

干细胞外泌体治疗椎间盘退变作用机制的研究进展

田增辉¹, 陈云刚², 李颖颖¹, 郭金星¹, 郑健虎¹, 郝延科²

(1. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250014;

2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014)

摘要 椎间盘退变是引起颈部、腰部疼痛的重要原因之一。目前,临床上治疗椎间盘退变引起疼痛的方法均不能干预椎间盘退变的进程或逆转椎间盘退变。随着对干细胞研究的不断深入,干细胞外泌体治疗椎间盘退变逐渐成为新的研究方向。本文对椎间盘退变的机制及干细胞外泌体的特性进行了概述,并从干细胞外泌体抑制细胞凋亡、抑制炎症因子表达、维持细胞外基质代谢平衡等方面对干细胞外泌体治疗椎间盘退变作用机制的研究进展进行了综述。

关键词 椎间盘退化;干细胞;外泌体;综述

椎间盘退变是引起颈部、腰部疼痛的重要原因之一^[1]。目前,临床上由椎间盘退变引起的疼痛的治疗方法均不能干预或逆转椎间盘退变进程。随着对干细胞研究的不断深入,干细胞移植成为可能逆转椎间盘退变的治疗方法^[2]。有研究表明,干细胞移植能够有效增加髓核的含水量,改善椎间盘退变引起的疼痛等症状^[3-4]。然而,干细胞移植在移植最佳时间的选择、移植细胞的存活率及如何调控干细胞微环境以确保移植后干细胞发挥作用等方面面临巨大挑战^[5]。随着外泌体的发现,相关研究逐渐由干细胞移植转向了干细胞外泌体注射。干细胞外泌体注射作为干细胞移植的替代疗法,弥补了干细胞移植的缺点,成为干预甚至逆转椎间盘退变方法的研究热点^[6]。本文对椎间盘退变的机制及干细胞外泌体的特性进行了概述,并对干细胞外泌体治疗椎间盘退变作用机制的研究进展进行了综述。

1 椎间盘退变的机制

椎间盘由髓核及外周纤维环组成,具有缓冲压力的作用;髓核位于椎间盘的中心,主要由髓核细胞和富含Ⅱ型胶原蛋白、蛋白聚糖、弹性蛋白的细胞外基质组成,是椎间盘发挥作用的主体,也是椎间盘退变发生的主要部分^[7]。椎间盘退变的影响因素包括衰老、创伤、受力不均、肥胖、吸烟、遗传等。已有研究^[8]表明,椎间盘退变与细胞过度凋亡、炎症因子累积及

细胞外基质减少密切相关。Sun 等^[9-10]研究发现,髓核细胞和软骨终板细胞过度凋亡是椎间盘退变的主要病理特征,促进髓核细胞和软骨终板细胞过度凋亡能够加速椎间盘退变的进程。椎间盘的退变导致椎间盘生物力学特性改变,进而导致炎症因子产生,而炎症因子又进一步加速椎间盘退变的进程^[11]。Tan 等^[12]通过检测退变椎间盘中炎症因子的表达,发现炎症因子在退变椎间盘组织中的表达显著增高,且与疾病严重程度呈正相关。细胞外基质是一种复杂的动态结构,对调节细胞功能、维系细胞间通讯发挥一定的作用^[13]。Guo 等^[14]研究发现,细胞外基质代谢失衡能够加速椎间盘退变的进程。

2 干细胞外泌体的特性

外泌体是一种广泛存在于血液、尿液、唾液、精液等各种体液中的膜性囊泡^[15-16]。外泌体表面有特定的蛋白标志物,内含核酸、蛋白质、脂质等丰富的内容物^[17]。干细胞外泌体是由干细胞通过胞吐的方式释放到细胞外的直径为 30 ~ 100 nm 的脂质双层球膜状结构的囊泡^[18-19]。干细胞外泌体含有与干细胞相同的调控物质(如 mRNA、miRNA、lncRNA 等)与表面标志分子(如 CD29、CD44、CD90、CD73 等),具有与其来源的干细胞相似的作用^[20]。干细胞外泌体能够通过不同的方式与靶细胞结合,将其内容物传递给受体细胞,进而发挥调控作用^[21-22]。此外,干细胞外泌体具有稳定性好、更易保存、非免疫原性等特点,是作为无细胞治疗椎间盘退变的适当选择^[23]。

3 干细胞外泌体治疗椎间盘退变的作用机制

3.1 干细胞外泌体抑制细胞凋亡 细胞凋亡,又称

基金项目:山东省自然科学基金面上项目(ZR2022MH096, ZR2021MH254);山东省重点研发计划项目(2018GSF119011);济南市科技计划项目(201805082)

通讯作者:郝延科 E-mail:haoyanke@126.com

为 I 型程序性细胞死亡,以染色体固缩、细胞收缩、DNA 降解和凋亡小体形成等为主要特征。细胞凋亡会导致持续性的细胞减少,与退行性疾病的发生密切相关^[24]。研究表明,髓核细胞的过度凋亡是椎间盘退变发生和进展的主要原因之一^[25]。Luo 等^[26]研究发现,软骨终板干细胞外泌体能够抑制髓核细胞的凋亡,减缓椎间盘退变进程,且其作用机制可能与 PI3K/AKT/自噬途径的激活有关。Cheng 等^[27]采用间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)外泌体与成纤维细胞外泌体干预经肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 诱导的髓核细胞,干预后采用流式细胞仪分析髓核细胞的凋亡率,结果表明, MSC 外泌体能够抑制 TNF- α 诱导的髓核细胞凋亡;而将 MSC 外泌体注射到椎间盘退变模型大鼠的椎间盘后,大鼠椎间盘中髓核细胞的凋亡率降低,椎间盘退化进程放缓。Sun 等^[28]建立椎间盘退变大鼠模型,以椎间盘内注射 MSC 外泌体的方法进行干预,采用 MRI、HE 染色、免疫荧光染色等方法评估干预前后椎间盘退变情况,结果显示,干预后模型大鼠椎间盘退变的进程得到抑制;通过分析相关 miRNA 和基因的表达后发现,干细胞外泌体可能通过 miR-105-5p 激活髓核细胞中 Sirt6 通路促进髓核细胞恢复活力。软骨终板是存在于椎体和椎间盘之间的透明软骨层,是椎间盘的主要营养来源。软骨终板细胞的钙化和过度凋亡,可能会阻碍营养物质扩散,导致椎间盘细胞的代谢和功能障碍,最终导致椎间盘退变^[29]。Xie 等^[30]研究发现,在给予椎间盘退变模型大鼠注射 MSC 外泌体治疗后,软骨终板钙化减少,椎间盘退变进程得到抑制;而进一步的机制研究发现, MSC 外泌体可能通过其 miR-31-5p 作用于软骨终板细胞中的转录激活因子 6,进而抑制其相关的内质网应激途径来发挥作用。纤维环是一种纤维软骨样组织,具有保护果冻状髓核组织的作用,在维持椎间盘的正常生理功能方面起着关键作用。Li 等^[31]研究发现,骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cell, BMSC)外泌体通过激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制纤维环细胞自噬,减少纤维环的细胞凋亡,进而减缓椎间盘退变的进程。因此,干细胞外泌体可以通过抑制髓核细胞、软骨终板细胞、纤维环细胞的凋亡减缓椎间盘退变的进程。

3.2 干细胞外泌体抑制炎症因子表达 过度的氧化

应激和炎症反应是椎间盘退变的主要因素,而炎症因子是氧化应激和炎症反应的主要来源^[32]。Lyu 等^[33-34]研究发现,白细胞介素(interleukin, IL)-1 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17、TNF- α 等炎症因子的水平在椎间盘退变的髓核细胞中增加。Xia 等^[32]在体外将干细胞外泌体与经 H₂O₂ 诱导的髓核细胞共培养,并分析共培养后髓核细胞炎症相关蛋白的表达情况,结果显示,髓核细胞中炎性小体的生成受到抑制。Zhu 等^[35]将 BMSC 外泌体与经 IL-1 处理的髓核细胞共培养,采用荧光定量 PCR 测定共培养后 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-12 和 IL-18 等炎症因子的 mRNA 表达情况,结果表明,干细胞外泌体能够抑制相关炎症因子的表达。Zhang 等^[36]将 BMSC 外泌体与经脂多糖处理的髓核细胞共培养,采用酶联免疫吸附实验测定髓核培养液中 IL-1 β 和 IL-18 的含量,结果显示共培养的髓核细胞培养液中 IL-1 β 和 IL-18 的含量显著低于经脂多糖处理的髓核细胞;提示干细胞外泌体能够发挥抑制炎症反应的作用。因此,干细胞外泌体能够通过抑制髓核细胞炎症因子的表达抑制炎症反应,进而减缓椎间盘退变的进程。

3.3 干细胞外泌体维持细胞外基质代谢平衡 正常椎间盘细胞中细胞外基质的合成和分解代谢在基质分解代谢因子[如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)]和基质合成代谢因子(如转化生长因子)的调节作用下处于动态平衡状态^[37]。细胞外基质合成代谢和分解代谢的动态平衡被打破是导致椎间盘退变发生的关键因素之一^[38]。因此,维持细胞外基质合成代谢与分解代谢的动态平衡或促进细胞外基质的合成成为治疗椎间盘退变的重要研究方向。Lu 等^[23]的研究结果表明,经干细胞外泌体干预的退变髓核细胞外基质的聚集蛋白聚糖、II 型胶原蛋白、Sox-9 等基因的表达显著上调, MMP-1 和 MMP-3 等基因的表达显著下调,提示干细胞外泌体能够抑制退化髓核细胞外基质的降解。Hingert 等^[39]将 MSC 外泌体和髓核细胞共培养,结果显示髓核细胞 MMP 的表达水平下降,进一步证实了干细胞外泌体通过抑制 MMP 的表达降低其对细胞外基质的破坏作用,进而减缓椎间盘退变的进程。因此,干细胞外泌体能够通过调控髓核细胞外基质的合成代谢和分解代谢的动态平衡发挥减缓椎间盘退变的进程的作用。

4 小 结

干细胞外泌体可以通过抑制髓核细胞、软骨终板细胞、纤维环细胞的凋亡,抑制炎症因子的分泌,维持细胞外基质的代谢平衡等方面减缓椎间盘退变的进程。目前,应用干细胞外泌体治疗椎间盘退变仍处于实验研究阶段。由于干细胞外泌体包含蛋白、脂质、mRNA、lncRNA 等多种成分,其作用机制尚未完全明确。此外,临床上应用干细胞外泌体治疗椎间盘退变在外泌体来源、外泌体提取、给药方式和剂量等方面仍面临诸多问题^[40]。然而,干细胞外泌体作为治疗椎间盘退变新的研究方向,具有巨大的潜在价值和广阔前景,值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] YAMADA K, IWASAKI N, SUDO H. Biomaterials and cell-based regenerative therapies for intervertebral disc degeneration with a focus on biological and biomechanical functional repair; targeting treatments for disc herniation[J]. *Cells*, 2022, 11(4): 602.
- [2] 李秋江, 房晓敏, 王胤斌, 等. 干细胞治疗椎间盘退变研究现状和趋势的文献计量学分析[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(31): 5000 – 5011.
- [3] PEREZ – CRUET M, BEERAVOLU N, MCKEE C, et al. Potential of human nucleus pulposus – like cells derived from umbilical cord to treat degenerative disc disease[J]. *Neurosurgery*, 2019, 84(1): 272 – 283.
- [4] YU C, LI D, WANG C, et al. Injectable kartogenin and apocynin loaded micelle enhances the alleviation of intervertebral disc degeneration by adipose – derived stem cell[J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(10): 3568 – 3579.
- [5] 张晓勃, 施锦涛, 张凯, 等. 骨髓间充质干细胞及其外泌体治疗椎间盘退变的研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2020, 45(8): 862 – 868.
- [6] 苏炜良, 吴晓淋, 郭柱, 等. 干细胞外泌体治疗椎间盘退变的研究进展[J]. *中华骨科杂志*, 2021, 41(4): 253 – 261.
- [7] XIANG Q, KANG L, WANG J, et al. CircRNA – CIDN mitigated compression loading – induced damage in human nucleus pulposus cells via miR – 34a – 5p/SIRT1 axis[J]. *EBioMedicine*, 2020, 53: 102679.
- [8] LI Z, SHAO Z, CHEN S, et al. TIGAR impedes compression-induced intervertebral disc degeneration by suppressing nucleus pulposus cell apoptosis and autophagy[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(2): 1780 – 1794.
- [9] SUN Z, TANG X, WANG H, et al. LncRNA H19 Aggravates intervertebral disc degeneration by promoting the autophagy and apoptosis of nucleus pulposus cells through the miR – 139/CXCR4/NF – κ B axis[J]. *Stem Cells Dev*, 2021, 30(14): 736 – 748.
- [10] 刘岩路, 胡炜, 艾克拜尔, 等. 抑制半乳糖凝集素 3 促进椎间盘软骨终板细胞凋亡诱导椎间盘退变[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(35): 5599 – 5603.
- [11] 郭佑峰, 胡韬, 吴德升. 炎症因子在椎间盘退变中作用的研究进展[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2022, 32(4): 379 – 384.
- [12] TAN J H, LI Z P, LIU L L, et al. IL – 17 in intervertebral disc degeneration: Mechanistic insights and therapeutic implications[J]. *Cell Biol Int*, 2022, 46(4): 535 – 547.
- [13] THEOCHARIS A D, SKANDALIS S S, GIALELI C, et al. Extracellular matrix structure[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 97: 4 – 27.
- [14] GUO W, MU K, ZHANG B, et al. The circular RNA FAM169A functions as a competitive endogenous RNA and regulates intervertebral disc degeneration by targeting miR – 583 and BTRC[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 315.
- [15] PAN B T, JOHNSTONE R M. Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes in vitro: selective externalization of the receptor[J]. *Cell*, 1983, 33(3): 967 – 78.
- [16] JOHNSTONE R M, ADAM M, HAMMOND J R, et al. Vesicle formation during reticulocyte maturation. Association of plasma membrane activities with released vesicles (exosomes)[J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(19): 9412 – 9420.
- [17] 郭嘉, 丁琼桦, 刘泽, 等. 间充质干细胞来源外泌体的生物学特性及免疫调控作用[J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(7): 1093 – 1101.
- [18] COBELLI N J, LEONG D J, SUN H B. Exosomes: biology, therapeutic potential, and emerging role in musculoskeletal repair and regeneration[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2017, 1410(1): 57 – 67.
- [19] YU D, LI Y, WANG M, et al. Exosomes as a new frontier of cancer liquid biopsy[J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 56.
- [20] FORSBERG M H, KINK J A, THICKENS A S, et al. Exosomes from primed MSCs can educate monocytes as a cellular therapy for hematopoietic acute radiation syndrome[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 459.
- [21] GROSS J C, CHAUDHARY V, BARTSCHERER K, et al. Active Wnt proteins are secreted on exosomes[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(10): 1036 – 1045.
- [22] MONTECALVO A, LARREGINA A T, SHUFESKY W J, et al. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes[J]. *Blood*, 2012, 119(3): 756 – 766.

- [23] 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.
- [24] LI H, TIAN L, LI J, et al. The roles of circRNAs in intervertebral disc degeneration: inflammation, extracellular matrix metabolism, and apoptosis [J/OL]. Anal Cell Pathol (Amst), 2022, 2022: 9550499 [2022-05-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8856834/>
- [25] GUO Z, QIU C, MECCA C, et al. Elevated lymphotoxin- α (TNF β) is associated with intervertebral disc degeneration[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2021, 22(1): 77.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] SUN Y, ZHANG W, LI X. Induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-105-5p via small extracellular vesicles to rejuvenate senescent nucleus pulposus cells and attenuate intervertebral disc degeneration[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 286.
- [29] SAKAI D, MOCHIDA J, IWASHINA T, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells transplanted to a rabbit degenerative disc model: potential and limitations for stem cell therapy in disc regeneration[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2005, 30(21): 2379-2387.
- [30] 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 Ther Nucleic Acids, 2020, 22: 601-614.
- [31] LI Z Q, KONG L, LIU C, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate IL-1 β -induced annulus fibrosus cell damage[J]. Am J Med Sci, 2020, 360(6): 693-700.
- [32] 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.
- [33] LYU F J, CUI H, PAN H, et al. Painful intervertebral disc degeneration and inflammation: from laboratory evidence to clinical interventions[J]. Bone Res, 2021, 9(1): 7.
- [34] ZHANG Z, ZHANG L, YANG J, et al. Influence of extracellular nanovesicles derived from adipose-derived stem cells on nucleus pulposus cell from patients with intervertebral disc degeneration[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(6): 1431.
- [35] 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.
- [36] 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.
- [37] CHEN S, LIU S, MA K, et al. TGF- β signaling in intervertebral disc health and disease[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2019, 27(8): 1109-1117.
- [38] WONG J, SAMPSON S L, BELL-BRIONES H, et al. Nutrient supply and nucleus pulposus cell function: effects of the transport properties of the cartilage endplate and potential implications for intradiscal biologic therapy[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2019, 27(6): 956-964.
- [39] HINGERT D, EKSTRÖM 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.
- [40] 刘明强, 陈海伟, 张广智, 等. 外泌体治疗椎间盘退变的研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2021, 46(8): 831-836.
(收稿日期: 2022-06-06 本文编辑: 吕宁)

(上接第 55 页)

- [48] ATALAY H A, CANAT H L, ÜLKER V, et al. Impact of personalized three-dimensional-3D-printed pelvicalyceal system models on patient information in percutaneous nephrolithotripsy surgery: a pilot study[J]. Int Braz J Urol, 2017, 43(3): 470-475.
- [49] YANG L, SHANG X W, FAN J N, et al. Application of 3D printing in the surgical planning of trimalleolar fracture and doctor-patient communication[J/OL]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 2482086 [2022-04-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27446944/>.
- [50] HORST A, MCDONALD F. Uncertain but not unregulated: medical product regulation in the light of three-dimensional printed medical products[J]. 3D Print Addit Manuf, 2020, 7(5): 248-257.
(收稿日期: 2022-04-10 本文编辑: 郭毅曼)