

· 综述 ·

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

赵文杰¹ 张文捷² 张亮³ 石鹏志¹ 胡满¹ 张钰³ 王平川³ 王俊武³

【摘要】 间充质干细胞来源外泌体(MSC-Exos)是一类直径30~100 nm的细胞外囊泡,其携带有核酸、蛋白及脂质等生物活性物质,在细胞间通讯和物质交换中发挥重要作用。在椎间盘髓核细胞的体内及体外实验中, MSC-Exos可以通过发挥抗细胞焦亡、抗氧化应激、抗细胞凋亡、促进细胞外基质(ECM)合成等作用,延缓甚至逆转椎间盘退变。本文就近年来间充质干细胞来源的外泌体在椎间盘退变中的研究进展进行综述,为椎间盘退变性疾病的治疗提供参考。

【关键词】 间充质干细胞; 外泌体; 椎间盘退化

Research progress of mesenchymal stem cell-derived exosomes in the repair of intervertebral disc degeneration Zhao Wenjie¹, Zhang Wenjie², Zhang Liang³, Shi Pengzhi¹, Hu Man¹, Zhang Yu³, Wang Pingchuan³, Wang Junwu³. ¹ Graduate School of Dalian Medical University, Dalian 116044, China; ² Department of Orthopaedic, International Zhuang Medical Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China; ³ Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, China
Corresponding author: Zhang Wenjie, Email: zhangliang6320@sina.com

【Abstract】 Mesenchymal stem cell-derived exosomes (MSC-Exos) are a kind of extracellular vesicles with a diameter of 30~100 nm, which carry nucleic acids, proteins, lipids and other bioactive substances. MSC-Exos play an important role in intercellular communication and material exchange. MSC-Exos can not only inhibit cell pyrolysis, cell oxidative stress and cell apoptosis, but also increase the synthesis of extracellular matrix (ECM) *in vivo* and *in vitro* studies, thereby can retard or even reverse intervertebral disc degeneration. This article reviews the research progress of MSC-Exos in the study of intervertebral disc degeneration to provide references for the treatment of intervertebral disc degeneration disease.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Exosomes; Intervertebral disk degeneration

随着人口增长及老龄化加剧,腰痛的发病率在1995年至2015年间增长54%;与此同时,腰痛也是目前世界上致残率最高的疾病,患者数量高达5.4亿^[1]。研究发现椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IVDD)是腰痛的最主要致病因素之一^[2]。椎间盘作为脊柱的承重和缓冲单元,是人体最大的无血管组织,由髓核、纤维环及软骨终板组成。虽然目前IVDD的具体发生机制尚不明确,但研究发现衰老、异常应力、外伤、营养缺乏和遗传等多因素参与了这一过程^[3]。IVDD的病理生理改变主要是髓核细胞数量减少,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)减少、纤维环老化及软骨终板钙化^[4]。

现阶段临床上治疗腰痛主要有保守治疗和手术治疗^[5],但只能部分缓解临床症状,并未从IVDD的病理生理上解决根本问题。目前越来越多的研究集中在椎间盘再生上,比如干细胞治疗^[6]、组织工程^[7]、基因治疗^[8]及注入生物活性分子^[9]等方法,其中基于干细胞的治疗最引人注目。研究发现在退变的椎间盘中移植干细胞后可以恢复髓核细胞数量及促进ECM表达,从而缓解IVDD,但退变的椎间盘处于低氧、低pH、高渗透压及低营养的局部微环境中,移植后的干细胞存在细胞存活率低、易衰老、分化方向不确定、机体移植排斥及干细胞本身的致瘤性等诸多问题,给干细胞治疗IVDD带来巨大挑战^[10]。间充质干细胞来源外泌体(mesenchymal stem cell-derived exosomes, MSC-Exos)不仅具备干细胞的相关优势,还没有上述诸多不利问题。现有研究也证实MSC-Exos在髓核细胞再生及维持椎间盘稳态中发挥重要作用,因此MSC-Exos在IVDD再生领域具有广泛的应用前景^[11-13]。本文综述MSC-Exos在IVDD中的研究现状,期望能为临床提供参考。

一、间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)及其外泌体的生物学特征和功能

MSC是一类来自中胚层的具有自我更新和多向分化潜

DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2021.02.012

基金项目:江苏省青年医学重点人才项目(QNRC2016342);江苏省妇幼保健科研重点资助项目(F201801);江苏省高层次人才“六个一工程”拔尖人才科研项目(LGY2019035);广西省自然科学基金面上项目(No.2018JA1475)

作者单位:116044 大连医科大学研究生院¹;530001 南宁,广西中医药大学附属国际壮医医院骨科²;225001 扬州大学临床医学院³

通信作者:张文捷, Email: zhangliang6320@sina.com

能的多能干细胞,可从骨髓、脂肪、滑膜、人脐血等多种组织分离出来。根据国际细胞治疗学会的定义, MSC 应具备以下特点: (1) 贴壁生长的梭形细胞; (2) 能被诱导分化为成骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞; (3) 细胞表面表达 CD73、CD90 及 CD105, 不表达 CD45、CD34 或人类白细胞抗原-DR^[14]。

外泌体是一种直径 30 ~ 100 nm 的杯状的细胞外囊泡, 具有和细胞膜类似的磷脂双分子层结构^[15], 能从大多数细胞和体液中分离出来^[16-18]。此外, 在体外培养的细胞上清液中也能检测到外泌体^[19]。外泌体来源于晚期的核内体, 并储存在多泡小体中, 与细胞膜融合后将蛋白、脂质、核酸等物质传递到靶细胞中, 引起靶细胞活性或功能改变, 从而发挥细胞间物质传递及信号转导的作用^[20]。

外泌体的功能主要取决于其内的生物活性物质, 目前从不同细胞来源的外泌体中已鉴定出大约 4 400 种蛋白质、194 种脂质、1 639 种信使 RNA 和 764 种微小 RNA (microRNA, miRNA)^[21], 说明了外泌体的复杂性及其潜在的功能多样性。外泌体中的脂质包括磷脂酰丝氨酸、磷脂酸、胆固醇、鞘磷脂、花生四烯酸、前列腺素和白三烯等, 不仅参与外泌体形成, 在维持其生物稳定性中也发挥重要作用。外泌体富含多种功能蛋白, 其中包括参与细胞渗透、侵袭和融合的四跨膜蛋白 (CD9、CD63、CD81 及 CD82)、参与抗原结合和递呈的热休克蛋白 70 及热休克蛋白 90、参与多泡小体合成的相关蛋白 (Alix 及肿瘤易感基因 101) 以及负责膜转运和融合的蛋白 (GTPase、膜联蛋白和 Rab 蛋白), 其中肿瘤易感基因 101、热休克蛋白 70、CD81 和 CD63 是外泌体的特异性标记蛋白。

与其他细胞比较, MSC 能产生更多的外泌体, 并且 MSC-Exos 所含的核酸及蛋白种类更加丰富^[22]。MSC-Exos 不仅比其他细胞来源的外泌体含有更多的酶^[23], 还可以将酶包裹在外泌体膜中使酶免于降解, 同时还能通过细胞对外泌体的胞吞作用促进酶在细胞内吸收。此外在细胞吞噬外泌体时, MSC-Exos 可优先被受伤组织中的细胞吞噬。另外, MSC 的部分免疫调节功能可以转移到 MSC-Exos 中, 对 MSC-Exos 进行蛋白质组学分析发现其中具有免疫调节功能的蛋白质超过 200 种^[24], 远超过其他细胞来源的外泌体; MSC-Exos 还可以抑制有丝分裂原激活的 T 细胞增殖, 诱导免疫细胞的抗炎耐受表型, 并抑制 B 细胞增殖^[25]。因此 MSC-Exos 比其他细胞来源的外泌体在 IVDD 的修复中更具有优势。

二、MSC-Exos 参与 IVDD 修复的机制

MSC 移植在治疗 IVDD 中已取得一定疗效, 目前研究发现 MSC 不仅能向髓核细胞分化, 还可以通过旁分泌 Exos 的方式来改变椎间盘的局部微环境^[12]。如表 1 所示, MSC-Exos 主要通过参与 ECM 的合成与降解、调节髓核细胞的凋亡及焦亡、炎症反应及氧化应激等途径在 IVDD 中发挥作用。

(一) MSC-Exos 与 ECM 的合成与降解

髓核细胞的 ECM 主要由 II 型胶原、蛋白聚糖及硫酸软骨素等组成。ECM 代谢紊乱是 IVDD 发生的主要原因之一, IVDD 中 ECM 合成的相关分子表达下降, 与分解相关的基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 表达增加^[26], 从

而使得椎间盘中 ECM 减少, 进而加重 IVDD 进程。

Lu 等^[13]研究发现 MSC-Exos 干预后, 退变髓核细胞中 ECM 表达明显增加, 而降解 ECM 的 MMP-1 和 MMP-3 表达明显降低。Hingert 等^[27]将退变的椎间盘细胞与 MSC-Exos 进行共培养也得出相似结论, 即 MSC-Exos 能减少退变的椎间盘细胞中 MMP-1 表达, 研究发现在 IVDD 过程中血红素氧合酶-1 表达显著下降, 而血红素氧合酶-1 可以降低软骨细胞中 MMP-1 及 MMP-13 表达。龚东亮和付文芹^[28]采用高通量测序及双荧光素酶报告等方法进行研究, 发现 MSC-Exos 中的 miRNA-21/miRNA-23/miRNA-125/miRNA-let7 能与 BTB-CNC 同源体 1 结合后上调血红素氧合酶-1 表达, 进而减少髓核细胞中 ECM 降解。Qi 等^[29]研究发现高糖通过使 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 磷酸化, 从而促进髓核细胞中 ECM 降解, 而 MSC-Exos 可以通过抑制 p38 MAPK 磷酸化来减少 ECM 降解。MSC-Exos 除能减少 ECM 降解外, 还能促进 ECM 合成。硫酸软骨素合酶是髓核细胞中 ECM 合成的关键酶之一, 其功能异常会导致 ECM 中的硫酸软骨素合成减少, 从而加重 IVDD 进程。蒋长青等^[30]通过高通量测序结合生信分析等方法, 发现 MSC-Exos 中富含的 miRNA-199/miRNA-16/miRNA-195 能与白细胞介素 (interleukin, IL)/肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 的上游调控元件核因子- κ B 结合后降低 IL/TNF 合成, 促进硫酸软骨素合酶表达, 从而促进 ECM 合成。

因此, MSC-Exos 主要通过抑制与 ECM 分解相关的 MMP 合成及直接促进 ECM 合成这 2 个方面参与 ECM 代谢, 从而延缓 IVDD 进程。

(二) MSC-Exos 与椎间盘细胞凋亡

1. MSC-Exos 与髓核细胞凋亡: 随着 IVDD 进展, 髓核细胞凋亡逐渐增加, ECM 合成进一步减少, 从而导致椎间隙高度进一步丢失。Cheng 等^[12]将骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC) 来源的外泌体与 TNF- α 诱导凋亡的髓核细胞共培养, 结果发现 BMSC-Exos 干预后髓核细胞凋亡明显下降; 动物实验发现 BMSC-Exos 处理后的椎间盘退变程度、组织学评分及细胞凋亡率均明显降低; 进一步分析则发现 TNF- α 诱导凋亡的髓核细胞中 5 个 miRNAs (miRNA-18a/miRNA-21/miRNA-106b/miRNA-217/miRNA-26a) 表达显著下降, 而 BMSC-Exos 正是通过 miRNA-21 介导的 PTEN-PI3K/Akt 信号通路减少髓核细胞凋亡, 从而延缓 IVDD 进程。Zhu 等^[31]研究发现 MSC-Exos 可能通过传递与 Ros 相关结构域家族 5 (ras-association domain family-5, RASSF-5) 靶向结合的 miRNA-532-5p, 从而抑制 TNF- α 诱导的髓核细胞凋亡及 ECM 降解, 进而延缓 IVDD 进程。混合谱系激酶 3 是一种在哺乳动物中广泛存在的丝氨酸/苏氨酸丝裂原活化蛋白激酶, 可以通过活化 MAPK 参与炎症反应、细胞增殖、分化及凋亡^[31]。Zhu 等^[32]研究发现 MSC-Exos 可以通过 miRNA-142-3p 与混合谱系激酶 3 结合, 抑制 MAPK 信号通路, 从而减少髓核细胞凋亡及炎症反应。Yuan 等^[33]通过微阵列分析 IVDD 相关基因, 结果发现在人退变椎间盘组织及 TNF- α 处理的髓核细胞中 miRNA-4450 高表达, 锌指蛋白 121 低表达, 并且生信分析发现 miRNA-4450

能与锌指蛋白 121 特异性结合;在髓核细胞中过表达 miRNA-4450 能促进髓核细胞凋亡及炎症反应,而敲减 miRNA-4450 则与之相反;与 MSC-Exos 共培养后,TNF- α 处理的髓核细胞的凋亡率明显下降。说明 MSC-Exos 可能通过拮抗 miRNA-4450/锌指蛋白 121 信号通路来减少髓核细胞凋亡。Liao 等^[11]研究还发现内质网应激相关标志物葡萄糖调节蛋白 78 和 C/EBP 同源蛋白在退变椎间盘中显著升高,且其表达与椎间盘退变分级呈正相关;将 MSC-Exos 与糖基化终末产物诱导发生内质网应激的髓核细胞共培养,结果发现内质网应激相关标志物表达明显降低,并且与 Exos 浓度呈正相关。因此认为 MSC-Exos 可能通过降低内质网应激的关键分子 C/EBP 同源蛋白水平来减少髓核细胞凋亡。

从目前已有研究来看, MSC-Exos 主要是通过其内的 miRNA 参与调控与细胞凋亡相关的信号通路及降低内质网应激水平来减少髓核细胞凋亡,从而延缓 IVDD 进程。

2. MSC-Exos 与纤维环细胞凋亡:纤维环是髓核组织外呈同心圆排列的纤维软骨样结构,可以保护其内胶冻样的髓核组织,并且能均匀地分布髓核受到的压力,因此纤维环在椎间盘的正常生理功能中发挥重要作用。Li 等^[34]研究发现 BMSC-Exos 不仅能促进纤维环细胞增殖,还能显著降低纤维环细胞中由 IL-1 β 诱导的细胞凋亡及炎症因子表达;进一步研究还发现 IL-1 β 能促进自噬相关蛋白(Beclin-1、LC3-I 及 LC3-II)表达,降低 PI3K/AKT/mTOR 信号通路相关蛋白(p-AKT 和 pmTOR)表达;BMSC-Exos 干预后则可以逆转 IL-1 β 的作用,在 BMSC-Exos 中加入 mTOR 的通路抑制剂雷帕霉素后可以促进炎症因子及自噬相关蛋白表达。因此说明 BMSC-Exos 可能是通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路介导的自噬,从而减少纤维环细胞凋亡。虽然目前关于 MSC-Exos 与纤维环细胞凋亡的研究还很少,但鉴于纤维环在 IVDD 中的重要作用,以后有关 MSC-Exos 抑制纤维环细胞凋亡的研究会逐渐增多。

3. MSC-Exos 与软骨终板细胞凋亡:软骨终板是椎体与椎间盘之间的一层透明软骨,其上有可允许营养物质和椎间盘代谢产物通过的微孔,是椎间盘营养来源的主要途径。除此之外,研究还发现邻近椎体中的干细胞可以通过软骨终板迁移至髓核组织,从而发挥维持椎间盘稳定的作用^[35]。软骨终板退变主要体现在软骨终板钙化及软骨终板细胞过度凋亡,软骨终板钙化后会导致微孔堵塞,营养物质及代谢产物转运障碍,最终导致 IVDD。Xie 等^[4]研究发现 MSC-Exos 能减轻叔丁基过氧化氢(Tert-butyl hydroperoxide, TBHP)诱导的软骨终板细胞凋亡;进一步分析还发现 MSC-Exos 中富含 miRNA-31-5p,而 miRNA-31-5p 能与软骨终板细胞中的靶基因活化转录因子 6 结合,从而通过抑制与活化转录因子 6 相关的内质网应激信号通路减少软骨终板细胞凋亡。目前关于 MSC-Exos 与软骨终板细胞凋亡的研究较少, MSC-Exos 可能是通过其内的 miRNA 与软骨终板细胞内特定的靶基因相结合,降低内质网应激来减少软骨终板细胞凋亡。

(三) MSC-Exos 与炎症反应

在 IVDD 进程中,大量炎症因子和 ECM 降解酶的积聚是髓核细胞凋亡及 ECM 减少的重要原因之一。Xia 等^[36]收集脊柱创伤患者的正常髓核和退变髓核组织,然后通过生信分析筛选差异表达的蛋白,结果发现 69 种蛋白表达下调,81 种蛋白表达上调,其中大多数蛋白与炎症反应有关;而将 MSC-Exos 与诱导凋亡的髓核细胞共培养,结果发现 MSC-Exos 可以抑制 NOD 样受体蛋白 3(NOD-like receptor protein 3, NLRP3)炎性小体的生成及炎性介质活化,从而在髓核细胞中发挥抗炎作用;与此同时, MSC-Exos 可以为髓核细胞补充线粒体蛋白,修复线粒体损伤;并且免 IVDD 动物模型中也证实 MSC-Exos 可以有效延缓 IVDD 进程。Zhang 等^[37]进一步研究发现在小鼠 IVDD 模型及脂多糖处理的髓核细胞中, NLRP3 介导的髓核细胞焦亡被激活;将 MSC-Exos 及成纤维细胞来源的 Exos 分别与脂多糖处理的髓核细胞共培养,结果发现 MSC-Exos 处理后可以抑制髓核细胞焦亡;进

表 1 MSC-Exos 在 IVDD 修复中的作用

MSC-Exos 的作用	机制
ECM 的合成与降解	抑制降解 ECM 的 MMP-1/3 合成及直接促进 ECM 合成
髓核细胞凋亡	miRNA-21 参与 PTEN-PI3K/Akt 通路 miR-532-5p 与 RASSF-5 靶基因结合 miR-142-3p 与 MLK3 结合,抑制 MAPK 信号通路 miR-4450 与靶基因 ZNF121 结合 降低内质网应激的关键分子 CHOP 水平
纤维环细胞凋亡	抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路介导的细胞自噬
软骨终板细胞凋亡	miRNA-31-5p 与靶基因 ATF6 结合,降低内质网应激水平
炎症反应	miRNA-410 与 NLRP3 的 mRNA 特异性结合,抑制炎性小体 NLRP3 生成 抑制 PGE-2、IL-6 及 COX-2 等炎性因子活化 抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路介导的细胞自噬

注:MSC-Exos 为间充质干细胞来源外泌体;IVDD 为椎间盘退变;ECM 为细胞外基质;MMP 为金属蛋白酶;RASSF-5 为 Ras 相关结构域家族 5;MLK3 为混合谱系激酶 3;MAPK 为丝裂原活化蛋白激酶;CHOP 为 C/EBP 同源蛋白;NLRP3 为 NOD 样受体蛋白 3;PGE2 为前列腺素 E2;IL-6 为白细胞介素 6;COX-2 为环氧合酶-2

一步研究还发现 MSC-Exos 中 miRNA-410 含量明显高于成纤维细胞来源的 Exos,并且抑制 MSC-Exos 中 miRNA-410 表达后, MSC-Exos 抗髓核细胞焦亡的作用显著降低;而生信分析及双荧光素酶报告实验发现 miRNA-410 可以与 NLRP3 的信使 RNA 特异性结合,从而抑制 NLRP3 表达。因此 MSCs-Exo 主要通过 miRNA-410 与 NLRP3 特异性结合抑制髓核细胞焦亡及与焦亡相关的炎症反应,从而延缓 IVDD 进程。

炎症因子的积聚还能导致纤维环细胞凋亡增加,破坏纤维环的结构和功能,进一步加重 IVDD 进程。Li 等^[34]研究发现 BMSC-Exos 除了可以促进纤维环细胞增殖及减轻 IL-1 β 诱导的细胞凋亡外,还能减少前列腺素 E2、IL-6 及环氧合酶-2 等炎症因子的产生,进一步分析还发现 BMSC-Exos 可能是通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路介导的自噬来降低纤维环细胞的炎症反应。

因此, MSC-Exos 发挥抗炎作用可能是通过其内的 miRNA 与相应信使 RNA 结合后抑制炎性小体的生成及炎症因子的活化,以及抑制细胞自噬等途径,从而减轻炎症反应及其所带来的一系列反应,进而发挥延缓 IVDD 的作用。

三、总结与展望

综上所述, MSC-Exos 主要是通过促进 ECM 合成、抑制 ECM 降解及细胞凋亡、参与抗炎反应等途径在 IVDD 中发挥重要作用。目前研究主要集中在 MSC-Exos 中的 miRNA 参与调节凋亡相关的信号通路,以及与相应信使 RNA 结合后抑制炎性小体的生成及炎症因子的活化发挥抗凋亡及抗炎等方面。MSC-Exos 中的其他成分如蛋白、脂质、信使 RNA、长链非编码 RNA 是否也参与其中,需要进一步深入研究。此外, MSC-Exos 参与 IVDD 主要集中在髓核细胞中,在软骨终板及纤维环方面的研究却十分匮乏。因此, MSC-Exos 在软骨终板及纤维环方面的研究可能为 IVDD 的治疗提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Hay SI, Jayaraman SP, Truelsen T, et al. GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 [J]. *Lancet*, 2016, 388(10053): 1545-1602.
- [2] Urits I, Burshtein A, Sharma M, et al. Low back pain, a comprehensive review: pathophysiology, diagnosis, and treatment [J]. *Curr Pain Headache Rep*, 2019, 23(3): 23.
- [3] Grunhagen T, Shirazi-Adl A, Fairbank JC, et al. Intervertebral disk nutrition: a review of factors influencing concentrations of nutrients and metabolites [J]. *Orthop Clin North Am*, 2011, 42(4): 465-477.
- [4] Xie L, Chen Z, Liu M, et al. MSC-Derived Exosomes Protect Vertebral Endplate Chondrocytes against Apoptosis and Calcification via the miR-31-5p/ATF6 Axis [J]. *Mol Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22: 601-614.
- [5] Pennicooke B, Moriguchi Y, Hussain I, et al. Biological treatment approaches for degenerative disc disease: a Review of clinical trials and future directions [J]. *Cureus*, 2016, 8(11): e892-e892.
- [6] Ural IH, Alptekin K, Ketenci A, et al. Fibroblast transplantation results to the degenerated rabbit lumbar intervertebral discs [J]. *Open Orthop J*, 2017, 11: 404-416.
- [7] Doench I, Torres-Ramos MEW, Montembault A, et al. Injectable and gellable chitosan formulations filled with cellulose nanofibers for intervertebral disc tissue engineering [J]. *Polymers (Basel)*, 2018, 10(11): 1202.
- [8] 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.
- [9] Chujo T, An HS, Akeda K, et al. Effects of growth differentiation factor-5 on the intervertebral disc - In vitro bovine study and in vivo rabbit disc degeneration model study [J]. *Spine*, 2006, 31(25): 2909-2917.
- [10] Gruber HE, Ingram JA, Norton HJ, et al. Senescence in cells of the aging and degenerating intervertebral disc - Immunolocalization of senescence-associated beta-galactosidase in human and sand rat discs [J]. *Spine*, 2007, 32(3): 321-327.
- [11] Liao Z, Luo R, Li G, 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] Cheng X, Zhang G, Zhang L, et al. Mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-21 via exosomes to inhibit nucleus pulposus cell apoptosis and reduce intervertebral disc degeneration [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(1): 261-276.
- [13] Lu K, Li H-y, Yang K, et al. Exosomes as potential alternatives to stem cell therapy for intervertebral disc degeneration: in-vitro study on exosomes in interaction of nucleus pulposus cells and bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 108.
- [14] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement [J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315-317.
- [15] Phan J, Kumar P, Hao D, et al. Engineering mesenchymal stem cells to improve their exosome efficacy and yield for cell-free therapy [J]. *J Extracell Vesicles*, 2018, 7(1): 1522236.
- [16] Keller S, Ridinger J, Rupp A-K, et al. Body fluid derived exosomes as a novel template for clinical diagnostics [J]. *J Transl Med*, 2011, 9: 86.
- [17] Lässer C, Eldh M, Lötval J. Isolation and Characterization of RNA-Containing Exosomes [J]. *J Vis Exp*, 2012(59): e3037.
- [18] Lässer C, O'Neil SE, Ekerljung L, et al. RNA-containing exosomes in human nasal secretions [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25(2): 89-93.
- [19] Théry C, Amigorena S, Raposo G, et al. Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids [J]. *Curr Protoc Cell Biol*, 2006, Chapter 3: Unit 3.22.
- [20] Simons M, Raposo G. Exosomes-vesicular carriers for

- intercellular communication[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21(4): 575-581.
- [21] Mathivanan S, Fahner CJ, Reid GE, et al. ExoCarta 2012: database of exosomal proteins, RNA and lipids[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(D1): D1241-D1244.
- [22] Basu J, Ludlow JW. Exosomes for repair, regeneration and rejuvenation[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2016, 16(4): 489-506.
- [23] Lai RC, Yeo RWY, Tan SS, et al. Mesenchymal Stem Cell Exosomes: The Future MSC-Based Therapy? [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2013; 39-61.
- [24] Lai RC, Tan SS, Teh BJ, et al. Proteolytic potential of the MSC exosome proteome: implications for an exosome-mediated delivery of therapeutic protease[J]. *Int J Proteomics*, 2012, 2012: 971907.
- [25] Lai RC, Yeo RW, Lim SK. Mesenchymal stem cell exosomes [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40: 82-88.
- [26] Wang K, Chen TT, Ying XZ, et al. Ligustilide alleviated IL-1 beta induced apoptosis and extracellular matrix degradation of nucleus pulposus cells and attenuates intervertebral disc degeneration in vivo [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69: 398-407.
- [27] Hingert D, Ekstrom K, Aldridge J, et al. Extracellular vesicles from human mesenchymal stem cells expedite chondrogenesis in 3D human degenerative disc cell cultures[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 323.
- [28] 龚东亮, 付文芹. 间充质干细胞外泌体上调 Mir-21 调控 HO-1 机制促进椎间盘退变的修复[J]. *解剖学研究*, 2020, 42(2): 140-145.
- [29] Qi L, Wang R, Shi Q, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell conditioned medium restored the expression of collagen II and aggrecan in nucleus pulposus mesenchymal stem cells exposed to high glucose[J]. *J Bone Miner Metab*, 2019, 37(3): 455-466.
- [30] 蒋长青, 蓝蔚仁, 李海音, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞来源外泌体对退变髓核细胞的影响[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2019, 29(2): 147-155.
- [31] Zhu G, Yang X, Peng C, et al. Exosomal miR-532-5p from bone marrow mesenchymal stem cells reduce intervertebral disc degeneration by targeting RASSF5[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 393(2): 112109.
- [32] Zhu L, Shi Y, Liu L, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes ameliorate nucleus pulposus cells apoptosis via delivering miR-142-3p: therapeutic potential for intervertebral disc degenerative diseases [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(14): 1727-1739.
- [33] Yuan Q, Wang X, Liu L, et al. Exosomes derived from human placental mesenchymal stromal cells carrying antagomiR-4450 alleviate intervertebral disc degeneration through upregulation of ZNF121 [J]. *Stem Cells Dev*, 2020, 29(16): 1038-1058.
- [34] Li ZQ, Kong L, Liu C, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate IL-1beta-induced annulus fibrosus cell damage[J]. *Am J Med Sci*, 2020, 360(6): 693-700.
- [35] Liu Y, Li Y, Nan LP, et al. Insights of stem cell-based endogenous repair of intervertebral disc degeneration[J]. *World J Stem Cells*, 2020, 12(4): 266-276.
- [36] Xia C, Zeng Z, Fang B, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate intervertebral disc degeneration via anti-oxidant and anti-inflammatory effects[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 143: 1-15.
- [37] Zhang J, Zhang J, Zhang Y, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes ameliorate intervertebral disc degeneration through inhibiting pyroptosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(20): 11742-11754.

(收稿日期:2021-01-08)

(本文编辑:甘丽)

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.