

· 基础研究 ·

# 软骨终板干细胞源性外泌体对椎间盘退变的影响<sup>△</sup>

张贺星<sup>1,2</sup>, 张明<sup>2</sup>, 张奕<sup>2\*</sup>

(1. 武汉市普仁医院骨科, 湖北武汉 430081; 2. 武汉科技大学医学院, 湖北武汉 430065)

**摘要:** [目的] 探讨大鼠软骨终板干细胞 (cartilage endplate stem cells, CESC) 来源的外泌体对髓核细胞 (nucleus pulposus cells, NPC) 以及椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IVDD) 的影响。[方法] 从大鼠椎间盘中提取并培养 CESC 和 NPC。利用超速离心方法提取并纯化正常 CESC 分泌的外泌体 (Nor-Exos) 和高糖诱导衰老 CESC 分泌的外泌体 (Eld-Exos), 分别与 NPC 共培养。Tunel 染色和流式细胞检测三组的细胞凋亡数, Western blot 检测 NPC 中 Bax, Bcl-2, Cyclin D1 和 Cyclin D3 蛋白表达水平。9 只 SD 大鼠随机分三组, 分别为空白对照组、Nor-Exos 组和 Eld-Exos 组, 通过针刺法建立 IVDD 模型并给予相应处理, 术后 5 周行 MRI 检查, 按 Pfirrmann 评级标准评分。[结果] 体外实验, 细胞凋亡由低至高依次为空白对照组 < Nor-Exos 组 < Eld-Exos 组, 总体组间差异和两两比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Bax 的蛋白表达由低至高依次为空白对照组 < Nor-Exos 组 < Eld-Exos 组, 而 Bcl-2、Cyclin D1 和 Cyclin D3 蛋白相表达低至高依次为 Eld-Exos 组 < Nor-Exos 组 < 空白对照组, 总体组间差异和两两比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。体内实验, Pfirrmann 分级评分由低至高依次为, 空白对照组 < Nor-Exos 组 < Eld-Exos 组, 总体组间差异和两两比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。[结论] Eld-Exos 显著促进 NPC 的凋亡, 增加椎间盘组织中凋亡蛋白水平, 加快 IVDD 的进展。

**关键词:** 软骨终板干细胞, 髓核细胞, 椎间盘退变, 外泌体

**中图分类号:** R318      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1005-8478 (2022) 13-1198-07

**Effect of exosomes derived from cartilage endplate stem cells on intervertebral disc degeneration // ZHANG He-xing<sup>1,2</sup>, ZHANG Ming<sup>2</sup>, ZHANG Yi<sup>2</sup>. 1. Department of Orthopaedics, Wuhan Puren Hospital, Wuhan 430081, China; 2. Medical College, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, 430065 China**

**Abstract: [Objective]** To explore the effect of exosomes derived from rat cartilage endplate stem cells (CESC) on nucleus pulposus cells (NPC) and intervertebral disc degeneration (IVDD). **[Methods]** The CESC and NPC were isolated and cultured from rat intervertebral disc. The Nor-Exos from normal CESC and Eld-Exos from high glucose induced aging CESC were extracted and purified by super centrifugation, and co-cultured with NPC, respectively. The Tunel staining and flow cytometry were used to detect apoptotic cells, while western blot was used to detect the protein expression levels of Bax, Bcl-2, Cyclin D1 and Cyclin D3 in NPC. In addition, 9 SD rats were randomly divided into three groups, namely blank control group, Nor-Exos group and Eld-Exos group. IVDD model was established by acupuncture method and corresponding treatment was given. MRI scan was performed 5 weeks after operation, and scores were marked according to Pfirrmann criteria. **[Results]** In vitro, the cell apoptosis was ranked down-up in order of: blank control group < Nor-Exos group < Eld-Exos group, with statistically significant differences in term of total groups and pairwise comparison ( $P < 0.05$ ). The protein expression of Bax was down-up of blank control group < Nor-Exos group < Eld-Exos group, whereas the expression levels of Bcl-2, Cyclin D1 and Cyclin D3 in ascending order were of Eld-Exos group < Nor-Exos group < blank control group, with statistically significant differences among total groups and pairwise comparison ( $P < 0.05$ ). In vivo, Pfirrmann score was marked from low to high as blank control group < Nor-Exos group < Eld-Exos group, with statistically significant differences ( $P < 0.05$ ). **[Conclusion]** The Eld-Exos does considerably promote apoptosis of NPC, increase the presentation of apoptotic protein in intervertebral disc tissue, and accelerate the progression of IVDD.

**Key words:** cartilage endplate stem cells, nucleus pulposus cells, intervertebral disc degeneration, exosomes

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.13.10

**△基金项目:**湖北省卫生和计划生育委员会联合基金项目(编号:WJ2018H0093);武汉市卫生和计划生育委员会科研项目(编号:WX17Q32);职业危害识别与控制湖北省重点实验室项目(编号:OHIC2020Z02)

**作者简介:**张贺星, 硕士研究生, 研究方向:骨科, (电话)18379222197, (电子信箱)526066746@qq.com

**\*通信作者:**张奕, (电话)18571525144, (电子信箱)ethanzhang@163.com

椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IVDD) 是引起椎间盘突出、椎管狭窄等相关疾病的病理基础,也是导致腰腿痛的主要原因之一<sup>[1]</sup>。IVDD是一种慢性的炎症反应,其机制包括在软骨终板干细胞 (cartilage endplate, CEP)、纤维环和髓核细胞 (nucleus pulposus cells, NPC) 内层的营养供给减少,导致 CEP 介导的 IVDD 相关合成、分解代谢调节减弱,导致 NPC 衰老和凋亡。研究证明 CEP 的钙化可导致软骨终板的弥散功能障碍,进而造成椎间盘无法进行正常的物质交换,导致椎间盘内基质代谢稳态失衡,从而引起或加速 IVDD<sup>[2]</sup>。

外泌体是一类小双层膜小泡,是从细胞内多囊泡体 (multivesicular bodies, MVB) 分泌到细胞外空间的膜小泡之一。外泌体可以由各种类型的细胞产生,并通过运输载体物质 (例如蛋白质、脂质和核酸) 在细胞间通讯中充当转介体。有研究报道间质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 衍生的外泌体在注入椎间盘后可以通过多种机制改善 IVDD<sup>[3]</sup>,另有研究发现 CEP 的软骨终板干细胞 (cartilage endplate stem cells, CESC) 比骨髓的 MSCs 具有更高的自我更新、成软骨细胞、成骨细胞和成脂谱系分化的能力,同时 CESC 也同样具备与 MSC 分泌外泌体的能力。如 CESC 是通过自分泌外泌体转分化为髓核细胞 (NPCs),并随后抑制 IVDD 变性<sup>[4]</sup>。然而目前尚不清楚 CESC 的外泌体对 IVDD 的影响。

本研究通过提取和纯化外泌体 Nor-Exos 和 Eld-Exos,并研究 Nor-Exos 和 Eld-Exos 对 NPC 以及 IVDD 的影响。从而探讨一种新型的治疗 IVDD 的策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级雌性 SD 大鼠 12 只 (斯贝福生物技术有限公司)。本次实验经本院动物伦理委员会审核批准,过程符合 3R 标准。

### 1.2 体外实验

#### 1.2.1 NPC 提取和培养

将 SD 大鼠颈椎脱臼处死,收集大鼠的完整腰椎。通过 4 倍显微镜下分离出胶冻状髓核组织,并用 PBS 冲洗 3 次,用眼科剪将髓核组织剪碎至 1 mm<sup>3</sup>并置于 15 ml 无菌离心管中。加入 10 ml 0.25% 胰蛋白酶水浴 37℃ 消化,每 5 min 摇动 1 次,20 min 后 1 200 r/mim 离心 10 min,弃除上清液。随后加入 0.2% II 型

胶原酶 37℃ 水浴消化 3~4 h,每 5 min 摇动 1 次。随后加入 3~4 ml 含有 10% FBS 的 DMEM-F12 培养液终止消化,放入离心机 1 200 r/mim 离心 10 min 后弃除上清液。加入含有 10% FBS 的 DMEM-F12 培养液 6 ml 重新悬浮细胞接种于培养皿中。将培养皿置于含 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 的细胞培养箱中,每 2~3 d 更换 1 次培养液,每日观察细胞生长及贴壁情况,细胞生长至 80%~90% 融合时进行传代。传代至第 3 代再进行相关实验。

#### 1.2.2 CESC 分离与培养

同上述方法提取 CESC<sup>[5]</sup>。使用在 0.2 mol/ml 高糖溶液孵育 CESC 48 h,此为衰老 CESC<sup>[6]</sup>,弃上清,使用 PBS 冲洗 2 次,换成 15% FBS 的 DMEM-F12 培养液继续培养。

#### 1.2.3 CESC 外泌体提取与鉴定

分别收集 Nor-Exos 和 Eld-Exos 上清液,将上清液分别移至无菌离心管中;使用超速离心方法得到外泌体。取 10 μl 外泌体滴加在铜网上。沉淀 1 min,加入 10 μl 磷酸酸。干燥数分钟,80 kV 透射电镜下观察外泌体形态并拍照。外泌体粒径分布分析:使用一定体积的 PBS 重悬 CESC,待稀释至合适的浓度后,上机检测外泌体颗粒的粒径分布。Western blot 检测:外泌体的表面标志物 CD9 和 TSG101。

#### 1.2.4 外泌体对 NPC 的作用检测

吞噬试验:分别提取 Nor-Exos 和 Eld-Exos 后,用 PKH67 染料标记外泌体。将标记好的外泌体以及对照 PBS 加入含 NPC 的上清液中,37℃,5% CO<sub>2</sub> 的条件下避光孵育 8 h;Hoechst 染细胞核;F-actin 染细胞骨架;避光保存 24 h,最后使用共聚焦显微镜观察 NPC 吞噬外泌体荧光显色情况。

Tunel 染色:将 Nor-Exos 和 Eld-Exos 分别与 NPC 共培养,置于 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中于 37℃ 培养 12 h。将细胞悬液滴加至盖玻片上,在恒温箱培养 6 h。4% 多聚甲醛固定 30 min。严格按照 Tunel 染色试剂说明书操作,在荧光显微镜下观察并拍照。

流式细胞仪凋亡检测:将 Nor-Exos 和 Eld-Exos 分别与 NPC 共培养,置于 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中于 37℃ 培养 12 h。按标本顺序编好阴性对照管和标本管号。严格按照凋亡试剂说明书操作。然后在流式细胞仪测定结果。

Western blot 检测相关蛋白表达:将 Nor-Exos 和 Eld-Exos 分别与 NPC 共培养,提取细胞总蛋白量,使用 BCA 法测定蛋白浓度。严格按照 Western blot 操作流程执行,最后根据不同的光强度调整曝光条件,

显影、定影。

### 1.3 体内实验

#### 1.3.1 IVDD 模型建立及处理

将9只SD大鼠，在C形臂X线机下定位尾椎Co4-5、Co5-6及Co6-7椎间盘进行标记。将9只SD大鼠随机分为3组：空白对照组(n=3)，Nor-Exos组(n=3)，Eld-Exos组(n=3)。如前所述建立IVDD模型<sup>[7]</sup>。采用10%的水合氯醛腹腔麻醉后，将大鼠俯卧位固定，用0.5%碘伏消毒穿刺手术区域。用无菌16-G穿刺针穿刺标记部位，进入尾椎间盘的针头长度约为5mm。然后，将针头轴向旋转360°，并将针头保持在椎间盘中60s，然后分别注射Nor-Exos、Eld-Exos。在术后的3d之内，所有大鼠每天肌肉注射80万U/kg青霉素，防止发生感染。

#### 1.3.2 MRI 观察椎间盘信号

术后5周，腹腔麻醉SD大鼠后，放置3.0T超导核磁共振专用动物线圈中。使用MRI矢状位T2WI相上椎间盘信号的特征，进行Pfirrmann分级。Pfirrmann分级是对于Pearce分级的改良。I~II级为正

常椎间盘，III~V级为退变椎间盘。

### 1.4 统计学方法

采用Graphpad 9.0软件对数据进行处理分析。实验数据均经正态性和方差齐性检验，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 CESC 外泌体的鉴定

外泌体透射电镜所见见图1a, 1c，为微粒为圆形囊状结构。纳米粒子示踪分析见图1b, 1d。显示微粒直径范围多为30~150nm，Nor-Exos微粒直径为 $(57.81 \pm 17.31)$ nm，颗粒占比为100.35%；Eld-Exos微粒直径为 $(55.82 \pm 16.83)$ nm，颗粒占比为99.89%。透射电镜所见见图1c, 1d。提示CESC上清中提取微粒为外泌体。

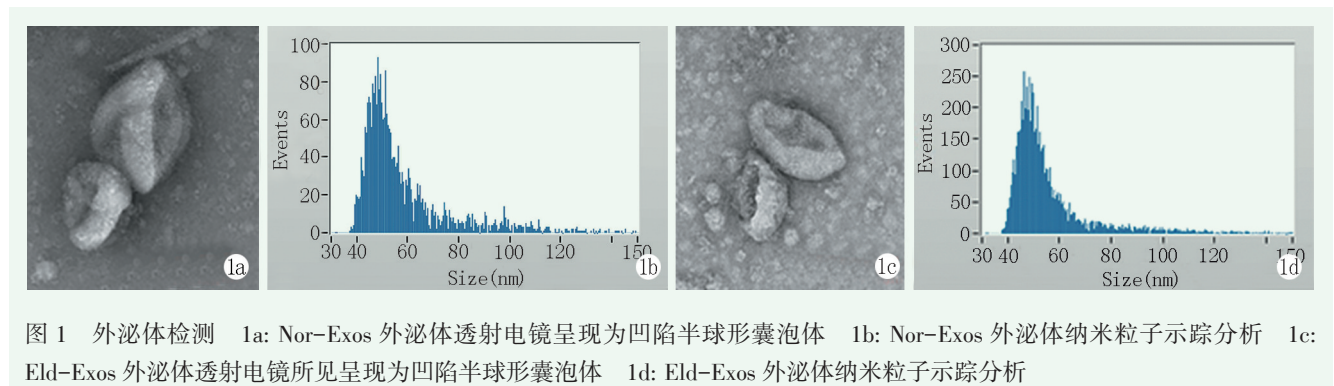


图1 外泌体检测 1a: Nor-Exos 外泌体透射电镜呈现为凹陷半球形囊泡体 1b: Nor-Exos 外泌体纳米粒子示踪分析 1c: Eld-Exos 外泌体透射电镜所见呈现为凹陷半球形囊泡体 1d: Eld-Exos 外泌体纳米粒子示踪分析

### 2.2 NPC 对外泌体的摄取

激光共聚焦显微镜下观察细胞爬片见图2，并对图片进行融合显示。可见红色小颗粒荧光的外泌体进入细胞内，绿色是细胞骨架，蓝色是细胞核，且外泌体位于蓝色大颗粒荧光的细胞核周围或核上，提示Nor-Exos和Eld-Exos都可以被NPC摄取。

### 2.3 Tunel 染色

空白对照、Nor-Exos及Eld-Exos分别与NPC共养的Tunel染色(图3)，使用荧光显微镜观察细胞爬片，染成蓝色是活细胞，染成绿色是凋亡细胞。从三组图片得出，Eld-Exos组细胞凋亡率，即凋亡细胞数/总细胞数为 $(42.67 \pm 2.52)$ %，显著高于空白对照组 $(12.67 \pm 0.58)$ %和Nor-Exos组 $(21.67 \pm 1.53)$ %的细胞凋亡率，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.4 流式细胞仪凋亡检测

流式细胞仪凋亡检测见图4。空白对照、Nor-Exos和Eld-Exos分别与NPC共养发现，Eld-Exos组凋亡细胞数所占的百分比为 $(30.44 \pm 0.94)$ %，显著多于空白对照组 $(4.34 \pm 0.31)$ %和Nor-Exos组 $(13.53 \pm 2.13)$ %，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )，提示Eld-Exos能加重NPC细胞凋亡。

### 2.5 Western blot 检测

三组Western blot的Bax的蛋白相对灰度值检测结果见表1，Bax的蛋白相对灰度值由低至高依次为：空白对照组 < Nor-Exos < Eld-Exos组，总体组间差异和两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )；而Bcl-2、Cyclin D1和Cyclin D3蛋白相对灰度值由低至高依次为：Eld-Exos组 < Nor-Exos组 < 空白对照组，总体组间差异和两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

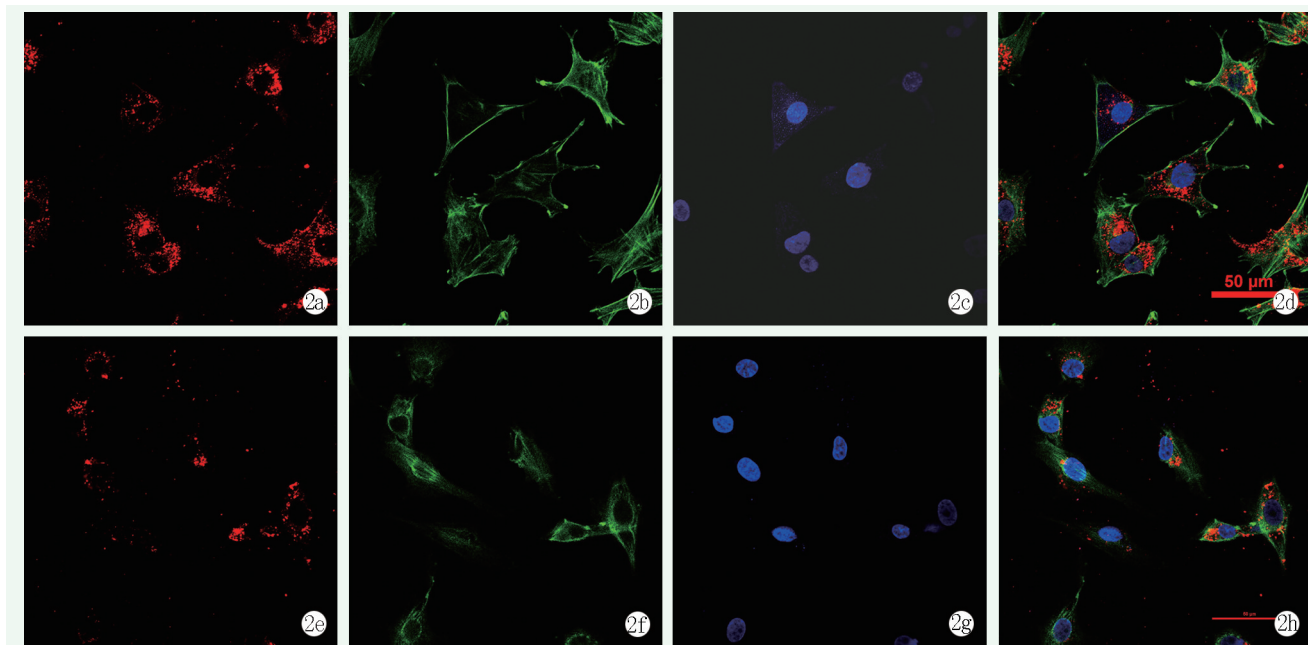


图2 NPC对外泌体吞噬图(标尺: 50  $\mu\text{m}$ ) 2a: Nor-Exos 被 PKH26 染成红色聚集小颗粒 2b: NPC 多角型细胞轮廓的骨架被 F-actin 染成绿色 2c: NPC 椭圆形的细胞核被 Hoechst 染成蓝色 2d: Nor-Exos 被 NPC 摄取融合图 2e: Eld-Exos 被 PKH26 染成红色聚集小颗粒 2f: NPC 近似圆形轮廓的骨架被 F-actin 染成绿色 2g: NPC 椭圆形的细胞核被 Hoechst 染成蓝色 2h: Eld-Exos 被 NPC 摄取融合图

## 2.6 体内实验椎间盘 MRI 评估

SD 大鼠椎间盘退变与注射处理 5 周后 MRI 矢状位 T2WI 图像见图 5。按 Pfirrmann 分级标准得出评分由低至高依次为: 空白对照组 ( $0.78 \pm 0.67$ ) < Nor-Exos 组 ( $3.11 \pm 0.78$ ) < Eld-Exos 组 ( $4.22 \pm 0.67$ ), 总体组间差异和两两比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

IVDD 被认为是下腰痛的重要原因, 影响了大约 80% 处于不同阶段的成年人的一生, 各种影响因素, 包括衰老, 机械压力和炎症, 都与 IVDD 的发生发展有关<sup>[8, 9]</sup>。目前, IVDD 治疗手段中, 物理治疗和药物治疗均可以缓解大多数 IVDD 患者的下腰疼的症状, 但不能逆转 IVDD 的发展, 直到现在 IVDD 确切病因和病理生理还没有得到很好的阐明。随着对椎间盘进一步认识, IVDD 退变机制迫切需要进一步得到证实, 探索出延缓或者逆转 IVDD 新药是十分有必要的。

椎间盘是由髓核、纤维环和 CEP 组成的无血管组织, CEP 是椎间盘与椎体骨之间薄薄的透明桥接层, 不仅允许营养物质和代谢产物通过椎骨血管, 还通过分散椎间盘之间的压力提供生物力学支持。既往研究表明, CEP 变性及钙化可促进 NPC 凋亡从而加快 IVDD 的进程<sup>[10]</sup>。

CESC 是 CEP 中主要成分之一, CESC 减少与椎间盘中 NPC 凋亡都是 IVDD 的重要因素。但两者之间级联机制尚不清楚。本研究是对两者联系很好补充及证实。近几年, 大量报道外泌体对微环境的调控作用, 它能促进细胞转移、凋亡、增殖及分化等多种生理病理过程。甚至有研究报道指出 MSCs 衍生的外泌体在注入椎间盘后可以通过多种机制改善 IVDD<sup>[11, 12]</sup>。外泌体是具有各种关键生物活性分子的细胞外囊泡, 可以由所有类型的细胞分泌, 并分布在所有生物流体中, 如血液、唾液、汗水和尿液等<sup>[13-15]</sup>。本研究中 CESC 同样能分泌外泌体, 外泌体中含有很多成分, 如 TSG101、CD63、热休克蛋白 70 (HSP70)、CD9、CD81 和高度富集的特异性蛋白质, 通常被用作标记, 以确定外泌体<sup>[16]</sup>。本实验通过标记 CD9 和 TSG101 进一步明确 CESC 能分泌外泌体。

外泌体在 IVDD 方面研究甚少, 本研究大胆使用 CESC 所分泌外泌体对 NPC 以及 IVDD 的影响进行研究, 从两个层面进行, 第一细胞层面, 作者通过共聚焦显微镜下发现不管是 Nor-Exos, 还是 Eld-Exos 都能很好地被 NPC 所摄取, 摄取后对 NPC 细胞的改变进行预测, 通过 TUNEL 染色以及流式细胞仪等检测手段评定 NPC 凋亡细胞率, 进而明确两者对 NPC 凋亡影响, 发现 Eld-Exos 对 NPC 凋亡具有显著的促进作用, 可能是 CESC 中分泌外泌体最先调控 NPC 生理病理功能进而对椎间盘的影响, Western blot

检测摄取 Eld-Exos 后的 NPC 中显著提高凋亡蛋白 Bax 的水平而抗凋亡蛋白 Bcl-2, 以及增殖相关蛋白 Cyclin D1 和 Cyclin D3 的表达水平明显下调。进而明确 Eld-Exos 对 NPC 是产生负面影响的。建立大鼠

IVDD 模型, 通过 Nor-Exos 和 Eld-Exos 分组注射 SD 大鼠的 Co4-5、Co5-6、Co6-7 受损的椎间盘中, Eld-Exos 同样加快 IVDD 进展, 从第二动物层面来讲, Eld-Exos 对 SD 大鼠 IVDD 进展过程是起到关键作用。

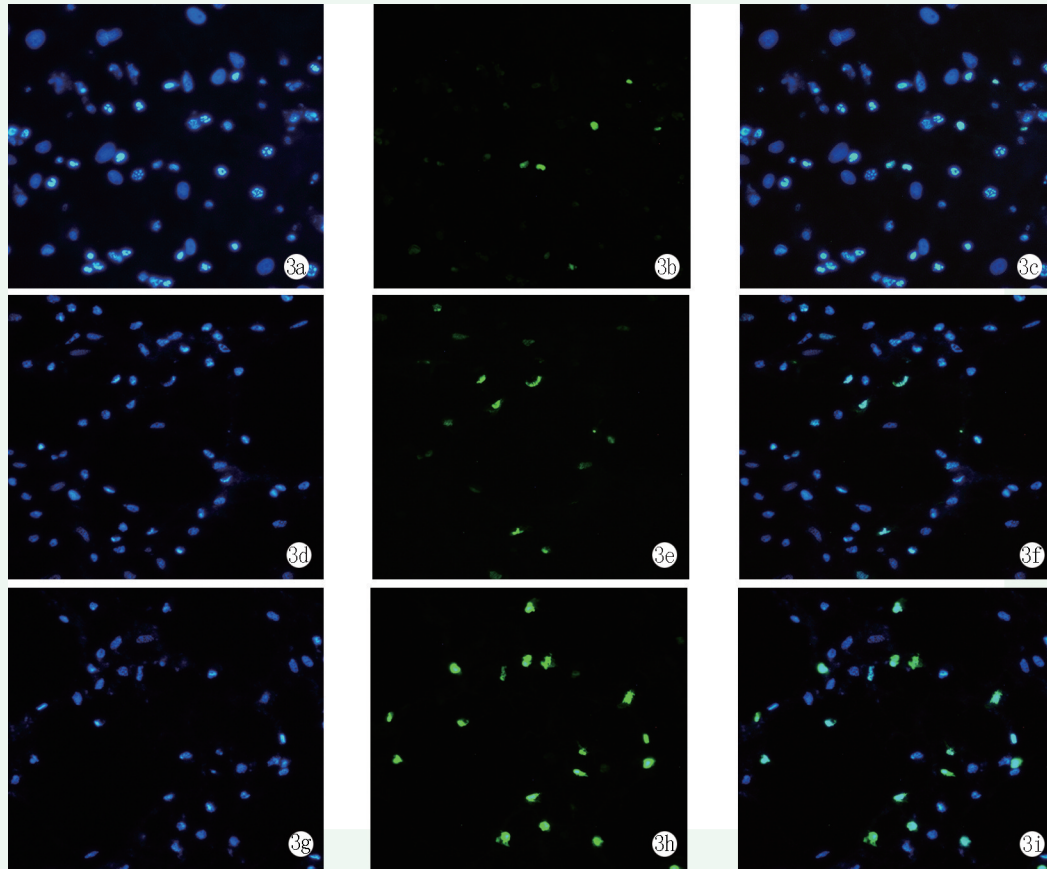


图3 TUNEL 染色观察 NPC 凋亡( $\times 400$ ) 3a: 空白对照组活细胞被染成蓝色 3b: 空白对照组凋亡细胞被染成绿色 3c: 空白对照组融合图 蓝色是活细胞, 绿色是凋亡细胞 3d: Nor-Exos 组活细胞被染成蓝色 3e: Nor-Exos 组凋亡细胞被染成绿色 3f: Nor-Exos 组融合图 蓝色是活细胞, 绿色是凋亡细胞 3g: Eld-Exos 组活细胞被染成蓝色 3h: Eld-Exos 组凋亡细胞被染成绿色 3i: Eld-Exos 融合图 蓝色是活细胞, 绿色是凋亡细胞

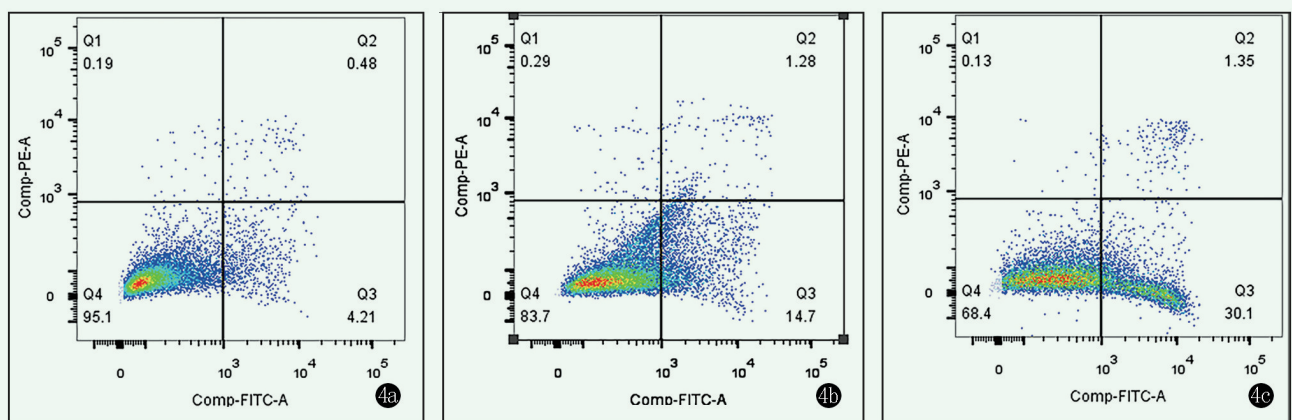


图4 Annexin V-FITC/PI 双重染色显示流式细胞术检测细胞凋亡的代表性斑点图 4a: 空白对照斑点图 Q1 代表死亡细胞, 占整个检测细胞的 0.19%; Q2 代表中晚期凋亡细胞, 占整个检测细胞的 0.48%; Q3 代表早期凋亡细胞, 占整个检测细胞的 4.21%; Q4 代表正常细胞, 占整个检测细胞的 95.1% 4b: Nor-Exos 与 NPC 后共养斑点图 检测结果分析以 4a 类推 4c: Eld-Exos 与 NPC 共养后斑点图 检测结果分析以 4a 类推

表 1 三组 Western blot 检测结果 (相对灰度值,  $\bar{x} \pm s$ ) 与比较

指标	空白对照组 (n=3)	Nor-Exos 组 (n=3)	Eld-Exos 组 (n=3)	P 值
Bax	0.17±0.04	0.37±0.05	0.65±0.07	<0.001
Bcl-2	0.22±0.02	0.12±0.02	0.06±0.01	<0.001
Cyclin D1	0.45±0.06	0.27±0.04	0.14±0.02	<0.001
Cyclin D3	0.57±0.04	0.33±0.01	0.20±0.01	<0.001

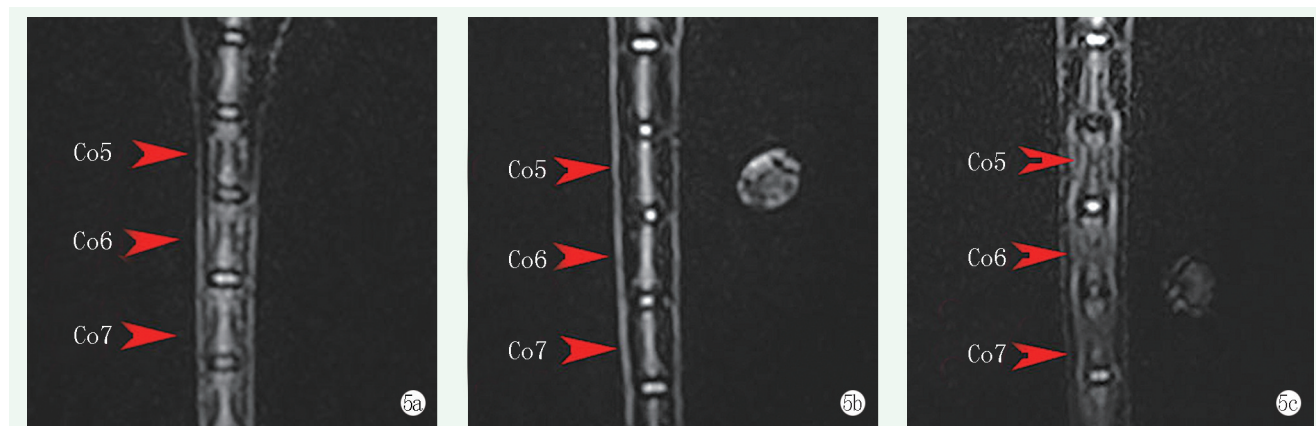


图 5 大鼠尾椎 MRI 的 T2WI 像 5a: 无注射空白对照组 相对应大鼠尾椎间盘呈现高信号 5b: Nor-Exos 组 相对应大鼠尾椎间盘呈现低信号或中等信号 5c: Eld-Exos 组 相对应大鼠尾椎间盘呈现中信号或低信号

总之, CESC 所分泌外泌体可以调控 IVDD, 外泌体作为各种生物因子的复合体, 其中包含很多物质, 究竟是 CESC 分泌的外泌体中何种生物因子对 IVDD 起的作用, 还有待进一步发现及研究。

### 参考文献

[1] 李凡, 谢玮鑫, 李展春. 神经肽 Y 在椎间盘退变发病机制中的作用 [J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29 (3): 237-240.

[2] Huang B, Liu JH, Wei XA, et al. Damage to the human lumbar cartilage endplate and its clinical implications [J]. J Anat, 2021, 238 (2): 338-348.

[3] 赵文杰, 张文捷, 张亮, 等. 间充质干细胞来源外泌体在椎间盘退变修复中的研究进展 [J/CD]. 中华损伤与修复杂志 (电子版), 2021, 16 (2): 153-157.

[4] Luo LW, Gong JF, Zhang HY, et al. Cartilage endplate stem cells transdifferentiate into nucleus pulposus cells via autocrine exosomes [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 648201.

[5] 王效, 徐宏光, 肖良, 等. 大鼠腰椎终板软骨干细胞的分离及分化 [J]. 中国组织工程研究, 2018, 22 (13): 2093-2097.

[6] Jiang ZX, Lu W, Zeng QM, et al. High glucose-induced excessive reactive oxygen species promote apoptosis through mitochondrial damage in rat cartilage endplate cells [J]. J Orthop Res, 2018, 36 (9): 2476-2483.

[7] Liang CY, Liu Y, Xu HF, et al. Exosomes of human umbilical cord mscs protect against hypoxia/reoxygenation-induced pyroptosis of cardiomyocytes via the mirna-100-5p/FOXO3/NLRP3 pathway [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2021, 8: 615850.

[8] Vergroesen PP, Kingma I, Emanuel KS, et al. Mechanics and biology in intervertebral disc degeneration: a vicious circle [J]. Osteoar-

thritis Cartilage, 2015, 23 (7): 1057-1070.

[9] Xiao ZF, Su GY, Hou Y, et al. Mechanics and biology interact in intervertebral disc degeneration: a novel composite mouse model [J]. Calcif Tissue Int, 2020, 106 (4): 401-414.

[10] Wang GL, Huang KM, Dong YX, et al. Lycorine suppresses endplate-chondrocyte degeneration and prevents intervertebral disc degeneration by inhibiting NF- $\kappa$ B signalling pathway [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45 (3): 1252-1269.

[11] Liao ZW, Luo RJ, Li GC, et al. Exosomes from mesenchymal stem cells modulate endoplasmic reticulum stress to protect against nucleus pulposus cell death and ameliorate intervertebral disc degeneration in vivo [J]. Theranostics, 2019, 9 (14): 4084-4100.

[12] Gong XH, Liu H, Wang SJ, et al. Exosomes derived from SDF1-overexpressing mesenchymal stem cells inhibit ischemic myocardial cell apoptosis and promote cardiac endothelial microvascular regeneration in mice with myocardial infarction [J]. J Cell Physiol, 2019, 234 (8): 13878-13893.

[13] 綦惠, 黄霸, 杰永生, 等. 干细胞外泌体对骨质疏松大鼠骨生成的影响 [J]. 中国矫形外科杂志, 2021, 29 (8): 726-730.

[14] Kok VC, Yu CC. Cancer-derived exosomes: their role in cancer biology and biomarker development [J]. Int J Nanomed, 2020, 15: 8019-8036.

[15] Cai X, Zhang ZY, Yuan JT, et al. hucMSC-derived exosomes attenuate colitis by regulating macrophage pyroptosis via the miR-378a-5p/NLRP3 axis [J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12 (1): 416.

[16] 刘沛, 许建中. 外泌体对类风湿关节炎及骨性关节炎诊治作用的研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2018, 26 (5): 428-432.

(收稿:2021-05-01 修回:2021-12-09)

(同行评议专家: 张强 干旻峰)

(本文编辑: 宁桦)