

· 综述 ·

椎间盘髓核退变再生修复研究和临床应用现状

陈 铭,沈 军*

南京医科大学附属苏州医院,苏州市立医院本部骨科,江苏 苏州 215002

[摘要] 下腰痛是骨科常见的疾病之一,而椎间盘髓核退变是引起下腰痛的主要原因。目前对于椎间盘退变的治疗方式主要是保守治疗和手术治疗,然而这些治疗方法的目的是缓解症状,并非是针对椎间盘退变发生机制的病因治疗。对椎间盘髓核退变发生机制的详细了解有助于开展生物学再生修复。目前,针对髓核退变的分子机制和背景,发展出不同的髓核退变生物学再生修复的方法。文章从生长因子治疗、基因治疗、细胞治疗、组织工程化髓核等方面对髓核退变生物学再生修复进行综述。

[关键词] 椎间盘退变;生长因子治疗;细胞治疗;基因治疗;组织工程治疗

[中图分类号] R681.53

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)05-774-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20190531

Research and clinical application of intervertebral disc degeneration repair

Chen Ming, Shen Jun*

Department of Orthopedic Surgery, the Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou 215002, China

[Abstract] Low back pain is one of common diseases of orthopedics, and the degeneration of intervertebral disc is the main cause of lower back pain. Currently, the treatment of disc degeneration mainly contains conservative treatment and surgical treatment. However, both treatment methods can only alleviate the patient's pain and decrease the patient's symptoms, which cannot fundamentally solve the problem of disc degeneration. Therefore, understanding the mechanism of nucleus pulposus degeneration can help us to develop biological regeneration and repair. At present, different regeneration and repair methods of nucleus pulposus degeneration have been developed based on the mechanism of nucleus pulposus degeneration. This article reviews the latest strategies for nucleus pulposus regeneration, including growth factor therapy, gene therapy, cell therapy, and tissue engineering reconstruction.

[Key words] intervertebral disc degeneration, growth factor therapy, cell therapy, gene therapy, tissue engineering

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(05): 774-780]

慢性下腰痛在全世界范围内迄今仍是一个发病率高、处理棘手的骨科疾病,是目前世界上最严重的与慢性衰老伴随的疾病之一。全球有6亿左右的下腰痛患者^[1],70%~85%的成年人一生中都会经历不同程度的下腰痛,对患者自身的生活和生存质量、国家医疗费用支出和社会生产力都会造成很大影响。据估计,美国每年因为下腰痛造成的直接和

间接损失超过1 000亿美元^[2]。大多数的下腰痛可以忍受并且具有自限性,急性期大概持续4周,亚急性期4~12周,部分患者会发展到慢性期,持续时间长达12周之久^[3]。探索其发病机制是目前医学研究的重大方向之一。

在临床上,基于病理组织学和影像学的大数据表明,大多数下腰痛的发生始于椎间盘髓核的退行性改变^[4]。椎间盘是连接脊柱相邻椎体之间的疏松结缔组织,它是由髓核、纤维环和软骨终板构成的复杂组织,具有传递和缓冲由体重和肌肉收缩造成的脊柱应力的功能。髓核由Ⅱ型胶原和蛋白多糖

[基金项目] 江苏省自然科学基金(BK20151196);江苏省第5期“333工程”科研项目(BRA2017057)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: szshenjun@yeah.net

等构成的凝胶状基质和髓核细胞组成,主要用来抵抗脊柱上下传导的纵向压力并吸收震荡;纤维环中则富含交叉排列的I型胶原纤维和纤维环细胞,主要功能是缓冲椎间盘的横向扩展运动。除了I、II型胶原存在于椎间盘外,由同源三聚体肽链构成的III型胶原也存在于髓核和纤维环中,共同维护椎间盘的稳定性^[5]。软骨终板则由透明软骨基质和其中的终板软骨细胞组成,主要将椎间盘与相邻的椎体连接在一体并且为椎间盘提供营养、代谢通道^[6]。

椎间盘髓核退变过程中髓核的结构和生化成分发生改变,蛋白多糖和水分含量的下降影响了椎间盘的承载能力,加上胶原成分的改变和(或)含量的下降使其失去了原有的弹性和伸缩性;不但不能发挥原先在椎体间充当缓冲垫的功能,而且在正常的生理载荷下发生了髓核和纤维环的损伤,引起不同程度的下腰痛和神经刺激症状^[7]。

椎间盘退变常采用MRI进行Pfirrmann分级,共分为5级:1级:椎间盘结构均匀,T2相高信号,椎间盘高度正常;2级:椎间盘结构不均匀,T2相高信号,髓核与纤维环的界线明显,椎间盘高度正常,有或无水平灰带;3级:椎间盘结构不均匀,T2相信号灰,髓核与纤维环的界线不清楚,椎间盘高度正常或略有下降;4级:椎间盘结构不均匀,T2相信号灰或黑,椎间盘高度正常或中度降低;5级:椎间盘结构不均匀,T2相低信号,髓核与纤维环的界线消失,椎间盘高度塌陷。退变分级在1~2级为低度退变,如果患者的临床症状较轻,可使用保守治疗,如卧床、消炎止痛药、理疗等;若影像学退变分级在3级以上,并且患者出现下腰痛、下肢麻木、行走困难等明显的临床症状,可考虑手术治疗,如射频消融术、髓核摘除术、椎间融合术等。所有这些治疗方案均是针对患者的临床症状进行处理,并不能从根本上控制甚至逆转椎间盘的退变进程。而针对椎间盘髓核退变的生物学再生修复治疗,拟在髓核退变的早期恢复和维持髓核细胞外基质的结构和数量、髓核细胞的数量和功能,逆转和延缓退变的进程。目前椎间盘髓核退变早、中期的生物学再生修复治疗主要分为三类:生长因子注射治疗、基因治疗和细胞治疗^[8];晚期髓核结构严重损坏、细胞数目严重丧失只能采用组织工程的方法重建一个完整的髓核进行替代。本文将综述最新的椎间盘髓核退变的生物学治疗方法,并概述其相关的分子生物学背景和机制。

1 生长因子治疗

椎间盘髓核细胞的代谢活动受到由自分泌或者旁分泌产生的酶、细胞因子和生长因子的调节^[9]。在正常健康的椎间盘髓核中,任何使合成和分解代谢因子失去平衡的外因,都会导致椎间盘髓核的退化过程。有学者认为,许多特殊的生长因子能够使椎间盘髓核分解代谢状态转变为合成代谢状态,促进细胞增殖修复原有的椎间盘髓核组织^[9-10]。生长因子治疗通过在椎间盘内使用生物性因子来增强基质合成、延缓退变和减低炎症反应^[11]。

Thompson等^[12]首先报道将外源性转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)使用在动物模型,能够使髓核细胞增殖和蛋白多糖合成增加。血小板源生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)在血管生成中起重要作用,具有抗有丝分裂的作用,能够延迟细胞的分解和转换;由于该因子可以应用在活体模型中,因而研究的较多。Paglia等^[13]在家兔椎间盘退变模型中发现,PDGF通过阻止细胞凋亡和增加III型胶原基质产生,改善生物力学功能,显著减少椎间盘髓核退变。Pratsinis等^[14]发现在人培养的椎间盘髓核细胞和人椎间盘组织样本中PDGF主要通过MEK/ERK和PI-3K/Akt途径促进细胞DNA合成和增殖。

和PDGF类似,胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factors -1, IGF-1)和成纤维生长因子18(fibroblast growth factor-18, FGF-18)同样可以对椎间盘内髓核细胞发挥促合成的作用。IGF-1的促有丝分裂作用会随着椎间盘髓核退变程度的加重而降低,同时会导致细胞增殖速度减慢^[15];An等^[16]在糖尿病大鼠模型腹腔中注射骨化三醇可以通过上调IGF-1来保护椎间盘髓核发生退变。

生长分化因子5(growth differentiation factors-5, GDF-5)和IGF-1都能够通过增加细胞外基质的产生和椎间盘髓核细胞的增殖,从而抑制椎间盘髓核发生退变^[17-19]。Luo等^[19]使用腺病毒介导的GDF-5感染人髓核细胞后可以增加细胞外基质的合成和促进细胞增殖。目前国际上进行两项多中心的临床研究,使用重组人GDF-5盘内注射治疗早期腰椎间盘退变,检测其安全性、耐受性和有效性^[2]。

骨形态发生蛋白7(bone morphogenetic protein-7, BMP-7)、骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)在体内促进成骨分化、诱导骨形成和软骨形成^[20]。在兔和人的椎间盘细胞体外实验

中,BMP-7可以促进细胞外基质合成;在大鼠椎间盘髓核内使用BMP-7可以抑制椎间盘高度的降低、减缓椎间盘退变的进展^[21]。同样,BMP-2可以促进椎间盘髓核细胞合成细胞外基质。

Song等^[22]发现晚期糖基化终末产物(Advanced glycation end product, AGE)的拮抗剂能够抑制椎间盘髓核退变的发展;Liu等^[23]发现尿酸A能够抑制大鼠髓核的退变。此外,表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic Fibroblast growth factor, bFGF)、转化生长因子 β 3(transforming growth factor- β 3, TGF- β 3)等在体内和体外的实验都显示能够诱导细胞外基质的合成,抑制椎间盘髓核的退变。

但生长因子治疗也有其局限之处。椎间盘髓核退变是一种长期的慢性疾病,需要多次重复注射生长因子或组合注射多种生长因子才能达到治疗效果;但由于生长因子的半衰期很短,并且作为蛋白质具有不稳定的缺点,因此也限制了它们直接注射到椎间盘髓核中的作用。并且在严重椎间盘髓核退变的内环境中,生长因子的作用相当有限。目前主要通过缓慢释放载体系统和基因传输系统的发展来克服这些问题。

2 基因治疗

基因疗法最早是由Friedmann和Roblin于1972年提出的。由于生长因子单次注射不能维持很长时间,反复注射或持续输注会引起椎间盘的损伤或炎症反应,因此基因疗法可以使用载体将外源性基因导入靶细胞,进而合成想要的治疗因子发挥作用。导入基因的载体大致分为病毒载体和非病毒载体。病毒载体被广泛使用,包含逆转录病毒、慢病毒、腺病毒和腺相关病毒等。非病毒载体主要包括裸DNA载体、脂质体。基因导入靶细胞的方式可通过直接体内注入或体外基因转导目标细胞后体内植入。直接体内注入在于将携带有外源性基因的病毒载体转导进内源性的髓核细胞刺激其增殖。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)和髓核细胞是体外基因转导、修饰的理想目标细胞,转导后经过扩增、筛选再植入到体内发挥作用;将特定的功能基因导入到目标细胞后可以增加目标细胞的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成能力。将GDF5体外导入到人骨髓来源的MSC,通过藻酸盐颗粒3D培养的转染细胞向髓核样细胞方向分化,体外注入椎间盘组织退变模型能够使糖胺

聚糖表达增加^[24]。体外导入外源性基因到髓核细胞中则更为直接,可以促进细胞增殖,增加ECM的合成能力。

腺病毒载体正广泛应用于基因治疗,因为其能有效地感染非分裂细胞,在体外和体内模型中均能维持高水平瞬态转染基因的表达。Nishida等^[25]研究发现,通过将TGF- β 基因利用腺病毒载体导入到家兔的退变椎间盘髓核中,能使髓核细胞蛋白多糖的合成显著上升。Paul等^[26]在退变的人椎间盘髓核中,通过腺病毒载体导入SOX-9基因后发现II型胶原的合成增加。在体外小鼠的椎间盘髓核退变模型中转染含有GDF-5基因的腺病毒载体,促进髓核和纤维环的增殖以及增加了细胞外基质的合成^[27]。将含有LMP-1基因的腺病毒载体导入家兔的退变椎间盘模型后显示BMP-2和BMP-7以及聚蛋白多糖的mRNA水平表达上升。但是使用腺病毒重复转染会引起宿主的免疫反应,而腺相关病毒(adenovirus, AAV)具有免疫原性轻、无致病性的优点,近年来椎间盘退变体内试验中经常使用。Ren等^[28]使用AAV将成骨蛋白1(osteogenic protein-1, OP-1)和SOX9基因共转染至家兔退变椎间盘的体内模型中,显著改变了退变椎间盘高度,增加了蛋白多糖和II型胶原的表达,认为双基因治疗具有协同效应。

非病毒载体的基因疗法能够解决病毒载体基因疗法的许多局限性,尤其在安全性方面可以减少免疫原性、降低毒性和插入突变、系统性病毒感染的风险,但存在转染效率低的问题^[29]。该载体主要有脂质体、阳离子聚合物递送载体等。Chung等^[30]在绵羊的髓核细胞中进行体外转染研究,用脂质体传递端粒酶基因,结果导致了细胞延迟衰老和细胞外基质的产生延长。Wang等^[31]发现了环状RNA SEMA4B(circular RNA SEMA4B, circSEMA4B)通过脂质体转染能够增加蛋白聚多糖和II型胶原的产生,从而抑制椎间盘髓核发生退变。

3 细胞治疗

在椎间盘退变的早期阶段,治疗策略是刺激椎间盘内祖细胞增殖,因而生长因子注入刺激内在细胞产生更多细胞外基质的治疗可能有效。随着退变程度加重,椎间盘内残留的内源性细胞数量和功能明显下降,需要基因治疗或细胞治疗补充额外的细胞和营养因子,产生细胞外基质^[32]。细胞来源包括自体 and 同种异体细胞,动物实验中可以使用异种细胞。自体细胞更为理想,主要包括各种来源的干

细胞(骨髓来源、脂肪来源间充质干细胞,诱导多能干细胞等),自身关节软骨细胞,自身髓核细胞体外扩增等;同种异体细胞包括脐带血干细胞、脐带干细胞、关节软骨细胞等^[33],而胚胎干细胞目前尚存在伦理问题。

各种来源的干细胞经过体外或体内诱导后向髓核样细胞或纤维环细胞方向分化,用来补充和替代椎间盘中坏死和凋亡的细胞,替代原有各种类型细胞的功能。该方法有两种,一种是导入各种类型的干细胞向髓核样细胞分化,另一种是导入自身椎间盘髓核的干细胞^[34-35]。

目前将各种来源的间充质干细胞导入到退变椎间盘组织中的研究较多^[36-38],但MSC在未分化状态下植入退变椎间盘,由于紊乱的内环境中机械应力的变化、乏氧、酸碱度和渗透压异常,营养缺乏等^[39],细胞不能生存,细胞数会出现明显丢失;经过诱导分化后的干细胞提高了退变内环境中的生存能力。在各种来源的诱导多能干细胞前景诱人,但也有在椎间盘内形成畸胎瘤的担忧^[40]。对于椎间盘中是否存在自身干细胞可以用于椎间盘的再生,目前已有学者将椎间盘中髓核、纤维环、软骨终板的干细胞进行分离、鉴定和扩增^[41-42];而这些干细胞最早都是从椎间盘的干细胞巢里迁移到各自部位形成各自的结构^[43]。在椎间盘再生过程中,可以利用和调动这些干细胞巢里的干细胞定向分化,进行椎间盘再生。

外源性植入的干细胞和退变椎间盘中原有髓核细胞之间的相互作用是目前另一个研究重点。Pattappa等^[44]在研究中发现退变的髓核细胞可以释放化学因子诱导外源性间充质干细胞向损伤部位移动,髓核细胞分泌、诱导间充质干细胞向损伤椎间盘部位移动的细胞因子包括低氧诱导因子1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α),血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),CCL趋化因子(C-C motif chemokine ligand)等^[44-46],干细胞接受到这些因子刺激后做出反应向损伤的部位迁移。椎间盘自身内源性髓核干细胞和外源性间充质干细胞一样可以对损伤部位产生的细胞因子做出反应。调动干细胞巢中的干细胞向损伤部位迁移前景较好,但干细胞如何适应椎间盘中恶劣的内环境并且能够生存是目前一个巨大挑战。

因此迫切需要对椎间盘中退变内环境的成分以及对干细胞活性的影响进行更深层次的研究,寻找促进干细胞在恶性退变环境中生存和增殖的方法,探索椎间盘退变环境中细胞因子诱导干细胞迁

移和分化的机制等。

4 组织工程化髓核

当椎间盘严重退变失去原有结构,目前使用组织工程方法可以构建可植入的椎间盘类似物用于替代原有失去功能的组织。在大鼠退变的椎间盘模型中,植入的组织工程化椎间盘在生物力学和生物化学测试中都表现出了与自身椎间盘相似的生物学特性^[47]。组织工程髓核包括支架和种子细胞,种子细胞主要为各种不同来源的间充质干细胞、髓核细胞等。

组织工程髓核支架模拟自然髓核组织的力学特征,用以承担、维持椎间盘的压力,早期常常使用琼脂糖、透明质酸、藻酸盐等,虽然细胞相容性较好,但存在力学强度低、孔径小、孔隙率低、降解不易控制等缺点。Wan等^[48]报道的多肽水凝胶具有良好的生物相容性,可塑性强,具有纳米纤维的结构,可达到天然髓核的力学强度,三维培养可维持髓核细胞的表型和活性,蛋白多糖和II型胶原的分泌随培养时间的延长逐渐增加;不同类型的化学合成聚合物(如聚乳酸、聚乙醇酸)等具有生物相容性好、无过敏反应、力学性能好等优点而被应用于支架材料。Woiciechowsky等^[49]将聚乙醇酸-透明质酸支架浸泡在自体血清后使用在绵羊的退变椎间盘模型中,术后6个月磁共振T2信号较对照组显著改善,椎间盘高度维持,细胞生长和细胞外基质分泌功能良好,可满足支架的要求。但该方法也存在细胞亲和力低、难以为种子细胞提供亲水性环境等问题。

包含胶原和蛋白多糖的复合材料支架逐渐受到关注,Huang等^[50]将包含II型胶原、透明质酸、6-硫酸软骨素的复合支架和同种异体髓核细胞植入兔椎间盘退变模型24周后,椎间盘高度恢复满意,细胞活力和分泌细胞外基质能力良好。

脱细胞基质近年来在髓核组织工程领域发展迅速,根据去细胞基质材料的来源不同,目前去细胞髓核支架大致分为脱细胞软骨基质来源支架、脱细胞髓核细胞来源基质支架和脱细胞髓核支架,猪小肠黏膜下层脱细胞髓核支架等^[51]。将天然髓核脱细胞后残留的髓核基质做成脱细胞髓核支架,基本保留了原有髓核的三维空间结构和内部微环境,是组织工程髓核支架研究的重点方向。Mercuri等^[52]创造性的使用化学冲洗、声波降解、核酸酶法将猪髓核中的细胞和猪的 α 半乳糖苷酶(α -galactosidase, α -Gal)抗原去除,形成脱细胞髓核基质支架,该支架细

胞外基质的成分和比例、膨胀能力、力学性能与天然髓核相似,并且该支架有利于人脂肪来源干细胞的存活和增殖。目前脱细胞支架研究向可注射型方向发展^[53-54],可用于微创操作下进行椎间盘退变的修复。

5 小结和展望

椎间盘髓核退变是一种多因子的复杂疾病,想要实现延缓甚至逆转退变的进程目前比较困难。现有的治疗方法主要集中在缓解疼痛和解除症状,寻找新的生物学再生修复的治疗方法意义重大,深入了解椎间盘髓核退变的发生机制是其中的关键。椎间盘退变的程度不同需要不同、合适的干预方式。

在椎间盘退变早期可使用生长因子注射治疗,但是半衰期较短需要反复注射,蛋白质的稳定性较差亦是显著缺陷。以基因治疗和干细胞为代表的细胞疗法适用于早、中期椎间盘髓核退变的治疗,通过基因修饰干细胞或髓核细胞,补充/代替功能减退、数量减少的髓核细胞,增强细胞分泌细胞外基质的能力;在退变后椎间盘恶劣的内环境中细胞如何生存、增殖是面临的主要问题。对晚期结构损害严重无法逆转的髓核可使用组织工程方法构建的仿生髓核进行置换,从而恢复原有髓核的功能。

综上所述,未来通过联合上述不同方法进行交叉互补,是实现椎间盘髓核退变生物学再生修复的方向。充分发挥各种方法的优势,为退变髓核的不同阶段寻找各自理想的治疗策略。

[参考文献]

- [1] GBD Disease, Injury Incidence, Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. *Lancet*, 2017, 390(10100):1211-1259
- [2] Kennon JC, Awad ME, Chutkan N, et al. Current insights on use of growth factors as therapy for intervertebral disc degeneration[J]. *Biomol Concepts*, 2018, 9(1):43-52
- [3] Chou R. In the clinic. Low back pain[J]. *Ann Intern Med*, 2014, 160(11):ITC6-1
- [4] Vadala G, Russo F, Di Martino A, et al. Intervertebral disc regeneration: from the degenerative cascade to molecular therapy and tissue engineering[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2015, 9(6):679-690
- [5] Yang Z, Chen X, Zhang Q, et al. Dysregulated COL3A1 and RPL8, RPS16, and RPS23 in disc degeneration revealed by bioinformatics methods [J]. *Spine*, 2015, 40(13):E745-751
- [6] Grant MP, Epure LM, Bokhari R, et al. Human cartilaginous endplate degeneration is induced by calcium and the extracellular calcium-sensing receptor in the intervertebral disc[J]. *Eur Cell Mater*, 2016, 32:137-151
- [7] Patil P, Niedernhofer LJ, Robbins PD, et al. Cellular senescence in intervertebral disc aging and degeneration [J]. *Curr Mol Biol Rep*, 2018, 4(4):180-190
- [8] Sampara P, Banala RR, Vemuri SK, et al. Understanding the molecular biology of intervertebral disc degeneration and potential gene therapy strategies for regeneration: a review[J]. *Gene Ther*, 2018, 25(2):67-82
- [9] Wang Z, Fu C, Chen Y, et al. FoxC2 enhances BMP7-mediated anabolism in nucleus pulposus cells of the intervertebral disc[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1):e0147764
- [10] Feng C, Liu H, Yang Y, et al. Growth and differentiation factor-5 contributes to the structural and functional maintenance of the intervertebral disc [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(1):1-16
- [11] 王振, 胡峻铮, 范卫尼. 脂联素通过 AMPK/mTOR 通路抑制 H₂O₂ 诱导的大鼠髓核细胞凋亡及细胞外基质退变[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(7):928-934
- [12] Thompson JP, Oegema TR Jr, Bradford DS. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors [J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 1991, 16(3):253-260
- [13] Paglia DN, Singh H, Karukonda T, et al. PDGF-BB delays degeneration of the Intervertebral discs in a rabbit preclinical model[J]. *Spine*, 2016, 41(8):E449-458
- [14] 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):958-64
- [15] Murakami H, Yoon ST, Attallah-Wasif ES, et al. The expression of anabolic cytokines in intervertebral discs in age-related degeneration[J]. *Spine*, 2006, 31(16):1770-1774
- [16] An JL, Zhang W, Zhang J, et al. Vitamin D improves the content of TGF-beta and IGF-1 in intervertebral disc of diabetic rats [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(12):1254-1261
- [17] Travascio F, Elmasry S, Asfour S. Modeling the role of IGF-1 on extracellular matrix biosynthesis and cellularity in intervertebral disc [J]. *J Biomech*, 2014, 47(10):2269-76
- [18] Gruber HE, Hoelscher GL, Ingram JA, et al. Growth and differentiation factor-5 (GDF-5) in the human interverte-

- bral annulus cells and its modulation by IL-1ss and TNF-alpha in vitro[J]. *Exp Mol Pathol*,2014,96(2):225-229
- [19] Luo XW, Liu K, Chen Z, et al. Adenovirus-mediated GDF-5 promotes the extracellular matrix expression in degenerative nucleus pulposus cells[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2016, 17(1):30-42
- [20] Legendre F, Ollitrault D, Gomez-Leduc T, et al. Enhanced chondrogenesis of bone marrow-derived stem cells by using a combinatory cell therapy strategy with BMP-2/TGF-beta1, hypoxia, and COL1A1/HtrA1 siRNAs [J]. *Sci Rep*,2017,7(1):3406
- [21] Liao JC. Cell therapy using bone marrow-derived stem cell overexpressing BMP-7 for degenerative discs in a rat tail disc model[J]. *Int J Mol Sci*,2016,17(2):147
- [22] Song Y, Li S, Geng W, et al. Sirtuin 3-dependent mitochondrial redox homeostasis protects against AGEs-induced intervertebral disc degeneration [J]. *Redox Biol*, 2018, 19:339-353
- [23] Liu H, Kang H, Song C, et al. Urolithin A inhibits the catabolic effect of TNFalpha on nucleus pulposus cell and alleviates intervertebral disc degeneration in vivo[J]. *Front Pharmacol*,2018,9:1043
- [24] Bucher C, Gazdhar A, Benneker LM, et al. Nonviral gene delivery of growth and differentiation factor 5 to human mesenchymal stem cells injected into a 3D bovine intervertebral disc organ culture system [J]. *Stem Cells Int*, 2013,2013:326828
- [25] Nishida K, Kang JD, Gilbertson LG, et al. Modulation of the biologic activity of the rabbit intervertebral disc by gene therapy: an in vivo study of adenovirus-mediated transfer of the human transforming growth factor beta 1 encoding gene[J]. *Spine*, 1999, 24(23):2419-2425
- [26] Paul R, Haydon RC, Cheng H, et al. Potential use of Sox9 gene therapy for intervertebral degenerative disc disease [J]. *Spine*, 2003, 28(8):755-763
- [27] Cui M, Wan Y, Anderson DG, et al. Mouse growth and differentiation factor-5 protein and DNA therapy potentiates intervertebral disc cell aggregation and chondrogenic gene expression[J]. *Spine J*,2008,8(2):287-295
- [28] Ren S, Liu Y, Ma J, et al. Treatment of rabbit intervertebral disc degeneration with co-transfection by adeno-associated virus-mediated SOX9 and osteogenic protein-1 double genes *in vivo* [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(5):1063-1068
- [29] Priyadarshani P, Li Y, Yao L. Advances in biological therapy for nucleus pulposus regeneration [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(2):206-212
- [30] Chung SA, Wei AQ, Connor DE, et al. Nucleus pulposus cellular longevity by telomerase gene therapy [J]. *Spine*, 2007, 32(11):1188-1196
- [31] Wang X, Wang B, Zou M, et al. CircSEMA4B targets miR-431 modulating IL-1beta-induced degradative changes in nucleus pulposus cells in intervertebral disc degeneration via Wnt pathway [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(11):3754-3768
- [32] Tong W, Lu Z, Qin L, et al. Cell therapy for the degenerating intervertebral disc [J]. *Transl Res*, 2017, 181(1):49-58
- [33] Coric D, Pettine K, Sumich A, et al. Prospective study of disc repair with allogeneic chondrocytes presented at the 2012 joint spine section meeting [J]. *J Neurosurg Spine*, 2013, 18(1):85-95
- [34] Jia J, Wang SZ, Ma LY, et al. The differential effects of leukocyte-containing and pure platelet-rich plasma on nucleus pulposus-derived mesenchymal stem cells: Implications for the clinical treatment of intervertebral disc degeneration [J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018:7162084
- [35] Chen X, Zhu L, Wu G, et al. A comparison between nucleus pulposus-derived stem cell transplantation and nucleus pulposus cell transplantation for the treatment of intervertebral disc degeneration in a rabbit model [J]. *Int J Surg*, 2016, 28(1):77-82
- [36] Sun Z, Luo B, Liu ZH, et al. Adipose-derived stromal cells protect intervertebral disc cells in compression: implications for stem cell regenerative disc therapy [J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(2):133-143
- [37] Wang B, Sun C, Shao Z, et al. Designer self-assembling peptide nanofiber scaffolds containing link protein N-terminal peptide induce chondrogenesis of rabbit bone marrow stem cells [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014:421954
- [38] Chen S, Zhao L, Deng X, et al. Mesenchymal stem cells protect nucleus pulposus cells from compression-induced apoptosis by inhibiting the mitochondrial pathway [J]. *Stem Cells Int*, 2017, 2017:9843120
- [39] Wang F, Shi R, Cai F, et al. Stem cell approaches to intervertebral disc regeneration: obstacles from the disc microenvironment [J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24(21):2479-2495
- [40] Liu Y, Fu S, Rahaman MN, et al. Native nucleus pulposus tissue matrix promotes notochordal differentiation of human induced pluripotent stem cells with potential for treating intervertebral disc degeneration [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2015, 103(3):1053-1059
- [41] Wang H, Zhou Y, Chu TW, et al. Distinguishing characteristics of stem cells derived from different anatomical regions of human degenerated intervertebral discs [J]. *Eur Spine J*, 2016, 25(9):2691-2704
- [42] Navaro Y, Bleich-Kimelman N, Hazanov L, et al. Matrix

- stiffness determines the fate of nucleus pulposus-derived stem cells[J]. *Biomaterials*, 2015, 49(1):68-76
- [43] Barreto Henriksson H, Lindahl A, Skioldebrand E, et al. Similar cellular migration patterns from niches in intervertebral disc and in knee-joint regions detected by in situ labeling: an experimental study in the New Zealand white rabbit[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013, 4(5):104
- [44] Pattappa G, Peroglio M, Sakai D, et al. CCL5/RANTES is a key chemoattractant released by degenerative intervertebral discs in organ culture[J]. *Eur Cell Mater*, 2014, 27:124-136
- [45] Kang SK, Shin IS, Ko MS, et al. Journey of mesenchymal stem cells for homing: strategies to enhance efficacy and safety of stem cell therapy [J]. *Stem Cells Int*, 2012, 2012:342968
- [46] Zhao Y, Zhang H. Update on the mechanisms of homing of adipose tissue - derived stem cells [J]. *Cytherapy*, 2016, 18(7):816-827
- [47] Martin JT, Kim DH, Milby AH, et al. In vivo performance of an acellular disc-like angle ply structure (DAPS) for total disc replacement in a small animal model[J]. *J Orthop Res*, 2017, 35(1):23-31
- [48] Wan S, Borland S, Richardson SM, et al. Self-assembling peptide hydrogel for intervertebral disc tissue engineering [J]. *Acta Biomater*, 2016, 46(1):29-40
- [49] Woiciechowsky C, Abbushi A, Zenclussen ML, et al. Regeneration of nucleus pulposus tissue in an ovine intervertebral disc degeneration model by cell - free resorbable polymer scaffolds [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2014, 8(10):811-820
- [50] Huang B, Zhuang Y, Li CQ, et al. Regeneration of the intervertebral disc with nucleus pulposus cell-seeded collagen II/hyaluronan/chondroitin-6-sulfate tri-copolymer constructs in a rabbit disc degeneration model[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36(26):2252-2259
- [51] Shan Z, Lin X, Wang S, et al. An injectable nucleus pulposus cell - modified decellularized scaffold: biocompatible material for prevention of disc degeneration [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(25):40276-40288
- [52] Mercuri JJ, Gill SS, Simionescu DT. Novel tissue-derived biomimetic scaffold for regenerating the human nucleus pulposus [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2011, 96(2):422-435
- [53] Zhou X, Wang J, Huang X, et al. Injectable decellularized nucleus pulposus-based cell delivery system for differentiation of adipose-derived stem cells and nucleus pulposus regeneration[J]. *Acta Biomater*, 2018, 81:115-128
- [54] Wachs RA, Hoogenboezem EN, Huda HI, et al. Creation of an injectable in situ gelling native extracellular matrix for nucleus pulposus tissue engineering [J]. *Spine J*, 2017, 17(3):435-444

[收稿日期] 2018-12-23