



• 特约综述 •

细胞疗法治疗椎间盘退变研究进展 *

刘 宇¹ 杜传超¹ 海 宝¹ 祝 斌^{2△} 刘晓光^{1△}⁽¹⁾ 北京大学第三医院骨科, 北京 100191; ⁽²⁾ 首都医科大学附属北京友谊医院骨科中心, 北京 100050

摘 要 椎间盘退变可导致慢性腰痛和运动障碍的系列症状, 其发病率随人类寿命的延长而不断上升, 给社会造成了沉重的经济负担。目前的治疗手段包括非手术治疗和手术治疗, 但只能暂时消除一部分症状, 不能恢复椎间盘的正常组织结构和固有功能, 且存在诸多并发症。针对退变椎间盘中细胞数量减少、功能减退这一现象, 细胞疗法可向椎间盘内补充新鲜细胞, 增加髓核中蛋白多糖和胶原的含量, 恢复椎间盘正常的组织结构和生物力学功能, 有望实现椎间盘再生。本文就目前细胞疗法治疗椎间盘退变的研究进展作一综述, 以期对椎间盘退变的治疗提供更多研究思路。

关键词 椎间盘退变; 细胞疗法; 髓核再生

腰痛(low back pain, LBP)是一种临床常见症状, 在工业化国家, 其终生患病率约为 60%~70%, 不仅给人们带来极大痛苦, 也给社会造成了沉重的经济损失^[1]。随人类预期寿命的增加, 由腰痛引起的残疾和支出还将进一步增加。由于腰痛带来的巨大损失, 很有必要对腰痛的病理生理过程及治疗方法进行深入研究。约 40% 的慢性腰痛与椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)密切相关, 这类腰痛被称为椎间盘源性腰痛^[2]。目前针对椎间盘退变的治疗尚存在各种弊端, 暂无理想的治疗方法, 但随着基础研究的深入, 以椎间盘再生为导向的细胞疗法展现出较好的研究前景, 有望成为治疗 IDD 的新手段。本文对目前细胞疗法的已有研究展开综述, 以期对椎间盘退变的治疗提供更多研究思路。

一、椎间盘退变的原因与机制

椎间盘由髓核、纤维环和软骨终板组成。髓核中蛋白聚糖带有大量阴离子, 渗透压高, 可吸水膨胀将压缩负荷转化为对纤维环的拉伸作用, 纤维环则起到张力“皮肤”的作用以限制髓核膨胀^[3]。退行性椎间盘疾病源于遗传因素和环境之间的相互作用^[4]。年龄、吸烟、感染、遗传易感性、异常生物力学负荷、软骨终板营养供应减少等因素均可能导致椎间盘发生退变。椎间盘退变始于髓核, 早期改变为髓核中蛋白多糖降解增加^[5]。这使得髓核含水量降低, 生物力学性能减弱, 所能承担的压缩负荷减小, 更多负荷直接作用于纤维环^[3,4]。由于纤维环

的结构特点, 其抵抗压缩的能力远不如抵抗拉伸的能力, 因承受了较大的压缩负荷, 纤维环结构发生破坏^[4], 纤维环整体膨胀, 超过终板边界, 造成影像学上的椎间盘膨出。随病变进展, 内层纤维环先行破裂, 造成包裹性椎间盘突出, 进而外层纤维环也发生破裂, 髓核完全突破纤维环, 引起非包裹性椎间盘突出。凸入椎管或侧隐窝区域的髓核可能压迫马尾和神经根, 引起疼痛、运动障碍等症状。因椎间盘本身缺乏血液供应, 一旦变性、损伤, 很难自我修复^[6]。

二、治疗方法

1. 传统疗法

退行性椎间盘疾病的治疗手段包括非手术治疗和手术治疗, 首选非手术治疗, 无效时需考虑手术治疗。目前常用的治疗方法包括髓核等离子射频消融、臭氧治疗^[7]、突出髓核摘除、椎间融合术等。上述疗法虽然可消除疼痛, 但可能加速邻近节段椎间盘的退变, 导致相邻椎间盘病变。由此可见, 当前的治疗手段只能消除或缓解部分疼痛, 无法实现椎间盘再生和恢复正常的椎间盘功能, 且存在较多并发症, 弊端较为明显。

2. 细胞疗法

近年来, 对椎间盘退变病理生理学研究为椎间盘再生疗法开辟了新途径^[8]。髓核内常驻细胞通过维持细胞数量和细胞外基质以维持髓核的正常功能^[9], 而退变椎间盘以细胞减少、细胞外基质丢失和高度

* 基金项目: 国家自然科学基金(81972103、62077001); 首都卫生发展科研专项(2020-2-4091); 北京大学第三医院临床重点项目(BYSYZD2019001); 北京市科委, 医药创新品种研发培育及产业支撑平台能力建设项目(Z191100007619023)

△ 通信作者 祝斌 zhubin@bjmu.edu.cn; 刘晓光 xgliudocor@163.com



降低为标志^[10]。Buckwalter 等^[11]提出椎间盘退变与髓核细胞丢失有关,在各种因素作用下,髓核细胞功能减退,细胞外基质合成代谢和分解代谢之间的平衡被破坏,蛋白多糖含量减少,Ⅱ型胶原逐渐被Ⅰ型胶原取代,髓核组成成分改变^[12],椎间盘功能减退并可能引发盘源性腰痛。由于髓核细胞起到了维持椎间盘稳态的重要作用,细胞疗法为治疗退行性椎间盘疾病提供了一种潜在的解决方案^[12]。这种治疗策略是指将健康细胞输送到椎间盘中,以补充丢失的细胞并增加蛋白多糖和胶原的含量^[13],进而恢复椎间盘正常的组织结构和生物力学功能。

三、常用细胞类型

用健康细胞治疗椎间盘退变的目的是移植能够分泌功能性细胞外基质的细胞以恢复组织稳态,或移植具有免疫抑制和抗炎特性的干细胞治疗炎症^[8]。目前应用的细胞包括髓核细胞、间充质干细胞、椎间盘祖细胞、诱导性多能干细胞等(见表1)。

1. 髓核细胞

细胞疗法最先应用的细胞为自体髓核细胞(nucleus pulposus cells, NPCs)。Meisel 等^[14]从犬椎间盘中分离出髓核细胞,体外培养扩增后移植入自体椎间盘,结果表明移植的髓核细胞可存活,保持了原位增殖能力并产生了正常的细胞外基质。Meisel 等继而进行了一项为期2年的临床试验以评估自体椎间盘软骨细胞移植在人群中的长期疗效,结果显示接受髓核细胞移植的病人疼痛减轻,椎间盘含水量高于对照组。

然而NPCs移植存在诸多缺陷。椎间盘中细胞数量较低,其功能在退变过程中会逐渐减退^[15],退变椎间盘分离得到的髓核细胞表现出早衰和分解代谢表型^[16,17]。因此髓核细胞来源有限、质量欠佳,不是理想的细胞来源。同时自体椎间盘细胞移植技术仅适用于接受椎间盘切除手术的病人,在椎间盘退变的早期进行椎间盘细胞移植可能会取得更好效果,但对这些病人行椎间盘切除手术可能会加速退变。基于这些原因,NPCs并不适合作为移植细胞。

2. 间充质干细胞

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)

是一个多潜能细胞的异质性群体,具有多能性,可向成骨、成软骨、成脂肪等方向分化,有修复受损组织的潜力^[18],是目前在骨组织工程中应用最为广泛的成体干细胞。研究表明MSCs可分化为髓核细胞样表型,有望成为椎间盘修复的理想细胞来源。

(1)骨髓源性MSCs: Risbud 等^[19]发现,缺氧环境和转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)可使骨髓源性MSCs(bone marrow-derived mesenchymal stem cell, BM-MSCs)分化为髓核细胞样表型。Noriega 等^[20]的随机对照试验发现将BM-MSCs注入退变椎间盘后,病人的各项功能指标均有显著改善。Ukeba 等^[21]将兔BM-MSCs移植入退变椎间盘,发现BM-MSCs可向髓核细胞分化同时激活了内源性髓核细胞,椎间盘内生长因子和细胞外基质含量增加,椎间盘得以再生。在退变过程中炎症因子也发挥了重要作用^[3],MSCs可通过调节促炎和抗炎途径减缓细胞早衰^[22]。BM-MSCs能分泌细胞生长因子,抑制炎症反应,且疗效持久。Li 等^[23]将鼠BM-MSCs与退变髓核细胞共同培养,发现BM-MSCs可降低退变髓核细胞中 β -半乳糖苷酶和基质金属蛋白酶9的表达,下调TGF β /NF- κ B信号转导,增加Ⅱ型胶原和髓核细胞数量。这表明BM-MSCs可减轻炎症诱导的髓核细胞衰老并恢复髓核细胞的活性和功能。但该实验仅为体外初步研究,在体内复杂环境中MSCs能否发挥抗炎作用还需进一步验证。

(2)脂肪源性MSCs: 脂肪源性MSCs(adipose-derived mesenchymal stem cells, AD-MSCs)来源丰富,获取方式简便,可分化为脂肪细胞、软骨细胞、成骨细胞等,也有望成为治疗椎间盘退变的种子细胞。Tao 等^[24]发现,在Ⅱ型胶原的刺激下,AD-MSCs可分化为髓核样细胞。Zhou 等^[25]构建可注射水凝胶包裹AD-MSCs,注入大鼠尾椎,结果表明AD-MSCs可分化为髓核样细胞,促进大鼠尾椎髓核再生。Kumar 等^[26]的临床研究证实了AD-MSCs和HA衍生物联合注射疗法的安全性和耐受性:实验组病人疼痛改善,椎间盘含水量增加,初步验证了该疗法的有效性。Hua 等^[27]应用音猬因子通路激活剂

表1 目前常用的细胞优缺点总结如下

细胞	优点	缺点
自体髓核细胞	获取方式简便	细胞数量少、功能减退
间充质干细胞	来源丰富、应用广泛	细胞渗漏、增殖受限
椎间盘祖细胞	更好的分化潜能和适应能力	鉴定方法尚存争议
诱导性多能干细胞	再生潜力强	研究有限,致瘤风险



(smoothened agonist, SAG) 激活细胞上的 Shh 受体, 发现 SAG 与转化生长因子 $\beta 3$ (transforming growth factor- $\beta 3$, TGF- $\beta 3$) 联用可增加 AD-MSCs 的细胞外基质合成, 提高 NP 特异性标记基因和蛋白表达水平, 进而可改善退变 IVD 的高度、含水量、细胞外基质含量和结构, 有望用于治疗退行性椎间盘疾病。

尽管目前 MSCs 应用广泛, 也有很多积极的研究结果表明其在修复退变椎间盘方面很有希望, 但退变椎间盘低氧和炎症环境下的低细胞存活率、细胞渗漏可能导致赘生物形成等问题是目前 MSCs 治疗所面临的主要挑战^[28]。

(3) 椎间盘祖细胞: 椎间盘的微环境较为极端, 如营养缺乏、高渗透压和酸性 pH 等, 这些环境不利于细胞生存。Wuert 等^[29]发现移植到椎间盘内的 MSCs 基质蛋白表达和增殖下降。Risbud 等^[30]发现人退变椎间盘中存在祖细胞, 这意味着椎间盘中可能包含一个静止的祖细胞样群, 激活这些祖细胞可用于椎间盘的再生^[31]。由于 MSCs 是一种组织特异性多能祖细胞, 具有独特的表达谱, 反映了其起源和微环境^[32], 由此推测椎间盘祖细胞可能比非椎间盘来源的 MSCs 在髓核细胞分化方面具有更好的潜能以及更好的适应能力。Wang 等^[33]从大鼠尾部椎间盘分离出椎间盘祖细胞, 利用多肽修饰的水凝胶作为载体注入大鼠退变椎间盘, 发现椎间盘祖细胞能够存活至少 30 天并产生了再生效应。目前使用椎间盘祖细胞治疗退行性椎间盘疾病的人类首个 I 期临床试验正在进行中, 以进一步研究椎间盘祖细胞在椎间盘修复中的潜力, 并确定其在椎间盘再生方面是否优于 MSCs^[31]。

相较于 MSCs, 椎间盘祖细胞具有以下优点^[34]:

①一般取自椎间盘突出症病人的手术标本, 可避免分离其他类型 MSCs 所造成的损伤; ②在耐受椎间盘恶劣微环境方面优于其他 MSCs。

然而目前对椎间盘祖细胞的了解仍然很有限:

①对椎间盘祖细胞的生物学特性了解不多, 椎间盘祖细胞的表面标记仍然存在争议; ②如何简便、经济地分离出更纯净的椎间盘祖细胞仍有待探索; ③如何保护椎间盘祖细胞免受衰老、退化和恶劣微环境的影响尚未阐明^[34]。

(4) 诱导性多能干细胞: 诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 在多能性方面类似于胚胎干细胞, 但伦理问题较少。虽然 MSCs 是目前广泛应用于骨组织工程的种子细胞, 但其再生潜力似乎随年龄增长而下降, iPSCs 为解决这个问题提供了可行方案^[35]。目前应用 iPSCs 治疗椎间

盘退变主要有两个方面: 诱导其分化为脊索细胞或髓核样细胞。

分化为脊索细胞: 在青少年椎间盘中, 髓核内主要是脊索细胞, 成年后脊索细胞消失, 取而代之的是更小的软骨样细胞, 目前认为这些细胞由脊索细胞分化而来^[36-38]。McCann 等^[36]发现脊索细胞是成熟椎间盘髓核内所有细胞的胚胎前体细胞, 脊索细胞的耗竭可能会影响髓核的正常功能。脊索细胞在刺激髓核细胞合成糖胺聚糖和蛋白多糖方面起着重要作用^[39], 一些体外实验也表明脊索细胞可控制髓核细胞合成蛋白多糖, 有望成为治疗椎间盘退变的种子细胞。然而人类脊索细胞自童年时期开始消失, 来源有限, 不能作为种子细胞^[40]。Liu 等^[41]的体外实验发现, 人 iPSCs 在猪髓核组织基质中培养可分化为脊索细胞, 为大量生产高质量脊索细胞实现椎间盘再生提供了可能。Sheyn 等^[40]的可重复分化方案可使 iPSCs 分化为脊索细胞并在体内和体外保持表型至少 8 周, 在猪椎间盘退变模型中能够发挥保护作用。

分化为髓核样细胞: iPSCs 也可分化为髓核样细胞。Tang 等^[42]根据脊索细胞和髓核细胞的发育情况证实了一种可促进 iPSC 在体外分化为髓核样细胞的培养基补充方案, 这种髓核样细胞有再生椎间盘的潜力。Xia 等^[43]则采用了“两步走”方法: 第一步诱导 iPSCs 分化为中胚层细胞 (mesoblastic cells, MCs), 第二步诱导 MCs 分化为髓核样细胞, 将髓核样细胞注入大鼠尾椎间盘内治疗椎间盘退变。结果显示椎间盘高度恢复, 含水量增加, 髓核细胞及其细胞外基质部分恢复, 椎间盘退变得以逆转。

虽然 iPSCs 能克服 MSCs 的增殖受限或体外扩增后复制衰老等问题, 然而目前 iPSCs 应用于椎间盘再生的研究仍十分有限。同时 iPSCs 在分化过程中存在肿瘤形成风险, 目前仍不太可能在临床上广泛应用^[35]。尽管 iPSCs 为细胞疗法带来了巨大希望, 但在用于临床试验之前仍有一些安全问题需要考虑。

四、总结与展望

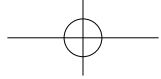
椎间盘退变的病理过程较为复杂, 目前尚未完全阐明。基于退变椎间盘内细胞数量减少、功能减退这一现象, 研究者希望通过补充椎间盘内细胞达到恢复正常细胞外基质, 逆转椎间盘退变这一目的。但目前仍有一些关键性问题尚待解决, 未来的研究应着眼于以下问题: ①细胞存活: 椎间盘内营养缺乏、渗透压高、pH 值低, 微环境较为极端, 同时椎间盘还需承担较大的压缩负荷, 这些不利因素为

细胞存活带来了巨大的挑战。然而目前的研究时间均较短,细胞能否在退变环境中长期存活尚不清楚;②动物模型:目前使用的动物模型均为人工诱导退变,与人类椎间盘自发退变的发病机制不同,同时动物椎间盘受力也与人类存在差异,仍需寻找合适的动物模型和造模方法以更真实的模拟人类椎间盘退变过程;③细胞来源:由于BM-MSCs的可获得性和增殖能力,目前普遍认为是椎间盘再生临床试验中的最佳供体细胞候选者,但仍不能忽视治疗过程中骨赘和肿瘤发生的可能性。其他类型细胞有可能是更好的功能性细胞来源,但仍需进一步研究以确定这些细胞用于椎间盘再生的益处和局限性;④支架材料:在细胞治疗中由于椎间盘内压力较高,直接注射细胞会导致细胞渗漏,需要支架材料的参与。理想情况下,支架材料应该能为细胞重新构建细胞外基质,刺激细胞增殖和分化^[44],同时支架材料还应该具有良好的力学性能以承担较重的压缩负荷。目前适合于椎间盘再生的理想支架材料仍在研究之中;⑤治疗时机:退行性椎间盘疾病的病程较长,需通过研究确定细胞治疗的合适时机。

虽然细胞治疗退行性椎间盘疾病的研究目前还主要集中在体外实验和动物实验方面,处于临床转化的早期阶段,但这些研究表明基于细胞疗法治疗椎间盘疾病已取得了一定进展。随着研究的不断深入,在不久的将来,细胞治疗有望成为一些椎间盘退变疾病病人的治疗选择。

参 考 文 献

- [1] Prince MJ, Wu F, Guo Y, *et al.* The burden of disease in older people and implications for health policy and practice[J]. *Lancet* (London, England), 2015, 385(9967):549-562.
- [2] Luoma K, Riihimäki H, Luukkonen R, *et al.* Low back pain in relation to lumbar disc degeneration[J]. *Spine*, 2000, 25(4):487-492.
- [3] Adams MA, Roughley PJ. What is intervertebral disc degeneration, and what causes it?[J]. *Spine*, 2006, 31(18):2151-2161.
- [4] Dowdell J, Erwin M, Choma T, *et al.* Intervertebral disk degeneration and repair[J]. *Neurosurgery*, 2017, 80(3S):S46-S54.
- [5] Ji ML, Jiang H, Zhang XJ, *et al.* Preclinical development of a microRNA-based therapy for intervertebral disc degeneration[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):5051.
- [6] 中华医学会疼痛学分会脊柱源性疼痛学组. 腰椎间盘突出症诊疗中国疼痛专家共识 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2020, 26(1):2-6.
- [7] 贺彬, 吴大胜. 臭氧髓核溶解术治疗腰椎间盘突出症的临床分析 [J]. *中国疼痛医学杂志*, 2020, 26(7):545-548.
- [8] Henry N, Clouet J, Le Bideau J, *et al.* Innovative strategies for intervertebral disc regenerative medicine: From cell therapies to multiscale delivery systems[J]. *Bio-technol Adv*, 2018, 36(1):281-294.
- [9] Li XC, Wang MS, Liu W, *et al.* Co-culturing nucleus pulposus mesenchymal stem cells with notochordal cell-rich nucleus pulposus explants attenuates tumor necrosis factor- α -induced senescence[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1):171.
- [10] Mohanty S, Dahia CL. Defects in intervertebral disc and spine during development, degeneration, and pain: New research directions for disc regeneration and therapy[J]. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*, 2019, 8(4):e343.
- [11] Buckwalter JA. Aging and degeneration of the human intervertebral disc[J]. *Spine*, 1995, 20(11):1307-1314.
- [12] de Vries S, Doeselaar Mv, Meij B, *et al.* Notochordal cell matrix as a therapeutic agent for intervertebral disc regeneration[J]. *Tissue Eng Part A*, 2019, 25(11-12):830-841.
- [13] Maidhof R, Rafiuddin A, Chowdhury F, *et al.* Timing of mesenchymal stem cell delivery impacts the fate and therapeutic potential in intervertebral disc repair[J]. *J Orthop Res*, 2017, 35(1):32-40.
- [14] Meisel HJ, Siodla V, Ganey T, *et al.* Clinical experience in cell-based therapeutics: Disc chondrocyte transplantation A treatment for degenerated or damaged intervertebral disc[J]. *Biomol Eng*, 2007, 24(1):5-21.
- [15] Sakai D, Grad S. Advancing the cellular and molecular therapy for intervertebral disc disease[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 84:159-171.
- [16] Evans C. Potential biologic therapies for the intervertebral disc[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88(Suppl 2): 95-98.
- [17] Richardson SM, Kalamegam G, Pushparaj PN, *et al.* Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: Focus on articular cartilage and intervertebral disc regeneration[J]. *Methods*, 2016, 99:69-80.
- [18] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, *et al.* Multi-lineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. *Science*, 1999, 284(5411):143-147.
- [19] Risbud MV, Albert TJ, Guttapalli A, *et al.* Differentiation of mesenchymal stem cells towards a nucleus pulposus-like phenotype in vitro: Implications for cell-based transplantation therapy[J]. *Spine*, 2004, 29(23):2627-2632.
- [20] Noriega DC, Ardura F, Hernández-Ramajo R, *et al.* Intervertebral disc repair by allogeneic mesenchymal bone marrow cells: A Randomized controlled trial[J]. *Transplantation*, 2017, 101(8):1945-1951.
- [21] Ukeba D, Sudo H, Tsujimoto T, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells combined with ultra-purified alginate gel as a regenerative therapeutic strategy after



- discectomy for degenerated intervertebral discs[J]. *EBioMedicine*, 2020, 53:102698.
- [22] Lerrer S, Liubomirski Y, Bott A, *et al.* Co-inflammatory roles of TGFβ1 in the presence of TNFα drive a pro-inflammatory fate in mesenchymal stem cells[J]. *Front Immunol*, 2017, 8:479.
- [23] Li X, Wu A, Han C, *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in three-dimensional co-culture attenuate degeneration of nucleus pulposus cells[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(20):9167-9187.
- [24] Tao Y, Zhou X, Liu D, *et al.* Proportion of collagen type II in the extracellular matrix promotes the differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells into nucleus pulposus cells[J]. *Biofactors*, 2016, 42(2):212-223.
- [25] Zhou X, Wang J, Fang W, *et al.* Genipin cross-linked type II collagen/chondroitin sulfate composite hydrogel-like cell delivery system induces differentiation of adipose-derived stem cells and regenerates degenerated nucleus pulposus[J]. *Acta Biomater*, 2018, 71:496-509.
- [26] Kumar H, Ha DH, Lee EJ, *et al.* Safety and tolerability of intradiscal implantation of combined autologous adipose-derived mesenchymal stem cells and hyaluronic acid in patients with chronic discogenic low back pain: 1-year follow-up of a phase I study[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):262.
- [27] Hua J, Shen N, Wang J, *et al.* Small molecule-based strategy promotes nucleus pulposus specific differentiation of adipose-derived mesenchymal stem cells[J]. *Mol Cells*, 2019, 42(9):661-671.
- [28] Hunt CL, Shen S, Nassr A, *et al.* Current understanding of safety and efficacy of stem cell therapy for discogenic pain-A systematic review of human Studies[J]. *Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management*, 2015, 19:32-37.
- [29] Wurtz K, Godburn K, Neidlinger-Wilke C, *et al.* Behavior of mesenchymal stem cells in the chemical microenvironment of the intervertebral disc[J]. *Spine*, 2008, 33(17):1843-1849.
- [30] Risbud MV, Guttapalli A, Tsai TT, *et al.* Evidence for skeletal progenitor cells in the degenerate human intervertebral disc[J]. *Spine*, 2007, 32(23):2537-2544.
- [31] Lyu FJ, Cheung KM, Zheng Z, *et al.* IVD progenitor cells: A new horizon for understanding disc homeostasis and repair[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2019, 15(2):102-112.
- [32] Lv F, Lu M, Cheung KMC, *et al.* Intrinsic properties of mesenchymal stem cells from human bone marrow, umbilical cord and umbilical cord blood comparing the different sources of MSC[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2012, 7(6):389-399.
- [33] Wang F, Nan LP, Zhou SF, *et al.* Injectable hydrogel combined with nucleus pulposus-derived mesenchymal stem cells for the treatment of degenerative intervertebral disc in rats[J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019:8496025.
- [34] Hu B, He R, Ma K, *et al.* Intervertebral disc-derived stem/progenitor cells as a promising cell source for intervertebral disc regeneration[J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018:7412304.
- [35] Sheyn D, Ben-David S, Shapiro G, *et al.* Human induced pluripotent stem cells differentiate into functional mesenchymal stem cells and repair bone defects[J]. *Stem Cells Translational Med*, 2016, 5(11):1447-1460.
- [36] McCann MR, Tamplin OJ, Rossant J, *et al.* Tracing notochord-derived cells using a Noto-cre mouse: implications for intervertebral disc development[J]. *Dis Model Mech*, 2012, 5(1):73-82.
- [37] Rodrigues-Pinto R, Ward L, Humphreys M, *et al.* Human notochordal cell transcriptome unveils potential regulators of cell function in the developing intervertebral disc[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):12866.
- [38] Mohanty S, Pinelli R, Pricop P, *et al.* Chondrocyte-like nested cells in the aged intervertebral disc are late-stage nucleus pulposus cells[J]. *Aging Cell*, 2019, 18(5):e13006.
- [39] Kadow T, Sowa G, Vo N, *et al.* Molecular basis of intervertebral disc degeneration and herniations: What are the important translational questions?[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2015, 473(6):1903-1912.
- [40] Sheyn D, Ben-David S, Tawackoli W, *et al.* Human iPSCs can be differentiated into notochordal cells that reduce intervertebral disc degeneration in a porcine model[J]. *Theranostics*, 2019, 9(25):7506-7524.
- [41] Liu Y, Rahaman MN, Bal BS. Modulating notochordal differentiation of human induced pluripotent stem cells using natural nucleus pulposus tissue matrix[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e100885.
- [42] Tang R, Jing L, Willard VP, *et al.* Differentiation of human induced pluripotent stem cells into nucleus pulposus-like cells[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1):61.
- [43] Xia K, Zhu J, Hua J, *et al.* Intradiscal injection of induced pluripotent stem cell-derived nucleus pulposus-like cell-seeded polymeric microspheres promotes rat disc regeneration[J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019:6806540.
- [44] Harmon MD, Ramos DM, Nithyadevi D, *et al.* Growing a backbone-functional biomaterials and structures for intervertebral disc (IVD) repair and regeneration: Challenges, innovations, and future directions[J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(5):1216-1239.