

· 基础研究 ·

# UTX 转染对骨髓间充质干细胞影响的体外研究<sup>△</sup>

徐翔<sup>1</sup>, 吴一民<sup>1</sup>, 李树文<sup>1</sup>, 赵健<sup>1</sup>, 孙韬<sup>1</sup>, 于英楠<sup>1</sup>, 张德宝<sup>1</sup>, 张远<sup>2</sup>, 银和平<sup>1\*</sup>

(1. 内蒙古医科大学第二附属医院, 内蒙古呼和浩特 010030; 2. 内蒙古国际蒙医医院手术麻醉科, 内蒙古呼和浩特 010030)

**摘要:** [目的] 探索广泛转录 X 染色体三角形四肽重复蛋白 (ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat on chromosome X, UTX) 基因调控骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 的作用。[方法] 自 C57 小鼠中分离提取 BMSCs, 行形态与流式细胞学表面抗原鉴定。分别采用慢病毒转染, 建立 UTX-down 组、UTX-NC 组和 UTX-up 组。行 QRT-PCR 检测 UTX mRNA 表达, 检测诱导成骨和成软骨情况, II 型胶原的表达。[结果] 所获得的第三代细胞符合 BMSCs 的典型形态特征和表面抗原特征。QRT-PCR 检测 UTX 的 mRNA 相对表达量由低至高依次为: UTX-down 组 < UTX-NC 组 < UTX-up 组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。诱导成骨培养茜素红染色细胞数、诱导成软骨后阿利新兰染色细胞数以及 II 型胶原免疫荧光染色 OD 值由低至高依次均为: UTX-down 组 < UTX-NC 组 < UTX-up 组, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。[结论] BMSCs 过表达 UTX 可促使成骨与成软骨的发生, 促使 II 型胶原产生。有可能用于促使椎间盘纤维环缺损的修复。

**关键词:** X 染色体三角形四肽重复蛋白 (UTX), 骨髓间充质干细胞 (BMSCs), II 型胶原, 成骨, 成软骨

**中图分类号:** R318      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1005-8478 (2022) 03-0254-06

**Effect of UTX transfection on bone marrow mesenchymal stem cells in vitro** // XU Xiang<sup>1</sup>, WU Yi-min<sup>1</sup>, LI Shu-wen<sup>1</sup>, ZHAO Jian<sup>1</sup>, SUN Tao<sup>1</sup>, YU Ying-nan<sup>1</sup>, ZHANG De-bao<sup>1</sup>, ZHANG Yuan<sup>2</sup>, YIN He-ping<sup>1</sup>. 1. The Second Affiliated Hospital, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, China; 2. Department of Surgical Anesthesiology, Inner Mongolia International Mongolian Hospital, Hohhot 010030, China

**Abstract:** [Objective] To explore the effect of ubiquitously transcribe tetropeptide repeat on chromosome X (UTX) genes transfection on bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) in vitro. [Methods] BMSCs were isolated from C57 mice and identified by morphology and flow cytometry. Lentivirus transfection was used to establish UTX-down group, UTX-NC group and UTX-up group of cells. RT-PCR was performed to detect UTX mRNA expression. In addition, osteogenesis, chondrogenesis and type II collagen expression were assayed and compared. [Results] The third-generation cells obtained in this study proved consistent with the typical morphological characteristics and surface antigen characteristics of BMSCs. The relative expression levels of UTX mRNA detected by QRT-PCR were ranked down-up as follows: UTX-down group < UTX-NC group < UTX-up group, with statistically significant differences among the 3 groups ( $P < 0.05$ ). Furthermore, the number of alizarin red staining cells in osteogenic culture, the number of Alcian blue staining cells after chondrogenic culture, and the OD values of type II collagen immunofluorescence staining all were ranked from low to high as follows: UTX-down group < UTX-NC group < UTX-up group, which all were statistically significantly different ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] BMSCs overexpression of UTX do promote the occurrence of osteogenesis and chondrogenesis, and production of type II collagen. It may be used to promote the repair of annulus fibrosus defect of intervertebral disc.

**Key words:** ubiquitously transcribe tetropeptide repeat on chromosome X (UTX), bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs), type II collagen, osteogenesis, chondrogenesis

近年来, 随着科技的进步, 人类生活水平质量的提高, 腰椎间盘突出症正日益成为影响人们生活的常见病、多发病。经过技术的革新, 从传统手术方式转变到微创手术方式<sup>[1-3]</sup>。而微创手术方式由内窥镜下髓核摘除术 (microendoscopic discectomy,

MED) 到单侧双入路内镜 (unilateral biportal endoscopy, UBE) 技术, 不断创新, 但手术中所导致的纤维环缺损是腰椎间盘突出术后复发的重要因素之一<sup>[4-7]</sup>。根据文献报道: 在美国, 大约 25% 的手术治疗腰椎间盘突出症的患者中, 有 11% 的患者发生

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.03.13

<sup>△</sup>基金项目: 内蒙古医科大学科技百万工程课题 [编号: YKD2018KJBW(LH)006]; 内蒙古自治区自然科学基金项目 (编号: 2019BS03034)

作者简介: 徐翔, 主治医师, 博士学位, 研究方向: 微创脊柱, (电话) 15847118574, (电子信箱) 416488832@qq.com

\* 通信作者: 银和平, (电话) 13947189200, (电子信箱) nmgyhp0471@126.com

再突出, 需要进行二次手术治疗<sup>[8-10]</sup>。因此为了提高髓核摘除术的远期疗效, 降低远期复发率, 研究如何修复纤维环缺损已经成为当今脊柱外科的热点问题<sup>[11-13]</sup>。

表观遗传学调控 (epigenetic regulation) 是近几年研究的热点, 是调节细胞基因表达的重要分子生物学手段。诸多研究显示, 表观遗传学调控在骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 的增殖和分化、成骨与成软骨的过程中发挥着重要作用。椎间盘纤维环缺损的自我修复就是表观遗传学调控基因谱有序应答的结果。广泛转录 X 染色体三角形四肽重复蛋白 (ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat on chromosome X, UTX), 也称蛋白 3 赖氨酸 27 (H3K27) 去甲基化酶基因 (KDM6A), 这是一种组蛋白去甲基酶, 它去除组蛋白 H3K27 上的二甲基和三甲基, 是重要的表观遗传因子。研究显示, 组蛋白脱甲基酶 KDM4B 和 KDM6B 通过去除 H3K9me3 和 H3K27me3 在 MSCs 的成骨中起关键作用。而且揭示了人骨髓间充质干细胞是如何通过表观基因调控分化为骨或者脂肪的<sup>[14-17]</sup>。然而, 调控骨髓间充质干细胞中的 UTX 基因, 对于骨与软骨的分化以及 II 型胶原的分泌的作用机制, 尚未见文献报道。

因此本实验构建 UTX 慢病毒载体干预骨髓间充质干细胞, 观察其成骨、成软骨以及 II 型胶原形成的情况, 研究其形成的机制, 为进一步 UTX 表观调控骨髓间充质干细胞修复纤维环缺损进行动物实验奠定细胞学实验基础。也为未来临床中修复椎间盘纤维环缺损奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物与主要试剂

凯基 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒 (凯基生物), 胰酶 Trypsin (浙江森瑞生物科技有限公司), 自发荧光淬灭剂 (武汉百仟度生物), DAPI (武汉百仟度生物), BSA (武汉百仟度生物), 柠檬酸 (PH6.0) 抗原修复液 (武汉百仟度生物), 茜素红染液 (武汉百仟度生物), 山羊抗兔抗体 (Thermo-Fisher Scientific), 性树胶 (国药集团化学试剂有限公司), 阿利新蓝染液 (武汉百仟度生物), TRIZOL (Invitrogen, Waltham, MA, USA), 逆转录试剂盒 (TaKaRa Bio, Otsu, Japan)。C57 小鼠购于内蒙古医科大学分子病理学重点实验室。

### 1.2 BMSCs 分离、培养及鉴定

C57 小鼠采用戊巴比妥钠麻醉, 无菌条件下解剖出股骨和胫骨。在含有青霉素 (100 U/ml) 和链霉素 (100 g/ml) 的 PBS 中洗涤 3 次, 切断骨的两端, 用  $\alpha$ -MEM 培养液将骨髓间冲洗出来。在完全培养基 ( $\alpha$ -MEM+10%胎牛血清+100 U/ml 青霉素、100  $\mu$ g/ml 链霉素) 中培养, 置入 CO<sub>2</sub> 培养箱 1 d。第 2 d, 用 PBS 除去非贴壁细胞, 得到纯化的骨髓间充质干细胞。把骨髓间充质细胞移植到六孔板中, 用 PBS 洗涤 1 次, 加入 1 ml 0.25% 胰酶消化细胞, 待细胞变圆且有部分细胞悬浮, 即加入培养基终止消化。轻轻吹打细胞, 使细胞悬浮。收集于流式管中, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃上清。加入 3 ml 4℃ 预冷的 PBS 完全重悬细胞, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃上清。沉淀用 200  $\mu$ l 的 PBS 重悬。加入一抗, 室温下避光孵育 60 min, 离心去上清, PBS 洗涤 1 次; 200  $\mu$ l PBS 重悬细胞, 加入二抗, 室温下避光孵育 50 min; 离心去上清, PBS 洗涤 1 次, 再加入 100~200  $\mu$ l PBS 重悬细胞。根据二抗激发波长, 选择合适的通路, 空白管调试好仪器后, 进行流式细胞学鉴定。

### 1.3 UTX 慢病毒的构建以及 BMSCs 分组转染

BMSCs 分为 UTX 上调组 (UTX-up)、UTX 下调组 (UTX-down) 和 UTX 空载组 (UTX-NC)。采用吉凯公司设计合成, 首先制备构建上调慢病毒载体与下调慢病毒载体, 纯化和浓缩后得到高滴度的慢病毒浓缩液。然后 96 孔板每孔中分别接种  $3 \times 10^3$  个 BMSCs, 每孔加入 100  $\mu$ l 完全培养基, 当细胞融合到 60%~85% 时, 根据不同的 MOI 值做一个浓度梯度, MOI 值为 10、20、50、100 四组, 分别根据 MOI 值不同进行 UTX 慢病毒转染, 把细胞放回培养箱中继续孵育, 12 h 之后, 在倒置显微镜下观察细胞状态, 如果细胞状态像未感染组一样都很好, 说明慢病毒对转染的细胞没有毒性, 然后放入孵育箱中继续培养, 培养 1 d 后更换细胞培养液, 感染 24~48 h 后, 观察细胞核以及细胞的荧光表达的情况。筛选出最佳 MOI 值为 60, 利用此 MOI 值进行分组转染。

### 1.4 干预与检测指标

#### 1.4.1 QRT-PCR 鉴定转染效率

UTX-up 上游引物 5'-AGCATTTGTGAAGTG-GAGGTT-3', 下游引物 3'-CAAGATGAGG-CGGAT-GGTAA-5'; GAPDH 上游引物 5'-CATGAGAAGTAT-GACAACAGCCT-3', 下游引物 3'-AGTCC-TTCCAC-

GATACCAAAGT-5'; UTX-down 上游引物 5'-GGAGGGCAGAATCA-TCACGA-3', 下游引物 3'-GCTCATCTCTCTATGTGCTGG-5'; UTX-NC 上游引物 5'-TTCTCCGAACGTGTCACGT-3', 下游引物 3'-ACGTGACACGTTCCGAGAA-5。BMSCs 转染 72 h 后, 利用 TRIzol 试剂提取 RNA, 利用逆转录试剂盒进行逆转录, 利用 SYBR qPCR 混合试剂在机上进行 QRT-PCR 检测, 应用 2-DDCt 方法分析目的基因的表达。

#### 1.4.2 诱导成骨

BMSCs 转染 72 h 后, 在 6 孔板中接种细胞, 每孔细胞数为  $2.5 \times 10^6$  个, 加入诱导成骨培养液, 每 3 d 更换一次。诱导成骨培养 7 d 后, 用 PBS 洗涤细胞 3 次, 然后用 4% 多聚甲醛洗涤 30 min。用 PBS 洗涤 3 次后, 加入茜素红溶液, 于 37°C 染色 5~10 min。然后使用倒置显微镜进行拍摄。使用软件 Image-pro plus 6.0 进行细胞计数的统计与分析。

#### 1.4.3 诱导成软骨

BMSCs 转染 72 h 后, 在 6 孔板中接种细胞, 每孔细胞数为  $2.5 \times 10^6$  个, 加入诱导成软骨培养液, 每 3 d 更换一次。诱导成软骨培养 7 d 后, 用 PBS 洗涤细胞 3 次, 然后用 4% 多聚甲醛洗涤 30 min。用 PBS 洗涤 3 次后, 加入阿利新蓝溶液, 37°C 染色 10~15 min。然后使用倒置显微镜进行拍摄。使用软件 Image-pro plus 6.0 进行细胞计数的统计与分析。

#### 1.4.4 II 型胶原检测

BMSCs 转染 72 h 后, 用磷酸盐缓冲盐水洗涤细胞 3 次。然后, 细胞在 4% 多聚甲醛中固定 15 min。在室温下, 通过在 PBS 中用 5% FCS、1% TritonX100 孵育 30 min 进行透化和封闭后, 将 col 兔单克隆抗体

(1:100) 在 PBS 中的 5% 牛血清白蛋白中于 4°C 孵育过夜, 然后用 1:500 的稀释液进行 FITC 标记山羊抗兔抗体孵育。爬片用 PBS (PH7.4) 缓慢晃动洗涤 3 次, 每次 1 min。爬片稍甩干后在圈内滴加 DAPI 染液, 避光室温孵育 10 min。爬片稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片。切片于荧光显微镜下观察并采集图像。利用软件 Image-pro plus 6.0 计算免疫荧光累积光密度值 IOD, 每组内每张切片随机挑选至少 3 个 200 倍视野。应用 Image-Pro Plus 6.0 软件将绿色荧光单色照片转换为黑白图片, 然后选取相同的黑色作为判断所有照片阳性的统一标准, 对每幅图片进行分析, 得出阳性的累积光密度值。

#### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 资料符合正态分布时, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD 法; 资料不符合正态分布时, 采用秩和检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 BMSCs 的鉴定

倒置显微镜观察小鼠第三代 BMSCs。细胞成梭形生长, 排列成一定方向, 有的平行排列, 有的甚至旋涡状排列, 符合 BMSCs 的典型形态特征。

流式细胞检测细胞表面抗原 CD29、CD34、CD44 结果见图 1, 结果表明: CD29 阳性细胞表达率为 87.43% (图 1b), CD34 为 11.12% (图 1c), CD44 为 95.11% (图 1d), 符合 BMSCs 表面抗原特征。

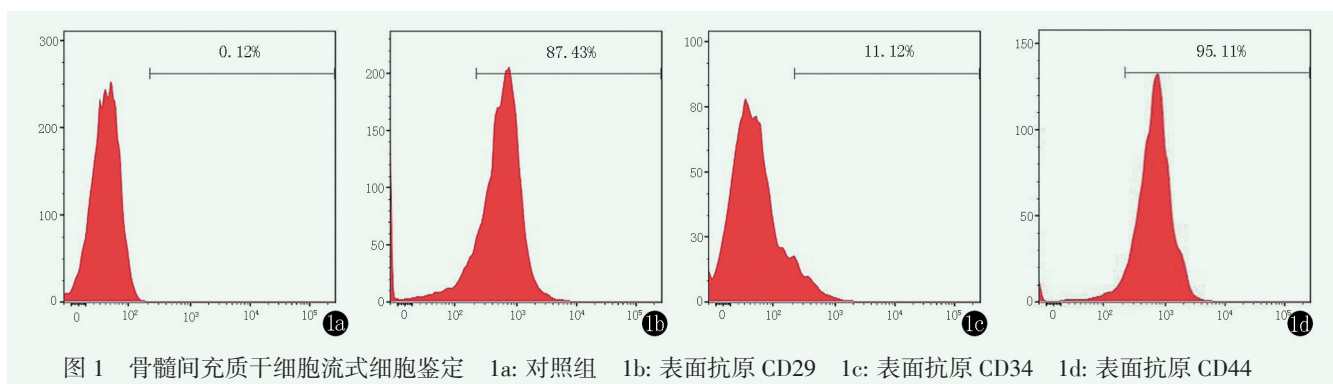


图1 骨髓间充质干细胞流式细胞鉴定 1a: 对照组 1b: 表面抗原 CD29 1c: 表面抗原 CD34 1d: 表面抗原 CD44

### 2.2 目标 mRNA 检测结果

转染细胞可见呈现绿色荧光, 见图 2a~2c, 与 UTX-down 和 UTX-NC 组对比, UTX-up 组显色细胞

数目更多, 而且显色状态更好。

QRT-PCR 检测 UTX 的 mRNA 相对表达量结果见表 1, UTX 的 mRNA 相对表达量由低至高依次



为：UTX-down 组<UTX-NC 组<UTX-up 组，总体差异与两两比较差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

### 2.3 诱导成骨

诱导成骨后茜素红染色结果见图 2d~2f，茜素红染色着色细胞数量与强度由低至高依次为：UTX-down 组 <UTX-NC 组<UTX-up 组，阳性细胞计数结果见表 1，三组间整体及两两比较的差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

### 2.4 诱导成软骨

诱导成软骨后阿利新兰染色结果见图 2g~2i，阿

利新兰着色细胞数量与强度由低至高依次为：UTX-down 组 <UTX-NC 组<UTX-up 组。阳性细胞计数结果见表 1，三组间整体及两两比较的差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

### 2.5 II 型胶原的检测

转染细胞 II 型胶原免疫荧光染色结果见图 2j~2l，II 型胶原免疫荧光染色强度由低至高依次为：UTX-down 组<UTX-NC 组<UTX-up 组，免疫荧光染色强度 OD 值结果见表 1，三组间整体及两两比较的差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。

表 1 三组细胞检测结果 (n=30,  $\bar{x} \pm s$ ) 与比较

指标	UTX-down 组	UTX-NC 组	UTX-up 组	P 值
QRT-PCR 检测 UTX mRNA 相对表达	0.40±0.10	1.00±0.0	10.10±0.26	<0.001
成骨茜素红染色阳性细胞计数 (个)	19.67±3.06	72.00±2.65	115.30±5.51	<0.001
成软骨阿利新兰染色阳性细胞计数 (个)	72.83±6.43	90.83±6.91	158.30±13.92	<0.001
II 型胶原免疫荧光 OD 值	480.2±52.39	1 265±357.60	2 322±334.60	<0.001

## 3 讨论

随着技术的不断革新，腰椎间盘突出症的治疗也已进入微创时代，微创手术具有数字化、智能化、可视化的特点。从传统腰椎间盘摘除术，发展到椎间盘镜、椎间孔镜、UBE 技术<sup>[18-21]</sup>，但每种手术都有一个共同的缺点，即容易复发。据统计，全球椎间盘术后复发率为 10%左右，尤以年轻人多见。由于年轻人活动量大，椎间盘纤维环还没有完全愈合，承载着相当大的力量，造成椎间盘髓核再一次突出挤压神经，致使复发率较高，需进行二次手术治疗，甚至进行融合手术<sup>[22]</sup>。这样既浪费了医疗资源、又给家庭和社会造成负担。为了避免这种情况的发生，修复手术造成的纤维环缺损至关重要。传统的纤维环修复方式都是运用纤维环缝合器进行髓核摘除后缝合，但缝合具有机械作用，且缺乏生物弹性。一旦椎体受力过大，易造成缝合线的绷断。而且对于大的纤维环缺损，纤维环缝合器无法缝合，只能依靠生物材料填塞来进行修补。有研究显示，利用交联纤维蛋白水凝胶与临床上可用的戊二醛和白蛋白（生物胶）粘合剂修复椎间盘纤维环缺损，虽说可以完成修复，但进行力学实验时，加大椎间盘的受力，缺损修复失败。所以只有进行生物修复才可以弥补这一缺陷<sup>[23]</sup>。

BMSCs 是组织工程的种子细胞，具有多向分化的能力，可以进行成骨、成软骨分化，还可以形成、分泌胶原蛋白，此成分为椎间盘纤维环的主要成分。而且 BMSCs 具有生物相容性，且提取方便。在组织工程中是最为常用的种子细胞<sup>[24]</sup>。而表观遗传学调控是近几年研究的热点，任何疾病的发生发展都伴随着表观调控，干细胞的形成以及发展也是其中之一。UTX 基因在胚胎形成时期就已经产生，它伴随着生物的生长、分化以及干细胞的形成，有研究发现，UTX 可以调节骨关节炎的体外软骨形成和软骨细胞活性，但具体机制不明<sup>[25]</sup>。因此，UTX 也可能具有调节骨髓间质干细胞的能力，然而 BMSCs 与表观遗传学调控相结合进行修复椎间盘纤维环缺损的研究较少。通过两者相结合，使得椎间盘纤维环的修复更加牢固，更加具有生物相容的特性，使得 BMSCs 的活性更高，更有利于椎间盘纤维环的修复。

综上所述，本实验构建 UTX 慢病毒载体，对 BMSCs 转染，成功转染过后，进行诱导成骨、诱导成软骨，II 型胶原免疫荧光检测，结果表明，BMSCs 的 UTX 基因过表达可以促使成骨、成软骨的发生，也可以促使 II 型胶原纤维的分泌与产生。提示，这种方法可能增强了 BMSCs 在纤维环修复中的作用，为下一步动物实验的进行奠定基础。

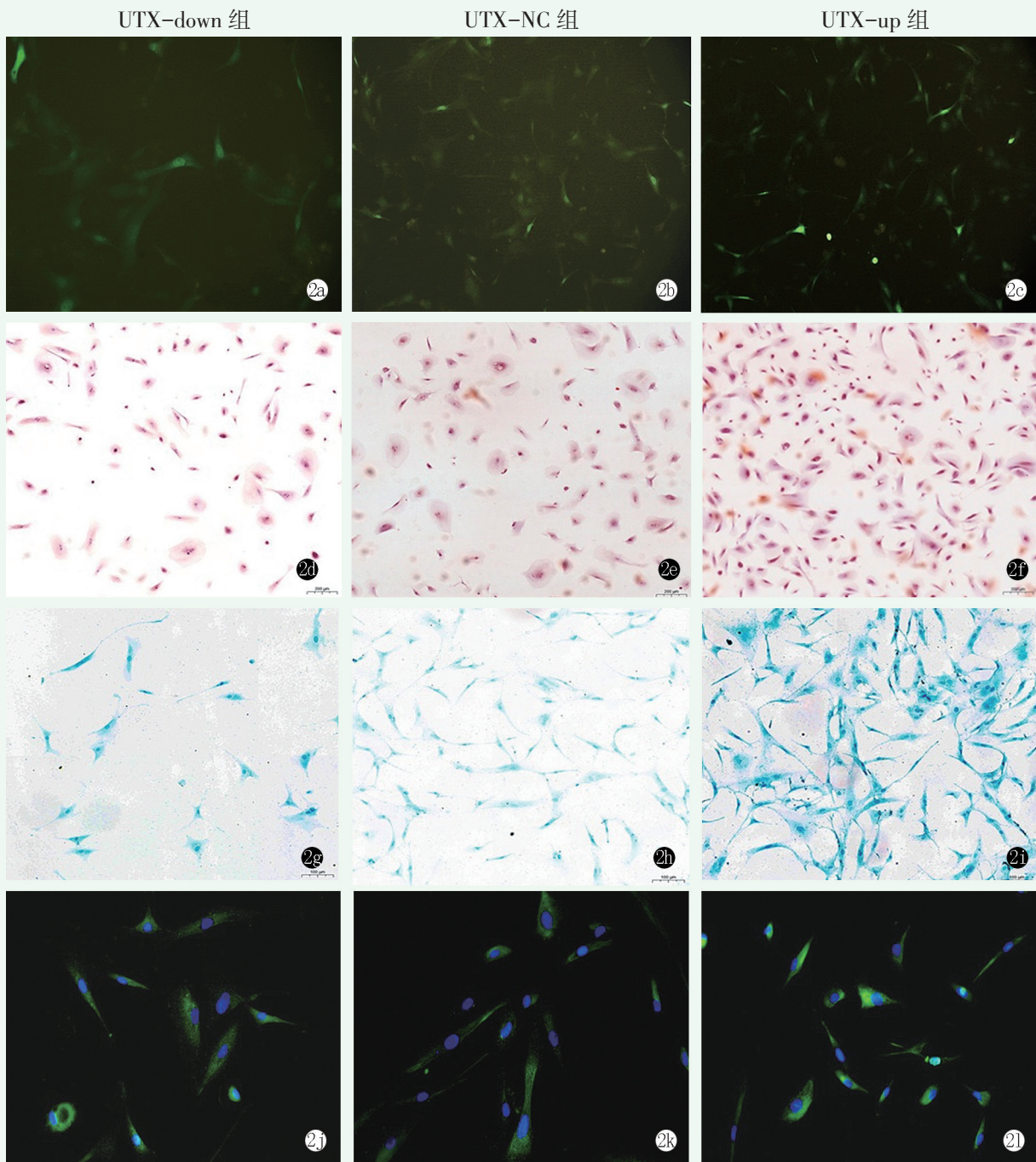


图 2 UTX 转染骨髓间充质干细胞的细胞学观察 (×200) 2a~2c: UTX mRNA 免疫荧光, 与 UTX-down 和 UTX-NC 组对比, UTX-up 组显色细胞数目更多, 而且显色状态更好 2d~2f: 成骨茜素红染色, 茜素红染色细胞数量与强度由低至高依次为: UTX-down 组<UTX-NC 组<UTX-up 组 2g~2i: 成软骨阿利新蓝染色, 阿利新蓝染色着色细胞数量与强度由低至高依次为: UTX-down 组<UTX-NC 组<UTX-up 组 2j~2l: II 型胶原免疫荧光染色, II 型胶原免疫荧光染色强度由低至高依次为: UTX-down 组<UTX-NC 组<UTX-up 组

### 参考文献

[1] Mobbs RJ, Phan K. Minimally invasive spine [J]. J Spine Surg, 2020, 6 (2): E1-E2.  
[2] Park J, Ham DW, Kwon BT, et al. Minimally invasive spine surgery: techniques, technologies, and indications [J]. Asian Spine J, 2020, 14 (5): 694-701.

[3] 张大兴, 王少飞, 晁建虎, 等. 微创脊柱创伤手术与传统开放手术治疗脊柱创伤患者的效果观察 [J]. 贵州医药, 2021, 45 (4): 588-589.  
[4] Shin EH, Cho KJ, Kim YT, et al. Risk factors for recurrent lumbar disc herniation after discectomy [J]. Int Orthop, 2019, 43 (4): 963-967.  
[5] Hlubek RJ, Mundis GJ. Treatment for recurrent lumbar disc herniation [J]. Curr Rev Musculoskelet Med, 2017, 10 (4): 517-520

- [6] Yurac R, Zamorano JJ, Lira F, et al. Risk factors for the need of surgical treatment of a first recurrent lumbar disc herniation [J]. *Eur Spine J*, 2016, 25 (5) : 1403-1408.
- [7] 吴鹏, 张国民, 王建儒, 等. 单侧双通道镜下置入超大型号笼架椎间融合 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (19) : 1796-1799.
- [8] Tanavalee C, Limthongkul W, Yingsakmongkol W, et al. A comparison between repeat discectomy versus fusion for the treatment of recurrent lumbar disc herniation: systematic review and meta-analysis [J]. *J Clin Neurosci*, 2019, 66 (2) : 202-208.
- [9] Kerezoudis P, Goncalves S, Cesare JD, et al. Comparing outcomes of fusion versus repeat discectomy for recurrent lumbar disc herniation: a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2018, 171 (1) : 70-78.
- [10] Fritzell P, Knutsson B, Sanden B, et al. Recurrent versus primary lumbar disc herniation surgery: patient-reported outcomes in the swedish spine register swespine [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2015, 473 (6) : 1978-1984.
- [11] Ng J, Bernhard J, Vunjak-Novakovic G. Mesenchymal stem cells for osteochondral tissue engineering [J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1416 (1) : 35-54.
- [12] Pintus E, Baldassarri M, Perazzo L, et al. Stem cells in osteochondral tissue engineering [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1058 (2) : 359-372.
- [13] Liu X, Meng H, Guo Q, et al. Tissue-derived scaffolds and cells for articular cartilage tissue engineering: characteristics, applications and progress [J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 372 (1) : 13-22.
- [14] Ye L, Fan Z, Yu B, et al. Histone demethylases KDM4B and KDM6B promote osteogenic differentiation of human MSCs [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23 (6) : 898-899.
- [15] York EM, Petit A, Roskams AJ. Epigenetics of neural repair following spinal cord injury [J]. *Neurotherapeutics*, 2013, 10 (4) : 757-770.
- [16] de Menezes MF, Nicola F, Vital DSI, et al. Glial fibrillary acidic protein levels are associated with global histone H4 acetylation after spinal cord injury in rats [J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13 (11) : 1945-1952.
- [17] Ni S, Luo Z, Jiang L, et al. UTX/KDM6A deletion promotes recovery of spinal cord injury by epigenetically regulating vascular regeneration [J]. *Mol Ther*, 2019, 27 (12) : 2134-2146.
- [18] Maharjan N, Nomoto N, Tagawa T, et al. Assessment of UASB-DHS technology for sewage treatment: a comparative study from a sustainability perspective [J]. *Environ Technol*, 2019, 40 (21) : 2825-2832.
- [19] Nagano H. Big data, information and communication technology, artificial intelligence, internet of things: How important are they for gastroenterological surgery [J]. *Ann Gastroenterol Surg*, 2018, 2 (3) : 166.
- [20] Pao JL, Lin SM, Chen WC, et al. Unilateral biportal endoscopic decompression for degenerative lumbar canal stenosis [J]. *J Spine Surg*, 2020, 6 (2) : 438-446.
- [21] 常献, 刘长利, 韩敦鑫, 等. 应用 TESSYSTM 椎间孔镜技术治疗 L<sub>1-2</sub> 椎间盘突出 1 例报道 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26 (1) : 90-92.
- [22] Benzakour A, Benzakour T. Lumbar disc herniation: long-term outcomes after mini-open discectomy [J]. *Int Orthop*, 2019, 43 (4) : 869-874.
- [23] Scheibler AG, Gotschi T, Widmer J, et al. Feasibility of the annulus fibrosus repair with in situ gelating hydrogels - A biomechanical study [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (12) : e208460.
- [24] 徐翔, 吴一民, 李树文, 等. 山羊骨髓间充质干细胞与纤维蛋白胶修复椎间盘纤维环缺损的组织学比较 [J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26 (13) : 1974-1978.
- [25] Yapp C, Carr AJ, Price A, et al. H3K27me3 demethylases regulate in vitro chondrogenesis and chondrocyte activity in osteoarthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18 (1) : 158.

(收稿:2021-04-15 修回:2021-05-10)

(本文编辑: 宁桦)