doi:10.11659/jjssx.02E025056

·基础研究·

脂肪间充质干细胞改善椎间盘髓核细胞衰老的机制研究

胡红涛,王 胜,赵司顺,王 生,滕海军 (山东第二医科大学附属医院脊柱外科/潍坊市脊柱外科微创脊柱内镜重点实验室,山东 潍坊 261000)

[**摘 要**] **目的** 探究脂肪间充质干细胞在氧化应激下衰老髓核细胞(NPC)中的作用及其介导凋亡调控的相关分子机制。**方法** 根据处理条件不同将NPC分为空白组(NPC组)、实验组(NPC+ADSC组)、氧化损伤模型组(NPC+H_2O_2组)、实验+氧化损伤组(NPC+ADSC+H_2O_2组)。通过CCK-8法确定合适的H_2O_2浓度以构建氧化损伤模型,然后通过β-半乳糖苷酶染色分析各组NPC衰老程度。免疫荧光检测NPC组和NPC+ADSC组细胞中Ⅱ型胶原(Collagen Ⅱ)和聚集蛋白聚糖(Aggrecan)的表达;Western blot分析各组NPC中P53、P16、P-Rb、SIRT1、FoxO1、p-FoxO1、β-catenin、Bax、Bcl-2、Caspase-3的蛋白表达水平。**结果** 与NPC+H_2O_2组相比,NPC+ADSC+H_2O_2组NPC衰老数量减少(P<0.05)。NPC与ADSC共培养后细胞中Collagen Ⅱ、Aggrecan蛋白表达增加(P<0.05)。Western blot检测发现,与ADSC共培养可以抑制H_2O_2诱导的NPC衰老相关蛋白(P53、P16及P-Rb)及线粒体凋亡相关蛋白(Bax及Caspase-3)的表达(P<0.05),而SIRT1、p-FoxO1及Bcl-2蛋白表达升高(P<0.05),FoxO1、β-catenin蛋白表达降低(P<0.05)。**结论** ADSC可以修复氧化应激导致的NPC线粒体损伤,抑制其细胞衰老,该过程可能与调控SIRT1/FoxO1/β-catenin信号通路有关。

[**关键词**] 脂肪间充质干细胞;髓核细胞;衰老;SIRT1/FoxO1;信号通路

[**中图分类号**] R34 [**文献标志码**] A [**收稿日期**] 2025-02-11

Mechanistic study of adipose-derived mesenchymal stem cell ameliorating nucleus pulposus cell senescence

HU Hong-tao, WANG Sheng, ZHAO Si-shun, WANG Sheng, TENG Hai-jun (Department of Spinal Surgery, Affiliated Hospital of Shandong Second Medical University/Weifang Key Laboratory of Minimally Invasive Spinal Endoscopy for Spine Surgery, Weifang Shandong 261000, China)

Abstract: Objective To explore the role of adipose-derived mesenchymal stem cells in nucleus pulposus cell (NPC) senescence induced by oxidative stress and the related molecular mechanisms mediating apoptosis regulation. **Methods** The NPCs were divided into the blank group (NPC group), experimental group (NPC+ADSC group), oxidative damage model group (NPC+H_2O_2 group), experimental+oxidative damage group (NPC+ADSC+H_2O_2 group) according to the different treatment conditions. The appropriate concentration of H_2O_2 was determined by the CCK-8 method to construct the oxidative damage model, and then the senescence degree of NPCs in each group was analyzed by β-galactosidase staining. The expressions of Collagen Ⅱ and Aggrecan were detected in the NPC and NPC+ADSC groups by immunofluorescence. The expression levels of P53, P16, P-Rb, SIRT1, FoxO1, p-FoxO1, β-catenin, Bax, Bcl-2, Caspase-3 proteins in each group were detected by Western blot. **Results** Compared with the NPC+H_2O_2 group, the number of aging NPCs in the NPC+ADSC+H_2O_2 group was decreased (P<0.05). After co-culture with ADSC, the expressions of Collagen Ⅱ and Aggrecan proteins in NPCs were increased (P<0.05). Western blot results showed that co-culture with ADSC could inhibit the expression of aging-related proteins (P53, P16 and P-Rb) and mitochondrial apoptosis-related proteins (Bax and Caspase-3) in NPCs induced by H_2O_2 (P<0.05), and the expressions of SIRT1, p-FoxO1 and Bcl-2 proteins increased (P<0.05), the expressions of FoxO1 and β-catenin proteins decreased (P<0.05). **Conclusion** ADSC can repair oxidative stress-induced mitochondrial damage in NPC and inhibit its cellular senescence, the process that may be related to the regulation of the SIRT1/FoxO1/β-catenin signaling pathway.

Keywords: adipose-derived mesenchymal stem cells; nucleus pulposus cell; senescence; SIRT1/FoxO1; signaling pathway

腰背痛是临床脊柱外科中的常见疾病,造成了巨大的社会问题和经济负担。椎间盘退变是导致腰背痛的主要病理原因,其核心环节在于髓核细胞(nucleus pulposus cell, NPC)的功能异常与衰老[1]。NPC作为维持椎间盘稳态的关键效应细胞,通过合成蛋白多糖和Ⅱ型胶原(CollagenⅡ)等细胞外基质成分,保障髓核组织的粘弹性及力学缓冲功能[2]。然而,随着年龄增长及机械应力累积,NPC逐渐呈现衰老表型,表现为增殖能力下降、衰老相关β-半乳糖苷酶活性升高及p16INK4a/p21等衰老标志物表达上调[3]。这种细胞衰老进程不仅导致细胞外基质代谢失衡,还会

[**基金项目**] 山东省医药卫生技术计划(编号202304070701);潍坊市卫生健康委员会项目(WFWSJK-2023-025)

[**通信作者**] 滕海军,E-mail:tenghaijun89@163.com

引发促炎因子和基质降解酶的异常分泌,形成衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP),进而加速椎间盘退变的恶性循环[4]。

目前临床上主要采用手术治疗由椎间盘退变引起的腰背痛,但手术仅仅是去除退变的椎间盘,无法做到修复和减缓椎间盘退变[5]。近年来,针对NPC衰老的干预策略成为研究热点。研究表明,雷帕霉素可通过激活自噬延缓氧化应激诱导的NPC衰老[6],而沉默p53/p21通路则能部分恢复衰老NPC的增殖能力[7]。尽管骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell, BMSC)的旁分泌效应被证实可改善NPC微环境,但其来源受限且成软骨分化能力不足等问题仍制约着其在临床中的应用[8]。而脂肪间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cell, ADSC)因其易获取性、强增殖能力及丰富的旁分泌活性,在组织修复领域展现出独特优势[9]。研究证实,ADSC外泌体可通过传递miR-31-5p抑制NPC凋亡[10],但其调控细胞衰老的具体分子机制,特别是对线粒体功能障碍、端粒酶活性及表观遗传调控网络的影响仍不明确。因此,深入探讨ADSC对NPC衰老的改善机制,可能为临床治疗提供新的思路和方法。本研究通过构建体外NPC衰老模型,系统探讨ADSC对衰老相关表型的逆转作用,以期阐明ADSC调控椎间盘退变的新机制,也为开发基于细胞治疗的精准干预策略提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞来源

大鼠NPC购自普诺赛生命科技有限公司(批号:CP-R145);大鼠ADSC购自海星生物科技有限公司(批号:ADRS-C106)。

1.2 试剂和仪器

DMEM/F-12培养基(美国Gibco),胎牛血清(上海碧云天),PBS缓冲液(美国Gibco),胰酶消化液(美国Gibco),Transwell小室(中国MERCK),3%H_2O_2(德国Sigma),CCK-8试剂盒(中国Biosharp),β-半乳糖苷酶染色试剂盒(上海碧云天)。倒置荧光显微镜(德国LEICA,型号DMi8),多功能酶标仪(瑞士Tecan,Spark 20M),凝胶成像仪(美国Bio-Rad)。一抗:SIRT1抗体、FoxO1抗体、p-FoxO1抗体(美国CST),β-catenin抗体(中国Biodragon),Collagen Ⅱ抗体、聚集蛋白聚糖(Aggrecan)抗体、GAPDH抗体(中国Proteintech),P53抗体、P16抗体、P-Rb抗体、Bax抗体、Bcl-2抗体、Caspase-3抗体(中国ABclonal)。二抗:辣根酶标记山羊抗兔IgG抗体、辣根酶标记山羊抗鼠IgG抗体(中国中杉金桥),荧光二抗(上海碧云天)。

1.3 细胞培养及细胞衰老模型建立

在5% CO_2、37 ℃的培养箱中培养NPC和ADSC,观察细胞形态,细胞贴壁率约80%时进行传代、接种和冻存。按1∶2的比例进行传代,每隔1~2 d换液1次,待细胞传至第3代时开始进行实验操作。采用不同浓度的H_2O_2进行造模(0、100、200、300、400、500、600、700、800 μmol/L),H_2O_2处理24 h后,采用CCK-8法检测NPC的细胞活性,选出合适浓度的H_2O_2构建NPC衰老模型。

1.4 构建ADSC/NPC共培养体系及实验分组

利用Transwell小室构建细胞共培养体系,首先将ADSC植于上层的Transwell小室内,待细胞贴壁后,再于下层孔板中接种NPC。细胞接种密度均为1×10^5/mL。然后根据处理方式将细胞分为空白组(NPC组)、实验组(NPC+ADSC组)、氧化损伤模型组(NPC+H_2O_2组)、实验+氧化损伤组(NPC+ADSC+H_2O_2组)。其中NPC+ADSC组、NPC+ADSC+H_2O_2组细胞接种于Transwell小室中,NPC组、NPC+H_2O_2组细胞接种于普通孔板中,每隔1~2 d换液1次,同时显微镜下观察,待培养细胞融合约80%时,使用浓度为400 μmol/L的H_2O_2进行处理,24 h后对NPC进行检测。

1.5 细胞衰老相关β-半乳糖苷酶染色检测

将培养液从细胞培养板中吸除,用PBS清洗1次,然后每孔加入1 mL β-半乳糖苷酶染色固定液,在室温下固定15 min后,吸除固定液,再用PBS洗涤3次,然后每孔加入配制好的染色工作液1 mL。用保鲜膜封住细胞培养板,置于37 ℃烘箱中孵育过夜,第2天取出后在普通光学显微镜下观察,每组随机取3个视野拍照并进行统计分析。

1.6 免疫荧光检测NPC组和NPC+ADSC组细胞中Collagen Ⅱ和Aggrecan的表达

将细胞爬片放置到Transwell小室下层孔板中,上层小室内接种ADSC,下层细胞爬片上接种NPC,细胞接种密度均为1×10^5/mL,接种比例为1∶1。待共培养24 h后取出Transwell小室,吸除下层孔板中培养基,用4%多聚甲醛固定细胞10 min,然后用PBS冲洗3次,再用0.2% Triton X-100通透10 min,PBS冲洗3次,用5%BSA室温封闭30 min,然后加入Collagen Ⅱ及Aggrecan一抗于4 ℃孵育过夜,吸除一抗,PBS冲洗3次,加荧光二抗孵育1 h,PBS冲洗3次。最后使用DAPI室温孵育1 min染色细胞核,PBS冲洗3次,将细胞爬片取出后封闭,荧光显微镜依次拍照。

1.7 Western blot检测蛋白表达

收集细胞,每孔加入200 μL含蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液,冰上裂解10 min,将裂解完全的细胞收集起来,于4 ℃以1 200 r/min离心15 min,收集上清液,使用BCA蛋白定量法对细胞裂解液进行定量,每管加入50 μL 5×loading buffer,金属浴加热10 min。根据定量结果,将样品加入到10%SDS-PAGE凝胶样品槽内开始电泳,电泳完成后转入PVDF膜上,用5%脱脂奶粉封闭60 min,然后加入一抗SIRT1(1∶1 000)、FoxO1(1∶1 000)、p-FoxO1(1∶1 000)、β-catenin(1∶2 000)、P-Rb(1∶1 000)、P53(1∶1 000)、P16(1∶2 000)、Caspase-3(1∶1 000)、Bax(1∶1 000)、Bcl-2(1∶1 000),4 ℃孵育过夜,次日取出膜后,用TBST清洗3次,加入二抗室温孵育90 min,TBST清洗3次后取出,在膜上滴加配好的显影液,置于凝胶成像系统中曝光成像。实验独立重复3次。

1.8 统计分析

数据采用Graph Prism 9.0软件进行统计学分析并制图,使用Photoshaop CS处理图片并使用Adobe Illustrator进行编辑组图。计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用t检验或*Mann-Whitney*检验,$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NPC氧化损伤模型造模浓度测定

为了在体外建立NPC衰老模型,将NPC培养在含有不同浓度H_2O_2的培养基中。当H_2O_2浓度低于200 μmol/L时,细胞毒性作用几乎检测不到;而较高浓度(300~400 μmol/L)H_2O_2对NPC增殖产生剂量依赖性抑制作用;过高浓度(500~600 μmol/L)H_2O_2可导致NPC明显死亡,H_2O_2对NPC的IC_{50}=428 μmol/L,实验最终选择H_2O_2 400 μmol/L为造模浓度,见图1。

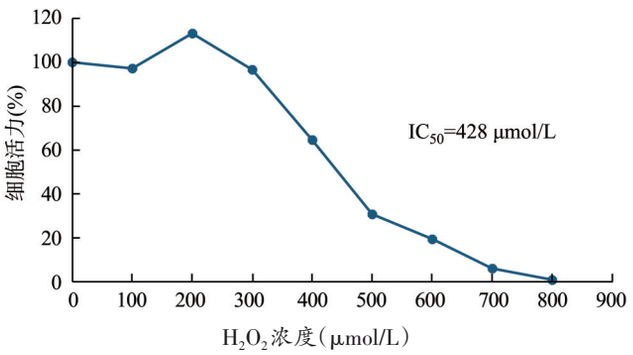


图1 CCK-8法检测H_2O_2作用于NPC的IC_{50}浓度

2.2 NPC衰老相关染色分析

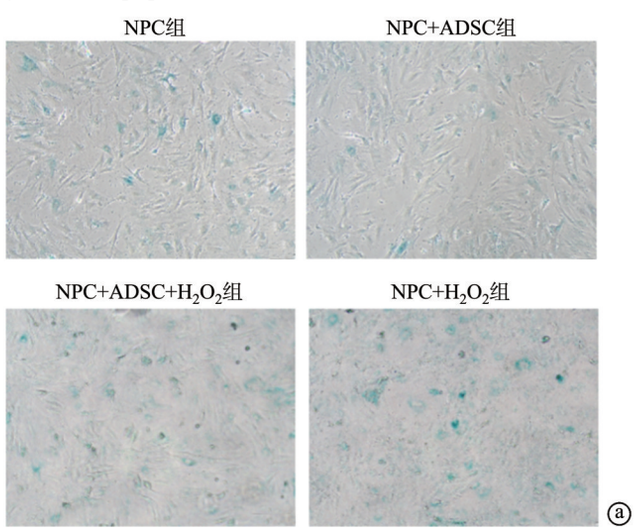
β-半乳糖苷酶染色表明,与ADSC共培养后显著减少了由H_2O_2造成的NPC中的SASP($P<0.05$),见图2。

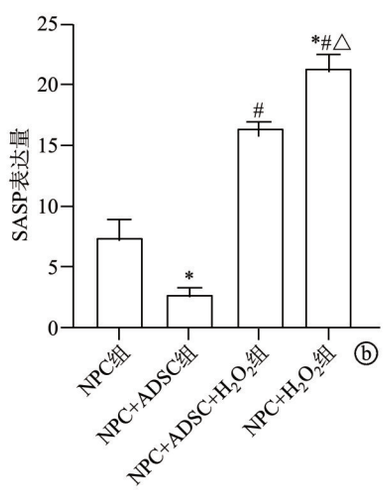
2.3 ADSC调节NPC中Collagen Ⅱ和Aggrecan的表达

免疫荧光法发现,与ADSC共培养后,NPC中Collagen Ⅱ和Aggrecan的表达增加($P<0.05$),Collagen Ⅱ和Aggrecan在细胞外基质中蓄积以保持细胞活性,见图3。

2.4 Western blot检测各组NPC中细胞衰老相关蛋白表达

与NPC组相比,NPC+H_2O_2组P16、P53及P-Rb蛋白表达水平升高($P<0.05$),表明H_2O_2刺激会导致NPC衰老;与NPC+H_2O_2组相比,NPC+ADSC+H_2O_2组P16、P53及P-Rb水平降低($P<0.05$),表明ADSC可以明显改善NPC的衰老,见图4。



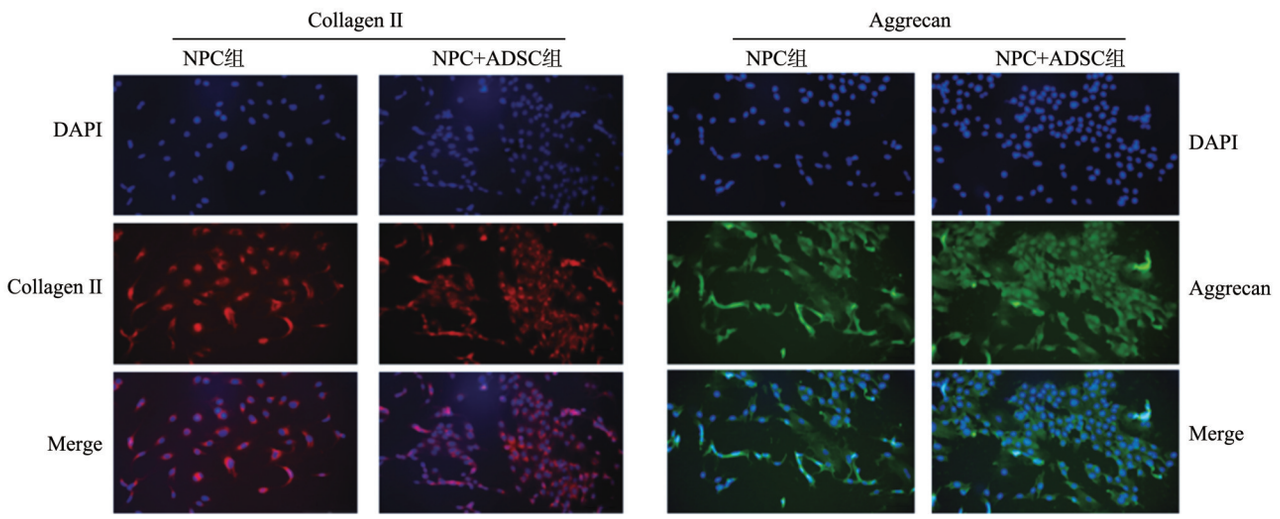


a:NPC镜下视野(×100);b:NPC中SASP表达量 *:与NPC组比较,$P<0.05$;#:与NPC+ADSC组比较,$P<0.01$;△:与NPC+ADSC+H_2O_2组比较,$P<0.05$

图2 β-半乳糖苷酶染色分析

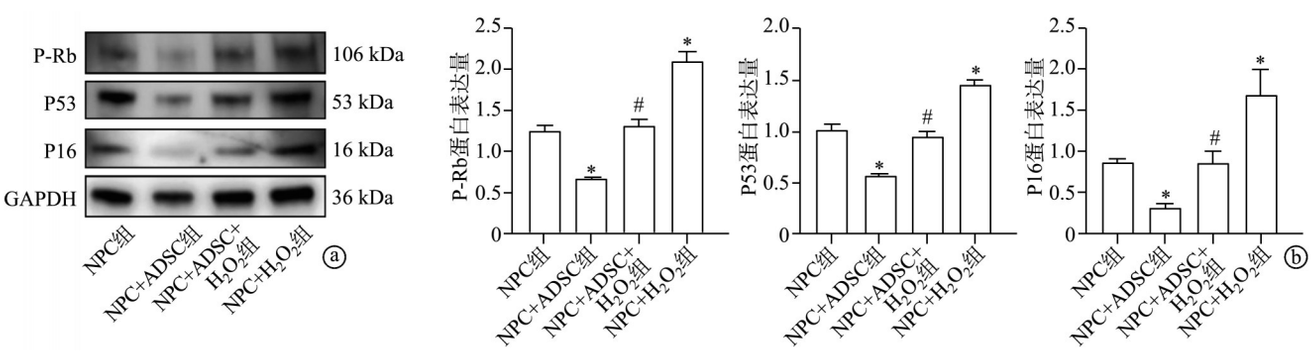
2.5 Western blot检测各组NPC中凋亡相关基因的蛋白表达

为了进一步探究H_2O_2诱导的促凋亡作用，本研究检测了凋亡相关基因的蛋白表达水平。与NPC组相比，NPC+H_2O_2组细胞中Bax、Caspase-3的蛋白表达升高（$P<0.05$），Bcl-2的蛋白表达降低（$P<0.05$）；与NPC+H_2O_2组相比，NPC+ADSC+H_2O_2组细胞中Bax、Caspase-3蛋白表达受到抑制（$P<0.05$），Bcl-2的蛋白表达升高（$P<0.05$）。这表明ADSC能够影响NPC的凋亡水平。同时我们检测了与增殖和分化相关的SIRT1/FoxO1/β-catenin蛋白通路的表达。与NPC组相比，NPC+H_2O_2组中FoxO1和β-catenin蛋白表达增加，SIRT1和p-FoxO1蛋白表达减少（$P<0.05$）；与NPC+H_2O_2组相比，NPC+ADSC+H_2O_2组细胞中SIRT1、p-FoxO1蛋白表达升高（$P<0.05$），FoxO1和β-catenin蛋白表达下降（$P<0.05$）。H_2O_2可通过SIRT1/FoxO1/β-catenin通路促进NPC的线粒体凋亡，并且ADSC能够逆转这一过程，见图5。



红色荧光：Collagen II；绿色荧光：Aggrecan；蓝色荧光：DAPI染色细胞核

图3 免疫荧光检测NPC中Collagen Ⅱ和Aggrecan表达和定位(×100)



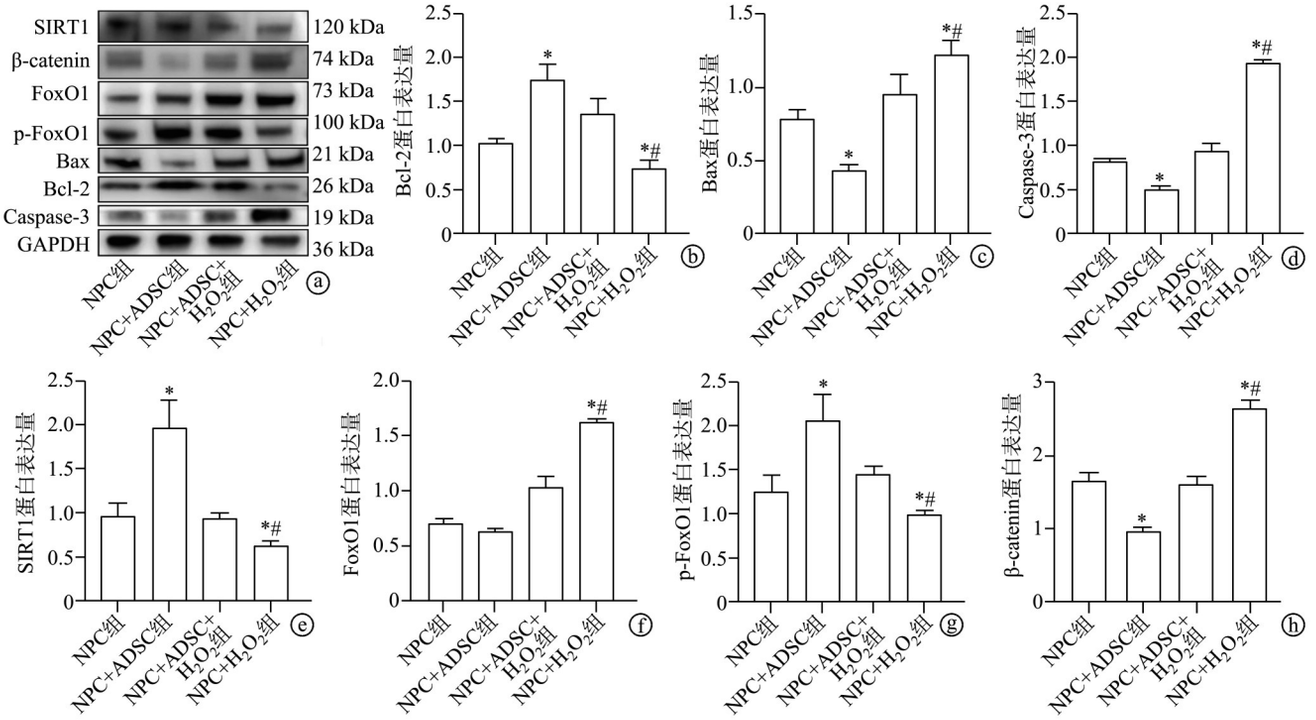
a：蛋白电泳条带图；b：蛋白定量统计 *：与NPC组比较，$P<0.05$；#：与NPC+H_2O_2组比较，$P<0.05$

图4 各组NPC中衰老相关蛋白表达情况

3 讨论

本研究通过H_2O_2预处理的NPC构建细胞衰老模型来观察椎间盘退变，并建立ADSC与NPC共培养体系观察其对NPC退变的影响，结果表明，在细胞衰老模型中衰老相关蛋白（P16、P53）和SASP表达增加；与此同时，与ADSC共培养可改善NPC的衰老状况并抑制细胞凋亡；进一步实验发现，ADSC主要是通过SIRT1/FoxO1/β-catenin信号通路在椎间盘退变中对NPC起保护作用。

NPC是椎间盘组织中最重要的功能性细胞，其在体内利用氧进行代谢，主要副产物为ROS。过量ROS介导的氧化应激通过各种信号通路造成NPC损伤，而细胞外基质降解会增加NPC内的ROS含量，同时加剧细胞衰老并上调P53和P16的表达，进而加速椎间盘退变的发生[11]。研究发现，通过将间充质干细胞植入椎间盘细胞基质中，能够有效实现椎间盘的重新填充并恢复其组织功能[12-13]。因此，细胞治疗作为一种新型疗法应用于椎间盘退变，已引起广泛的学术关注。



a:蛋白电泳条带图;b:Bcl-2蛋白表达;c:Bax蛋白表达;d:Caspase-3蛋白表达;e:SIRT1蛋白表达;f:FoxO1蛋白表达;g:p-FoxO1蛋白表达;h:β-catenin蛋白表达 *:与NPC组比较,$P<0.05$;#:与NPC+ADSC+H_2O_2组比较,$P<0.05$

图5 各组NPC中凋亡相关基因蛋白表达情况

这一发现为椎间盘退行性疾病的治疗提供了新的研究方向。Yoshikawa等[14]采用BMSC治疗2例椎间盘退变的老年患者发现,患者治疗后椎间盘衰老及损伤程度显著减轻。另一项研究报道了通过注射BMSC治疗10例椎间盘退变患者,其中9例(90%)患者临床症状得以改善,在继续注射BMSC治疗12个月后,患者疼痛视觉模拟量表和Oswestry功能障碍指数评分均得到持续改善[15]。ADSC在人体内来源丰富且易获取,其可以分泌生物活性因子以改善氧化应激引起的细胞损伤,并可以向NPC分化[16]。研究显示,ADSC与表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate,EGCG)共培养后,可通过p-Akt通路提高细胞存活率,并经由SIRT1途径改善线粒体功能。此外,共培养还能增加脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor,BDNF)的可用性,并通过核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor 2,Nrf2)和血红素氧合酶1(heme oxygenase 1,HO-1)途径增强ADSC在皮层组织中的抗氧化活性,从而促进衰老大脑的功能恢复和神经保护[17]。另一方面,ADSCs通过诱导miR-128-3p/SIRT1介导的自噬,有效促进了糖尿病小鼠的伤口愈合[18]。本研究发现将ADSC与NPC共培养不仅可修复氧化损伤的NPC,抑制其衰老,还可以抑制NPC中线粒体凋亡,该过程可能与调控SIRT1/FoxO1/β-catenin信号通路有关。

SIRT1作为一种氧化还原敏感蛋白,不仅在调节细胞氧化应激中发挥作用,而且其本身也受到氧化应激的调控[19]。已有研究表明,SIRT1通过促进自噬关键蛋白LC3B与凋亡受体Fas之间的相互作用,阻止Fas介导的凋亡通路的过度激活,从而维持细胞在压缩应激下的存活能力[20]。本研究观察到,经H_2O_2预处理的NPC中SIRT1的表达水平呈梯度下降,在此过程中与衰老相关的蛋白P16和P53的表达增加,而通过激活SIRT1可逆转这一现象。为了进一步确认SIRT1在氧化应激中的作用,本研究通过β-半乳糖苷酶染色观察了NPC的SASP表达情况,证实了SIRT1对NPC衰老的抑制作用。

研究表明,SIRT1能够直接对FoxO转录因子(如FoxO1、FoxO3a和FoxO4)进行去乙酰化[21]。SIRT1的充分过表达可通过FoxO1和β-catenin信号通路抑制成骨细胞凋亡[22]。FoxO1是一种关键的调节因子,可促进成骨细胞中的蛋白质合成,并在抗氧化应激中发挥重要作用。β-catenin的激活可诱导细胞衰老,并且其亚细胞定位受SIRT1去乙酰化的影响[23]。本研究发现,SIRT1的激活可诱导NPC中FoxO1的去乙酰化,进而调节FoxO1/β-catenin信号通路,与上述研究一致;相反,β-catenin未被激活是受到了功能性抑制,从而

减轻了NPC的衰老进程;此外,用H_2O_2处理的NPC中β-catenin表达显著增加,而与ADSC共培养的NPC细胞中β-catenin表达受到抑制,这表明SIRT1通过介导FoxO1抑制β-catenin表达,进而减轻NPC线粒体凋亡,从而达到减缓细胞衰老的目的。

综上所述,与ADSC共培养能够显著改善氧化应激诱导的NPC衰老表型,该保护作用是通过调控SIRT1/FoxO1/β-catenin信号通路实现的。此外,与ADSC共培养可以激活SIRT1,进而通过延缓细胞衰老进程来抑制NPC的凋亡。但本研究存在一定局限性,仅在细胞层面上进行研究,还需在退行性髓核组织和动物模型中进一步验证。目前,用ADSC注射疗法修复椎间盘还处于实验研究,但具有巨大的发展潜力,下一步我们将对ADSC进行干预,使其类髓核化,并用于修复氧化损伤后的NPC,或是利用生物材料复合ADSC注射于退变的椎间盘组织中进行动物实验,以期能更好地治疗椎间盘退变。

[参考文献]

[1] 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. doi: 10.1007/s11916-019-0757-1.

[2] Vergroesen PPA, Kingma I, Emanuel KS, et al. Mechanics and biology in intervertebral disc degeneration: a vicious circle [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2015, 23(7): 1057-1070. doi: 10.1016/j.joca.2015.03.028.

[3] Novais EJ, Tran VA, Miao J, et al. Comparison of inbred mouse strains shows diverse phenotypic outcomes of intervertebral disc aging [J]. Aging Cell, 2020, 19(5): e13148. doi: 10.1111/acel.13148.

[4] Nakamichi R, Asahara H. The transcription factors regulating intervertebral disc development [J]. JOR Spine, 2020, 3(1): e1081. doi: 10.1002/jsp2.1081.

[5] Eisenstein SM, Balain B, Roberts S. Current treatment options for intervertebral disc pathologies [J]. Cartilage, 2020, 11(2): 143-151. doi: 10.1177/1947603520907665.

[6] Bowles RD, Setton LA. Biomaterials for intervertebral disc regeneration and repair [J]. Biomaterials, 2017, 129: 54-67. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.03.013.

[7] Kang L, Liu S, Li J, et al. Parkin and Nrf2 prevent oxidative stress-induced apoptosis in intervertebral endplate chondrocytes via inducing mitophagy and anti-oxidant defenses [J]. Life Sci, 2020, 243: 117244. doi: 10.1016/j.lfs.2019.117244.

[8] Sakai D, Andersson GBJ. Stem cell therapy for intervertebral disc regeneration: obstacles and solutions [J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(4): 243-256. doi: 10.1038/nrrheum.2015.13.

[9] Zhang Y, Wang Y, Zhou X, et al. Osmolarity controls the differentiation of adipose-derived stem cells into nucleus pulposus cells via histone demethylase KDM4B [J]. Mol Cell Biochem, 2020, 472(1-2): 157-171. doi: 10.1007/s11010-020-03794-8.

[10] Wang B, Xu N, Cao L, et al. miR-31 from mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles alleviates intervertebral disc degeneration by inhibiting NFAT5 and upregulating the Wnt/β-catenin pathway [J]. Stem Cells Int, 2022: 2164057. doi: 10.1155/2022/2164057.

[11] Bhujel B, Shin HE, Choi DJ, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes and intervertebral disc regeneration: review [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7306. doi: 10.3390/ijms23137306.

[12] Zhao Y, Qin Y, Wu S, et al. Mesenchymal stem cells regulate inflammatory milieu within degenerative nucleus pulposus cells via p38 MAPK pathway [J]. Exp Ther Med, 2020, 20(5): 22. doi: 10.3892/etm.2020.9150.

[13] 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. doi: 10.1080/15384101.2020.1769301.

[14] Yoshikawa T, Ueda Y, Miyazaki K, et al. Disc regeneration therapy using marrow mesenchymal cell transplantation: a report of two case studies [J]. Spine, 2010, 15, 35(11): E475-E480. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181cd2cf4.

[15] Li M, Li R, Yang S, et al. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells prevent acidic pH-induced damage in human nucleus pulposus cells [J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e922928. doi: 10.12659/MSM.922928.

[16] Chen TS, Liao WY, Huang CW, et al. Adipose-derived stem cells preincubated with green tea EGCG enhance pancreatic tissue regeneration in rats with type 1 diabetes through ROS/Sirt1 signaling regulation [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6): 3165. doi: 10.3390/ijms23063165.

[17] Hsieh DJY, Marte L, Kuo WW, et al. Epigallocatechin-3-gallate preconditioned adipose-derived stem cells confer neuroprotection in aging rat brain [J]. Int J Med Sci, 2020, 17(13): 1916-1926. doi: 10.7150/ijms.46696.

[18] Shi RF, Jin YP, Hu WW, et al. Exosomes derived from mmu_circ_0000250-modified adipose-derived mesenchymal stem cells promote wound healing in diabetic mice by inducing miR-128-3p/SIRT1-mediated autophagy [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2020, 318(5): C848-C856. doi: 10.1152/ajpcell.00041.2020.

[19] Li M, Li RY, Yang SD, et al. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells prevent acidic ph-induced damage in human nucleus pulposus cells [J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e922928. doi: 10.12659/MSM.922928.

[20] Zhuo Y, Wang H, Zou L, et al. SIRT1 attenuates apoptosis of nucleus pulposus cells by targeting interactions between LC3B and Fas under high-magnitude compression [J]. Oxid Med Cell Longev, 2021: 2420969. doi: 10.1155/2021/2420969.

[21] Santos BF, Grenho I, Martel PJ, et al. FOXO family isoforms [J]. Cell Death Dis, 2023, 14(10): 702. doi: 10.1038/s41419-023-06177-1.

[22] Iyer S, Han L, Bartell SM, et al. Sirtuin1 (Sirt1) promotes cortical bone formation by preventing β-catenin sequestration by FoxO transcription factors in osteoblast progenitors [J]. J Biol Chem, 2014, 289(35): 24069-24078. doi: 10.1074/jbc.M114.561803.

[23] Yao H, Yao Z, Zhang S, et al. Upregulation of SIRT1 inhibits H_2O_2-induced osteoblast apoptosis via FoxO1/β-catenin pathway [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(5): 6681-6690. doi: 10.3892/mmr.2018.8657.

(编辑:杨 颖)