.基础研究.

牵张应力对退变椎间盘髓核细胞增殖凋亡 及细胞外基质表达的影响

张雯 徐辉 罗大伟 冯洪永 纪昌宾 杨克石 李彬 李昆朋

探讨不同强度牵张应力刺激对体外培养的人退变髓核细胞增殖凋亡和细胞外基质表 【摘要】 达的影响。方法 分选并体外培养人退变的髓核细胞,使用四点弯曲细胞力学装置对细胞施加不同强度的 牵张应力,根据施加牵张应力强度的不同分为对照组(未给予应力刺激)、低强度组(1000 μ)、中强度组 (2000 μ)和高强度组(4000 μ)四组。采用流式细胞仪测定退变髓核细胞的增殖情况;采用实时荧光定量 聚合酶链反应(qPCR)检测各组细胞的细胞增殖核抗原(PCNA)、细胞凋亡相关蛋白 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (Bcl-2)与Bcl-2相关X蛋白(Bax)、以及Ⅱ型胶原(ColⅡ)和蛋白聚糖(Aggrecan)的基因表达情况并进行 分析。结果 在不同强度的牵张应力作用下,退变髓核细胞的增殖凋亡和细胞外基质分泌呈现不同的变 化。随着施加力学强度的增加、髓核细胞的增殖指数和 PCNA 基因表达水平先升高而后又逐渐降低,差异 有统计学意义(P<0.05)。髓核细胞凋亡相关基因 Bcl-2/Bax mRNA 值在 1000 μ 强度牵张应力作用下为对 照组的 1.53 倍, 而在 2000 μ 和 4000 μ 强度下分别为 0.71 和 0.43, 同样呈现出随应力刺激增加先升高又降 低的趋势,差异均有统计学意义(P<0.05)。给予 1000 μ强度应力刺激后,Col Ⅱ 和 Aggrecan 均有不同程度 的表达增加,分别增加了2.1倍和2.3倍,与对照组比较,差异有统计学意义(P<0.05)。随着牵张应力强度 的增加,Col II 和 Aggrecan 基因表达逐渐降低,在 4000 μ强度牵张应力刺激时,二者基因表达最低,差异具 有统计学意义(P<0.05)。结论 不同强度的牵张应力对人退变髓核细胞的增殖凋亡以及细胞外基质的表 达作用不同。

【关键词】 牵张应力; 退变髓核细胞; 增殖; 凋亡; 细胞外基质

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(ZR2014HL027、ZR2017MH112);山东省医药卫生科技发展计划项目(2016WS0206)

The effect of mechanical stretching stress on the proliferation, apoptosis of degenerative disc nucleus pulposus cells and expression of extracellular matrix Zhang Wen*, Xu Hui, Luo Dawei, Feng Hongyong, Ji Changbin, Yang Keshi, Li Bin, Li Kunpeng. *Department of Ultrasonography, People's Hospital of Liaocheng, Liaocheng 252000, China

Corresponding author: Li Kunpeng, Email: kunpengxyz@163.com

[Abstract] Objective To observe in vitro the effect of mechanical stress at different intensities on the proliferation, apoptosis and extracellular matrix of degenerative human nucleus pulposus cells. Methods The cells were isolated and cultured in vitro, and divided into a control group, a low-intensity group, a medium-intensity group and a high-intensity group. The low-, medium- and high-intensity groups were stretched mechanically by 1000 μ , 2000 μ or 4000 μ respectively for 6 hours using a four-point bending system, while the control group was not stressed. Flow cytometry was used to explore any changes in the cell cycle and the proliferation index (PI). The expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), B-cell lymphoma-2 (BCL-2)/Bax, collagen II and aggrecan were measured using real-time quantitative polymerase chain reactions. Results The mechanical stretching significantly influenced proliferation, apoptosis and the extracellular matrices compared with the control group. The PI and PCNA expression increased at first and then decreased gradually with the exercise intensity. Compared with the control group, the mRNA expression level of Bcl-2/Bax increased significantly to 1.53 times that of the control group after 1000 μ stretching, but to only 0.71 times that of the control group at 2000 μ and 0.43 times at 4000 μ . The gene expression of collagen II increased significantly by 1.1 times and that of aggrecan by 1.3 times after 1000 μ stress stimulation compared with the control group ($P \le 0.05$). However, the expression of collagen II and aggrecan was inhibited sig-

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2018.10.001

作者单位:252000 聊城,聊城市人民医院超声医学科(张雯)、骨科(徐辉、罗大伟、冯洪永、纪昌宾、杨克石、李彬、李昆朋)

nificantly at 2000 and 4000 μ , with the lowest levels at 4000 μ ($P \le 0.05$). Conclusion Stretching at different intensities has different effects on the proliferation, apoptosis and extracellular matrix of human pulposus cells with degenerate nuclei.

[Key words] Mechanical stress; Stretching; Degenerate nuclei; Pulposus cells; Proliferation; Apoptosis; Extracellular matrices

Fund program: Natural Science Foundation of Shandong Province (grants ZR2014HL027 and ZR2017MH112), A Shandong Province Medical Science and Technology Development Project (no. 2016WS0206)

椎间盘退变性疾病是引起颈肩腰腿疼痛的主要原 因,近年来有研究报道因椎间盘退变引起的颈肩腰腿 痛患病率高达60%~80%,不仅给患者带来极大的痛 苦,也消耗了大量医疗资源[1]。椎间盘由髓核、纤维 环和上下软骨终板构成,主要成分是水、胶原和蛋白多 糖等细胞外基质,其主要的生物力学功能是维持椎间 隙高度和承受力学负荷。髓核是椎间盘的核心部位, 由髓核细胞和基质组成,是承受椎间盘机械应力负荷 的主要部位。很多研究[24]已经证实,由细胞凋亡或衰 老引起的椎间盘髓核细胞数目和活性的下降,细胞外 基质的合成下降、分解增加是椎间盘退变的主要原因。 机械应力负荷可影响髓核细胞的凋亡和细胞外基质的 合成分泌,而且这种影响有强度、频率和持续时间的依 赖性[5-7]。但目前关于机械应力对退变椎间盘的髓核 细胞增殖凋亡以及细胞外基质分泌的影响还了解甚 少。本研究通过对已经退变的椎间盘髓核细胞给予不 同强度的牵张应力刺激,观察牵张应力对细胞增殖和 凋亡以及细胞外基质表达的影响,旨在明确应力对退 变椎间盘髓核的影响作用,为早期椎间盘退变的治疗 提供理论基础。

材料与方法

一、主要试剂及仪器

DMEM/F12 培养基(Dulbecco's modified Eagle medium/nutrient mixture F-12)和胎牛血清(Gibco 公司,美国), II 型胶原酶和胰蛋白酶(Sigma 公司,美国),实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, qPCR)试剂盒(Toyobo 公司,日本),Trizol 试剂盒(Invitrogen 公司,美国),四点弯曲细胞力学加载装置(由华西医科大学和成都电子科技大学共同研制),CO₂ 培养箱(Hera-cell 公司,德国),恒温摇床(Heidolph 公司,德国),倒置显微镜(Olympus公司,日本),细胞培养板(Corning 公司,美国),弹性基底膜(Flexcell 公司,美国),流式细胞仪(BD公司,美国)。

二、实验方法

1. 髓核细胞培养:髓核细胞取自1例32岁男性腰椎间盘突出症患者的退变椎间盘组织。在无菌条件下,剔除脂肪、软骨组织,分离髓核与纤维环组织,D-

Hank's 液冲洗 3 遍,双抗浸泡 3 min,剪碎髓核组织为 1 mm×1 mm×1 mm 大小。髓核组织以 0.25%的胰蛋白酶和 0.2%的 Ⅲ型胶原酶联合消化,37℃摇床200 r/min,90 min,收集消化液,1000 r/min 离心 7 min,弃上清液,用 DMEM/F12 培养液吹匀细胞,再次离心,重复 3 次。DMEM/F12 培养液重悬细胞,细胞计数,按 1×10^6 /ml 接种于培养瓶中,加入含 10%胎牛血清的DMEM/F12 培养基,37℃、5%CO,培养箱中培养。

2. 实验分组:生长良好的髓核细胞,胰酶消化后 吹散,细胞计数后调整浓度至 5×10⁴/ml,加入 6 孔弹 性基底膜培养,标准环境下继续孵育 24 h,然后按照实验分组,利用四点弯曲细胞力学加载装置(图 1)对培养在弹性基底膜培养板上的髓核细胞进行力学加载(如图 2 所示)。所有力学加载组细胞的力学刺激频率为 0.5 Hz,应力强度分别为 1000 μ strain(简称1000 μ)、2000 μ 和 4000 μ,刺激时间均为 6 h;对照组不给予力学刺激。按细胞受力学刺激强度分为对照组(无力学刺激)、低强度组(1000 μ)、中强度组(2000 μ)和高强度组(4000 μ)四个组。



图 1 四点弯曲细胞力学加载装置实物图

3. 流式细胞仪检测细胞增殖:细胞力学加载结束后,继续于细胞培养箱中培养 24 h,给予细胞充分反应时间。酶消化法消化各组细胞,2000 r/min 离心5 min,去上清,用无菌D-Hank's液轻微漂洗2次,75%冷乙

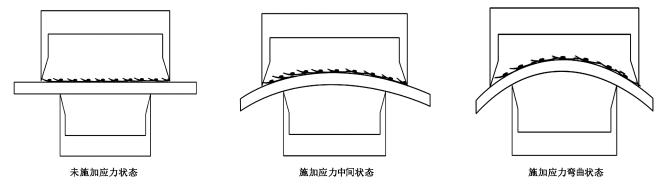


图 2 细胞力学装置力学原理示意图

醇固定;细胞 2000 r/min 离心 5 min,去上清,加入 500 μl RNA 酶, 37 ℃ 孵育 30 min; 2000 r/min 离心 5 min,去上清,加 500 μl 碘化丙啶,室温避光孵育 30 min,300 目筛过滤,用流式细胞仪检测细胞 DNA 合成量和细胞周期,采用 FlowPlus 软件处理数据。根据细胞周期中 GO/G1 期和 G2/M 期细胞比例来计算 S 期细胞百分比(%)及细胞增殖指数(proliferative index,PI)。其计算公式分别为: S 期(%) = 1-[GO/G1 期(%)+G2/M 期(%)], PI(%) = S 期(%)+G2/M 期(%)。

4. qPCR 检测相关基因的表达:采用 qPCR 检测髓核细胞增殖核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、凋亡相关基因[B淋巴细胞瘤-2基因(B cell lymphoma-2, Bcl-2)与 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)]以及蛋白聚糖(Aggrecan)和Ⅱ型胶原(Col Ⅱ)的基因表达情况。

cDNA 合成:用 Trizol 试剂一步法提取各组细胞总RNA(具体步骤按操作说明书进行),分光光度计检测浓度及纯度,取 1 μg 总 RNA 按 qPCR 逆转录试剂盒一步法得到 cDNA。

引物(Invitrogen 公司,美国):β-actin 上游引物 5′-GCCAACACAGTGCTGTCT-3′,下游引物 5′-AGGAG-CAATGATCTTGATCTT-3′,产物长度 114 bp; PCNA 上游引物 5′-AGTGGAGAACTTGGAAATGGAA-3′,下游引物 5′-GAGACATGGAGTGGCTTTTGT-3′,产物长度 154 bp; Bcl-2 上游引物 5′-GATTGTGGCCTTCTTT-GAGTT-3′,下游引物 5′-AGTTCCACAAAGGCATCCCA-3′,产物长度 141 bp; Bax 上游引物 5′-TCCACCAA-GAAGCTGAGCGAG-3′,下游引物 5′-GTCCAGCCCAT-GATGGTTCT-3′,产物长度 257 bp; Col II 上游引物 5′-CGTGCTCCTGCCGTTTCGCT-3′,下游引物 5′-TGCACA-CAGCTGCCAGCCTC-3′,产物长度 170 bp; Aggrecan 上游引物 5′-TCAACTGCTGCAGACCAGGAGGT-3′,下游产物 5′-CCGATCCACTGGTAGTCTTGGGCA-3′,产物长度200 bp。

qPCR 的反应体系为 20 μl。反应扩增条件为: 95 ℃ 预变性 3 min, 40 个扩增循环为 95 ℃ 变性 10 s, 60 ℃ 退火延伸 30 s。获得 PCNA、Bax 和 Bcl-2、以及 Col II 和 Aggrecan mRNA 值与 β-actin 的循环阈值 (cycle threshold, Ct 值),参照文献的计算方法,施加力学 刺激组目的基因相对于对照组的表达量 $2^{-\Delta \Delta Ct}$ 反映其表达水平,其中 $-\Delta \Delta Ct = -(\Delta Ct 目的基因<math>-\Delta Ct$ 内参); $\Delta Ct = Ct_{\text{$Ztiphill}} - Ct_{\text{$Ztiphill}}$ 。

三、统计学方法

使用 SPSS 18.0 版统计软件进行统计学分析处理,计量资料数据以($\bar{x}\pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析,组间多重比较采用 LSD-t 法。P<0.05认为差异有统计学意义。

结 果

一、体外培养的髓核细胞观察

相差倒置显微镜观察显示消化组织块细胞为球形,胞浆多,核明亮而清楚,悬浮于培养基中,也可见少数尚未完全消化抱在一起的细胞团。原代髓核细胞贴壁时间较长,24 h 后开始有少量细胞贴壁,7 d 后可达90%贴壁,并逐渐变为梭形,胞核大而圆,胞浆丰富,内含分泌颗粒(图 3)。

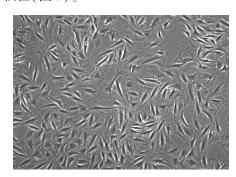


图 3 倒置相差显微镜下观察显示体外培养的髓核细胞形态(×100)

二、细胞增殖测定

流式细胞仪测定结果显示,各组体外培养的髓核细胞在相应强度牵张力学刺激下,随着对髓核细胞施

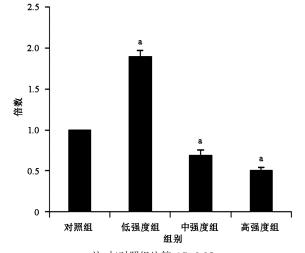
加牵张力学刺激应变强度的增加,其增殖指数和 S 期 细胞呈现出先逐渐增强而后减弱的趋势,在低强度组 髓核细胞的 PI 值和 S 期百分比最高,而中强度组和高强度组髓核细胞的 PI 值和 S 期百分比降低,且均低于对照组,其中高强度组的髓核细胞 PI 值和 S 期百分比最低,各组间比较,差异均有统计学意义(P<0.05),详见表 1。

表1 各组细胞 PI 及其 S 期变化(%)

| 组别 | PI | S期 |
|------|------------------------------|----------------------------|
| 对照组 | 23.23±1.90 | 17.59±1.71 |
| 低强度组 | 37.45 ± 2.37^{a} | 25.90±2.35a |
| 中强度组 | 18.51 ± 1.61 ab | 13.64 ± 1.48^{ab} |
| 高强度组 | $13.58\!\pm\!1.40^{\rm abc}$ | $10.42 \pm 1.04^{\rm abc}$ |

注:与对照组比较, ${}^{a}P$ <0.05;与低强度组比较, ${}^{b}P$ <0.05;与中强度组比较, ${}^{c}P$ <0.05

qPCR 结果显示,PCNA mRNA 相对表达量变化和细胞 PI 值变化趋势相似,随着牵张应力刺激强度的增加,其表达量先增高而后又逐渐降低的趋势。与对照组相比,低强度组髓核细胞 PCNA 表达量增高,约为1.9倍,组间差异有统计学意义(P<0.05);而在中强度组和高强度组 PCNA mRNA 表达量降低,相对表达量分别为对照组的 0.7 和 0.5(P<0.05),且高强度组表达量最低。详见图 4。



注:与对照组比较,*P<0.05 **图 4** 各组细胞 PCNA 的基因相对表达量

三、细胞凋亡相关基因测定

qPCR 结果显示,低强度组髓核细胞在 1000 μ 牵 张应力的作用下,凋亡相关基因 Bcl-2/Bax mRNA 比值为(1.53±0.09),而中强度组和高强度组髓核细胞 Bcl-2/Bax mRNA 比值分别为(0.71±0.05)和(0.43±0.05),与对照组相比,差异均有统计学意义(P<0.05),详见图 5。

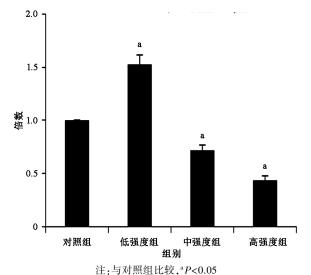


图 5 各组细胞的 Bcl-2/Bax 基因相对表达量

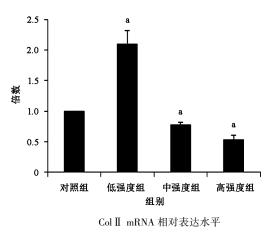
四、细胞外基质表达测定

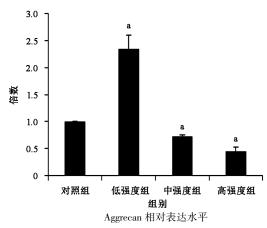
定量 PCR 结果显示,牵张应力作用后各组细胞Col II 和 Aggrecan 均有不同程度的表达。不同强度应力刺激下,Col II 和 Aggrecan 的表达量与对照组比较,组间差异均有统计学意义(P<0.05)。低强度组的Col II 和 Aggrecan mRNA 表达高于对照组,分别增加了2.1倍和2.3倍,且组间差异有统计学意义(P<0.05);随着牵张应力强度的增加,Col II 和 Aggrecan mRNA 表达逐渐降低。中强度组髓核细胞的Col II 和 Aggrecan mRNA表达量均低于对照组,分别为对照组的0.77和0.72,差异亦有统计学意义(P<0.05);高强度组细胞Col II 和 Aggrecan mRNA 的表达量亦低于对照组,分别为 0.53 和 0.45,差异均有统计学意义(P<0.05)详见图 6。

讨 论

目前,国内外治疗椎间盘退变的措施主要有药物、激素、物理疗法、开放手术及内窥镜和经皮椎间盘镜等微创手术。这些方法虽能缓解临床症状,但并非是针对椎间盘退变本身的治疗,而且椎间盘手术切除会造成与椎间盘高度丢失相关的生物力学及解剖结构变化,会进一步加重椎间盘退变及脊柱不稳^[8-9]。故理想的治疗方式应能维持椎间盘组织内正常髓核细胞的数量,促进细胞外基质的分泌,防止细胞外基质降解。

力学负荷对椎间盘细胞增殖、凋亡以及细胞中聚 集蛋白多糖、胶原纤维等具有明显的影响。机械应力 的增加可导致椎间盘细胞代谢平衡破坏,从而促使椎 间盘退变的发生;而椎间盘退变也可导致生物力学改 变,致使软骨终板压力增高,渗透力下降,细胞凋亡增 加,代谢改变,形成恶性循环[10-12]。本研究以已退变 的人椎间盘细胞为研究对象,可以用来观察椎间盘退





注:与对照组比较, ªP<0.05

图 6 各组细胞 Col II 和 Aggrecan 的基因相对表达量

变以后不同强度的力学刺激对椎间盘髓核细胞增殖凋 亡以及代谢的影响。

髓核细胞凋亡是椎间盘退变的主要原因之一。有研究表明,采用 Bcl-2/Bax 比值来判断细胞是否进入凋亡状态 比单独考察 Bax 和 Bcl-2 更具灵敏性; Bcl-2/Bax 比值增加,凋亡降低; Bcl-2/Bax 比值降低,凋亡增加[13-14]。本研究检测了不同强度牵张应力对髓核细胞 Bcl-2/Bax mRNA 比值的影响,结果显示在1000 μ强度的牵张应力作用下,髓核细胞凋亡相关基因Bcl-2/Bax mRNA 比值升高;而随着牵张应力强度的增加,Bcl-2/Bax mRNA 比值逐渐降低,在 2000 μ和4000 μ强度下 Bcl-2/Bax 比值较对照组明显降低,均有明显差异性。由此可以推出,低强度的牵张应力抑制了退变髓核细胞的凋亡,而高强度的力学刺激促进了细胞的凋亡,可能进而加快椎间盘的退变过程。这与之前的实验研究结果一样,过度的应力负荷对导致髓核细胞的凋亡[15-17]。

髓核细胞同软骨细胞表型相似,合成分泌的细胞外基质主要为聚集蛋白聚糖和 Col II,它们作为椎间盘基质中最重要的两个大分子物质,在保持椎间盘的结构和功能完整性方面具有重要作用。目前有研究试图通过增加聚集蛋白聚糖和 Col II 的含量提高组织工程椎间盘细胞的质量,不论生长因子刺激或是氧含量控制,均在一定程度上改善了聚集蛋白聚糖和 Col II 的含量^[18]。最近的研究证实生理活动形成的轻度负荷可以促进髓核细胞合成分泌蛋白聚糖和 Col II 等细胞外基质,而过度的负荷或高频率的负荷则会使细胞基质中的聚集蛋白聚糖和 Col II 合成受到抑制或者分解加剧^[19]。本研究结果与此相似,与未受力的对照组相比,在 1000 μ 较小强度的牵张应力作用下,退变性髓核细胞的增殖指数、PCNA 及蛋白聚糖和 Col II mRNA的表达均有所增加,而 2000 μ 和 4000 μ 强度的

力学负荷可降低髓核细胞的 PI 值、PCNA 及蛋白聚糖和 Col II mRNA 的表达。这显示了同细胞凋亡一样的变化趋势,低强度的力学刺激促进细胞增殖和细胞外基质的分泌,而随着牵张应力作用强度的加大,细胞增殖和细胞外基质的分泌受到抑制,且随着强度的增加,抑制程度增加。

综上所述,椎间盘退变过程是一个由生物力学和 细胞生物学相互作用的长期复杂病理过程。本研究仅 从牵张应力作用于体外培养的退变椎间盘髓核细胞方 面进行了研究,证实了低强度牵张应力可以促进髓核 细胞增殖和细胞外基质的合成,抑制髓核细胞的凋亡, 在一定程度上可能会减缓椎间盘退变的过程;而高强 度牵张应力促进细胞凋亡抑制增殖和细胞外基质分 泌,进而加快椎间盘退变,提示对已经退变的椎间盘减 少应力负荷可能会减少退变髓核细胞的凋亡及细胞外 基质的分解,进而会减缓椎间盘退变的进展,这为椎间 盘退变患者的保守治疗提供了一定的理论基础。但本 研究仅为单一应力刺激的细胞力学模型,尚未完全模 拟椎间盘中髓核细胞的生物学环境(低氧环境),目关 于牵张应力对髓核细胞的影响机制以及退变髓核细胞 与正常髓核细胞响应力学干预机制的差异尚需进一步 更深入研究。

参 考 文 前

- [1] Katz JN. Lumbar disc disorders and low-back pain; socioeconomic factors and consequences [J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88 (Suppl 2); 21-24. DOI;10.2106/jbjs.e.01273.
- [2] Zhao CQ, Jiang LS, Dai LY. Programmed cell death in intervertebral disc degeneration [J]. Apoptosis, 2006, 11(12):2079-2088. DOI: 10.1007/s10495-006-0290-7.
- [3] Freemont AJ. The cellular pathobiology of the degenerate intervertebral disc and discogenic back pain[J]. Rheumatology, 2009, 48(1):5-10. DOI: 10.1093/rheumatology/ken396.
- [4] Jiang L, Zhang X, Zheng X, et al. Apoptosis, senescence, and auto-

- phagy in rat nucleus pulposus cells; implications for diabetic intervertebral disc degeneration [J]. J Orthop Res, 2013, 31 (5); 692-702. DOI; 10.1002/jor.22289.
- [5] Li P, Gan Y, Wang H, et al. Dynamic compression effects on immature nucleus pulposus; a study using a novel intelligent and mechanically active bioreactor [J]. Int J Med Sci, 2016, 13 (3): 225-234. DOI:10.7150/ijms.13747.
- [6] Kuo YJ, Wu LC, Sun JS, et al. Mechanical stress-induced apoptosis of nucleus pulposus cells: an in vitro and in vivo rat model[J]. J Orthop Sci, 2014, 19(2):313-322. DOI:10.1007/s00776-013-0510-2.
- [7] Wang DL, Jiang SD, Dai LY. Biologic response of the intervertebral disc to static and dynamic compression in vitro [J]. Spine, 2007, 32 (23);2521-2528. DOI;10.1097/BRS.0b013e318158cb61.
- [8] Karppinen J, Shen FH, Luk KD, et al. Management of degenerative disk disease and chronic low back pain[J]. Orthop Clin North Am, 2011,42(4):513-528. DOI:10.1016/j.ocl.2011.07.009.
- [9] Wang MY, Vasudevan R, Mindea SA. Minimally invasive lateral interbody fusion for the treatment of rostral adjacent-segment lumbar degenerative stenosis without supplemental pedicle screw fixation [J]. J Neurosurg Spine, 2014, 21 (6): 861-866. DOI: 10.3171/2014. 8. spine13841.
- [10] Adams MA, Roughley PJ. What is intervertebral disc degeneration, and what causes it [J]. Spine, 2006, 31 (18): 2151-2161. DOI: 10. 1097/01.brs.0000231761.73859.2c.
- [11] Paul CP, Schoorl T, Zuiderbaan HA, et al. Dynamic and static overloading induce early degenerative processes in caprine lumbar interverte-bral discs [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62411. DOI: 10.1371/journal.pone.0062411.
- [12] Stokes IA, Iatridis JC. Mechanical conditions that accelerate intervertebral disc degeneration: overload versus immobilization [J]. Spine, 2004,29(23):2724-2732.

- [13] Lindsay J, Esposti MD, Gilmore AP. Bcl-2 proteins and mitochondria-specificity in membrane targeting for death [J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1813(4);532-539. DOI:10.1016/j.bbamcr.2010.10.017.
- [14] 刘毅梅,惠需,徐晓华,等.血管内皮生长因子介导 PI3K-eNOS 信号通路对脑瘫模型大鼠神经损伤的保护作用 [J].中华物理医学与康复杂志,2015,37(1):56-60. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.01.015.
- [15] Chen S, Lv X, Hu B, et al. RIPK1/RIPK3/MLKL-mediated necroptosis contributes to compression-induced rat nucleus pulposus cells death[J]. Apoptosis, 2017, 22(5):626-638. DOI:10.1007/s10495-017-1358-2.
- [16] Lin H, Zhao L, Ma X, et al. Drp1 mediates compression-induced programmed necrosis of rat nucleus pulposus cells by promoting mitochondrial translocation of p53 and nuclear translocation of AIF[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 487(1):181-188. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.04.037.
- [17] Ma KG, Shao ZW, Yang SH, et al. Autophagy is activated in compression-induced cell degeneration and is mediated by reactive oxygen species in nucleus pulposus cells exposed to compression[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2013, 21 (12): 2030-2038. DOI: 10.1016/j.joca. 2013.10.002.
- [18] Steck E, Bertram H, Abel R, et al. Induction of intervertebral disclike cells from adult mesenchymal stem cells[J]. Stem Cells, 2005, 23 (3):403-411. DOI:10.1634/stemcells.2004-0107.
- [19] Illien-Jünger S, Gantenbein-Ritter B, Grad S, et al. The combined effects of limited nutrition and high-frequency loading on intervertebral discs with endplates[J]. Spine, 2010, 35 (19):1744-1752. DOI:10. 1097/BRS.0b013e3181c48019.

(修回日期:2018-08-23) (本文编辑:汪 玲)

· 外刊撷英 ·

Working hours and venous thromboembolism

BACKGROUND AND OBJECTIVE Previous studies have demonstrated an association between longer working hours and the risk of coronary heart disease, myocardial infarction, cardiac arrhythmias and stroke. This study assessed the effect of long working hours on the risk of deep venous thrombosis (DVT) or pulmonary embolism (PE).

METHODS Data were obtained from the Individual Participant Data Meta-Analysis in Working Populations (IPD-Work) consortium, including data from 13, independent cohort studies in multiple nations. Long working hours were defined as 55 hours per week or longer, and standard working hours as 35 to 40 hours per week. The subjects were followed for incident venous thromboembolisms (VTE). The sample was followed for a mean of 9.7 years, with work hours compared to the incidence of VTE.

RESULTS Among the 77,291, full-time employees included in the analysis, 539 first-time VTE events were recorded, with an incidence of 64.9 per 100,000 person/years. Compared to those working 35 to 40 hours per week, the risk of VTE was greater among those with longer working hours (HR 1.5). The risk with longer hours was greater for DVT (HR 1.7) than for PE (HR 1.4).

CONCLUSION This study expands on our understanding of the cardiovascular risks of working 55 hours per week or longer, demonstrating an increased risk of venous thromboembolism.

【摘自:Kivimäki M, Nyberg ST, Batty GD, et al. Long working hours and risk of venous thromboembolism. Epidem, 2018, 9, 29(5): e 42-e44.】