

综述

椎间盘钙化研究进展

Research progress on intervertebral disc calcification

徐 增, 孙 斌, 吴卉乔, 石长贵, 张 颖, 吴晓东, 陈华江, 袁 文

(上海长征医院脊柱一科 200003 上海市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2019.10.11

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2019)-10-0936-04

椎间盘钙化是椎间盘退变引起的一种病理改变,也被认为是促进椎间盘退变的原因之一。椎间盘退变与钙化的因果关系尚未明确,目前认为椎间盘钙化与椎间盘退变的严重程度呈正相关^[1-3]。椎间盘钙化可归为获得性异位骨化的一种,临床和文献报道这类病变有多种命名,包括椎间盘钙化、椎间盘矿化、椎间盘骨化等,病理学中钙化过程是指正常或损伤的组织中钙盐沉积,而骨化过程则指有骨组织形成,伴随胶原基质发生钙盐沉积。鉴于目前椎间盘钙化发病机制尚不清楚,本文统一以“椎间盘钙化”来命名此类病变。中老年退变性椎间盘钙化,与儿童的椎间盘钙化发生机理不同,儿童的椎间盘钙化常表现为一种具有自发吸收趋势的自限性疾病,Wu 等^[4]曾报道 1 例儿童巨大的胸椎间盘钙化病例通过非手术治疗,半年后完全自发吸收。目前临床上对于椎间盘钙化尚无明确的预防措施,关于其机制的研究存在许多亟待解决的问题。研究椎间盘钙化的发生机制,寻找调控的靶点,进而寻找延缓、抑制甚至逆转钙化的方法,从而避免手术或使手术微创化,降低治疗成本,有着积极的意义。笔者总结近几年发表的相关文献,对椎间盘钙化的相关研究进展进行综述。

1 椎间盘钙化的发病率

据外国文献报道,在一般成年人中,通过常规 X 线检查检出钙化的发病率为 5%~6%^[5],随着年龄的增长,85 岁以上患者的发病率近 45%^[6,7]。Chanchairujira 等^[8]通过 223 例尸检获取的数据发现椎间盘钙化在老年人中很常见(约 13%),并且钙化最易发生在纤维环内(约 63%),其次发生在髓核内,同时钙化的发生率与年龄的增大和椎间高度的丢失程度呈正相关,作者认为椎间盘钙化的主要相关因素为年龄,而非全身性疾病。然而,Aessopos 等^[9]的研究发现,地中海贫血患者椎间盘钙化发病率为 23.33%,明显高于普通患者,这可能与地中海贫血导致的机体广泛骨骼代谢异常增高有关。不同的研究方法得出的发病率数据不同,一方面,可能由于钙化往往伴随炎症,椎间盘局部钙化和

炎症导致的临床症状和体征的相似性,导致钙化被忽视,造成钙化的漏诊^[9]。另一方面,不同研究使用的钙化检测方法敏感性有较大差别,常规的 X 线检查敏感度较低,只能发现较大的突出钙化,而组织形态学、扫描和透射电镜、免疫组化等检查能够检测到早期极细微的钙盐沉积,得到的数据更为精确。但这些方法需要手术进行标本的采集,标本制备要求高,并存在选择性偏倚,无法用于普查。

2 椎间盘钙化的临床症状

目前尚无直接证据表明椎间盘钙化能够直接导致任何临床症状,虽然钙盐沉积不仅破坏正常的胶原层结构,还可能导致椎间盘细胞外基质退行性的改变^[10],但钙化本身并不会造成相应的临床症状。相反,他们很多都是影像学检查偶然发现的。

3 椎间盘钙化的发生机制

有研究表明,椎间盘钙化与导致全身系统改变的相关疾病有关,如碱性尿、血色素沉着、甲状旁腺功能亢进,也可能与导致脊柱自发融合的疾病有关,如脊髓灰质炎、强直性脊柱炎、青少年慢性关节炎、脊柱融合手术或局部创伤^[6,9,11]。椎间盘钙化的发病机制尚不明确,基于临床活检或手术标本的组织学检查通常只能显示钙化处于持续的形成期,这些发现都是在钙化发生后才被证实的,尚无有效的手段检测钙化的发生过程,这明显阻碍了椎间盘钙化的研究进展。

3.1 椎间盘钙化的成分

椎间盘钙化形成的过程非常复杂,涉及羟基磷灰石、焦磷酸钙、碱性磷酸钙和草酸钙等钙盐的沉积,钙化脱出物的 X 射线衍射和电镜观察显示巨大的钙盐结晶存在于明显降解退变的细胞外基质中。通常认为椎间盘钙化的主要成分是羟基磷灰石,但也包括微量的其他钙盐结晶。

3.2 椎间盘钙化的成因

研究表明,碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)在椎间盘钙化过程中起着重要的作用^[12]。ALP 水解有机磷酸盐 and 无机焦磷酸(inorganic pyrophosphate, PPi)^[13],产生单磷酸离子(inorganic orthophosphate, Pi),它们与钙离子结合形成钙盐晶体^[14]。钙盐晶体的形成可能与遗传、老化、细

第一作者简介:男(1991-),硕士研究生,研究方向:脊柱外科
电话:(021)82886806 E-mail:xuzengspine@163.com
通讯作者:吴晓东 E-mail:wxd_spine@smmu.edu.cn

胞外基质修饰、钙化促进和抑制因素的失衡、PPi 和 Pi 代谢以及钙浓度有关^[15]。钙盐晶体的形成取决于 PPi 和 Pi 的细胞外相对浓度,这是一种动态调节的机制。Ho 等^[16]研究发现,使小鼠细胞外 PPi(extracellular PPi, ecPPi)浓度降低可以抑制羟基磷灰石的形成。根据钙盐形成过程中调节方式的不同,可将钙化的成因归为以下几类。

3.2.1 软骨内成骨 在过去的十年里,人们对钙盐沉积中软骨细胞的作用有了更深入的理解^[17-20]。软骨细胞和细胞基质囊泡均可以分泌相关酶类影响 PPi 及 Pi 的代谢过程,进而调节钙盐的形成^[21]。软骨细胞通过调节 ecPPi 水平,在细胞内产生的 PPi 通过细胞膜运输至细胞外,而此过程是由多通道跨膜蛋白锚蛋白(ankyrin, ANK)介导的。Johnson 等^[22]使用 ANK 基因表达改变的细胞,证实 ANK 需要 PC-1 (一种软骨细胞外生酶)的作用才能提高 ecPPi。TGF- β 是一种主要的 ecPPi 调节因子,它的调节作用的发挥需要 ANK 和 PC-1。当 ANK 通过转染过表达时,ecPPi 增加 5 倍,诱导产生基质金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinases-13, MMP-13),直接刺激基质钙化,同时抑制胶原和硫酸化蛋白多糖的合成。另有研究证实,在骨关节炎末期和软骨内成骨过程中,软骨细胞的肥大分化导致基质钙化。此外,在椎间盘退变过程中,ALP 也参与了基质的钙化,因为 ALP 活性的定位与许多钙化发生的位置一致^[23]。

目前普遍认为 X 型胶原 (COL X) 和骨桥蛋白(osteopontin, OPN)的合成与软骨内成骨过程中钙化有关^[24, 25],虽然 COL X 及 OPN 的准确功能尚不清楚。一些研究发现, COL X 通过调节基质钙化来促进软骨内成骨^[26]。其他人认为 COL X 与基质囊泡以及碱性磷酸酶功能有关,因为 ALP 的分泌依赖于 COL X 的合成。Hristova 等^[27]在退变椎间盘中的进行 COL X 免疫组化染色,发现 COL X 在椎间盘的三个区域均存在,并且细胞周围染色强度最高。此外, Illien-Junger 等^[27]发现在钙化的椎间盘中, COL X 及 OPN 表达增高,晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGES)的蓄积导致椎间盘钙化,抑制 AGES 可降低核细胞 COL X 及 OPN 表达,认为软骨内成骨可能通过 AGES 途径介导, AGES 可以成为药物治疗潜在目标。

3.2.2 细胞化生 Nosikova 等^[28]通过体外培养纤维环细胞,发现纤维环细胞在适当的条件下获得了成骨细胞的表型,具有形成羟基磷灰石,产生钙盐的潜力。Rutges 使用 NADH 脱氢酶染色发现退变的椎间盘中存在的活细胞,结合 VonKossa 染色在活细胞周围的区域发现钙化,表明钙化并不是细胞死亡的结果,而是活细胞分解产生的,椎间盘钙化可能是细胞持续肥厚分化的最终结果^[23]。基于此我们推测,钙盐可能来自于通过化生产生了类成骨细胞或者类软骨细胞表型的椎间盘细胞分泌。

3.2.3 炎症反应 椎间盘退变过程中的特征性变化包括椎间盘高度下降,慢性炎症和分解代谢增加等,其中炎症因子的作用不可忽视。Lotz 等^[29]发现白细胞介素-1(interleukins, IL-1)能明显抑制 TGF- β 诱导的 PPi 的表达。胰岛素样生长因子-1(IGF-1)也能在这个反应通路中

的发挥作用 Olmez 等^[30]研究发现 IGF-1 可以阻断 TGF- β 对于软骨细胞胞外 PPi 产生的刺激作用,提示椎间盘局部的炎症反应,可能是椎间盘钙化的起始点。

3.2.4 其他原因 研究^[31]表明,椎间盘的钙化是腰椎小关节钙化发生率的 16.3 倍。钙化差异的原因可能是:(1)钙化组织主要由 I 型胶原组成,而纤维环主要是 I 型胶原构成^[32];(2)负荷分布,在健康腰椎中,主要负荷集中于椎间盘,而小关节的承载负荷低于 25%^[33, 34], Rutges 等^[23]发现在纤维环和髓核过渡区钙化发生率高,推测其可能与局部生物力学负荷分布有关,静水压抑制钙化、反应负荷增加促进钙化,在过渡区前列腺素含量较低,具有较低的静水压,导致钙化容易发生。

3.3 椎间盘钙化与退变的关系

椎间盘由髓核、纤维环和软骨终板组成^[35]。椎间盘的纤维环和髓核起源于胚胎发育过程中的不同谱系,具有不同的组织学形态。髓核细胞主要包括脊索细胞和类软骨细胞。髓核为胚胎晚期脊索的残留物,呈胶状,富含水、蛋白多糖并含交织成网的 II 胶原纤维,这决定了其强大的保持水分的能力,从而抵抗压缩^[36],脊索细胞小而少,软骨样细胞较大可能来自纤维环。纤维环由纤维软骨的同心圆层组成,前侧和两侧较厚,后侧较薄。主要由 I 型胶原纤维组成,其排列方式是为了抵抗脊柱承受的巨大压力,软骨终板连接椎间盘和椎体,并向内 2/3 的纤维环和整个髓核提供营养^[1]。在椎间盘退变的过程中特征性变化包括椎间盘高度下降、结构缺陷减少、慢性炎症和分解代谢增加、蛋白多糖和水分含量下降、细胞密度尤其是髓核细胞密度下降、蛋白多糖和胶原的降解及其降解产物的积累进一步干扰了椎间盘的代谢。而椎间盘钙化与椎间盘退变过程中异常的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、粘蛋白增加和蛋白多糖含量降低有关。椎间盘细胞间质和细胞外钙盐沉积可导致椎间盘细胞死亡、细胞周转减少和活力受损,进而加重椎间盘退变^[37]。另外,椎间盘钙化不仅破坏了正常的胶原层结构,而且通过上调 MMP 的表达和改变细胞外基质基因的表达,促进了细胞基质的变性^[38]。在 I 型和 II 型糖尿病鼠模型中,椎间盘退变程度的增加常伴随异位钙化的发生率增加,这进一步支持了钙化和退变二者的相关性^[39]。此外,软骨终板钙化阻碍了椎间盘营养供应,作为营养物质运输的屏障,减少向椎间盘的养分供应,加速椎间盘退变。软骨终板钙化是否通过干扰椎间盘代谢而加速椎间盘退变,椎间盘的退行性改变是否改变其性质并导致细胞外基质中的钙盐沉积,尚不清楚^[1]。

综上所述,椎间盘钙化的发病机制目前尚不明确,可能是一种由细胞介导的,对椎间盘退变的异常反应的过程。在对发病机制的探索过程中也相应地产生了一些抑制椎间盘钙化的手段。目前,对于椎间盘钙化的预防效果尚不十分理想,随着对发病机制探索的深入,未来可能会出现更好的预防手段。

4 椎间盘钙化的动物模型

由于目前椎间盘钙化的发病机制尚不明确,合适的动物模型对于椎间盘钙化的研究以及探索新的治疗方式显得尤为重要。但钙化程度和椎间盘退变之间的相关性仅在绵羊和达克斯犬等动物模型中得到描述,而在人类中则未见报道^[2,40]。从人类获得可靠数据的困难之一是钙化开始于纳米到微米的范围内,而初始阶段是无法通过 X 线、CT 或 MRI 来检测的^[41]。椎间盘退变动物模型包括老鼠、胎牛、犬类、斑马鱼、兔子等,但是椎间盘钙化尚无可靠的动物模型。虽然绵羊是一个符合人类特点的实验动物模型,广泛应用于椎间盘代谢,脊柱生物力学特性的研究^[45],但是几乎没有证据表明这是合适的椎间盘钙化的实验模型。

5 椎间盘钙化的治疗和预防

椎间盘钙化一旦形成,药物治疗往往无法逆转其过程,只能通过一些保守治疗的方法缓解临床症状,目前仍以手术治疗为主。钙化造成的临床症状可以通过口服非甾体抗炎药、激素等方法缓解症状。在治疗方面,目前最安全、有效的药物治疗方式为非甾体抗炎药,然而用药的剂量及最佳疗程尚不明确。此外,影像学检查表明非甾体抗炎药可抑制椎间盘钙化,但是其作用靶点是抑制成软骨还是成骨作用尚不清楚,未来应明确其作用靶点并努力探索出针对钙化疗效更加确切的药物。最后,探索一种既能抑制椎间盘钙化甚至促进其逆转的药物应为未来的主要研究方向。

纤维环破裂导致髓核脱出产生的局部炎症反应造成椎间盘水分、蛋白多糖等物质减少,被认为是椎间盘退变的起始原因。修补纤维环、改善椎间盘局部微环境为钙化治疗提供了一个新思路。早在 1991 年,Thompson 等^[42]人报道了细胞外基质的蛋白多糖由于它们在椎间盘中具有较高的水结合能力,发挥了重要的功能作用,多种生长因子对犬类椎间盘细胞增殖和蛋白多糖合成具有显著促进。骨形成蛋白(bone morphogenetic protein,BMP)在体外或动物模型中,被证实可以增加纤维环组织厚度。Ledet 等^[43]首次在绵羊模型上进行了用猪小肠粘膜下组织封闭纤维环缺损的实验,并对其结果表示认可。此外另一组有趣的治理是趋化因子,Stich 等^[44]通过趋化因子 CCL25 刺激纤维环细胞,实验组纤维环细胞显示出很高的迁移潜力。Nerurkar 等^[45]通过使用间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)种植于纳米纤维支架上,形成多层生物层压体,可以复制纤维环的形态和功能。上述研究,为椎间盘钙化治疗提供了广阔的思路,临床中期待新的更为安全、有效的治疗方式出现。

6 椎间盘钙化的问题与展望

首先,椎间盘钙化的发生机制尚不明确。椎间盘钙化的发生机制还有待进一步研究,现阶段研究的多倾向于发现及其相关的影响因素,却并没有系统阐述钙化的形成过程,未来钙化的研究应偏向机制,椎间盘钙化是否与其他病理性钙化机制相似,如后纵韧带骨化、肌腱钙化、心血管

钙化等,尚待明确。其次,椎间盘钙化迫切需要可靠的动物模型,构建科学的研究体系,为下一阶段的研究提供合适的实验素材,从细胞实验、动物实验等层面上系统研究机制。最后,椎间盘钙化的药物治疗还有巨大研究空间。目前最安全、有效的药物预防方式为非甾体消炎药,然而用药的剂量及最佳疗程尚不明确。未来应明确非甾体消炎药的作用靶点并探索新的抑制成钙化的药物,探索一种既能抑制椎间盘钙化又能促进椎间盘愈合的药物应为未来的主要研究目标。

7 参考文献

1. Urban JP, Smith S, Fairbank JC. Nutrition of the intervertebral disc[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2004, 29(23): 2700-2709.
2. Melrose J, Burkhardt D, Taylor TK, et al. Calcification in the ovine intervertebral disc: a model of hydroxyapatite deposition disease[J]. Eur Spine J, 2009, 18(4): 479-489.
3. Hristova GI, Jarzem P, Ouellet JA, et al. Calcification in human intervertebral disc degeneration and scoliosis[J]. J Orthop Res, 2011, 29(12): 1888-1895.
4. Wu XD, Chen HJ, Yuan W, et al. Giant calcified thoracic disc herniation in a child: a case report and review of the literature[J]. J Bone Joint Surg Am, 2010, 92(10): 1992-1996.
5. Weinberger A, Myers AR. Intervertebral disc calcification in adults: a review[J]. Semin Arthritis Rheum, 1978, 8(1): 69-75.
6. Chanchairujira K, Chung CB, Kim JY, et al. Intervertebral disk calcification of the spine in an elderly population: radiographic prevalence, location, and distribution and correlation with spinal degeneration[J]. Radiology, 2004, 230(2): 499-503.
7. Saleman M, Khan A, Symonds DA. Calcium pyrophosphate arthropathy of the spine: case report and review of the literature[J]. Neurosurgery, 1994, 34(5): 915-918.
8. Aessopos A, Tsironi M, Polonifi K, et al. Intervertebral disc calcification in thalassemia intermedia [J]. Eur J Haematol, 2008, 80(2): 164-167.
9. Scutellari PN, Orzincolo C, Droghetti M. Crystalline calcium pyrophosphate dehydrate deposit disease[J]. Radiol Med, 1985, 71(3): 129-134.
10. Gruber HE, Norton HJ, Sun Y, et al. Crystal deposits in the human intervertebral disc: implications for disc degeneration [J]. Spine J, 2007, 7(4): 444-450.
11. Jones AC, Chuck AJ, Arie EA, et al. Diseases associated with calcium pyrophosphate deposition disease [J]. Semin Arthritis Rheum, 1992, 22(3): 188-202.
12. Christoffersen J, Landis WJ. A contribution with review to the description of mineralization of bone and other calcified tissues in vivo[J]. Anat Rec, 1991, 230(4): 435-450.
13. Kim EE, Wyckoff HW. Reaction mechanism of alkaline phosphatase based on crystal structures. Two-metal ion catalysis[J]. J Mol Biol, 1991, 218(2): 449-464.
14. Anderson HC, Sipe JB, Hesse L, et al. Impaired calcifica

- tion around matrix vesicles of growth plate and bone in alkaline phosphatase-deficient mice [J]. *Am J Pathol*, 2004, 164(3): 841–847.
15. Liote F, Ea HK. Clinical implications of pathogenic calcium crystals[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2014, 26(2): 192–196.
16. Ho AM, Johnson MD, Kingsley DM. Role of the mouse ank gene in control of tissue calcification and arthritis [J]. *Science*, 2000, 289(5477): 265–270.
17. Jaovisidha K, Rosenthal AK. Calcium crystals in osteoarthritis[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2002, 14(3): 298–302.
18. Ryan LM, Rosenthal AK. Metabolism of extracellular pyrophosphate[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2003, 15(3): 311–314.
19. Morgan MP, McCarthy GM. Signaling mechanisms involved in crystal-induced tissue damage [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2002, 14(3): 292–297.
20. Pay S, Terkeltaub R. Calcium pyrophosphate dihydrate and hydroxyapatite crystal deposition in the joint: new developments relevant to the clinician [J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2003, 5(3): 235–243.
21. Hirose J, Masuda I, Ryan LM. Expression of cartilage intermediate layer protein/nucleotide pyrophosphohydrolase parallels the production of extracellular inorganic pyrophosphate in response to growth factors and with aging [J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43(12): 2703–2711.
22. Johnson K, Terkeltaub R. Upregulated ank expression in osteoarthritis can promote both chondrocyte MMP-13 expression and calcification via chondrocyte extracellular PPi excess[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2004, 12(4): 321–335.
23. Rutges JP, Duit RA, Kummer JA, et al. Hypertrophic differentiation and calcification during intervertebral disc degeneration[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(11): 1487–1495.
24. Hunter GK. Role of osteopontin in modulation of hydroxyapatite formation[J]. *Calcif Tissue Int*, 2013, 93(4): 348–354.
25. Shao JS, Sierra OL, Cohen R, et al. Vascular calcification and aortic fibrosis: a bifunctional role for osteopontin in diabetic arteriosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(8): 1821–1833.
26. Shen G. The role of type X collagen in facilitating and regulating endochondral ossification of articular cartilage[J]. *Orthod Craniofac Res*, 2005, 8(1): 11–17.
27. Illien-Junger S, Torre OM, Kindschuh WF, et al. AGEs induce ectopic endochondral ossification in intervertebral discs [J]. *Eur Cell Mater*, 2016, 32: 257–270.
28. Nosikova Y, Santerre JP, Grynblas MD, et al. Annulus fibrosus cells can induce mineralization: an in vitro study [J]. *Spine J*, 2013, 13(4): 443–453.
29. Lotz M, Rosen F, McCabe G, et al. Interleukin 1 beta suppresses transforming growth factor- β -induced inorganic pyrophosphate (PPi) production and expression of the PPi-generating enzyme PC-1 in human chondrocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1995, 92(22): 10364–10368.
30. Olmez U, Ryan LM, Kurup IV, et al. Insulin-like growth factor-1 suppresses pyrophosphate elaboration by transforming growth factor β -stimulated chondrocytes and cartilage [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 1994, 2(3): 149–154.
31. Hawellek T, Hubert J, Hirschke S, et al. Microcalcification of lumbar spine intervertebral discs and facet joints is associated with cartilage degeneration, but differs in prevalence and its relation to age [J]. *J Orthop Res*, 2017, 35(12): 2692–2699.
32. Golub EE. Biomineralization and matrix vesicles in biology and pathology[J]. *Semin Immunopathol*, 2011, 33(5): 409–417.
33. Gellhorn AC, Katz JN, Suri P. Osteoarthritis of the spine: the facet joints[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2013, 9(4): 216–224.
34. Iorio JA, Jakoi AM, Singla A. Biomechanics of degenerative spinal disorders[J]. *Asian Spine J*, 2016, 10(2): 377–384.
35. Roberts S, Evans H, Trivedi J, et al. Histology and pathology of the human intervertebral disc [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88(Suppl 2): 10–14.
36. Adams MA, Roughley PJ. What is intervertebral disc degeneration, and what causes it?[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2006, 31(18): 2151–2161.
37. Loreto C, Musumeci G, Castorina A, et al. Degenerative disc disease of herniated intervertebral discs is associated with extracellular matrix remodeling, vimentin-positive cells and cell death[J]. *Ann Anat*, 2011, 193(2): 156–162.
38. Rosenthal AK. Crystals, inflammation, and osteoarthritis[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2011, 23(2): 170–173.
39. Illien-Junger S, Grosjean F, Laudier DM, et al. Combined anti-inflammatory and anti-AGE drug treatments have a protective effect on intervertebral discs in mice with diabetes [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64302.
40. Jensen VF, Beck S, Christensen KA, et al. Quantification of the association between intervertebral disk calcification and disk herniation in Danish dogs [J]. *J Am Vet Med Assoc*, 2008, 233(7): 1090–1095.
41. Abhishek A. Calcium pyrophosphate deposition disease: a review of epidemiologic findings [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2016, 28(2): 133–139.
42. Thompson JP, Oegema TR, Bradford DS. Stimulation of mature canine intervertebral disc by growth factors[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 1991, 16(3): 253–260.
43. Ledet EH, Jeshuran W, Glennon JC, et al. Small intestinal submucosa for annular defect closure: long-term response in an in vivo sheep model[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2009, 34(14): 1457–1463.
44. Stich S, Moller A, Cabraja M, et al. Chemokine CCL25 induces migration and extracellular matrix production of annulus fibrosus-derived cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8). doi: 10.3390/ijms19082207.
45. Nerurkar NL, Baker BM, Sen S, et al. Nanofibrous biologic laminates replicate the form and function of the annulus fibrosus[J]. *Nat Mater*, 2009, 8(12): 986–992.

(收稿日期:2019-05-26 末次修回日期:2019-07-02)

(本文编辑 姜雅浩)