RRE 元件,增加 BMAL1 的表达,与 REV-ERB 构成了生物钟分子调控网络的补充环路^[34-36]。REV-ERB 和 ROR 除了调控 BMAL1 以外,还调控 D-box 结合抑制转录因子碱性亮氨酸拉链转录因子 NFIL3 的转录^[34-36]。

除此之外 BMAL1-CLOCK 复合物还转录 D-box 结合蛋白(D-box binding protein, DBP), DBP 通过结合含有 D-box 结构的基因实现转录调控,其中主要包括 RORa/b。NFIL3 通过结合 D-box 序列实现该环路的抑制作用。上述所有 3 个转录反馈回路均转录调控钟控基因的表达,通过钟控基因实现该器官组织生物钟调控的生理功能^[34-36]。

生物钟除了转录水平有各种正向或负向回路的调控外,还存在蛋白质翻译后修饰调控生物钟蛋白的稳定性^[37]。BMAL1 的转录后修饰是一个巨大而复杂的网络^[29]。BMAL1 的磷酸化主要依靠肌酸激酶 2(creatine kinase 2, CK2),磷酸化作用能促进 BMAL1 入核聚集^[38]。BMAL1 的乙酰化作用能促使 BMAL1 发挥其转录功能,乙酰化作用主要依靠 CLOCK、TIP60 实现, CLOCK 促使 BMAL1 乙酰化,增强其与 CRY1 的相互作用; TIP60 使 BMAL1 乙酰化,增强其在转录过程中的转录延长功能^[39-40]。其去乙酰化的作用依托沉寂信息调节因

子 1(silent information regulator 1, SIRT1)实现, BMAL1 的降解主要依赖连接酶 E3A 介导的泛素化^[40]。

CK1 δ 和 CK1 ϵ 通过使 PER 蛋白的磷酸化水平发生改变,同时, PER2 的 O-糖基化会与磷酸化竞争,这两项翻译后修饰共同调节 PER2 参与的生物钟的调控^[41]。PER2 的降解主要靠 SIRT1 和 E3 泛素连接酶 MDM2 介导^[42]。生物钟时相的长短主要取决于 CRY, CRY 的磷酸化依靠 AMP 依赖的蛋白激酶(AMPK)实现,磷酸化的 CRY 会增强与 F-box 和富亮氨酸的重复蛋白 3(F-box and leucine rich repeat protein 3, FBXL3)和 FBXL21 结合力,后者介导 CRY 发生泛素化从而促进 CRY 的降解^[43-44]。

REV-ERBa 的磷酸化主要依靠糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)和周期蛋白依赖性激酶 1(cyclin-dependent kinase 1, CDK1)^[45]。其中 GSK3 介导的磷酸化能保护 REV-ERBa 免受 ARF-BP、PAM 介导的泛素化降解^[46]; CDK1 介导的磷酸化将会调控生物钟的振幅,随后会发生 FBXW7 介导的泛素化降解^[47]。

由此可见,外周生物钟的调控是一个精密而复杂的网络,三大回路中的核心分子发生改变,都可能引起外周生物钟的变化,例如上述 CRY 的改变调控生物钟时相的长短, REV-ERBa 的改变调控生物钟的振幅,生物钟最终调控的是钟控基因,生物钟发生改变必将引起钟控基因的改变。因此,深入研究各个器官的外周生物钟以及各器官外周生物钟破坏引起的病理生理改变十分必要。

(三)评价机体生物钟紊乱的指标

准确评价机体生物钟紊乱能够协助疾病的诊断及预防,但目前生物钟紊乱缺乏统一的标准,最常用的指标是扰乱的节奏时相和改变的节律振幅。生物钟紊乱可从多个层面发生,包括分子、细胞、组织、器官、单个系统的生物钟紊乱到不

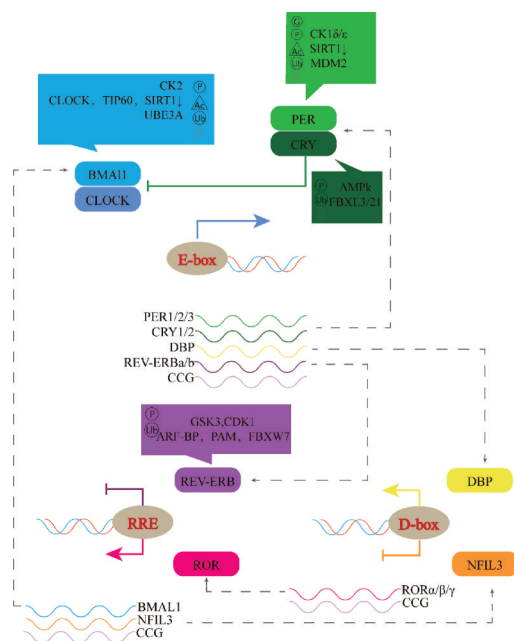


图2 生物钟反馈回路示意图(绘图作者:杜牧)

同系统间,乃至个体行为和环境的节律失调^[48]。在临床实践中,评估生物钟紊乱的常用生物学指标是血浆、唾液中的褪黑素或者尿液褪黑素的代谢产物6-磺酰氧基褪黑素^[48-49]。另外,监测代谢指标(血糖和胰岛素)、心血管节律(血压和心率)、皮质醇等指标的波动,也常用于生物钟紊乱的评估^[50]。2015年一项研究发现,通过向人体皮肤的成纤维细胞转染荧光素酶报告基因,体外识别节律震荡的周期可以反映该样本来源受试者的生物钟情况^[51]。因此目前的研究中,评价生物钟紊乱最可靠的指标是检测生物钟节律震荡的周期和幅度。

由此可见,生物钟在调控人体正常生理功能和维持内环境稳态等方面发挥了重要作用,而生物钟破坏会造成机体稳态失衡,各组织器官生理功能出现异常,进而造成各类疾病的发生。研究生物钟对组织器官功能的调控,对各类疾病,尤其是退行性疾病,提供了新的病理生理学机制研究的新思路。

三、生物钟参与椎间盘稳态的调控

(一)椎间盘是存在节律行为的组织

椎间盘的一些生理现象存在着昼夜变化特点。椎间隙高度和椎间盘含水量在磁共振成像下表现出明显的昼夜节律性变化,白天椎间隙高度下降,椎间盘含水量降低,夜晚椎间隙高度和含水量恢复,这与椎间盘组织的运动/休息循环的改变是一致的^[52-54]。一项有限元分析显示,在白天存在载荷的情况下,椎间盘含水量减少,渗透压升高,而夜间载荷移除后,其含水量逐渐恢复,渗透压下降^[55],而含水量和渗透压的改变会引起营养物质和代谢产物的交换,从而影响椎间盘的代谢状态^[56],这说明了椎间盘的代谢活动是存在节律现象的。而多个报道显示,负重改变、生活行为改变以及倒时差(包括跨时区活动以及工作引起的昼夜颠倒)会改变椎间盘的含水量合并干扰椎间盘的生物钟^[57-59]。一项研究已经发现,经常昼夜颠倒的人群罹患下腰痛的概率显著高于一般人群^[57]。由此可见,椎间盘是一种存在昼夜节律的组织。因此,解析椎间盘外周生物钟的诱导因素和生物钟调控椎间盘稳态的分子机制,对预防和治疗椎间盘退变很有必要。

(二)椎间盘组织存在自主振荡的外周生物钟

椎间盘中存在自主振荡的外周生物钟,机械信号及渗透压的改变是椎间盘外周生物钟的主要诱导因素。2016年,一项关于被动吸烟对椎间盘退变影响的研究,利用qRT-PCR技术第一次发现椎间盘细胞中生物钟基因呈现节律性表达,并通过对大鼠椎间盘髓核、纤维环和软骨终板细胞生物钟基因的表达分析,发现被动吸烟减弱了节律基因表达的振幅,造成了时相位移^[60]。同年,曼彻斯特大学Dudek等^[19]团队,利用PER2::Luc报告小鼠和基因转染技术,首次监测到了小鼠和人椎间盘组织外周生物钟的节律性振荡,并且证实衰老和炎症可以破坏椎间盘的外周生物钟;该团队还利用节律转录组学技术,发现607个基因呈节律性表达,参与细胞多项生理功能的调控。通过与软骨和肌腱的节律转录组比较后发现,椎间盘节律性表达基因很少与这两个相似组织重叠,说明椎间盘外周生物钟可能存在组织特异性^[18,61]。

椎间盘是缺乏血管神经支配的组织器官,很难直接接受中枢传递的时间线索,这提示了局部组织微环境可能是驱动椎间盘外周生物钟的主要因素。2017年,Dudek等^[19]首次证实,温度的周期性改变(36.5℃~38.5℃)可以诱导椎间盘的外周生物钟节律性振荡。然而,这种诱导温差较大,与人体日间体温波动范围差别较大,并且诱导的节律波动幅度较弱,与椎间盘外周生物钟的正常振荡水平存在较大差异。2023年,Dudek等^[62]首次揭示了生理范围的日常机械负荷与相应渗透压的改变可以重置椎间盘生物钟,明确了机械信号是椎间盘生物钟维持的重要因素,并且细胞膜表面机械感受器PLD2将机械刺激与mTORC2-AKT-GSK3 β 通路连接起来,介导机械信号对椎间盘生物钟的调节。这些研究提示了微环境变化是椎间盘生物钟维持的必要因素,也为干预椎间盘生物钟提供了上游可干预的靶点。

四、外周生物钟破坏是椎间盘退变的病因

(一)破坏椎间盘的生物钟导致椎间盘退变

许多研究探究了下腰痛与工作因素的关系。其中一项横断面研究结果提示,经常倒班工作的人下腰痛发病率显著增加^[63-64]。在国内,年轻人群(18~35岁)中,晚睡型人群Pfirman评分以及Modic改变椎间盘的个数显著高于其他类型人群,提示熬夜晚睡会增加椎间盘退变的发生风险^[65]。另一项研究通过对149例随机临床样本和8个同个体配对临床样本分析,发现核心生物钟分子BMAL1表达降低是椎间盘退变进展的独立危险因素^[66]。Kc等^[67]扰乱高脂饮食大鼠生物钟22周模拟经常倒时差人群,发现随着生物钟破坏,大鼠椎间盘基质糖胺多糖含量显著下降。以上发现说明了椎间盘生物钟破坏可能诱导退变过程的发生。

临床观察到生物钟紊乱可能诱导椎间盘退变后,许多基础研究便把目光聚焦于对椎间盘生物钟调控椎间盘稳态分子机制的研究。早在2016年Suyama等^[68]率先证实,共转染生物钟分子BMAL1或者ROR α 可以增加HIF1 α 的转录活性,参与椎间盘稳态的维持,并首次在*Bmal1*敲除小鼠身上观察到了椎间盘退变的组织学表型。然而,全身敲除BMAL1会显著破坏小鼠中枢生物钟和各组织器官的外周生物钟,但无法证实椎间盘外周生物钟对小鼠椎间盘退变的影响。一项国外研究^[19]和一项国内研究^[66]使用椎间盘条件性敲除小鼠(Col2 α 1-Cre, *Bmal1*^{fl/fl}),只敲除小鼠椎间盘核心生物钟分子BMAL1,并在敲除半年后观察到小鼠椎间盘退变的组织学表型。这些研究表明,生物钟破坏与椎间盘退变的发生存在密切相关性。尽管椎间盘退变的分子调控网络尚未被完整解析,但多种椎间盘退变的常见诱因,如衰老、氧化应激、异常应力以及炎症等因素,已被证实能显著破坏椎间盘的外周生物钟^[19,66-67],提示生物钟紊乱可能是外界诱因诱导椎间盘退变的环节之一。

(二)衰老会导致椎间盘生物钟的破坏

临床样本分析显示,髓核组织BMAL1的表达水平与年龄呈负相关,提示衰老是导致椎间盘生物钟破坏的重要因素,而Dudek等^[19]在衰老小鼠(24月龄)身上进一步验证了衰

老破坏了椎间盘外周生物钟。这些研究提示,一些抗衰老药物,如二甲双胍、NADP+补充剂以及槲皮素等,可能通过恢复椎间盘生物钟,缓解衰老引发的椎间盘退变过程。

(三)局部炎症因子破坏椎间盘生物节律

微环境炎症因子增加是引起椎间盘退变的重要原因,在炎症因子的刺激下,细胞合成代谢减弱,分解代谢增强,细胞外基质逐步降解,最终导致椎间盘退变的发生。目前,在椎间盘退变的体外实验中,白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)处理仍然是使用最多的模型构建方法。Dudek 等^[19]发现 IL-1 β 可以通过激活核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路扰乱小鼠椎间盘的生物钟,使用 kappa B 抑制因子激酶(inhibitor of kappa B kinase, IKK)抑制剂 BMS-345541 可以恢复 IL-1 β 破坏的生物钟,这与关节软骨中观察到的结论一致^[69]。本研究团队也发现,IL-1 β 能够抑制 BMAL1 下游靶基因核呼吸因子 2(nuclear respiratory factor 2, *Nrf2*)的表达,从而诱导椎间盘退变的发生;使用 NRF2 的激动剂萝卜硫素能缓解椎间盘退变的表型^[70]。这些研究提示我们,干预生物钟基因以及下游靶基因,可能是抵抗炎症因子诱发椎间盘退变的一种有效途径。

(四)异常应力破坏椎间盘生物钟

脊柱是人的主要承力器官,而异常应力则是诱发椎间盘退变最为常见的外部因素之一。前期研究已经证实每日的力学载荷是诱导椎间盘外周生物钟的重要因素,提示力学信号可能通过调控椎间盘生物钟参与椎间盘稳态的调控。多个研究团队均证实,异常应力可以破坏髓核组织的生物钟,这是由 RhoA-ROCK 通路过度激活引起的。抑制 RhoA-ROCK 通路也被证实可以有效的恢复椎间盘受损生物钟,起到治疗椎间盘退变的效果^[66]。

目前的研究表明,椎间盘退变常见的诱因,均可通过破坏椎间盘生物钟来诱发椎间盘退变,这也为有效预防和治疗椎间盘退变提供一个有效的时间治疗学策略,即通过恢复椎间盘受损生物钟和生物钟控制基因的表达,起到相应的治疗作用。

五、靶向生物钟的治疗策略

目前直接针对生物钟调控回路,有一些靶向药物可以使用。REV-ERBa 和 RORa 是调控 BMAL1 表达量的关键分子。目前针对核心反馈回路抑制因子 REV-ERBa 的药物已经在一些疾病模型,例如骨关节炎模型和睡眠障碍模型上得到了评估。例如,REV-ERBa 激动剂 GSK4112 能够抑制内毒素诱导 THP1 细胞炎症因子(IL-6、CXCL11 和 CCL2)的释放^[71],还有两种激动 REV-ERBa 吡咯化合物,SR9009 和 SR9011 也在体内展现了强大的能力,包括改善肥胖者的代谢稳态^[72],增强骨骼肌中线粒体含量,提高运动耐力^[73],抗肿瘤^[74]和抗焦虑等作用^[75]。

一些靶向核心转录反馈回路正性调节因子 RORa 的药物也常常用来恢复生物节律,其中研究最透彻的是使用能直接激活 RORa 的天然黄酮类药物川陈皮素(Nobiletin),这种药物能加强节律蛋白 BMAL1 的振荡,在肥胖的个体上增强

能量代谢,从而提高大鼠的运动能力^[76]。本研究团队发现川陈皮素和 SR8278 能够有效激活 BMAL1 的表达并抑制骨关节炎模型中 IL- β 引起的细胞增殖作用^[77]。SR1555,是一种 RORa 的反向激动剂,也被证实能够增加肥胖模型的能量消耗,从而减轻肥胖^[78]。

另外有研究发现影响核心回路抑制因子 PERs 和 CRYs 的表达量也可以改变生物钟的周期。哺乳动物的 CRY 属于高度保守的光解蛋白酶家族,它们的光解酶同源区是作为低亲和力的 FAD-口袋发挥功能^[79]。KL001 通过与 FBXL3 羧基末端竞争结合 FAD-结合口袋,从而稳定 CRYs 蛋白,减少 CRYs 的降解,从而调节生物钟的周期^[80]。除此以外,KL001 能修复受损的糖耐量,从而达到减重的目的^[81]。这些针对生物钟核心回路的分子靶向药物总结于表 1。

表 1 文献报道生物钟分子靶向药物

药物名称	靶点	药理作用
GSK4112 ^[71]	激活 REV-ERBa	抑制炎症因子 IL6 ^[71]
SR9009 和 SR9011	激活 REV-ERBa	增加线粒体含量,提高代谢 ^[73] ,抗肿瘤 ^[74]
川陈皮素 ^[76-77]	激动 BMAL1, RORa	增强能量代谢
SR1555 ^[78]	激动 RORa	减轻肥胖
KL001 ^[80]	稳定 CRY 结构	修复糖耐量,调节生物节律周期 ^[81]

目前除了针对生物钟的药物靶向治疗,还有调节环境以及生活方式的改变。蓝光是一个调节生物钟的授时因子,在夜间大剂量地接触蓝光能够干扰神经内分泌回路,从而影响睡眠质量,减弱褪黑素和皮质醇的周期性分泌^[82]。相反,如果在早晨给予光谱光照(2 000~10 000 lux)1~3 小时,就能显著改善睡眠觉醒循环、情绪状态和认知功能^[83-84]。除光照外,限时饮食被用于研究改善生物钟的安全性和效率。在活动期 8~9 小时内进食已经被证明能强有效地防止并治疗代谢综合征^[85-86]。

由此可见,恢复受损的生物钟,能够延缓疾病的进展甚至治愈疾病。由于时钟控制基因具有组织特异性,所以应根据椎间盘基因表达的特异性,选择合适的靶点,合适的时间干预,有助于延缓椎间盘的退变。综上,识别椎间盘退变的关键生物钟事件,制备合适的椎间盘药物递送载体,实现药物的定时定量干预,既能减少药物使用量同时又能保证治疗效果,这将是椎间盘组织工程治疗手段极具潜力的研究方向。

六、展望

目前,椎间盘退变的诱发因素有异常应力、炎症、衰老和营养障碍,其中已经被证实能破坏椎间盘生物钟的因素有衰老、炎症和异常应力。随着对生物钟研究的不断深入,越来越多的疾病被证实与紊乱的生物钟有关。我们对生物钟紊乱如何导致椎间盘退变进行了系统回顾,并总结梳理了靶向生物钟的椎间盘退变干预策略,为预防和治疗椎间盘退变打开了时间治疗学新视角。尽管目前的研究让我们对生物钟

如何调控椎间盘稳态有了一定的认识,但仍然存在以下几个问题:首先,虽然一些经典的生物钟基因(如 *Bmal1*、*Per2* 和 *Dbp* 等)和基质代谢调控基因(如 *Timp4* 和 *Col14a1* 等)表现出了每日节律性表达的特点,但这只占到椎间盘节律性表达基因很少的一部分,目前尚不清楚大部分节律性表达基因是如何调控椎间盘生物钟,维持椎间盘稳态;另外,目前针对生物钟紊乱导致椎间盘退变的相关研究主要聚焦于啮齿动物研究体系,无法模拟直立行走产生的脊柱轴向力学载荷,后期的机制及治疗学研究还需在灵长类等大动物体内进行尝试,为未来临床应用奠定基础;值得注意的是,椎间盘退变的时间治疗学干预不应当局限于对生物钟基因本身的干预以及小分子靶向药的研制,应该尝试找到药物干预的最佳治疗时间窗甚至是使用非药物治疗手段,如定时运动或调整睡眠时间来预防和治理椎间盘退变过程。总的来说,我们对生物钟参与椎间盘功能调控的认知依然有限,需要通过更加深入的研究,解析生物钟参与椎间盘稳态维持的分子机制,开发出更为有效的椎间盘退变防治策略。

参 考 文 献

- [1] Pittendrigh CS. Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher[J]. *Annu Rev Physiol*, 1993, 55: 16-54.
- [2] Musiek ES, Holtzman DM. Mechanisms linking circadian clocks, sleep, and neurodegeneration[J]. *Science*, 2016, 354(6315): 1004-1008.
- [3] Knutson KL, Von Schantz M. Associations between chronotype, morbidity and mortality in the UK Biobank cohort[J]. *Chronobiol Int*, 2018, 35(8): 1045-1053.
- [4] Knutson KL, Wu D, Patel SR, et al. Association between sleep timing, obesity, diabetes: the hispanic community health study/study of latinos (HCHS/SOL) cohort study[J]. *Sleep*, 2017, 40(4): zsx014.
- [5] Pferdehirt L, Damato AR, Dudek M, et al. Synthetic gene circuits for preventing disruption of the circadian clock due to interleukin-1-induced inflammation[J]. *Sci Adv*, 2022, 8(21): eabj8892.
- [6] Honma S. The mammalian circadian system: a hierarchical multi-oscillator structure for generating circadian rhythm[J]. *J Physiol Sci*, 2018, 68(3): 207-219.
- [7] 王栋. 生物钟分子 BMAL1 在椎间盘退变中的表达及意义[D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2021.
- [8] Gooley JJ, Lu J, Chou TC, et al. Melanopsin in cells of origin of the retinohypothalamic tract[J]. *Nat Neurosci*, 2001, 4(12): 1165.
- [9] Hattar S, Liao HW, Takao M, et al. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity[J]. *Science*, 2002, 295(5557): 1065-1070.
- [10] Challet E, Pevet P. Interactions between photic and nonphotic stimuli to synchronize the master circadian clock in mammals[J]. *Front Biosci*, 2003, 8: s246-s257.
- [11] Dibner C, Schibler U, Albrecht U. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks[J]. *Annu Rev Physiol*, 2010, 72: 517-549.
- [12] Buijs FN, Cazarez F, Basualdo MC, et al. The suprachiasmatic nucleus is part of a neural feedback circuit adapting blood pressure response[J]. *Neuroscience*, 2014, 266: 197-207.
- [13] Albrecht U. Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks[J]. *Neuron*, 2012, 74(2): 246-260.
- [14] Panda S, Antoch MP, Miller BH, et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock[J]. *Cell*, 2002, 109(3): 307-320.
- [15] Storch KF, Lipan O, Leykin I, et al. Extensive and divergent circadian gene expression in liver and heart[J]. *Nature*, 2002, 417(6884): 78-83.
- [16] Yang N, Williams J, Pekovic-Vaughan V, et al. Cellular mechano-environment regulates the mammary circadian clock[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14287.
- [17] Zvonic S, Pitsyn AA, Conrad SA, et al. Characterization of peripheral circadian clocks in adipose tissues[J]. *Diabetes*, 2006, 55(4): 962-970.
- [18] Dudek M, Gossan N, Yang N, et al. The chondrocyte clock gene *Bmal1* controls cartilage homeostasis and integrity[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(1): 365-376.
- [19] Dudek M, Yang N, Ruckshanthi JP, et al. The intervertebral disc contains intrinsic circadian clocks that are regulated by age and cytokines and linked to degeneration[J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(3): 576-584.
- [20] Zvonic S, Pitsyn AA, Kilroy G, et al. Circadian oscillation of gene expression in murine calvarial bone[J]. *J Bone Miner Res*, 2007, 22(3): 357-365.
- [21] Gachon F, Olela FF, Schaad O, et al. The circadian PAR-domain basic leucine zipper transcription factors DBP, TEF, and HLF modulate basal and inducible xenobiotic detoxification[J]. *Cell Metab*, 2006, 4(1): 25-36.
- [22] Buhr ED, Takahashi JS. Molecular components of the Mammalian circadian clock[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2013(217): 3-27.
- [23] Morris H, Goncalves CF, Dudek M, et al. Tissue physiology revolving around the clock: circadian rhythms as exemplified by the intervertebral disc[J]. *Ann Rheum Dis*, 2021, 80(7): 828-839.
- [24] Guo H, Brewer JM, Lehman MN, et al. Suprachiasmatic regulation of circadian rhythms of gene expression in hamster peripheral organs: effects of transplanting the pacemaker[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(24): 6406-6412.
- [25] Yoo SH, Yamazaki S, Lowrey PL, et al. PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(15): 5339-5346.
- [26] Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals[J]. *Nature*, 2002, 418(6901): 935-941.
- [27] Mohawk JA, Green CB, Takahashi JS. Central and peripheral circadian clocks in mammals[J]. *Annu Rev Neurosci*, 2012, 35: 445-462.
- [28] King DP, Zhao Y, Sangoram AM, et al. Positional cloning of the mouse circadian clock gene[J]. *Cell*, 1997, 89(4): 641-653.
- [29] Lowrey PL, Takahashi JS. Genetics of circadian rhythms in Mammalian model organisms[J]. *Adv Genet*, 2011, 74: 175-230.
- [30] Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, et al. Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism[J]. *Science*, 1998, 280(5369): 1564-1569.
- [31] Shearman LP, Sriram S, Weaver DR, et al. Interacting molecular loops in the mammalian circadian clock[J]. *Science*, 2000, 288(5468): 1013-1019.
- [32] Lee C, Etchegaray JP, Cagampang FR, et al. Posttranslational mechanisms regulate the mammalian circadian clock[J]. *Cell*, 2001, 107(7): 855-867.
- [33] Preitner N, Damiola F, Lopez-Molina L, et al. The orphan nuclear receptor REV - ERBalpha controls circadian transcription within

- the positive limb of the mammalian circadian oscillator [J]. *Cell*, 2002, 110(2): 251-260.
- [34] Sato TK, Panda S, Miraglia IJ, et al. A functional genomics strategy reveals *Rora* as a component of the mammalian circadian clock [J]. *Neuron*, 2004, 43(4): 527-537.
- [35] Zhang Y, Fang B, Emmett MJ, et al. GENE REGULATION. Discrete functions of nuclear receptor Rev-erb α couple metabolism to the clock [J]. *Science*, 2015, 348(6242): 1488-1492.
- [36] Solt LA, Kojetin DJ, Burris TP. The REV-ERBs and RORs: molecular links between circadian rhythms and lipid homeostasis [J]. *Future Med Chem*, 2011, 3(5): 623-638.
- [37] Patke A, Young MW, Axelrod S. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(2): 67-84.
- [38] Sahar S, Zocchi L, Kinoshita C, et al. Regulation of BMAL1 protein stability and circadian function by GSK3 β -mediated phosphorylation [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8561.
- [39] Petkau N, Budak H, Zhou X, et al. Acetylation of BMAL1 by TIP60 controls BRD4-P-TEFb recruitment to circadian promoters [J]. *Elife*, 2019, 8: e43235.
- [40] Hirayama J, Sahar S, Grimaldi B, et al. CLOCK-mediated acetylation of BMAL1 controls circadian function [J]. *Nature*, 2007, 450(7172): 1086-1090.
- [41] Kaasik K, Kivimae S, Allen JJ, et al. Glucose sensor O-GlcNAcylation coordinates with phosphorylation to regulate circadian clock [J]. *Cell Metab*, 2013, 17(2): 291-302.
- [42] Liu J, Zou X, Gotoh T, et al. Distinct control of PERIOD2 degradation and circadian rhythms by the oncoprotein and ubiquitin ligase MDM2 [J]. *Sci Signal*, 2018, 11(556): eaau0715.
- [43] Gao P, Yoo SH, Lee KJ, et al. Phosphorylation of the cryptochrome 1 C-terminal tail regulates circadian period length [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(49): 35277-35286.
- [44] Khan SK, Xu H, Ukai-Tadenuma M, et al. Identification of a novel cryptochrome differentiating domain required for feedback repression in circadian clock function [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(31): 25917-25926.
- [45] Yin L, Wang J, Klein PS, et al. Nuclear receptor Rev-erb α is a critical lithium-sensitive component of the circadian clock [J]. *Science*, 2006, 311(5763): 1002-1005.
- [46] Yin L, Joshi S, Wu N, et al. E3 ligases Arf-bp1 and Pam mediate lithium-stimulated degradation of the circadian heme receptor Rev-erb α [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(25): 11614-11619.
- [47] Zhao X, Hirota T, Han X, et al. Circadian amplitude regulation via FBXW7-targeted REV-ERB α degradation [J]. *Cell*, 2016, 165(7): 1644-1657.
- [48] Fishbein AB, Knutson KL, Zee PC. Circadian disruption and human health [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(19): e148286.
- [49] Uberos J, Augustin-Morales MC, Molina Carballo A, et al. Normalization of the sleep-wake pattern and melatonin and 6-sulphatoxymelatonin levels after a therapeutic trial with melatonin in children with severe epilepsy [J]. *J Pineal Res*, 2011, 50(2): 192-196.
- [50] Abbott SM, Malkani RG, Zee PC. Circadian disruption and human health: a bidirectional relationship [J]. *Eur J Neurosci*, 2020, 51(1): 567-583.
- [51] Saini C, Brown SA, Dibner C. Human peripheral clocks: applications for studying circadian phenotypes in physiology and pathophysiology [J]. *Front Neurol*, 2015, 6: 95.
- [52] Martin JT, Oldweiler AB, Spritzer CE, et al. A magnetic resonance imaging framework for quantifying intervertebral disc deformation *in vivo*: reliability and application to diurnal variations in lumbar disc shape [J]. *J Biomech*, 2018, 71: 291-295.
- [53] Kolf AK, Konieczny M, Hesper T, et al. T2* mapping of the adult intervertebral lumbar disc: normative data and analysis of diurnal effects [J]. *J Orthop Res*, 2019, 37(9): 1956-1962.
- [54] Boos N, Wallin A, Aebi M, et al. A new magnetic resonance imaging analysis method for the measurement of disc height variations [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 1996, 21(5): 563-570.
- [55] Massey CJ, Van Donkelaar CC, Vresilovic E, et al. Effects of aging and degeneration on the human intervertebral disc during the diurnal cycle: a finite element study [J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(1): 122-128.
- [56] Urban JP, Holm S, Maroudas A. Diffusion of small solutes into the intervertebral disc: as *in vivo* study [J]. *Biorheology*, 1978, 15(3-4): 203-221.
- [57] Zhao I, Bogossian F, Turner C. The effects of shift work and interaction between shift work and overweight/obesity on low back pain in nurses: results from a longitudinal study [J]. *J Occup Environ Med*, 2012, 54(7): 820-825.
- [58] Costa G, Di Milia L. Introductory overview—19th international symposium on shiftwork and working time: health and well-being in the 24-h society [J]. *Chronobiol Int*, 2010, 27(5): 889-897.
- [59] Rajaratnam SM, Arendt J. Health in a 24-h society [J]. *Lancet*, 2001, 358(9286): 999-1005.
- [60] Numaguchi S, Esumi M, Sakamoto M, et al. Passive cigarette smoking changes the circadian rhythm of clock genes in rat intervertebral discs [J]. *J Orthop Res*, 2016, 34(1): 39-47.
- [61] Yeung CY, Gossan N, Lu Y, et al. Gremlin-2 is a BMP antagonist that is regulated by the circadian clock [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 5183.
- [62] Dudek M, Pathiranage DRJ, Bano-Otalora B, et al. Mechanical loading and hyperosmolarity as a daily resetting cue for skeletal circadian clocks [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 7237.
- [63] Eriksen W, Bruusgaard D, Knardahl S. Work factors as predictors of intense or disabling low back pain: a prospective study of nurses' aides [J]. *Occup Environ Med*, 2004, 61(5): 398-404.
- [64] Takahashi M, Matsudaira K, Shimazu A. Disabling low back pain associated with night shift duration: sleep problems as a potentiator [J]. *Am J Ind Med*, 2015, 58(12): 1300-1310.
- [65] Zheng Y, Hao Y, Xia B, et al. Circadian rhythm modulates the therapeutic activity of pulsed electromagnetic fields on intervertebral disc degeneration in rats [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022: 9067611.
- [66] Wang D, Peng P, Dudek M, et al. Restoring the dampened expression of the core clock molecule BMAL1 protects against compression-induced intervertebral disc degeneration [J]. *Bone Res*, 2022, 10(1): 20.
- [67] Ke R, Li X, Forsyth CB, et al. Osteoarthritis-like pathologic changes in the knee joint induced by environmental disruption of circadian rhythms is potentiated by a high-fat diet [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16896.
- [68] Suyama K, Silagi ES, Choi H, et al. Circadian factors BMAL1 and ROR α control HIF-1 α transcriptional activity in nucleus pulposus cells: implications in maintenance of intervertebral disc health [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17): 23056-23071.
- [69] Guo B, Yang N, Borysiewicz E, et al. Catabolic cytokines disrupt the circadian clock and the expression of clock-controlled genes in cartilage via an NF κ B-dependent pathway [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(11): 1981-1988.
- [70] Tang Z, Hu B, Zang F, et al. Nrf2 drives oxidative stress-induced

- autophagy in nucleus pulposus cells via a Keap1/Nrf2/p62 feedback loop to protect intervertebral disc from degeneration [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7): 510.
- [71] Gibbs JE, Blaikley J, Beesley S, et al. The nuclear receptor REV-ERB α mediates circadian regulation of innate immunity through selective regulation of inflammatory cytokines [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(2): 582-587.
- [72] Solt LA, Wang Y, Banerjee S, et al. Regulation of circadian behaviour and metabolism by synthetic REV-ERB agonists [J]. *Nature*, 2012, 485(7396): 62-68.
- [73] Woldt E, Sebtı Y, Solt LA, et al. Rev-erb- α modulates skeletal muscle oxidative capacity by regulating mitochondrial biogenesis and autophagy [J]. *Nat Med*, 2013, 19(8): 1039-1046.
- [74] Sulli G, Rommel A, Wang X, et al. Pharmacological activation of REV-ERBs is lethal in cancer and oncogene-induced senescence [J]. *Nature*, 2018, 553(7688): 351-355.
- [75] Banerjee S, Wang Y, Solt LA, et al. Pharmacological targeting of the mammalian clock regulates sleep architecture and emotional behaviour [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5759.
- [76] He B, Nohara K, Park N, et al. The small molecule nobiletin targets the molecular oscillator to enhance circadian rhythms and protect against metabolic syndrome [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(4): 610-621.
- [77] He T, Pang S, Wang H, et al. Drugging the circadian clock feedback cycle to ameliorate cartilage degeneration [J]. *FEBS J*, 2022, 289(21): 6643-6658.
- [78] Kojetin DJ, Burris TP. REV-ERB and ROR nuclear receptors as drug targets [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13(3): 197-216.
- [79] Xing W, Busino L, Hinds TR, et al. SCF(FBXL3) ubiquitin ligase targets cryptochromes at their cofactor pocket [J]. *Nature*, 2013, 496(7443): 64-68.
- [80] Nangle S, Xing W, Zheng N. Crystal structure of mammalian cryptochrome in complex with a small molecule competitor of its ubiquitin ligase [J]. *Cell Res*, 2013, 23(12): 1417-1419.
- [81] Humphries PS, Bersot R, Kincaid J, et al. Carbazole-containing sulfonamides and sulfamides: discovery of cryptochrome modulators as antidiabetic agents [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(3): 757-760.
- [82] Schroeder AM, Colwell CS. How to fix a broken clock [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2013, 34(11): 605-619.
- [83] Legates TA, Fernandez DC, Hattar S. Light as a central modulator of circadian rhythms, sleep and affect [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2014, 15(7): 443-454.
- [84] Barion A, Zee PC. A clinical approach to circadian rhythm sleep disorders [J]. *Sleep Med*, 2007, 8(6): 566-577.
- [85] Asher G, Sassone-Corsi P. Time for food: the intimate interplay between nutrition, metabolism, and the circadian clock [J]. *Cell*, 2015, 161(1): 84-92.
- [86] Chaix A, Zarrinpar A, Miu P, et al. Time-restricted feeding is a preventative and therapeutic intervention against diverse nutritional challenges [J]. *Cell Metab*, 2014, 20(6): 991-1005.

(收稿日期: 2024-02-21)

(本文编辑: 龚哲妮)

引用格式

杜牧, 王栋, 杨柳, 等. 生物钟与椎间盘退变的研究进展 [J]. *骨科*, 2024, 15(3): 282-288. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8573.2024.03.017.

(上接第 281 页)

- [11] Shinohara T, Tatebe M, Yamamoto M, et al. A surface-based hemangioma of the radius which posed radiological diagnostic difficulties [J]. *Nagoya J Med Sci*, 2013, 75(1-2): 125-129.
- [12] 彭金辉, 陈金忠, 梁博伟, 等. 股骨颈及大转子海绵状血管瘤 1 例报告 [J]. *实用骨科杂志*, 2020, 26(1): 92-94.
- [13] 娄金鹏, 徐博, 宋晓阳, 等. 跟骨海绵状骨血管瘤 1 例报道 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2022, 30(19): 1822-1824.
- [14] Glicenstein J, Ohana J, Leclercq C. *Tumours of the hand* [M]. Berlin: SpringerVerlag, 1998.
- [15] Honda M, Toda K, Baba H, et al. Congenital cavernous angioma of the temporal bone: case report [J]. *Surg Neurol*, 2003, 59(2): 120-123; discussion 123.
- [16] Czerniak B. *Dorfman and Czerniak's Bone Tumors E-Book* [M]. Amsterdam: Elsevier Health Sciences, 2015.
- [17] Unni KK, Inwards CY. *Dahlin's bone tumors: general aspects and data on 10,165 cases* [M]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2010.
- [18] Wenger DE, Wold LE. Benign vascular lesions of bone: radiologic and pathologic features [J]. *Skeletal Radiol*, 2000, 29(2): 63-74.
- [19] Chen KC, Wu CT, Pan CT, et al. Metachronous multiple chest wall osseous hemangiomas [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2007, 133(3): 838-839.
- [20] Mankin HJ, Mankin CJ, Simon MA. The hazards of the biopsy, revisited. Members of the Musculoskeletal Tumor Society [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1996, 78(5): 656-663.
- [21] Jelinek JS, Murphey MD, Welker JA, et al. Diagnosis of primary bone tumors with image-guided percutaneous biopsy: experience with 110 tumors [J]. *Radiology*, 2002, 223(3): 731-737.
- [22] Pramesh CS, Deshpande MS, Pardiwala DN, et al. Core needle biopsy for bone tumours [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2001, 27(7): 668-671.
- [23] Tsukushi S, Katagiri H, Nakashima H, et al. Application and utility of computed tomography-guided needle biopsy with musculoskeletal lesions [J]. *J Orthop Sci*, 2004, 9(2): 122-125.
- [24] Bickels J, Jelinek JS, Shmookler BM, et al. Biopsy of musculoskeletal tumors. Current concepts [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1999(368): 212-219.
- [25] 郭卫. 恶性骨肿瘤保肢治疗的原则及问题 [J/CD]. *中华关节外科杂志(电子版)*, 2007, 1(5): 257-261.
- [26] Weinstein, Stuart L. *Turek's Orthopaedics: principles and their application* [M]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

(收稿日期: 2024-02-06)

(本文编辑: 龚哲妮)

引用格式

崔浩诚, 郑凯, 徐明, 等. 经皮穿刺活检确诊儿童股骨远端骨内血管瘤一例报道 [J]. *骨科*, 2024, 15(3): 278-281, 288. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8573.2024.03.016.