

综述

干细胞移植治疗椎间盘退变的研究现状

Advances in stem cell therapy for intervertebral disc degeneration

柳绪超, 秦 雷, 易伟宏

(华中科技大学协和深圳医院骨科 518052 深圳市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2023.12.11

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2023)-12-1138-06

椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)是与年龄有关、多因素导致的生物学退变,以椎间盘高度的降低、含水量降低、软骨终板钙化、细胞外基质减少等一系列微环境失衡为特点,最终导致椎间盘组织结构完整性丧失、脊柱的活动和功能受限。IDD 可导致椎间盘源性腰痛、腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症、退行性腰椎滑脱、颈椎病等一系列椎间盘退行性疾病(intervertebral disc degeneration diseases, IDDDs)。目前治疗手段虽能缓解 IDDDs 的临床症状,但都不能从根本上改变椎间盘高度降低、髓核细胞减少和细胞外基质丢失的退变本质^[1]。同时,作为 IDDDs 的终极治疗方式,脊柱融合手术造成邻近节段椎间盘生物力学的改变,并有可能加速其退变,导致邻椎病的发生^[2]。干细胞是一类具有无限的或者永生的自我更新能力的细胞,能够产生高度分化的功能细胞,目前已应用于很多退行性疾病的治疗。干细胞在 IDDDs 治疗中的应用逐渐从动物实验过渡到人体试验,具有广阔的应用前景。笔者总结了不同来源的干细胞在 IDDDs 治疗的动物实验和临床研究中的应用、干细胞发挥作用的可能机制、干细胞在应用于人类 IDDDs 的潜能综述如下。

1 干细胞的类型

随着对 IDDDs 相关机制的逐步了解以及干细胞技术的不断发展,使用具有自我复制能力、且具有多向分化潜能的干细胞尝试修复、再生椎间盘,是骨组织工程治疗中的重要方向之一。因此,利用干细胞修复退化的椎间盘,恢复椎间盘和脊柱的正常生理结构和功能,越来越被重视。目前应用到临床前动物实验研究的有骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)、脂肪间充质干细胞(adipose derived mesenchymal stem cell, ADM-

SCs)、人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cells, hUC-MSCs)、椎间盘源性干细胞(intervertebral disc-derived stem cells, IVDSCs)、诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)等,而应用到临床研究中的干细胞主要是前三种。

1.1 BMSCs

BMSCs 来源于骨髓,是最早应用的干细胞。骨形态发生蛋白 7(bone morphogenetic proteins-7, BMP-7)、骨形态发生蛋白 3(bone morphogenetic proteins-3, BMP-3)与转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)等生物因子可以诱导 BMSCs 增殖分化为 NP 细胞表型,促进细胞外基质的产生,且 BMP-3 与 TGF- $\beta 1$ 之间具有的协同作用,能够进一步加强对 BMSCs 的分化诱导^[3,4]。这些实验结果提示,合适的基因转染能够促进 BMSCs 分化为 NP 样表型。

Freeman 等^[5]经纤维环或者髓核注射移植两种方式,将同种异体 BMSCs 移植到纤维环切开的羊椎间盘,两种移植方式下椎间盘 Pfirrmann 分级、组织病理学分级较单纯纤维环切开组均有改善;Freeman 等还发现,纤维环注射组病变的胶原组织填充比髓核注射组更完善,破坏后纤维环的愈合更为明显;对间充质干细胞发挥作用的机制进行分析,考虑 MSCs 可以分化为软骨细胞和纤维软骨细胞样细胞,增加合成蛋白多糖,这些蛋白多糖结合水分子后,椎间盘高度得到升高,从而增加了椎间盘的稳定性;另一机制体现在 MSC 的抗炎特性,包括抑制炎症和正在进行的椎间盘退变的转化生长因子成员,抑制椎间盘细胞损伤后的分解代谢过程。Omlor 等^[6]将猪的自体 BMSCs 移植到穿刺造模的退变椎间盘,观察到术后 12 周时,对比纤维环发生的修复性改变,髓核修复无统计学意义。这表明自体 BMSCs 的应用尽管减少了退行性病变的发生,然而在大型动物模型中,再生改变并不显著,显示出局限性。

BMSCs 治疗 IDDDs 的动物实验结果表明其再生作用是有效的,但存在骨赘形成的风险,值得重视。

第一作者简介:男(1996-),临床医学硕士,住院医师,研究方向:椎间盘退变的机制与治疗

电话:(0755)26553111 E-mail:2211819869@qq.com

通讯作者:易伟宏 E-mail:szyiwh@163.com

1.2 ADMSCs

相比较 BMSCs,ADMSCs 来源更广泛,可分化为神经元样细胞、内皮细胞、脂肪细胞等,并易于体外培养。张永辉等^[7]的研究发现,采用胶原酶消化法分离培养的 ADMSCs 活力较好、增殖旺盛,与退变髓核细胞共培养后,细胞表现出向髓核细胞分化的趋势,可作为椎间盘组织工程研究的种子细胞。

Ishiguro 等^[8]开发了一种特殊的组织工程结构作为载体,将同种异体 ADMSCs 植入大鼠椎间盘,ADMSCs 植入椎间盘后的 6 个月,椎间盘高度、终板和纤维环结构有修复性改变。Muttigi 等^[9]将软骨发育和骨化过程中必不可少的细胞外基质成分 matrilin-3 引发的人 ADMSCs 球体应用在体外和兔椎间盘体内实验,结果显示 TGF β 1、2、白细胞介素-10、粒细胞集落刺激因子和基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinase,MMP-1)等有利生长因子的分泌增加,细胞外基质(extracellular matrix,ECM)成分的分泌减少。由于 ADMSCs 具有取材容易、对机体损伤小、来源广、体内储量等优点,近年来逐渐成为研究热点之一。

1.3 hUC-MSCs

hUC-MSCs 是存在于脐带华通氏胶(Wharton's jelly)和血管周围组织中的一种间充质干细胞,具有可获取的细胞数量多、增殖能力强、免疫调节作用大,分泌细胞生长因子多,便于扩增和传代等特点。相较于成人 BMSCs 移植等传统的干细胞移植方法,hUC-MSCs 移植有以下优点:①受到胎盘屏障的保护,病原微生物的感染及传播率较低,移植排异反应小,免疫抗原性弱,再生能力和速度更优^[10];②取材方便,无道德伦理争议;③移植配型要求较低,成功率较高;④更原始,增殖分化能力更强^[11]。综合这些优点,hUC-MSCs 是适合用于临床研究和应用的间充质干细胞。张燕等^[12]将新生儿脐带中提取的华通胶间充质干细胞用含有绿色荧光蛋白的腺相关病毒感染标记后,移植到行纤维环穿刺造模的大椎间盘,术后 24 周仍能检测到上述病毒阳性的华通胶间充质干细胞,验证了脐带间充质干细胞的存活情况;髓核组织退变更轻,Ⅱ型胶原、蛋白多糖、SOX-9 表达水平更高,验证了 hUC-MSCs 对于延缓椎间盘退变进展的作用。hUC-MSCs 治疗的动物实验有效性为临床应用提供了理论依据。

1.4 IVDSCs

既往研究表明,椎间盘髓核组织、纤维环、软骨终板中均存在一定数量的间充质干细胞。理论上讲,IVDSC 已经适应了椎间盘的微环境:低氧、高压、高渗、低 pH 值和营养供应不足,是非常合适的候选者^[13]。Han 等^[14]在体外模拟类似 IVD 的酸性条件下检测了髓核来源干细胞(nucleus pulposus mesenchymal stem cells,NPSCs)与

ADMSCs 的活力、增殖和基质代谢,与 ADMSCs 相比,NPSCs 的活力和增殖受到的抑制更低。Wang 等^[15]分离出同一患者的不同盘源性干细胞应用于大鼠穿刺抽吸髓核造模后的椎间盘,通过影像学及组织学评估,发现软骨终板来源的干细胞对于大鼠退变椎间盘的修复能力最强,纤维环干细胞的再生能力最弱,髓核干细胞与传统的再生种子细胞 BMSCs 相似。

虽然 IVDSCs 适应椎间盘本身内环境的优势,但是获取 IVDSCs 必定会造成医源性损伤;另外,随着椎间盘的退变,其 IVDSCs 自身的退变也必须得到重视。国内有学者^[16]用叔丁基过氧化氢(TBHP)成功构建大鼠终板炎症和退变模型,发现和正常的软骨终板干细胞衍生的外泌体(D-Exos)相比,衰老软骨终板干细胞衍生的外泌体(N-Exos)对髓核细胞凋亡的抑制和减缓 IDDDs 进展的作用变差。Jia 等^[17]对比退变与非退变 NPSCs,退变的 NPSCs 的集落形成、趋化迁移、细胞活性和干性基因的表达能力下降,说明随着 IDD 的发生,IVDSCs 自身也会发生老化和退变。如何利用好其适应椎间盘内环境这一优势和趋避自然发生的退化,把握两者的平衡,是推进 IVDSC 在治疗 IDDDs 过程中的关键。

1.5 iPSCs

iPSCs 是类似于胚胎干细胞的一种细胞类型,可以通过对已分化的体细胞进行诱导重编程获得,具有自我更新能力和多潜能性。iPSCs 在多能性方面类似于胚胎干细胞,但伦理问题较少。虽然 MSCs 是目前广泛应用于骨组织工程的种子细胞,但其再生潜力可能会随年龄增长而下降,iPSCs 为解决这个问题提供了可行方案。目前应用 iPSCs 治疗动物 IDDDs 模型主要有两个方面:诱导其分化为脊索细胞(Notochordal cells,NC)或 NP 样细胞;NC 是椎间盘再生发挥关键作用的细胞^[17],能够产生蛋白聚糖促进退变椎间盘的修复。

周逸驰等^[18]将小鼠胚胎来源 iPSCs 分化成的 NP 细胞联合海藻酸钠盐微球凝胶材料植入穿刺造模的兔椎间盘,观察到组织学评分改善,蛋白多糖和Ⅱ型胶原增加、MMP3 下调。然而人类脊索细胞在幼时即成熟并消失,与动物有着本质区别^[19];另外有研究表明 iPSC 具有肿瘤增殖细胞分化特性^[20]。限制了其应用,需要进一步的实验研究来稳定 iPSC 的分化表达,以确保临床应用的有效性和安全性。

在临床前研究的动物模型选择中,应用最多的是穿刺椎间盘模型后行干细胞的局部注射,这一造模方法的优点主要体现在造模结果明确,容易诱发椎间盘的退变表现。但笔者认为,该方法更倾向于是一种对椎间盘的急性创伤,难以模拟人类椎间盘在长期慢性活动中的退变。同时,在验证干细胞对椎间盘修复作用的评估项目中,多集

中于椎间盘高度及水分含量、组织病理学等,而对动物疼痛表现的研究比较少,这与临床工作中改善症状至略有偏差,未来的临床前研究,对干细胞的治疗效果评估中,量化动物疼痛反应或许可以成为重要的一项指标。

同时,在干细胞应用于 IDDDs 的移植方法中,上述实验基本都选择了椎间盘局部注射,这一方法可以精准地将干细胞放在理想的位置,面临的主要问题则是干细胞在注射点渗漏情况。在近几年的实验研究中,实验者搭载不同载体将干细胞送入实验椎间盘,为解决渗漏以及干细胞在椎间盘这一缺氧、酸性环境下的生存延长了时间。

干细胞在 IDDDs 动物模型中应用过程中体现出的安全及有效性;椎间盘高度及水分含量、组织化学表现、胶原含量表达、ECM 及 MMP 各方面表现体现了椎间盘结构实现了再生;干细胞的标记检测验证了干细胞在椎间盘内存活情况,为进行临床试验提供了前期理论基础。

2 间充质干细胞治疗 IDDDs 的临床研究现状

目前已完成的干细胞临床试验^[21-34]主要在美国、澳大利亚、西班牙等西方国家,而国内的应用较少。据统计,在 12 项已完成的临床研究中,干细胞移植的剂量从每个椎间盘 5×10^6 个到 4×10^7 个细胞不等。同时, BMSCs 应用最多, 8 项应用了 BMSCs (67%), 3 项应用 ADMSCs (25%), 1 项应用脐带间充质干细胞 (8%); 9 项研究使用了自体干细胞来源 (约占 75%)。

2.1 干细胞移植方式

在移植方式的选择上, 干细胞直接移植到病变椎间盘是主要手段;同时,细胞搭载载体的应用对于干细胞的生存提供了保护,为防止渗漏起到关键作用。徐宝山等^[31]将自体 BMSCs 移植联合纤维环缝合应用于修复腰椎间盘 NP 摘除术后缺损,术后随访发现联合纤维环缝合组椎间盘修复表现和临床症状改善更优,为防止干细胞渗漏提供了一种新的方法。

2.2 既往研究中随访时间和纳入标准

在既往临床实验中,随访时间从 2 个月到 6 年不等,其中有研究^[22,23,33,34]分别在术后随访不同时间进行了报道。目前病例纳入标准主要集中于至少 3 个月的保守治疗失败,以背痛为主要症状的 1~2 个腰椎 IDDDs;MRI 图像椎间盘 Pfirrmann 2、3、4 级,椎间盘高度损失 $<30\%$,这意味着患者退变的纤维环必须能够支撑细胞植入;经椎间盘造影术证实的椎间盘源性腰痛的患者。

2.3 整体效果分析

干细胞对椎间盘修复作用是干细胞广泛应用前需要解决的问题,目前集中于两个方面,首先是安全性问题,也是干细胞临床应用的最基本问题。在上述所提到的 12 项

已完成的临床研究中,没有肿瘤、感染等严重不良事件发生,但是仍然有必要进一步研究如何规避前文所述干细胞应用风险。其次是有效性的问题。在研究中,视觉模拟评分法 (visual analogue scale, VAS) 和 Oswestry 功能障碍指数 (Oswestry disability index, ODI) 较基线整体都有改善,患者的活动能力增强,止痛药的使用减少,都表明从腰腿痛及腰椎功能角度考虑,干细胞的改善作用是明确的, MRI 检查中的椎间盘含水量增加、Pfirrmann 分级的改善证明了影像学上的改善;但是不可忽略的是有的患者仍然无法避免手术治疗,除外干细胞疗效的不确定性,或许和患者的选择有关系。

2.4 干细胞剂量和修复效果相关性的研究

不同研究对于椎间盘修复的程度与干细胞的浓度进行了探索,并呈现出不同的实验结果。Kumar 等^[32]将 10 例患者的自体 ADMSCs 联合透明质酸分低剂量 (2×10^7 ADMSCs/椎间盘) 和高剂量组 (4×10^7 个 ADMSCs/椎间盘) 注射至椎间盘,发现两组患者 VAS、ODI 和 SF-36 均有显著性改善,但是不同剂量两组之间没有显著性差异;Pettine 等^[33,34]纳入 26 例患者,应用自体非扩增的骨髓浓缩细胞注射于椎间盘,发现与接受小于 2000 集落形成单位成纤维细胞浓度的患者相比,接受高于该浓度值患者腰痛的改善更加显著。

3 间充质干细胞治疗 IDDDs 的前景

在临床前及临床研究中,干细胞移植疗法修复椎间盘的机制可以总结为三大方面。(1)替代丢失的 NP 细胞。干细胞在一定条件下分化为 NP 样细胞,继而产生蛋白多糖和 II 型胶原蛋白,使细胞外基质形成大于代谢,增加椎间盘的高度和含水量。(2)调节椎间盘微环境。IL-1 β 是炎症级联事件的关键启动子,可以诱导 MMP-1、3、13 和血小板反应蛋白整合素金属肽酶 4 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin 4, ADAMTS4) 的产生,诱导髓核和纤维环的凋亡,是 IDDDs 过程中的重要负向调控分子^[35,36]。TNF- α 也在放大炎症反应,刺激 ECM 降解,加速细胞衰老,调节自噬方面发挥加速 IDDDs 的作用^[37,38]。活化的干细胞能分泌多种细胞因子,包括抗炎因子、生长因子等,促进椎间盘细胞的生长以及 NP 细胞外基质的合成,起到抗炎和营养作用,从而改善内环境,缓解临床症状。(3)增加血供,改善椎间盘功能。椎间盘营养和代谢通路主要依赖 CEP 的弥散作用,干细胞疗法可促进血流速率,增加血供,使腰椎间盘代谢通路改善。

相比较于传统 IDDDs 的治疗方法,干细胞真正意义上实现了椎间盘的再生,展现出巨大的潜力,然而干细胞的临床广泛应用依然面临巨大挑战。首先,患者确切诊断

和鉴定是第一个挑战。在临床上,患者通常是因为诸如腿痛、麻木或间歇性跛行就诊,而非退变本身。上述症状通常可有多种原因,例如软组织劳损、炎症、肿瘤等。目前鉴别椎间盘来源腰痛最常用到的方法是椎间盘造影,记录造影剂注入疑似疼痛来源椎间盘剂量、图像变化、疼痛反应,明确疼痛来源。然而椎间盘造影作为一种有创操作,可能会带来副损伤,高压椎间盘造影可能会损伤椎间盘^[39]。有案例^[40-41]报道,椎间盘造影可造成人为的高压,可能会使 NP 从纤维环的破裂口脱出,产生医源性椎间盘突出的严重后果,增加手术治疗必要和可能性。MRI 作为一种无创检查,对 IDDDs 的诊断及盘源性腰痛的鉴别应该得到进一步探索。目前的 Pfirrmann 分级以及改良分级,回顾以往椎间盘造影阳性患者与相关椎间盘 MRI 的相关性,如纤维环的小撕裂、黑盘程度、纤维环与髓核分界清晰与否、椎间隙高度等因素与椎间盘造影阳性的关系,干细胞疗法在 MRI 不同退变阶段的相关性,有助于指导未来患者选择。其次,安全性也是临床推广面临的一大挑战。虽然目前的临床研究没有报道严重事件的发生,但干细胞的临床前研究表明干细胞的注射有渗漏而进一步造成骨质增生而压迫神经的风险;同时,干细胞的致瘤风险必须引起重视。其次,干细胞应用的种类,最佳浓度及时间等问题同样需要更详细的研究。而且,干细胞在椎间盘酸性、缺氧环境下如何提高存活率及细胞活性也是值得仔细探讨的问题。Elabd 等^[26]将 BMSCs 预先低氧处理,再行干细胞移植,随访取得良好效果。

目前人们尝试通过不同的载体对干细胞进行保护,载体为细胞提供了一个有效的增殖分化环境,可以延长干细胞的生存时间。除外透明质酸等天然生物材料,最近几年,为了使干细胞植入支架兼具机械强度高、稳定性及生物相容性好等优点,研究重点集中于人工合成和复合材料。例如,Wang 等^[42]组装了明胶纳米粒子组成的胶体凝胶和间充质干细胞,结果表明该材料具有较好的细胞相容性、可生物降解性,并且能够支持 MSCs 的 NP 样分化。Xing 等^[43]制造了一种热敏脱细胞细胞外基质水凝胶,并作为 ADMSCs 外泌体的载体用于动物实验,结果表明该材料有助于维持早期椎间盘微环境稳态,并改善椎间盘的退变。此外,Russo 等^[44]联合巴曲酶、透明质酸和富含血小板的血浆组成的水凝胶,验证了其作为人 MSCs 有效载体,能够在刺激细胞活性和 NP 标记表达的同时保持良好的细胞活力。

由于退变是一个长期的过程,再生和修复同样也是漫长的过程,加上干细胞自身面临的衰老问题,未来的应用可以继续探讨是否需要多次注射来延缓 IDDDs。

4 总结和展望

干细胞在医学治疗上具有多种潜能,目前主要应用于退行性疾病主要集中于神经退行性疾病^[45],如阿尔茨海默病、帕金森综合征、肌萎缩侧索硬化;骨与关节退行性疾病^[46],视网膜退行性疾病^[47]等。干细胞在不同疾病中的应用显示出不同的研究进度,但是一个共性则是都需要更大的临床试验样本量来探索如何发挥干细胞疗法的最大功效,规避相关风险。整体来讲,干细胞在椎间盘再生医学中具有巨大潜力,近期的临床试验虽然安全且有良好的治疗效果,但缺乏远期的随访,还需要大量的基础和临床研究不断探索其安全性和有效性。

5 参考文献

1. Mohanty S, Dahia CL. Defects in intervertebral disc and spine during development, degeneration, and pain: new research directions for disc regeneration and therapy [J]. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2019, 8(4): e343.
2. Okuda S, Nagamoto Y, Matsumoto T, et al. Adjacent segment disease after single segment posterior lumbar interbody fusion for degenerative spondylolisthesis: minimum 10 years follow-up[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2018, 43(23): E1384-E1388.
3. Xu J, E XQ, Wang NX, et al. BMP7 enhances the effect of BMSCs on extracellular matrix remodeling in a rabbit model of intervertebral disc degeneration[J]. *FEBS J*, 2016, 283(9): 1689-1700.
4. Zhou X, Tao Y, Liang C, et al. BMP3 alone and together with TGF- β promote the differentiation of human mesenchymal stem cells into a nucleus pulposus-like phenotype[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(9): 20344-20359.
5. Freeman BJC, Kuliwaba JS, Jones CF, et al. Allogeneic mesenchymal precursor cells promote healing in postero-lateral annular lesions and improve indices of lumbar intervertebral disc degeneration in an ovine model[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2016, 41(17): 1331-1339.
6. Omlor GW, Lorenz S, Nerlich AG, et al. Disc cell therapy with bone-marrow-derived autologous mesenchymal stromal cells in a large porcine disc degeneration model[J]. *Eur Spine J*, 2018, 27(10): 2639-2649.
7. 张永辉, 李玲慧. 人退变髓核细胞诱导脂肪间充质干细胞向类髓核细胞分化的实验研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26(7): 644-649.
8. Ishiguro H, Kaito T, Yarimitsu S, et al. Intervertebral disc regeneration with an adipose mesenchymal stem cell-derived tissue-engineered construct in a rat nucleotomy model[J]. *Acta Biomater*, 2019, 87: 118-129.
9. Mutigi MS, Kim BJ, Kumar H, et al. Efficacy of matrilin-3-primed adipose-derived mesenchymal stem cell spheroids in a rabbit model of disc degeneration[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 363.

10. 武文杰, 刘剑, 李茜, 等. 自体脐带血的保存及临床应用[J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(5): 1365–1368.
11. 张娟, 刘峰, 张薇, 等. 人脐血间充质干细胞来源的外泌体: 分离鉴定及生物学特性[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(37): 5955–5960.
12. 张燕, 陶晖, 顾韬, 等. 脐带华通胶间充质干细胞移植对退变椎间盘影响的实验研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(8): 750–756.
13. Hung IY, Shih TT, Chen BB, et al. Prediction of Lumbar Disc Bulging and Protrusion by Anthropometric Factors and Disc Morphology[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18(5): 2521.
14. Han B, Wang HC, Li H, et al. Nucleus pulposus mesenchymal stem cells in acidic conditions mimicking degenerative intervertebral discs give better performance than adipose tissue-derived mesenchymal stem cells[J]. *Cells Tissues Organs*, 2014, 199(5–6): 342–352.
15. Wang H, Zhou Y, Huang B, et al. Utilization of stem cells in alginate for nucleus pulposus tissue engineering[J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(5–6): 908–920.
16. Luo L, Jian X, Sun H, et al. Cartilage endplate stem cells inhibit intervertebral disc degeneration by releasing exosomes to nucleus pulposus cells to activate Akt/autophagy[J]. *Stem Cells*, 2021, 39(4): 467–481.
17. Jia Z, Yang P, Wu Y, et al. Comparison of biological characteristics of nucleus pulposus mesenchymal stem cells derived from non-degenerative and degenerative human nucleus pulposus[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(6): 3574–3580.
18. 周逸驰, 张丹, 张沛, 等. 海藻酸钠复合多能诱导干细胞修复椎间盘研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29(9): 830–834.
19. Daly C, Ghosh P, Jenkin G, et al. A review of animal models of intervertebral disc degeneration: pathophysiology, regeneration, and translation to the clinic[J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 5952165.
20. 陈丽, 胡兰, 彭雅南, 等. 人多能干细胞向多巴胺能神经元分化: 异质性的安全风险[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23(1): 118–124.
21. Atluri S, Murphy MB, Dragella R, et al. Evaluation of the effectiveness of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of chronic low back pain due to severe lumbar spinal degeneration: a 12-month, open-label, prospective controlled trial[J]. *Pain Physician*, 2022, 25(2): 193–207.
22. Noriega DC, Ardura F, Hernández-Ramajo R, et al. Intervertebral disc repair by allogeneic mesenchymal bone marrow cells: a randomized controlled trial[J]. *Transplantation*, 2017, 101(8): 1945–1951.
23. Noriega DC, Ardura F, Hernández-Ramajo R, et al. Treatment of degenerative disc disease with allogeneic mesenchymal stem cells: long-term follow-up results[J]. *Transplantation*. 2021, 105(2): e25–e27.
24. Amirdelfan K, Bae H, McJunkin T, et al. Allogeneic mesenchymal precursor cells treatment for chronic low back pain associated with degenerative disc disease: a prospective randomized, placebo-controlled 36-month study of safety and efficacy[J]. *Spine J*, 2021, 21(2): 212–230.
25. Centeno C, Markle J, Dodson E, et al. Treatment of lumbar degenerative disc disease-associated radicular pain with culture-expanded autologous mesenchymal stem cells: a pilot study on safety and efficacy[J]. *J Transl Med*, 2017, 15(1): 197.
26. Elabd C, Centeno CJ, Schultz JR, et al. Intra-discal injection of autologous, hypoxic cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in five patients with chronic lower back pain: a long-term safety and feasibility study [J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 253.
27. Orozco L, Soler R, Morera C, et al. Intervertebral disc repair by autologous mesenchymal bone marrow cells: a pilot study [J]. *Transplantation*, 2011, 92(7): 822–828.
28. Bates D, Vivian D, Freitag J, et al. Low-dose mesenchymal stem cell therapy for discogenic pain: safety and efficacy results from a 1-year feasibility study [J]. *Future Sci OA*, 2022, 8(5): FS0794.
29. Comella K, Silbert R, Parlo M. Effects of the intradiscal implantation of stromal vascular fraction plus platelet rich plasma in patients with degenerative disc disease [J]. *J Transl Med*, 2017, 15(1): 12.
30. Pang X, Yang H, Peng B. Human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of chronic discogenic low back pain[J]. *Pain Physician*, 2014, 17(4): E525–530.
31. 徐宝山, 张昊, 袁秋明, 等. 自体骨髓间充质干细胞植入联合纤维环缝合修复腰椎间盘髓核摘除术后缺损[J]. 中华骨科杂志, 2022, 42(11): 685–695.
32. Kumar H, Ha DH, Lee EJ, et al. Safety and tolerability of intradiscal implantation of combined autologous adipose-derived mesenchymal stem cells and hyaluronic acid in patients with chronic discogenic low back pain: 1-year follow-up of a phase I study[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 262.
33. Pettine KA, Murphy MB, Suzuki RK, Sand TT. Percutaneous injection of autologous bone marrow concentrate cells significantly reduces lumbar discogenic pain through 12 months[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(1): 146–156.
34. Pettine K, Suzuki R, Sand T, et al. Treatment of discogenic back pain with autologous bone marrow concentrate injection with minimum two year follow-up[J]. *Int Orthop*, 2016, 40(1): 135–140.
35. Gruber HE, Hoelscher GL, Ingram JA, et al. Increased IL-17 expression in degenerated human discs and increased production in cultured annulus cells exposed to IL-1 β and TNF- α [J]. *Biotech Histochem*, 2013, 88(6): 302–310.

36. Jia J, Nie L, Liu Y. Butyrate alleviates inflammatory response and NF- κ B activation in human degenerated intervertebral disc tissues[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 78: 106004.
37. Yang S, Li L, Zhu L, et al. Aucubin inhibits IL-1 β - or TNF- α -induced extracellular matrix degradation in nucleus pulposus cell through blocking the miR-140-5p/CREB1 axis [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 13639-13648.
38. Xie J, Li B, Zhang P, et al. Osteogenic protein-1 attenuates the inflammatory cytokine-induced NP cell senescence through regulating the ROS/NF- κ B pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 431-437.
39. Engel AJ, Stojanovic MP, Vorobeychik Y, et al. High-pressure discography may injure discs[J]. *Spine J*, 2017, 17(4): 612-613.
40. Taniguchi R, Kawano O, Maeda T, et al. Two cases of iatrogenic lumbar foraminal disc herniations [J]. *Case Rep Orthop*, 2021, 2021: 5546530.
41. Cuellar JM, Stauff MP, Herzog RJ, et al. Does provocative discography cause clinically important injury to the lumbar intervertebral disc: a 10-year matched cohort study[J]. *Spine J*, 2016, 16(3): 273-280.
42. Wang Y, Zhang Y, Chen K, et al. Injectable nanostructured colloidal gels resembling native nucleus pulposus as carriers of mesenchymal stem cells for the repair of degenerated intervertebral discs [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 128: 112343.
43. Xing H, Zhang Z, Mao Q, et al. Injectable exosome-functionalized extracellular matrix hydrogel for metabolism balance and pyroptosis regulation in intervertebral disc degeneration[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 264.
44. Russo F, Ambrosio L, Peroglio M, et al. A Hyaluronan and platelet-rich plasma hydrogel for mesenchymal stem cell delivery in the intervertebral disc: an organ culture study[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6): 2963.
45. Madrazo I, Kopyov O, Avila-Rodríguez MA, et al. Transplantation of human neural progenitor cells(NPC) into putamina of parkinsonian patients: a case series study, safety and efficacy four years after surgery[J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(3): 269-285.
46. Chen CF, Hu CC, Wu CT, et al. Treatment of knee osteoarthritis with intra-articular injection of allogeneic adipose-derived stem cells (ADSCs) ELIXCYTE: a phase I/II, randomized, active-control, single-blind, multiple-center clinical trial[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 562.
47. Li SY, Liu Y, Wang L, et al. A phase I clinical trial of human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial cells for early-stage Stargardt macular degeneration: 5-years' follow-up[J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(9): e13100.

(收稿日期:2022-12-05 修回日期:2023-08-19)

(本文编辑 姜雅浩)