

椎间盘纤维环组织工程的研究进展

刘兰涛¹, 朱瑜洁², 黄 博¹, 周 跃¹

(1 第三军医大学附属新桥医院骨科 400037 重庆市; 2 四川航空股份有限公司飞行部航医室 610017 四川省成都市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2011.08.15

中图分类号: R318.01 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2011)-08-0695-04

椎间盘退变性疾病是现代生活中一种常见病和多发病, 是引起腰痛最常见的病因, 也是引起劳动力丧失的最常见病因之一, 严重影响患者生活质量。目前对于椎间盘退变性疾病的治疗主要集中在髓核, 以纤维环为治疗目的研究较少, 且研究多集中于纤维环组织工程方面。笔者就椎间盘纤维环组织工程的相关研究综述如下。

1 纤维环的结构和功能

纤维环是组成椎间盘的一个重要结构, 起着限制髓核突出, 维持髓核内部压力等重要功能。纤维环主要由 15~25 层定向排列的胶原纤维片层按同心圆的方式排列组成。同一层的胶原纤维互相平行, 每层胶原纤维与椎体纵轴成 60°角, 且任一相邻片层的胶原纤维排列方向都是相反的。胶原纤维片层之间分布着排列方向与片层胶原纤维方向一致的弹力蛋白, 一部分弹力蛋白穿过片层起着桥接作用^[1]。除了弹力蛋白, 片层之间还有蛋白聚糖聚合物和起着片层间粘合作用的链接成分复合物, 这些物质共同加强了纤维环的机械力学性能^[1,2]。根据细胞和化学构成特点, 纤维环可分为内层纤维环和外层纤维环。外层纤维环主要是 I 型胶原, 细胞呈梭形, 并且具有较长的突起相连, 内层纤维环和髓核主要为 II 型胶原, 细胞突起少, 胞体扁平, 呈软骨样细胞^[3-5]。纤维环的这种组成结构有利于纤维环承受更大的负荷以及维持纤维环片层间的稳固。纤维环片层的特殊排列、胶原纤维的方向以及分布在片层间的细胞外基质决定了纤维环具有坚固抗张力的生物力学特性, 从而使椎间盘更加适应作用在脊柱上的复杂应力^[6]。

2 退变纤维环的特点

纤维环退变主要表现在结构和组成成分的改变。在动物实验中观察老年大鼠椎间盘纤维环中, 纤维片层数量减少, 内层纤维环厚度的增加, 并且片层中的纤维束也变得不规则。同时, 纤维环退变也表现在纤维环细胞数量减少、活性降低、胶原纤维增粗、蛋白聚糖减少和弹力纤维消失^[7]。这些结构性和成分性的变化使得纤维环抗负荷和抗扭曲性能明显降低, 最终导致纤维环撕裂、龟裂和疝出等。前瞻性研究报道在退变性纤维环中, 纤维断裂, 单个纤维

增粗, 纤维间隙增大, 这些变化均可改变正常纤维环的生物机械学特性^[8]。同时, Gruber 等^[9]认为纤维环退变过程中纤维环细胞数量的减少会导致细胞间信息传递丢失, 从而干扰细胞正常功能。纤维环退变与髓核退变密切相关, 且纤维环的退变也可能加速椎间盘的退变, 因此, 构建具生理功能的纤维环对预防和减缓椎间盘退变意义重大。

3 种子细胞

种子细胞指经过培养、存活、增殖, 最后形成组织的原始细胞, 用于组织工程的细胞应具有以下特点: 具有特定的分化表型或定向分化潜能; 不引发移植排斥反应, 具备较强的传代繁殖能力; 取材方便等。根据椎间盘纤维环的结构和组成, 适合用于组织工程的细胞有纤维环细胞、间充质干细胞(如脐血、骨髓、脂肪、肌肉、肌腱和关节软骨来源的干细胞等)、成纤维细胞等, 而目前研究比较多的是纤维环细胞和间充质干细胞^[4,10]。

3.1 纤维环细胞

纤维环细胞(annulus fibrosus cells)是目前研究中最常用的种子细胞。所用的纤维环细胞主要来源于人类^[10]和动物(大鼠^[11]、牛^[12]、犬^[13]和羊^[14]等)的椎间盘组织。但是在应用过程中需要考虑到以下问题: 纤维环细胞对力学效应比较敏感, 体外培养时, 适当的拉力有助于产生更多的细胞外基质; 周期性拉力作用于纤维环细胞能够增加 II 型胶原和蛋白聚糖的表达, 降低基质金属蛋白酶的表达^[15]。尽管纤维环在运动过程中主要承受拉伸应变, 但同时也承受部分流体静压, 尤其是内层纤维环。Reza 等^[16]进一步分析了在三维培养基中周期性流体静压对外层纤维环细胞和内层纤维环细胞的影响, 结果表明两种细胞在流体静压作用下 II 型胶原表达明显增加, 而且流体静压促进了外层纤维环细胞分泌细胞外基质以及胶原的沉积。椎间盘的微环境对细胞的表型起着重要的作用, 故为了获得足够的自体细胞数量, 培养过程中还要尽量保持细胞表型不变^[15,17]。单层培养对细胞的影响比较大。Chou 等^[18]研究了绵羊椎间盘内层和外层纤维环细胞在单层培养过程中的变化, 他发现前两代细胞与原代细胞没有明显区别并且外层纤维环细胞主要高表达 I 型胶原, 内层纤维环主要表达 II 型胶原, 但随着传代次数增加, 尤其是六代以后两种细胞在形态学上没有区别, 都呈纤维母细胞样, 而且外层纤维环细胞 I 型胶原的表达降低, II 型胶原表达在二者均降低。三维培养

基能够模拟体内微环境,能够保持细胞表型,因此研究和应用较为广泛。Chou 等^[18]将内层纤维环细胞和外层纤维环细胞在藻酸盐培养基中培养 14 天,发现两种细胞在细胞形态、基因表达及蛋白表达方面无差异。类似的三维培养基还有琼脂糖、胶原凝胶、纤维蛋白、胶原基质等。

3.2 间充质干细胞

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是具有自我更新能力且在适宜微环境下具有多向分化潜能的原始细胞。MSCs 能从脐血、骨髓、关节软骨、肌肉、肌腱和脂肪等多种组织获得,它源于自体,无需配型,无抗原性,是组织工程中重要的种子细胞之一。Weiler 等^[19]研究发现部分纤维环细胞具有间充质干细胞的性质,不仅可以诱导分化为骨细胞、脂肪细胞和软骨细胞,还可以分化为上皮细胞和神经细胞。这种具有多向分化性质的纤维环细胞可用于原位诱导以及应用这种细胞进行组织工程纤维环的研究。Nerurkar 等^[20]将 MSCs 接种于静电纺丝纤维支架,在转化生长因子 $\beta 3$ 的作用下诱导产生工程化的纤维软骨样结构,结果表明 MSCs 可以产生纤维软骨样细胞外基质,通过与自身化学成分的比较发现,氨基葡聚糖和胶原含量与自身组织基本一致,而且构建的工程组织具有良好的机械性能,这意味着 MSCs 可能会成为纤维软骨样组织工程(组织工程纤维环)的细胞来源。而且动态培养方法能提高 MSCs 向平齐排列纺丝纤维的渗透,增加了胶原沉积量,从而增强了工程组织的抗张力系数^[21]。尽管 MSCs 在适宜环境和细胞因子的作用下可以分化为骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、上皮细胞和神经细胞等,但是还没有明确的研究表明, MSCs 在何种条件下可以分化为纤维软骨样细胞;由于没有特异性的标记物来区分纤维环细胞和 MSCs,鉴定 MSCs 是否分化为纤维环细胞还有一定困难^[4]。

4 支架材料

由于纤维环结构构成复杂,构建符合生理功能的多层纤维环具有较大的挑战性,但是通过组织工程支架有望能解决这一问题^[2]。目前常用的组织工程支架材料可分为天然生物材料、人工合成材料以及复合材料三大类。

4.1 天然材料

天然生物材料具有优良的生物相容性,作为细胞外基质成分的衍生物,材料本身具有与细胞相互作用的能力和可降解性,如胶原、藻酸盐、琼脂糖、壳聚糖、明胶、纤维蛋白、脱钙脱细胞骨基质等。Shao 等^[13]报道藻酸盐/壳聚糖复合支架能够维持纤维环细胞的形态并且能够监测到细胞外基质的产生。Sato 等^[22]将兔纤维环细胞植入胶原制成的蜂窝形支架材料中,结果证实此种支架可以维持纤维环细胞的表型并且能够产生大量细胞外基质,将接种纤维环细胞的支架植入到破损椎间盘后,在局部还能够产生透明样软骨。潘勇^[23]以兔脱钙脱细胞股骨髁骨基质环为支架、纤维环细胞为种子细胞构建复合纤维环,结果表明此种支架不仅能够维持纤维环细胞的表型特点,合成与自身纤维

环组织一致的细胞外基质,还具有一定的柔韧性,可适应适当扭曲,因此在一定程度上脱钙脱细胞股骨髁骨基质环可作为纤维环支架材料^[23]。虽然天然支架优点较多,但天然生物材料降解速度不易控制、会带来异种生物的病毒基因、抗原性消除不确定等问题,尤其是不能模拟纤维环牢固的生物力学性能,使其应用受到限制。

4.2 合成材料

合成材料力学性能较好、可降解、能通过结构及分布的改变调控降解速度,结构和性能可人为修饰,如聚乙醇酸、聚乳酸、聚己酸内酯、聚碳酸酯及聚氨酯等,可较好的满足纤维环的结构和功能需要,因此目前关于组织工程纤维环的研究多集中在合成材料上。Mizuno 等^[14]将纤维环细胞接种于聚乙醇酸/聚乳酸材料并植入裸鼠体内,随着时间的推移,纤维环细胞 I 型胶原的表达逐渐增加,同时细胞外基质的合成也增加,到 12 周时,氨基葡聚糖含量已接近自身纤维环,羟脯氨酸含量亦升高。Nerurkar^[24]将牛纤维环细胞接种于纳米聚己酸内酯合成的纤维支架上培养 8 周并通过机械力学、生物化学和形态学的分析证实纤维环细胞沉积在纤维环支架内,并且有足量的胶原和硫酸氨基葡聚糖沉淀,随着培养时间的延长,这种材料能够承受一定的剪切力和轴向负荷。次年, Nerurkar 等^[25]又将 MSCs 接种于由聚己酸内酯制成的各向异性纳米纤维多层支架材料中体外培养 10 周,结果发现富含胶原的细胞外基质沉积在这些支架片层中,而且在角度、多层结构和力学性能上能够模拟自身纤维环。Johnson 等^[26]报道纤维环细胞比髓核细胞更容易在聚己酸内酯材料上生长和移行,因此他们认为聚己酸内酯支架材料更适用于做纤维环组织工程。Helen 等^[27]将牛纤维环细胞接种于 D-L-多聚乳酸/Bioglass 复合泡沫材料中培养 4 周,结果表明这种复合泡沫材料能够模拟纤维环细胞生长的微环境,并且增强了细胞增殖,促进了硫酸氨基葡聚糖、I 型胶原和 II 型胶原的产生,因此 D-L-多聚乳酸/Bioglass 复合泡沫材料可以较好的作为组织工程纤维环的支架材料。以上这些人工合成材料显示出了很好的生物相容性和力学特点,明显促进了纤维环细胞和/或 MSCs 细胞外基质的产生,但这些支架材料都未加入化学基团修饰,加入化学基团修饰的支架材料能够提高细胞的粘附和细胞外基质的产生^[28]。有研究^[29,30]比较了纤维环细胞接种于含有二羟基低聚物阴离子的聚碳酸酯聚氨酯纳米纤维支架和单纯聚碳酸酯聚氨酯纳米纤维支架细胞粘附和细胞外基质产生的情况,结果表明二羟基低聚物阴离子可以提高聚碳酸酯聚氨酯纳米纤维支架的表面能量,进而增加纤维环细胞的粘附力和胶原的聚积,并且这种材料具有较好的生物相容性、降解性、弹性和无毒性,还能电离为结构和方向与自身纤维环相似的纤维片层,因此加入二羟基低聚物阴离子的聚碳酸酯聚氨酯纳米纤维支架更适合做纤维环组织工程的支架材料。而 Chang 等^[31]比较了纤维环细胞接种于精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸肽链修饰的多孔蚕丝支架和未加修饰蚕丝支架上细胞粘附和

细胞外基质生成的情况,但是精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸肽链修饰的支架并没有增加纤维环细胞的粘附力和胶原的聚积。这可能与细胞对不同支架特异性反应、细胞来源物种、修饰基团以及细胞分泌因子等有关^[31]。静电纳米纺丝材料是近来兴起的新型材料,具有良好的机械力学性质、孔隙率、生物相容性和降解性,并且能够模仿自身胶原纤维的结构和形态,因而是应用价值较高的组织工程材料^[32-33]。Nerurkar 和 Nesti 等^[30,34]报道将 MSCs 接种于静电纳米纤维支架材料中来模拟纤维环,结果表明细胞外基质在材料中聚积,并且随着时间的延长,聚积量也增加,并且细胞外基质分布与自身组织细胞外基质分布相似,因此静电纳米纤维支架材料满足在结构和功能上重建纤维环。尽管合成材料在模拟纤维环结构有很大优越性,但是合成材料也存在一些问题:如不具备生物活性、缺乏细胞识别信号、可引起无菌性炎症等。

4.3 复合材料

复合材料是由两种或两种以上不同材料优化组合而成。单一类型材料一般难以满足组织工程支架材料的要求,因此在近年来的研究中,常通过一定的方法将几种单一材料复合,如透明质酸与纳米纤维支架复合(hyaluronic acid-nanofibrous scaffold, HANFS)^[34]、纤维结合蛋白和聚氨酯复合(fibronectin-poly-carbonate-urethane, FC-PU)^[35]、脱钙骨基质凝胶和聚己内酯三醇苹果酸复合(demineralized bone matrix gelatin-polycaprolactone triol malate, dB-MG-PPCLM)^[36]等。复合材料比单一合成材料能显著增强抗压强度,提高张应力,不仅具有较好的力学特性,还能维持纤维环细胞表型,显著增加细胞外基质的合成^[36]。

5 生长因子

生长因子可通过旁分泌和/或自分泌方式作用于不同区域的正常或退变的组织细胞,具有促进细胞有丝分裂、细胞分化和基质合成的作用。在组织工程研究中,常用到的生长因子主要有骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein/osteogenic protein, BMP/OP)^[37]、转化生长因子- β (transforming growth factor, TGF- β)^[38]、基本成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)^[39]、生长分化因子-5(growth and differentiation factor-5, GDF-5)^[40]、血小板样生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)^[41]等。而目前研究最为广泛的生长因子主要是骨形态发生蛋白和转化生长因子- β 。

虽然组织工程纤维环的研究取得了令人兴奋的结果,但是还是存在一些问题:还没有明确的纤维环细胞表型特异的标志物,因此,建立比较稳定的体外细胞模型还较困难;外层纤维环和内层纤维环的细胞形态不同,这种形态差异是否影响纤维环的功能还不明确;体外构建的组织工程纤维环能否达到天然纤维环生物力学特性;而且如何才能将组织工程纤维环植入体内并固定;伦理问题等。随着对纤维环结构和功能、纤维环细胞表型和椎间盘退变

机制的认识不断深入以及新型生物材料的研制,组织工程纤维环为从生理功能上修复退变椎间盘、治疗退变性椎间盘疾病,带来了美好前景。

6 参考文献

1. Yu J, Winlove PC, Roberts S, et al. Elastic fibre organization in the intervertebral discs of the bovine tail [J]. J Anat, 2002, 201(6):465-475.
2. Pezowicz CA, Robertson PA, Broom ND. The structural basis of interlamellar cohesion in the intervertebral disc wall [J]. J Anat, 2006, 208(3):317-330.
3. Bruehlmann SB, Rattner JB, Matyas JR, et al. Regional variations in the cellular matrix of the annulus fibrosus of the intervertebral disc [J]. J Anat, 2002, 201(2):159-171.
4. Melrose J, Smith SM, Little CB, et al. Recent advances in annular pathobiology provide insights into rim-lesion mediated intervertebral disc degeneration and potential new approaches to annular repair strategies [J]. Eur Spine J, 2008, 17(9):1131-1148.
5. Chou AI, Bansal A, Miller GJ, et al. The effect of serial monolayer passaging on the collagen expression profile of outer and inner annulus fibrosus cells [J]. Spine, 2006, 31(17):1875-1881.
6. Holzapfel GA, Schulze-Bauer CA, Feigl G, et al. Single lamellar mechanics of the human lumbar annulus fibrosus [J]. Biomech Model Mechanobiol, 2005, 3(3):125-140.
7. Postacchini F, Belloci M, Massobrio M. Morphologic changes in annulus fibrosus during aging. An ultrastructural study in rats [J]. Spine, 1984, 9(6):596-603.
8. Gruber HE, Hanley EN Jr. Ultrastructure of the human intervertebral disc during aging and degeneration: comparison of surgical and control specimens [J]. Spine, 2002, 27(8):798-805.
9. Gruber HE, Ma D, Hanley EN Jr, et al. Morphologic and molecular evidence for gap junctions and connexin 43 and 45 expression in annulus fibrosus cells from the human intervertebral disc [J]. J Orthop Res, 2001, 19(5):985-989.
10. Helen W, Gough JE. Cell viability, proliferation and extracellular matrix production of human annulus fibrosus cells cultured within PDLA/Bioglass composite foam scaffolds in vitro [J]. Acta Biomater, 2008, 4(2):230-243.
11. Wan Y, Feng G, Shen FH, et al. Novel biodegradable poly(1,8-octanediol malate) for annulus fibrosus regeneration [J]. Macromol Biosci, 2007, 7(11):1217-1224.
12. Nerurkar NL, Elliott DM, Mauck RL. Mechanics of oriented electrospun nanofibrous scaffolds for annulus fibrosus tissue engineering [J]. J Orthop Res, 2007, 25(8):1018-1028.
13. Shao X, Hunter CJ. Developing an alginate/chitosan hybrid fiber scaffold for annulus fibrosus cells [J]. J Biomed Mater Res A, 2007, 82(3):701-710.
14. Mizuno H, Roy AK, Vacanti CA, et al. Tissue-engineered composites of annulus fibrosus and nucleus pulposus for intervertebral disc replacement [J]. Spine, 2004, 29(12):1290-1297.

15. Neidlinger-Wilke C, Wurtz K, Liedert A, et al. A three-dimensional collagen matrix as a suitable culture system for the comparison of cyclic strain and hydrostatic pressure effects on intervertebral disc cells[J]. *J Neurosurg Spine*, 2005, 2(4):457-465.
16. Reza AT, Nicoll SB. Hydrostatic pressure differentially regulates outer and inner annulus fibrosus cell matrix production in 3D scaffolds[J]. *Ann Biomed Eng*, 2008, 36(2):204-213.
17. Wang JY, Baer AE, Kraus VB, et al. Intervertebral disc cells exhibit differences in gene expression in alginate and monolayer culture[J]. *Spine*, 2001, 26(16):1747-1751.
18. Chou AI, Reza AT, Nicoll SB. Distinct intervertebral disc cell populations adopt similar phenotypes in three-dimensional culture[J]. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14(12):2079-2087.
19. Feng G, Yang X, Shang H, et al. Multipotential differentiation of human annulus fibrosus cells: an in vitro study [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2010, 92(3):675-685.
20. Nerurkar NL, Han W, Mauck RL, et al. Homologous structure-function relationships between native fibrocartilage and tissue engineered from MSC-seeded nanofibrous scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(2):461-468.
21. Nerurkar NL, Sen S, Baker BM, et al. Dynamic culture enhances stem cell infiltration and modulates extracellular matrix production on aligned electrospun nanofibrous scaffolds [J]. *Acta Biomater*, 2011, 7(2):485-491.
22. Sato M, Kikuchi M, Ishihara M, et al. Tissue engineering of the intervertebral disc with cultured annulus fibrosus cells using atelocollagen honeycomb-shaped scaffold with a membrane seal (ACHMS scaffold)[J]. *Med Biol Eng Comput*, 2003, 41(3):365-371.
23. 潘勇, 周跃, 郝勇, 等. 脱矿脱细胞骨基质环支架体外构建组织工程化椎间盘纤维环[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2009, (06):451-457.
24. Nerurkar NL, Mauck RL, Elliott DM. ISSLS prize winner: integrating theoretical and experimental methods for functional tissue engineering of the annulus fibrosus[J]. *Spine*, 2008, 33(25):2691-2701.
25. Nerurkar NL, Baker BM, Sen S, et al. Nanofibrous biologic laminates replicate the form and function of the annulus fibrosus[J]. *Nat Mater*, 2009, 8(12):986-992.
26. Johnson WE, Wootton A, El HA, et al. Topographical guidance of intervertebral disc cell growth in vitro: towards the development of tissue repair strategies for the annulus fibrosus[J]. *Eur Spine J*, 2006, 15 (Suppl 3):S389-S396.
27. Helen W, Merry CL, Blaker JJ, et al. Three-dimensional culture of annulus fibrosus cells within PDLLA/Bioglass composite foam scaffolds: assessment of cell attachment, proliferation and extracellular matrix production[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(11):2010-2020.
28. Chen J, Altman GH, Karageorgiou V, et al. Human bone marrow stromal cell and ligament fibroblast responses on RGD-modified silk fibers [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2003, 67(2):559-570.
29. Yang L, Kandel RA, Chang G, et al. Polar surface chemistry of nanofibrous polyurethane scaffold affects annulus fibrosus cell attachment and early matrix accumulation [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2009, 91(4):1089-1099.
30. Yeganegi M, Kandel RA, Santerre JP. Characterization of a biodegradable electrospun polyurethane nanofiber scaffold: mechanical properties and cytotoxicity[J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(10):3847-3855.
31. Chang G, Kim HJ, Kaplan D, et al. Porous silk scaffolds can be used for tissue engineering annulus fibrosus [J]. *Eur Spine J*, 2007, 16(11):1848-1857.
32. Li WJ, Laurencin CT, Caterson EJ, et al. Electrospun nanofibrous structure: a novel scaffold for tissue engineering [J]. *J Biomed Mater Res*, 2002, 60(4):613-621.
33. Bhattarai SR, Bhattarai N, Yi HK, et al. Novel biodegradable electrospun membrane scaffold for tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2004, 25(13):2595-2602.
34. Nesti LJ, Li WJ, Shanti RM, et al. Intervertebral disc tissue engineering using a novel hyaluronic acid-nanofibrous scaffold (HANFS) amalgam[J]. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14(9):1527-1537.
35. Attia M, Santerre JP, Kandel RA. The response of annulus fibrosus cell to fibronectin-coated nanofibrous polyurethane-anionic dihydroxyoligomer scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(2):450-460.
36. Wan Y, Feng G, Shen FH, et al. Biphasic scaffold for annulus fibrosus tissue regeneration[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(6):643-652.
37. Takegami K, An HS, Kumano F, et al. Osteogenic protein-1 is most effective in stimulating nucleus pulposus and annulus fibrosus cells to repair their matrix after chondroitinase ABC-induced in vitro chemonucleolysis [J]. *Spine J*, 2005, 5(3):231-238.
38. Gruber HE, Fisher EC Jr, Desai B, et al. Human intervertebral disc cells from the annulus: three-dimensional culture in agarose or alginate and responsiveness to TGF-beta1[J]. *Exp Cell Res*, 1997, 235(1):13-21.
39. Le MCL, Richardson SM, Baird P, et al. Expression of receptors for putative anabolic growth factors in human intervertebral disc: implications for repair and regeneration of the disc[J]. *J Pathol*, 2005, 207(4):445-452.
40. 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.
41. Pratsinis H, Kletsas D. PDGF, bFGF and IGF-I stimulate the proliferation of intervertebral disc cells in vitro via the activation of the ERK and Akt signaling pathways [J]. *Eur Spine J*, 2007, 16(11):1858-1866.

(收稿日期: 2011-1-19 修回日期: 2011-2-28)

(本文编辑 刘彦)