

# 椎间盘退变生物学治疗的研究进展

蒋家耀, 卢旭华

(第二军医大学附属长征医院骨科, 上海 200003)

**【摘要】** 椎间盘退变所致的颈肩腰腿痛严重影响许多患者的生活及工作, 目前的治疗方法主要侧重于缓解疼痛症状或神经受压症状, 而无法阻止椎间盘退变的进程, 导致疾病具有高复发率。近年来学者们开始广泛研究椎间盘退变的生物学治疗方法, 即通过生物分子治疗、基因治疗、细胞治疗和组织工程等方法来修复和重塑椎间盘, 以期从根本上解决椎间盘退变的问题, 而上述方法大多处于动物实验或体外实验阶段, 临床应用尚存在诸多挑战。

**【关键词】** 椎间盘; 生物学; 综述文献

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2016.06.020

**Biological treatment for intervertebral disc degeneration** JIANG Jia-yao and LU Xu-hua. Department of Orthopaedics, Changzheng Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

**ABSTRACT** Neck shoulder pain or lumbocrural pain caused by intervertebral disc degeneration (IDD) could seriously affect the qualities life of patients. Current treatments mainly focus on alleviating pain and the symptoms of nerve compression, which could not radically stop the process of intervertebral disc degeneration, but conversely lead to high recurrence rate. In recent years, scholars have turned to study the biological treatment for repair and rebuild the intervertebral disc by biological molecular therapy, gene therapy, cell therapy and tissue engineering to solve the problem of intervertebral disc degeneration, while most of the above methods are still in animal experiments or in vitro experiments and the clinical application is still a long way to go.

**KEYWORDS** Intervertebral disk; Biology; Review literature

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2016, 29(6): 576-580 www.zggszz.com

椎间盘退变 (Intervertebral disc degeneration, IDD) 是颈肩腰腿痛的常见病因, 严重影响患者的生活及工作。目前, 临床上对于 IDD 的治疗一般包括保守疗法和手术治疗。然而, 保守疗法只能暂时缓解神经刺激症状, 椎间盘切除术和脊柱融合术也因破坏了脊柱的正常生理结构而加速邻近节段的退变, 两者均不能阻挡椎间盘退变的进程<sup>[1]</sup>。因此, 近年来学者们开始广泛研究 IDD 的生物学治疗方法, 以期从根本上解决椎间盘退变的问题。IDD 生物学治疗主要指通过生物分子治疗、基因治疗、细胞治疗和组织工程等方法来修复和重塑椎间盘。

## 1 生物分子治疗

目前研究<sup>[2]</sup>认为 IDD 发病的病理生理过程主要包括: 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 合成减少, II 型胶原减少, I 型胶原增多, 蛋白多糖表达显著降低; 分解细胞外基质的酶类分泌增多, 主要为基

质金属蛋白酶家族 (MMPs) 和解整链蛋白金属蛋白酶家族 (ADAMTS); 炎症因子网络调控失衡; 细胞衰老及凋亡增加; 神经、血管侵入椎间盘组织。生物分子疗法希望通过调节基质代谢、促进细胞增殖、抗细胞凋亡、抑制炎症等途径, 阻止和逆转细胞外基质的改变, 延长细胞寿命, 延缓椎间盘高度的丢失。

### 1.1 调节基质代谢

骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 是一类多功能生长因子, 属于转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 超家族成员。在实验动物模型中发现, BMPs 可以促进椎间盘细胞 ECM 的合成<sup>[3]</sup>。Park 等<sup>[4]</sup>将动物的髓核细胞放在含有 BMP-2 和 TGF- $\beta$  的培养基中培养, 发现两者能正向调节糖胺聚糖、I 型胶原和 II 型胶原 mRNA 的表达, 而足量的糖胺聚糖有利于胶原纤维的稳定与纤维环的板层滑动, 减缓纤维环退变<sup>[5]</sup>。BMP-2 可促进人髓核细胞合成蛋白多糖与 II 型胶原, 且在任何椎间盘区域均无成骨作用<sup>[6]</sup>。此外, BMP-2 与脉冲电磁场 (PEMF) 具有协同作用, 二者能正向调节内源性 BMP-2、BMP-7 的转录与翻译, 进一步促进 ECM 合成<sup>[7]</sup>。BMP-7, 也称为成骨蛋白-1 (OP-1), 可显著提高髓核细胞蛋白多糖

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 81171754)

Fund program: Provided by National Natural Science Foundation of China (No. 81171754)

通讯作者: 卢旭华 E-mail: xuhualu@hotmail.com

Corresponding author: LU Xu-hua E-mail: xuhualu@hotmail.com

和 II 型胶原合成,增加椎间盘高度。同时,BMP-7 可拮抗 TNF- $\alpha$  所致核因子  $\kappa$ B 活化、ADAMTS 表达上调的作用,从而抑制蛋白多糖和 II 型胶原的降解<sup>[8]</sup>。Kim 等<sup>[9]</sup>研究发现胰岛素样生长因子-1(IGF-1)在牛的髓核细胞中能增强合成代谢,并能与 BMP-7 产生协同互补作用而更好的促进 ECM 合成。Ellman 等<sup>[10]</sup>证实乳铁蛋白 B(LfcinB)对牛椎间盘细胞有促合成代谢和抗分解代谢的生物效应,同时可增强 BMP-7 对椎间盘细胞合成代谢的促进作用,联合使用 LfcinB 和 BMP-7 可能有益于治疗人类椎间盘退变疾病。BMP-13, 又称软骨形态发生蛋白-2(CDMP-2)或生长分化因子-6(GDF-6),其主要作用为诱发软骨与骨骼的生成,同时它也可以激活由 Smad 家族蛋白和 p38 MAP 激酶介导的细胞内信号通路,促进细胞外基质蛋白表达,在治疗 IDD 方面具有很大潜力<sup>[11]</sup>。生长分化因子-5(GDF-5)与 BMP 有密切的亲缘,也称为 BMP-14,它可以促进胶原和蛋白多糖的合成,恢复椎间盘高度,有助于椎间盘结构和功能的维护<sup>[12]</sup>。Yan 等<sup>[13]</sup>将含有 rhGDF-5 的聚乳酸-乙醇酸微球体注入大鼠退变的尾椎间盘,观察 6 周,结果显示大鼠尾椎间盘高度明显恢复、糖胺聚糖合成增加、II 型胶原 mRNA 水平明显升高,由针刺引起的组织学改变也得到明显恢复。

富血小板血浆(Platelet-rich plasma, PRP),是自体全血经离心后得到的血小板浓缩物,其在修复退变椎间盘方面也具有巨大的潜能,已成为研究热点。Pirvu 等<sup>[14]</sup>将牛纤维环细胞与 PRP 共培养,并将 PRP 注射到纤维环破裂的离体椎间盘中,发现 PRP 制剂可明显促进 ECM 产生、纤维环修复。PRP 对退变椎间盘的修复功能主要由其所含有的生长因子实现,如血小板衍生生长因子(PDGF)、TGF- $\beta$ 、IGF-1、表皮生长因子(EGF)、血管内皮生长因子(VEGF)等。研究发现<sup>[15]</sup>,PDGF-BB 可明显抑制椎间盘细胞凋亡,促进细胞增殖和基质产生,并维持蛋白多糖与 II 型胶原的 mRNA 表达。Lee 等<sup>[16]</sup>将兔髓核细胞放在含有 TGF- $\beta$  和 EGF 的培养基中培养,证实两者能正向调节蛋白多糖、I 型胶原和 II 型胶原 mRNA 的表达。IGF-1 可与 BMP-7 产生协同作用,增强髓核细胞的合成代谢<sup>[9]</sup>;促进髓核细胞增殖,逆转 TNF- $\alpha$  诱导的髓核细胞凋亡<sup>[17]</sup>。

LIM 骨矿化蛋白-1(LMP-1)是一种细胞内调节分子,可通过激活 ERK1/2 上调基质基因表达、抑制核因子  $\kappa$ B 下调 MMPs 表达,从而促进椎间盘细胞 ECM 的积累<sup>[18]</sup>。基质金属蛋白酶表达增加是 IDD 发病的一个重要环节,而金属蛋白酶组织抑制剂-1(TIMP-1)则是该酶的天然抑制物。TIMP-1 可增加

蛋白多糖的合成,有助于延缓椎间盘退变。Link-N 是一种具有类似生长因子功能的肽段,具有稳定蛋白聚糖聚合物和透明质酸盐结构的功能,能有效促进蛋白多糖合成并抑制蛋白酶的表达,可诱导早期退变椎间盘再生。

此外,一些药物也具有调节基质代谢、促进退变椎间盘再生的潜力。大鼠尾椎间盘内注射辛伐他汀可增强蛋白多糖和 II 型胶原的基因表达,改善椎间盘退变情况<sup>[19]</sup>。Hu 等<sup>[20]</sup>将不同浓度的洛伐他汀注射到大鼠尾椎间盘内,发现洛伐他汀可以上调 BMP-2 和 SOX9 的表达,促进蛋白多糖和 II 型胶原的合成。白藜芦醇可抑制 MMP-1、MMP-3 和 MMP-13 的表达抗基质分解代谢<sup>[21]</sup>,也可上调 SIRT1 的表达促基质合成代谢<sup>[22]</sup>。

## 1.2 促进细胞增殖及抑制炎症反应

PDGF、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和 IGF-1 可通过激活 MEK/ERK 和 PI-3K/Akt 通路,促进人椎间盘细胞 DNA 合成、细胞增殖<sup>[23]</sup>。Zhang 等<sup>[24]</sup>证实,TGF- $\beta$ 1 和 IGF-1 可促进人髓核细胞增殖,其效应具有时间和剂量依赖性。BMP-2 则可促进人纤维环细胞增殖<sup>[6]</sup>。

退变椎间盘中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 和 NO 等炎症因子含量明显增高,TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  可刺激人椎间盘细胞表达 MMP-1、MMP-3 和 MMP-9,加速基质分解<sup>[25]</sup>,也可正向调节神经生长因子(NGF)的表达,引起神经纤维增殖并侵入椎间盘组织<sup>[26]</sup>。炎症因子网络调控失衡被认为是引起椎间盘退变与患者疼痛症状的重要原因之一,因此在 IDD 的治疗中抑制炎症反应十分重要。可溶性 II 型肿瘤坏死因子受体(sTNFRII)和依那西普作为 TNF- $\alpha$  的拮抗剂、IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)作为 IL-1 的拮抗剂,在抑制炎症反应、保护退变椎间盘方面具有巨大潜力。Wuertz 等<sup>[21]</sup>发现白藜芦醇可明显减轻由髓核组织压迫神经根所致疼痛,也可在人椎间盘细胞体外培养模型中显著降低 IL-6、IL-8 等炎症因子水平。Li 等<sup>[27]</sup>通过对体外培养的退变髓核细胞的研究证实,应用 IL-10 和 TGF- $\beta$  治疗可降低 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等炎症因子水平,抑制炎症反应。此外,富含多种生长因子的 PRP 也可抑制体外培养人椎间盘髓核细胞中的炎症反应<sup>[28]</sup>。

各生物分子在体内的存活时间较短,难以持续发挥作用,若是反复穿刺注射,则会损伤椎间盘加速其退变,故尚需进一步研究其临床应用的方法。

## 2 基因治疗

由于生物分子半衰期较短,难以持续发挥作用,所以研究一种长效的治疗方法显得尤为重要。不少

学者认为使用基因治疗修饰细胞基因组, 增加编码效应基因的序列, 促进单个或多种生物活性因子持续产生, 才是将来治疗椎间盘退行性变的希望所在。

### 2.1 基因的选择

目前研究的有治疗潜力的基因包括 TGF- $\beta$ 、BMPs、LMP-1、SOX9、SIRT1、TIMP-1 等。TGF- $\beta$ 、BMPs、LMP-1、TIMP-1 等的基因通过编码合成相应细胞因子, 抑制炎症、促进细胞增殖、抗细胞凋亡、促进 ECM 合成, 达到修复退变椎间盘的目的。SOX9 基因在软骨形成、间充质浓集和刺激细胞外基质基因表达中发挥重要作用。Ren 等<sup>[29]</sup>通过腺相关病毒介导将 SOX9 和 OP-1 基因共转染至兔退变椎间盘中, 发现其可显著促进退变椎间盘内蛋白多糖和 II 型胶原的合成, 明显改善椎间盘高度。而导入了 SOX9 基因的骨髓间充质干细胞可更好的修复退变兔椎间盘<sup>[30]</sup>。SIRT1 通过激活 Akt 信号通路抑制人类退变椎间盘髓核细胞的凋亡<sup>[31]</sup>, 同时可抑制 p16 的表达, 在啮齿动物模型中起到保护退变椎间盘的作用<sup>[32]</sup>。

### 2.2 载体的选择

将目的基因导入靶细胞中需要一个合适的基因载体, 常使用的载体有病毒载体和非病毒载体。非病毒载体制备与使用方法简单, 无免疫原性和致病性, 但因其转染细胞成功率低、基因表达率低、作用时间短、易丢失而少用。病毒载体则以腺病毒、腺相关病毒、逆转录病毒等最为常用。腺病毒是双链线性 DNA 病毒, 可通过受体介导的内吞作用进入细胞内, 能有效感染非增殖细胞, 但它的免疫原性比较强, 可能会对机体造成不利的影 响。腺相关病毒 (adenovirus associated virus, AAV) 是一类单链线状 DNA 缺陷型病毒, 其免疫原性与致病性均比腺病毒弱, 基因表达的时间较长, 在治疗 IDD 方面倍受青睐。

目前对 IDD 的分子生物学机制还未彻底了解, 故难以选择出治疗 IDD 的最佳基因; 同时还需要不断寻找更高效、更安全的载体, 保证目的基因在宿主体内长期、稳定的表达, 避免基因治疗中可能出现的不良反应。

## 3 细胞治疗

单独应用生物分子疗法或基因疗法治疗 IDD 的能力还是比较有限的, 当椎间盘退变到一定程度时, 可能需要细胞移植才能够终止或逆转其退变的进程。目前研究较多的种子细胞主要有髓核细胞、软骨细胞和间充质干细胞等。

### 3.1 髓核细胞

最早进行的细胞疗法探索就是分离髓核细胞进行体外培养, 允许结合生物材料或者基因修饰再植入退变椎间盘。不少研究都证实了将髓核细胞移植

入退变的椎间盘中能取得较好的效果。Benz 等<sup>[33]</sup>发现, 羊的椎间盘受损后有自发修复功能, 而注入椎间盘细胞则可加速这种修复过程。Liu 等<sup>[34]</sup>将髓核细胞移植治疗的方法加以改进, 先在体外经腺相关病毒介导将结缔组织生长因子 (CTGF) 和 TIMP-1 基因转染至兔髓核细胞, 再将细胞移植入兔退变的椎间盘中, 结果发现蛋白多糖和 II 型胶原的 mRNA 表达水平显著升高, 椎间盘高度明显恢复, 表明基因修饰后的髓核细胞对退变椎间盘有修复作用。然而, 从人椎间盘组织获得足够髓核细胞非常困难, 分离和植入髓核细胞时也会损伤纤维环, 尚需进一步研究其临床应用的方法。而建立更近似于体内环境的培养体系, 模拟体内生理、病理变化, 将为研究椎间盘退变提供新思路、新方法<sup>[35]</sup>。

### 3.2 软骨细胞

在治疗 IDD 的动物实验中, 常用的软骨细胞主要有椎间盘软骨细胞和关节软骨细胞。Ganey 等<sup>[36]</sup>将椎间盘软骨细胞在体外培养后移植入犬退变椎间盘, 1 年后组织学评估示移植后的软骨细胞保持分裂增殖活性, 再生的组织中表达 I、II 型胶原, 且椎间盘高度明显高于对照组。关节软骨细胞在形态学上与椎间盘细胞相似, 适合在缺少血供的椎间盘内生存, 而且较易获取, 在治疗 IDD 方面亦具有较大的潜力。Acosta 等<sup>[37]</sup>分别将同种异体的关节软骨细胞和间充质干细胞 (MSCs) 移植入猪去髓核的椎间盘中, 发现与 MSCs 相比, 关节软骨细胞移植治疗更能促进软骨形成、促进蛋白多糖和 II 型胶原的合成。

### 3.3 间充质干细胞

人间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是未分化的多潜能干细胞, 具有高度可塑性和多向分化能力, 且容易获取, 是 IDD 细胞疗法的理想候选者。间充质干细胞移植治疗的方式分为两种: 一种是将 MSCs 在体外诱导分化为髓核样细胞后再移植到退变椎间盘内; 另一种方式是将 MSCs 直接移植到椎间盘内, 利用椎间盘内的微环境诱导 MSCs 向髓核样细胞分化, 进而合成和分泌细胞外基质等成分, 重塑髓核组织。自 Risbud 等<sup>[38]</sup>首次证实体外培养的骨髓间充质干细胞在低氧和 TGF- $\beta$  作用下可向髓核样细胞分化后, 大量研究表明人和不同动物的多种组织来源的成体干细胞在体外均可向髓核样细胞分化。但截止到目前, 对髓核细胞表型的研究以及将 MSCs 定向诱导分化为髓核样细胞的条件尚不完全成熟。而直接移植的 MSCs 既可促进髓核基质合成, 亦可维护软骨终板的营养通道<sup>[39]</sup>。

## 4 组织工程

当椎间盘退变发展到出现纤维环破裂, 甚至整

个椎间盘结构坍塌时, 疾病就进入了临床晚期。此时, 通过手术进行椎间盘切除或置换成为临床不可避免的选择。人工椎间盘置换术虽可保留手术节段的活动度, 减少相邻节段的退变, 但这些不具有生物功能的假体的远期疗效尚未得到确认。从生物治疗层面分析, 此时进行单纯的组织工程纤维环修补或组织工程髓核置换均不会有很好的疗效, 最理想的选择是在体外构建一个具有生物学功能的组织工程椎间盘来替换退变椎间盘。组织工程包括 3 个方面: 细胞因子、种子细胞和支架材料。其中, 细胞因子已得到广泛研究并在上文中已述及。

#### 4.1 种子细胞的选择

目前应用于椎间盘组织工程研究的种子细胞主要有以下 5 类: (1) 髓核细胞: 主要分泌蛋白多糖和 II 型胶原, 增殖能力弱, 培养条件要求高。(2) 纤维环细胞: 外层主要为类成纤维细胞, 分泌较多的 I 型胶原, 承受纤维环的张力; 内层主要为类软骨细胞, 分泌较多的 II 型胶原和蛋白多糖, 承担椎间盘压力。(3) 脊索细胞: 主要存在于人 10 岁以前的髓核组织内, 可调节髓核细胞的生物合成, 也可分泌多种细胞因子延缓椎间盘退变。(4) 软骨细胞: 可分泌蛋白多糖和胶原, 与髓核细胞、纤维环细胞具有很大相似性。(5) 间充质干细胞: 是未分化的多潜能干细胞, 主要利用其单独诱导分化或与椎间盘细胞共培养获得用于构建组织工程的椎间盘细胞。

#### 4.2 支架材料的选择

理想的椎间盘组织工程支架材料应具有良好的组织相容性、可塑性、生物可降解性以及一定的机械强度, 其三维立体结构在有利于细胞植入的同时也要有利于营养成分的渗入以及细胞代谢产物的排出。目前研究较多的支架材料可分为天然生物材料、人工合成材料以及复合材料 3 大类。天然生物材料包括胶原蛋白、纤维蛋白、壳聚糖、糖胺多糖、透明质酸、丝素蛋白、去端肽胶原、藻酸盐、琼脂糖、明胶和小肠黏膜下层等。人工合成材料主要包括生物陶瓷材料和合成高分子有机材料, 常用的有聚乳酸、聚羟基乙酸、聚乙醇酸、羟基磷灰石、聚磷酸钙等。然而, 单一类型的材料往往难以满足椎间盘组织工程支架材料的需求, 因此在近年来的研究中, 常通过一定的方法将几种材料复合形成复合材料来增强力学强度、增加生物活性、改善降解速度。

目前对椎间盘组织工程的研究虽然已经取得一些重要进展, 但在种子细胞来源、植入方式等关键技术环节上还面临着巨大挑战。同时, 支架材料种类繁多, 各有优缺点, 尚无公认的最合适的支架材料, 纳米级生物材料与可注射型支架将成为研究热点。诱

导多能干细胞技术通过将特定基因或特定基因产物导入体细胞内, 使体细胞重编程得到类似胚胎干细胞的一种细胞类型, 具有为 IDD 生物治疗提供新的种子细胞来源的潜力。此外, 3D 打印技术的运用也将为椎间盘组织工程的研究带来巨大活力。

#### 5 问题与展望

生物学治疗椎间盘退变的各类相关研究目前大多处于动物实验或体外实验阶段, 临床应用尚存诸多挑战, 技术要求高、价格昂贵、活性因子持续时间短、基因与载体的选择、种子细胞的选择、植入体内方法的确立、临床疗效评价方法等问题均需进一步研究解决。然而随着对椎间盘退变分子机制及发病机制的不断了解, 生物学治疗已然是椎间盘退行性变疾病的最好选择。而为达到最佳的椎间盘修复效果, 将组织工程学与多种生物学治疗联合运用将是一个崭新的治疗思路。

#### 参考文献

- [1] Radcliff KE, Kepler CK, Jakoi A, et al. Adjacent segment disease in the lumbar spine following different treatment interventions [J]. Spine J, 2013, 13(10): 1339-1349.
- [2] Kepler CK, Ponnappan RK, Tannoury CA, et al. The molecular basis of intervertebral disc degeneration [J]. Spine J, 2013, 13(3): 318-330.
- [3] An HS, Masuda K, Cs-szabo G, et al. Biologic repair and regeneration of the intervertebral disk [J]. J Am Acad Orthop Surg, 2011, 19(7): 450-452.
- [4] Park SY, Kim KH, Shin SY, et al. Dual delivery of rhPDGF-BB and bone marrow mesenchymal stromal cells expressing the BMP2 gene enhance bone formation in a critical-sized defect model [J]. Tissue Eng Part A, 2013, 19(21-22): 2495-2505.
- [5] 王方, 沈姍安, 黄淦堂, 等. 椎间盘纤维环中糖胺多糖的实验研究 [J]. 中国骨伤, 2000, 13(5): 270-272.  
Wang F, Shen SA, Huang GT, et al. An Experimental study of the glycosaminoglycan in the annuli fibrosus of the normal and degenerated intervertebral discs [J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2000, 13(5): 270-272. Chinese with abstract in English.
- [6] Kim H, Lee JU, Moon SH, et al. Zonal responsiveness of the human intervertebral disc to bone morphogenetic protein-2 [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2009, 34(17): 1834-1838.
- [7] Okada M, Kim JH, Yoon ST, et al. Pulsed electromagnetic field (PEMF) plus BMP-2 upregulates intervertebral disc-cell matrix synthesis more than either BMP-2 alone or PEMF alone [J]. J Spinal Disord Tech, 2013, 26(6): E221-E226.
- [8] Wang Z, Hutton WC, Yoon ST. Bone morphogenetic protein-7 antagonizes tumor necrosis factor-alpha-induced activation of nuclear factor kappaB and up-regulation of the ADAMTS, leading to decreased degradation of disc matrix macromolecules aggrecan and collagen II [J]. Spine J, 2014, 14(3): 505-512.
- [9] Kim JS, Ellman MB, An HS, et al. Insulin-like growth factor I synergizes with bone morphogenetic protein 7-mediated anabolism in bovine intervertebral disc cells [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(12): 3706-3715.

- [10] Ellman MB, Kim J, An HS, et al. Lactoferricin enhances BMP7-stimulated anabolic pathways in intervertebral disc cells[J]. *Gene*, 2013, 524(2): 282–291.
- [11] Williams LA, Wei A, Bhargava D, et al. Cartilage derived morphogenetic protein 2-a potential therapy for intervertebral disc regeneration[J]. *Biologicals*, 2014, 42(2): 65–73.
- [12] 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.
- [13] Yan J, Yang S, Sun H, et al. Effects of releasing recombinant human growth and differentiation factor-5 from poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres for repair of the rat degenerated intervertebral disc[J]. *J Biomater Appl*, 2013, 29(1): 72–80.
- [14] Pirvu TN, Schroeder JE, Peroglio M, et al. Platelet-rich plasma induces annulus fibrosus cell proliferation and matrix production[J]. *Eur Spine J*, 2014, 23(4): 745–753.
- [15] Presciutti SM, Paglia DN, Karukonda T, et al. PDGF-BB inhibits intervertebral disc cell apoptosis in vitro[J]. *J Orthop Res*, 2014, 32(9): 1181–1188.
- [16] Lee KI, Moon SH, Kim H, et al. Tissue engineering of the intervertebral disc with cultured nucleus pulposus cells using atelocollagen scaffold and growth factors[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2012, 37(6): 452–458.
- [17] Zhang CC, Cui GP, Hu JG, et al. Effects of adenoviral vector expressing hGF-1 on apoptosis in nucleus pulposus cells in vitro[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(2): 401–405.
- [18] Liu H, Pan H, Yang H, et al. LIM mineralization protein-1 suppresses TNF- $\alpha$  induced intervertebral disc degeneration by maintaining nucleus pulposus extracellular matrix production and inhibiting matrix metalloproteinases expression[J]. *J Orthop Res*, 2015, 33(3): 294–303.
- [19] Than KD, Rahman SU, Wang L, et al. Intradiscal injection of simvastatin results in radiologic, histologic, and genetic evidence of disc regeneration in a rat model of degenerative disc disease[J]. *Spine J*, 2014, 14(6): 1017–1028.
- [20] Hu MH, Yang KC, Chen YJ, et al. Lovastatin prevents discography-associated degeneration and maintains the functional morphology of intervertebral discs[J]. *Spine J*, 2014, 14(10): 2459–66.
- [21] Wuertz K, Quero L, Sekiguchi M, et al. The red wine polyphenol resveratrol shows promising potential for the treatment of nucleus pulposus-mediated pain in vitro and in vivo[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2011, 36(21): E1373–E1384.
- [22] 沈皆亮, 胡侦明, 钟小明等. 白藜芦醇通过上调 SIRT1 促进退变髓核细胞胞外基质合成[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(11): 1146–1150.
- Shen JL, Hu ZM, Zhong XM, et al. Resveratrol stimulates extracellular matrix synthesis in degenerative nucleus pulposus cells via upregulation of SIRT1[J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2012, 28(11): 1146–1150. Chinese.
- [23] Pratsinis H, Ccontantinou 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): 958–964.
- [24] Zhang R, Ruan D, Zhang C. Effects of TGF- $\beta$ 1 and IGF-1 on proliferation of human nucleus pulposus cells in medium with different serum concentrations[J]. *J Orthop Surg Res*, 2006, 1: 9.
- [25] Cho H, Lee S, Park SH, et al. Synergistic effect of combined growth factors in porcine intervertebral disc degeneration[J]. *Connect Tissue Res*, 2013, 54(3): 181–186.
- [26] Purmessur D, Freemont AJ, Hoyland JA. Expression and regulation of neurotrophins in the nondegenerate and degenerate human intervertebral disc[J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(4): R99.
- [27] Li W, Liu T, Wu L, et al. Blocking the function of inflammatory cytokines and mediators by using IL-10 and TGF- $\beta$ : a potential biological immunotherapy for intervertebral disc degeneration in a beagle model[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(10): 17270–17283.
- [28] Kim HJ, Yeom JS, Koh YG, et al. Anti-inflammatory effect of platelet-rich plasma on nucleus pulposus cells with response of TNF- $\alpha$  and IL-1[J]. *J Orthop Res*, 2014, 32(4): 551–556.
- [29] 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.
- [30] Sun W, Zhang K, Liu G, et al. Sox9 gene transfer enhanced regenerative effect of bone marrow mesenchymal stem cells on the degenerated intervertebral disc in a rabbit model[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93570.
- [31] Wang D, Hu Z, Hao J, et al. SIRT1 inhibits apoptosis of degenerative human disc nucleus pulposus cells through activation of Akt pathway[J]. *Age (Dordr)*, 2013, 35(5): 1741–1753.
- [32] Xia X, Guo J, Lu F, et al. SIRT1 plays a protective role in intervertebral disc degeneration in a puncture-induced rodent model[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2015, 40(9): E515–E524.
- [33] Benz K, Stippich C, Fisher L, et al. Intervertebral disc cell-and hydrogel-supported and spontaneous intervertebral disc repair in nucleotomized sheep[J]. *Eur Spine J*, 2012, 21(9): 1758–1768.
- [34] Liu Y, Li JM, Hu YG. Transplantation of gene-modified nucleus pulposus cells reverses rabbit intervertebral disc degeneration[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124(16): 2431–2437.
- [35] 周泉, 王拥军. 椎间盘细胞培养及调控[J]. *中国骨伤*, 2004, 17(8): 507–509.
- Zhou Q, Wang YJ. Cultivation and control on intervertebral disc cells[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2004, 17(8): 507–509. Chinese.
- [36] Ganey T, Libera J, Moos V, et al. Disc chondrocyte transplantation in a canine model: a treatment for degenerated or damaged intervertebral disc[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2003, 28(23): 2609–2620.
- [37] Acosta FL Jr, Metz L, Adkisson HD, et al. Porcine intervertebral disc repair using allogeneic juvenile articular chondrocytes or mesenchymal stem cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(23–24): 3045–3055.
- [38] Risbud MV, Albert TJ, Guttaolalli A, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells towards a nucleus pulposus-like phenotype in vitro: implications for cell-based transplantation therapy[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2004, 29(23): 2627–2632.
- [39] Bendtsen M, Bunger CE, Zou X, et al. Autologous stem cell therapy maintains vertebral blood flow and contrast diffusion through the endplate in experimental intervertebral disc degeneration[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2011, 36(6): E373–E379.