

趋化因子SDF-1在脂肪间充质干细胞向 血管内皮细胞分化过程中的作用

赖德芳 王 青 刘东军*

(内蒙古大学生命科学学院, 省部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室, 呼和浩特 010070)

摘要 近年来, 研究发现, 组织的局部缺血、肾功能不全、癌症、心脑血管等疾病的发生都与血管发生病变有着密切的联系。因此, 使病变的血管减少并恢复正常的功能一度成为细胞学领域的热点。目前研究发现, 来源于脂肪组织的脂肪间充质干细胞(adipose derived stem cells, ADSCs)能被有效地诱导成为血管内皮细胞(vessel endothelial cells, VECs), 并且诱导过程中具有关键作用的趋化因子也不断地被发现, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, bFGF)、类胰岛素一号增长因子(insulin-like growth factors-1, IGF-1)、基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1/CXCL12)等; 诱导因子的含量、诱导时间都直接影响着结果; 体外培养的ADSCs也可以分泌一定含量的趋化因子来进一步促进血管的形成。该文对近年来关于趋化因子SDF-1对血管生成影响的相关研究进行了综述, 希望为模式动物的建立及人类疾病的研究提供理论依据。

关键词 脂肪间充质干细胞; 血管内皮细胞; 趋化因子SDF-1; 诱导

The Effects of Chemokine SDF-1 on ADSCs Differentiation into VECs

Lai Defang, Wang Qing, Liu Dongjun*

(State Key Laboratory of Reproductive Regulation & Breeding of Grassland Livestock,
College of Life Sciences of Inner Mongolia University, Hohhot 010070, China)

Abstract Recently years, many researches demonstrate that tissues ischemia, renal insufficiency, cancer, heart and cerebral vessels diseases etc. are tightly related with vascular lesion. Therefore, reduce the vascular lesion and recover their normal function have been accepted as the hot topic of cytology. Adipose derived stem cells (ADSCs) derived from adipose tissues could be efficiently induced to vessel endothelial cells (VECs) *in vitro*, and more significant factors (chemokine) have been found during this process, such as VEGF, bFGF, IGF-1, SDF-1 (CXCL12) etc.. Angiopoiesis results are affected by chemokine content and induction period. Furthermore, chemokine secreted by ADSCs also can promote the rates of angiopoiesis *in vitro*. The effects of the chemokine SDF-1 on angiopoiesis are summarized in this article in recent years. This article provides a theoretical references for the relative animal models establishment and human diseases research.

Keywords adipose derived stem cells; vessel endothelial cell; chemokine SDF-1; induction

生命的持续可以说与血管密切相关, 因而血管的状态也直接影响着生命体的各种特征的维持。由

于与血管相关的疾病非常复杂, 为此, 近年来医学领域在不断研究血管的一系列特征以及发生机制, 希

收稿日期: 2017-10-13

接受日期: 2018-01-26

*通讯作者. Tel: 13074744389, E-mail: nmlidongjun@sina.com

Received: October 13, 2017

Accepted: January 26, 2018

*Corresponding author. Tel: +86-13074744389, E-mail: nmlidongjun@sina.com

网络出版时间: 2018-05-21 16:29:53

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180521.1629.008.html>

望通过人为手段调控血管的状态,甚至操控血管的生成,达到治疗相关疾病的目的。到目前为止,人为干预血管生成的手段还不尽成熟,生成的血管也不够稳定,但在血管形成过程的研究中不断有新的作用因子和关键信号通路被发现。通过它们,或许将对人类进一步掌控血管发生过程,进而治疗相关疾病提供重要的理论依据。

1 血管的生成与血管内皮细胞间的关系

心脑血管疾病、组织器官局部缺血、伤口愈合组织再生、癌症等疾病都与血管有着密不可分的联系。因此,针对血管的研究一直都是相关研究领域的热点^[1-3]。对于一些疾病,形成新的血管网络来补充足够的血流量是最有效的治疗手段^[4]。而稳定血管的形成是个极其复杂的过程,是基于多种生理基础和病理活动之上的。生理学中的血管生成是迅速而又短暂地被严格控制的过程,而病理学中的血管生成,是发生在慢性炎症和肿瘤发生过程中的,因此,过程中极易造成血管的不平衡调节^[5]。近年来,研究发现,无论处于何种条件下,血管内皮细胞(vessel endothelial cells, VECs)的迁移、扩展和存活是形成血管功能性网络的重要一环;血管生成需要VECs的定向迁移,VECs或其他类型的细胞从较低浓度的介质迁移到更高浓度的介质的能力,被称为趋化性^[6]。20世纪80年代初的报告显示,人体组织提取物、肿瘤衍生因子及化合物如成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, bFGF)、内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、肝素和纤维蛋白均能够诱导VECs趋化^[7-8]。此外,一组小蛋白质通过G蛋白-偶联受体(称为趋化因子)传递信号,具有诱导内皮细胞趋化的能力^[9]。进一步的研究表明,骨髓(bone marrow, BM)来源的造血干细胞除了对血管周围环境的作用外,其中含有的血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)已被证实是成人新生血管形成的主要来源;成人外周血中的EPCs最初是Asahara^[10]在1997年发现的,EPCs在缺血性损伤后血管修复中起着重要作用,其在培养基中产生的内皮样细胞,是类似于胚胎血管细胞而贴壁生长的一种长梭状细胞,能分泌形成含有独特因子的细胞外基质(extracellular matrix, ECM),释放出的小分子介质对血管周围其他细胞的增殖及迁移起决定作用,进而促进血管网的形成^[11]。但其详细

机理至今仍不十分清楚,有待进一步研究。在文章“内皮前体细胞促进肝癌中血管的生成”中首次证明了EPCs通过分化成肝细胞内的血管内皮细胞进而促进血管生成的重要作用。在肿瘤微环境中,EPCs被大量释放到血流中,与血管壁合并,分化为内皮细胞,专门用于形成肿瘤组织^[12];同时,文中提到,EPCs的去除严重抑制了血管生成肿瘤的生长和转移,这表明,EPCs为血管的新生提供结构支援,在肿瘤生长的早期阶段,EPCs对内皮细胞迁移和增殖具有重要的作用^[13]。继Asahara观察后,其他几项研究表明,EPCs对心肌缺血和梗死、肢体缺血、创面愈合、动脉粥样硬化、内源性内皮修复和小鼠和人类肿瘤的新生血管形成等过程均有贡献^[14-15]。然而,成熟EPCs的增殖能力相对有限,在目前的文献中,EPCs分化为VECs的比例被发现有很大的差异,从0到90%,并且成人外周血中EPCs的分离和培养通常繁琐耗时且效率低下^[16]。为此,我们非常希望通过一种微创技术来大量获得有助于血管生成的内皮细胞或其祖细胞并通过移植用于体外组织工程的研究。脂肪组织在人体中是丰富的,被认为是组织修复和再生的一个有吸引力和丰富的干细胞来源。研究发现,EPCs大量存在于脂肪组织中。由于人体脂肪组织丰富,通过微创方法可以很容易地获得^[17];脂肪间充质干细胞(adipose derived stem cells, ADSCs)是存在于脂肪中的一种多功能间充质基质细胞(MSCs),易于获得,容易培养,并能自我更新分化为不同的细胞类型,特别是内皮细胞和维管细胞。此外,许多促进血管生成因子的分泌,并没有受到免疫排斥的影响,ADSCs被认为是治疗性新生血管治疗的最佳选择^[18];同时,血管内皮细胞的存活对于形成稳定的新生血管同样至关重要。在人体血管内皮细胞周围所处的微环境中还存在血管平滑肌细胞、纤维原细胞、巨噬细胞、上皮细胞等,这些在学术上统称为周皮细胞或血管周围的间叶细胞,这些细胞与血管的形成也是密不可分的。如果单独将内皮细胞注入到小鼠体内,所形成的具有功能性的血管在体积与数量上却十分有限,移植后因缺少稳定的细胞管壁层成分的保护,不仅导致没能建立形成稳定的成熟脉管系统,而且血管内皮细胞形成的微血管逐渐趋向退化,进而死亡^[19]。因此,内皮细胞与间叶细胞及骨髓来源的间叶基质细胞都能有效促进血管的形成。一方面,通过参与形成毛细血管壁来维持血管内的稳态;另一方面,在疾病发

生过程中扮演结构和功能的调节者。

2 脂肪间充质干细胞促进血管的生成

现阶段, 获得成熟稳定的内皮细胞方法主要有两种: 从组织中直接分离获得内皮细胞与在成体或胚胎干细胞中添加诱导因子使其定向诱导分化为内皮细胞。近年来, 研究人员利用包括人外周血、骨髓等组织中的内皮祖细胞, 来源于胚胎的内皮细胞以及骨髓间充质干细胞等, 定向诱导分化成血管内皮细胞进行心血管、肢体缺血性疾病或者组织工程血管化的研究^[20-21]。ADSCs是涉及到脂肪间充质干细胞或脂肪组织来源的基质细胞, 为成体干细胞, 具有自我更新、多向分化的能力^[22]; 体外环境中, 脂肪来源的间叶基质细胞、MSCs都可以被分化成为血管^[23]; 现已证明, 从成体分离的干细胞能够持续保存^[24]。ADSCs不仅满足MSCs的能力[(1)在体外特定条件下具有分化成骨、成软骨、成脂肪的能力; (2)在标准培养条件下具有贴壁能力; (3)不表达造血细胞系的表面标志]之外, 还有分泌、营养、支持和免疫的功能^[25]。另外, 其来源丰富、产出量高, 体外可长期培养, 经多次传代后仍保持遗传性状的稳定, 可较好地满足常规细胞移植的需要。相比骨髓衍生的MSCs而言, 脂肪源性的ADSCs有更小的侵袭性, 因此有望成为临床应用中良好的种子细胞^[26]。实验发现, 在急性或慢性局部缺血的动物模型内注射脂肪组织来源的干细胞可以有效改善左心室功能; 给后肢局部缺血的小鼠静脉或肌肉注射ADSCs, 供血情况可明显改善^[27]。再者, ADSCs驻留于血管壁内, 并呈现出一定的血管周膜细胞特性, 对于组织损伤的修复和血管稳态的维持有着重要作用; 其过程可以总结为以下几方面。首先, 这些细胞产生多种血管生成因子, 如VEGF、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、IGF、血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)等, 激活血管内皮细胞的迁移和增殖, 并使祖细胞形成新的血管^[28-29]; 在相同接种密度、培养时间和条件下, 相较于基础培养液, 使用ADSCs上清作为VECs的条件培养液(ADSCs-ECM)更有助于其增殖及管状结构的形成^[30]。其次, ADSCs分泌的纤溶酶原激活剂和基质蛋白酶可以形成新的ECM模型, 而这些游离在液体中的因子是细胞迁移和形成血管壁所必需的。再者, ADSCs可以分化为平滑肌细胞和内皮细胞, 并通过形成功能性的周皮细胞来

稳定新形成的血管^[31-32]。无论在正常还是病理条件下, 在所有组织的血管周围都可以对ADSCs进行定位, 可见其在血管网络的发展和重塑中起着重要的作用^[33]。

ADSCs治疗作用的一个关键机制是产生各种因子刺激血管生成, 并在受损组织内激活内源性修复, 而一些特定的血管生成因子的血管生成潜能常被忽^[29,34]。在之前的叙述中, 我们首先展示了不同的血管生成因子(如VEGF、IGF、HGF等), 随着机体年龄的增长, 血管生成能力也逐渐退化^[21]。值得注意的是, 实验中并没有发现血管生成因子基因的表达与年龄相关的差异, 说明转录后的机制如microRNA的调控与蛋白质错误折叠可能是老年人ADSCs分泌能力减弱的主要原因^[35]。除此之外, 血管细胞ECM的构建和定向迁移对于成功的血管生成也是至关重要的。这些过程由多种因素控制, 包括尿激酶型纤溶酶原激活物(urinary plasminogen activator, uPA)及尿激酶纤维蛋白溶酶原激活物受体(urokinase-type plasminogen activator receptor, uPAR)、I型纤溶酶原激活物抑制因子、基质金属蛋白酶(MMPs)等。如血管生成素(ANG)属于有特异性生物功能的核糖核苷酸家族, 具血管生成活性; 在体外, 它刺激内皮细胞增殖并促进毛细血管管形成^[36]。与肌动蛋白结合的ANG, 通过激活细胞相关的蛋白酶, 诱导内皮细胞和平滑肌细胞的入侵。令人惊讶的是, ADSCs的血管生成活性与因子水平直接被ANG所捕捉并产生作用^[37]。ANGPT1是受体Tie-2的配体, 是正常和病理条件下血管生成的关键因素, 因为它调节血管稳定、成熟和重塑。ANGPT1已被证明可以促进组织缺血的侧支血管的发展, 而ANGPT1和VEGF的共同作用增强了动物缺血模型的血管形成^[38]。尿激酶是一种多领域蛋白, 它在分解纤溶酶原, 使转化纤溶酶的同时还能激活不同的MMPs, 通过启动细胞表面的受体来激发细胞内的相关信号, 因此在血管重塑和血管新生中起着多重作用^[39]。MMPs是由MSCs分泌的蛋白酶, 它们通过破坏细胞外基质(ECM)促进内皮细胞的迁移, 并且有助于ECM中生长因子的释放, 包括VEGF和FGF-2在内的血管生成因子, 在血管生成过程中的作用同样不可小看; 一些MMPs因子特别是MMP-2和MMP-9被认为更多地参与到血管生成过程中^[40]。

生理上的诱导剂是基础性生理物质, 通过激素

调节(如量化可的松、胰高血糖素、甲状腺素)、维生素、离子(Ca^{2+})等使它们趋向特殊的类群。化学诱导剂也可以提供特殊的培养环境,如DMSO等^[41]。现已知,在培养液中添加VEGF、bFGF等因子可以诱导干细胞形成血管,此过程要持续至少6天,3周后才能趋于稳定。单纯的内皮细胞不能形成稳定的血管网,当内皮细胞与脂肪间基质细胞相互作用时,就可以形成多层功能血管。脂肪间基质细胞位于血管内皮细胞层周围,其表型与功能等同于微血管的周皮细胞,并且脂肪间基质细胞能分泌VEGF、HGF、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, GCSF)来促进内皮细胞的增殖及存活,在基质胶(Matrigel)表面与脂肪间基质细胞相互作用的内皮细胞能够形成稳定的血管网络^[4]。至今,内皮细胞与脂肪间基质细胞相互作用而促进细胞迁移的因子、向血管核型结构分化的过程仍不清楚,只得出血管网的形成(VNF)是MMPs的活动以及SDF-1、VEGF等因子的相关信号通路共同作用的结果;在平滑肌细胞和纤维母细胞的环境中接种脂肪间基质细胞会促进VNF的形成,但不能代替脂肪间基质细胞的功能。

3 基质细胞衍生因子对血管生成的作用

血管生成是一个“漂浮不定的”进程,包括骨髓干细胞的动员和增殖、血管的结构重塑、血管周血管增生和毛细血管形成。内皮细胞可以对环境中与血管生成相关因子的增加或减少做出反应,如干扰素- β (INF- β)、VEGF等^[42]。在血管生成过程中,刺激内皮细胞表达细胞表面激活标记,释放降解基底膜和细胞外基质的蛋白酶,向血管生成因子的浓度梯度定向迁移、增殖并形成束状的组织浸入到周围组织中。血管生成作用刺激内皮细胞增殖,管状结构的形成,产生新的基底膜,并且新形成的血管吻合在已经存在的血管上^[43]。这是一个外源信号分子和内在因素共同调节的级联动态过程。这些外源信号分子称为趋化因子。它们与细胞膜表面上的受体结合,启动细胞内信号,传递细胞信息,完成一系列生物反应^[44]。趋化因子是一种小型蛋白质家族,具吸引免疫细胞的趋化特性;根据四个半胱氨酸中前两个的相对位置的不同,将其分为CXC、CC、C、CX3C四个子类。基质细胞因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)作为CXC亚家族趋化因子来源于

骨髓基质,又称为CXCL12;SDF-1的信使RNA可以转化为六个蛋白亚型:SDF-1 α 、SDF-1 β 、SDF-1 γ 、SDF-1 δ 、SDF-1 ϵ 、SDF-1 Φ ,它们的前三个外显子都相同,只是第四个外显子不同^[45];现阶段,多数研究集中在SDF-1 α ,其在所有器官中均有丰富而广泛的表达。CXCR4以前被认为是SDF-1的唯一受体,直到在T淋巴细胞中CXCR7(RDC1)的发现^[46]。这些小的化学引诱物细胞因子与特定的G蛋白相关七次跨膜偶联受体相关^[44](图1)。现已证实,这些功能性的趋化因子特异性受体(CXCR4)随着CXCL12的浓度梯度来移动或侵入CXCR4标记的促血管生成细胞,包括成熟和未成熟的造血干细胞、内皮祖细胞、平滑肌祖细胞等,能诱导这些细胞向特定组织部位浸润和聚集,在组织修复、血管再生、炎症反应中发挥重要作用^[22]。此趋化因子在种属间保守性极高,人和小鼠的CXCL12有99%的同源性。其结构高度保守,由352个氨基酸组成,其编码基因位于染色体2q21(二号染色体长臂的2区1带),有1个胞外N-端、3个胞内环、3个胞外环和1个胞内C环。CXCL12与CXCR4的N-端结合,并与CXCR4和第2胞外环ECL2相互作用下才能启动下游信号通路^[47]。近年来,在人类癌症、动静脉发生、心脏病甚至在骨与脂肪的发生、卵细胞的成熟方面,均证明SDF-1及其受体对于细胞增殖、迁移、募集、存活及血管生成的重要性^[48-50](图2)。

尽管趋化因子在血管生成中的作用已确立,但趋化因子是如何引起血管化的机制还不清楚。Feil和Augustin^[51]首次发现了趋化因子具有直接调节血管生成的能力;接下来的研究发现,在牛主动脉内皮细胞、人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)和人类皮肤微血管内皮细胞在内的内皮细胞,在分化形成过程中均有mRNA水平的CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4的表达^[51];类似地,Murdoch等^[52]报道了CXCR1、CXCR2和CXCR4的表达,但在HUVECs中没有CXCR3 mRNA的表达^[43]。同时,多份报告显示了CXCL12在内皮细胞参与血管生成过程中的作用,例如,CXCL12与CXCR4同内皮细胞的相互作用导致了受体内化和钙离子的流动^[53-54]。在糖尿病动物模型中,受损的EPCs与处在部分创伤区的SDF-1的表达减少有关;在糖尿病机体中SDF-1的过表达可逆转干细胞在引导创面愈合过程中的缺陷,表现为心脏功能显著改善、心肌细胞凋亡

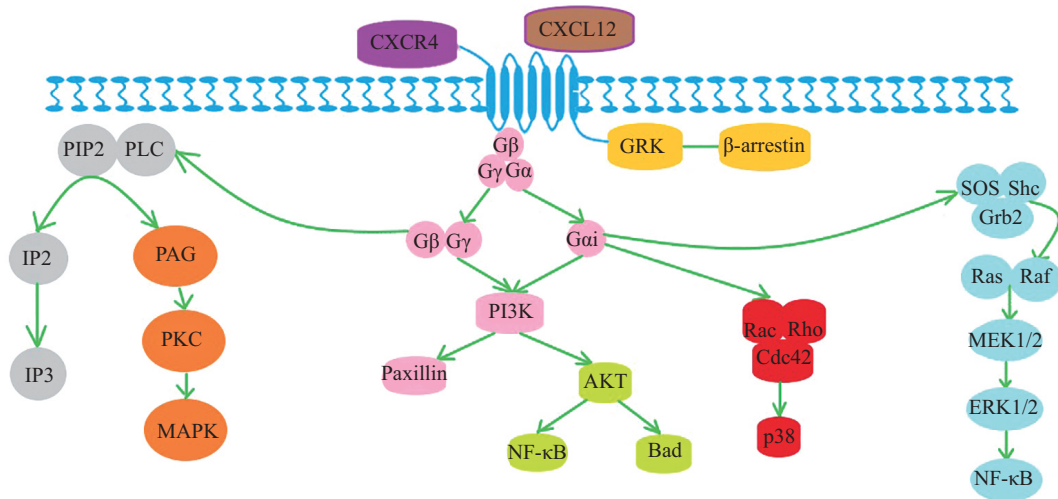
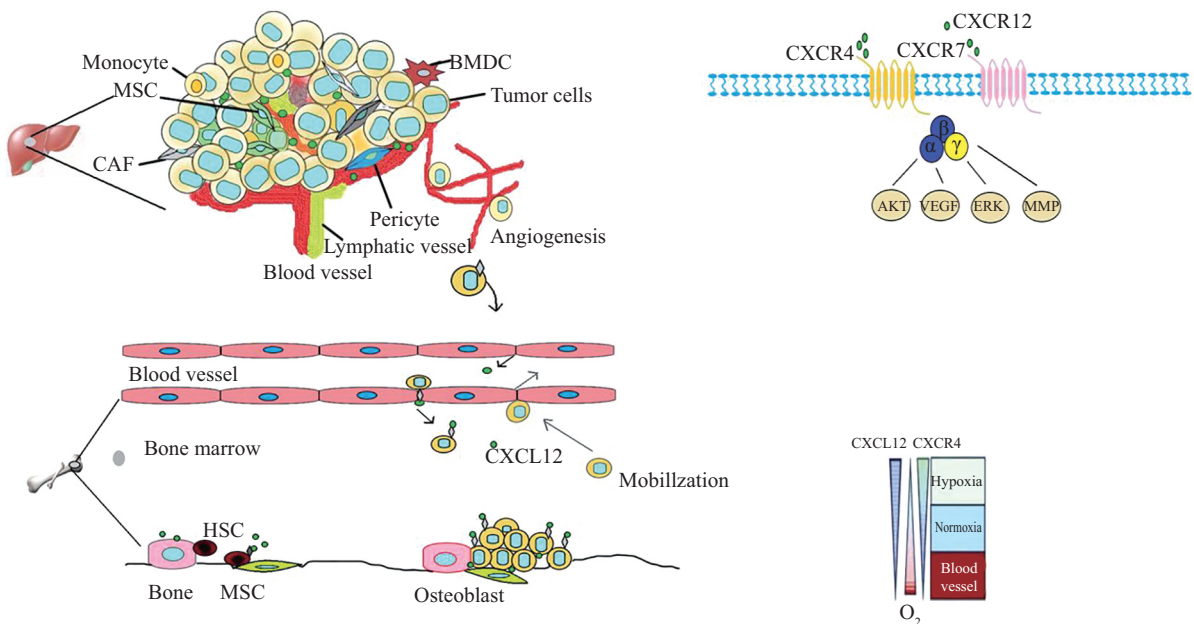


图1 CXCL12/CXCR4在细胞内的信号通路示意图

Fig.1 Schematic of CXCL12/CXCR4 intracellular signal transduction pathways



在肿瘤微环境中, 与癌症相关的成纤维细胞(CAF)和间充质干细胞(MSC)共同表达CXCL12, 该旁分泌信号增强了阳性表达CXCR4肿瘤细胞的增殖和存活。此外, 低氧环境下显著提升了CXCL12及肿瘤细胞表面CXCR4水平的表达水平。CXCL12与三维立体结构趋化因子受体CXCR4的绑定促进了Gαi蛋白质分解成α和βγ子单元, 触发多个信号转导途径来调节细胞内钙离子流通、转录、增殖和细胞存活。再者, CXCR4阳性标记的肿瘤细胞可以沿CXCL12的浓度梯度迁移到远端器官(如CXCL12丰富的骨髓微环境), 导致转移。

In the tumor microenvironment, cancer-associated fibroblast (CAF) and mesenchymal stem/stromal cells (MSC) constitutively express CXCL12, this paracrine signaling enhances the proliferation and survival of CXCR4-positive tumor cells. Moreover, low oxygen level in the microenvironment significantly improves expression of CXCL12, as well as the surface CXCR4 levels in tumor cells. CXCL12 binding promotes a three-dimensional CXCR4 conformation favoring Gαi protein dissociation into α and βγ subunits, and triggers multiple signal transduction pathways that are able to regulate intracellular calcium flux, transcription, proliferation and cell survival. Furthermore, these CXCR4-positive tumor cells can migrate along the CXCL12 gradient to distant organs, such as the CXCL12-rich bone marrow microenvironment, leading to the metastases.

图2 CXCL12/CXCR4信号通路在肿瘤生长、转移和细胞凋亡中起关键作用(根据参考文献[50]修改)

Fig.2 CXCL12/CXCR4 axis plays a critical role in regulation of tumor growth, metastasis, and development of chemoresistance (modified from reference [50])

显著减少、血管密度显著增加, 推测SDF-1的抗凋亡作用可能由磷酸肌醇Akt信号通路来调节^[55-56]。与对照组相比, SDF-1的表达对动物的血糖水平的维持

更有益处。在啮齿动物模型系统中, 外源性SDF-1基因转移或注入MSC能够诱导干细胞返回损伤的心肌组织, 进而证明了SDF-1在新生血管化、心室重

构和心脏功能改善过程中的重要作用^[57]。在此基础上, CXCL12还能促进血管的数量和长度的提高以及分支的形成。血管的生成是通过CXCL12与内皮细胞的受体相互作用来诱导内皮细胞CXCR4的表达, 进而促进更多VEGF的释放将过程放大来完成的。值得注意的是, CXCL12诱导VEGF释放能力的产生不仅局限于内皮细胞, 而且在干细胞上也有类似的效应^[43,58]。此外, 在卵巢癌恶性腹水研究中发现了大量VEGF, 然而, 腹水中CXCL12和VEGF各自的浓度并不足以诱导体内病理血管生成, 很明显, VEGF和CXCL12的协同作用有效诱导了体内血管的生成, VEGF上调了CXCL12、CXCR4在VECs上的表达, 并增强了CXCL12介导的VECs迁移^[6]。由此可见, VEGF和bFGF在诱导趋化因子受体CXCR4表达的同时还提高了CXCL12在内皮细胞分泌量, 因此建立了一个正反馈循环: VEGF诱导了内皮细胞趋化因子受体CXCR4和CXCL12表达, 反之, 在CXCL12与趋化因子受体CXCR4作用增强的同时又促进了细胞VEGF的表达。此外, CXCL12/CXCR4相互作用也增强了其他信号通路的表达: 如上调内皮细胞环前列腺素的分泌, 对内皮细胞的有丝分裂产生相当大的影响^[59]。相比其他趋化因子(例如白细胞介素-8、单核细胞趋化蛋白-1和嗜酸性粒细胞趋化因子), CXCL12对内皮细胞有更强的趋化作用, 但与VEGF具有同等效力。与VEGF和bFGF的功能相同, CXCR4和CXCL12对内皮细胞有正向调节作用, 骨中骨髓细胞与GCSF的作用是双重的。GCSF一方面抑制骨髓中CXCL12的含量, 另一方面增强CXCR4在骨髓细胞中的表达, 进而促进干细胞的动员。中性粒细胞中的弹性蛋白酶将CXCL12迅速降解, 从而使得骨髓中CXCL12的含量水平下降, 它的合成反过来又增强了GCSF的表达^[43,60]。上述观察表明, CXCL12/CXCR4与GCSF的相互作用有效地调动了干细胞的动员, 并且CXCL12/CXCR4为干细胞的生命活动的关键因子和分子基础。

趋化因子是肿瘤细胞与肿瘤微环境之间沟通的重要组成部分。趋化因子受体及其特异性趋化因子控制和调控肿瘤的发展, 包括白细胞浸润、肿瘤相关的血管生成、对宿主肿瘤特异性免疫应答的激活、通过自分泌或旁分泌方式刺激肿瘤细胞增殖以及对肿瘤细胞运动的控制^[61]。然而, CXCL12对肿瘤发生的贡献是有争议的。根据不同的情形, CXCL12

对肿瘤发生呈正向或负向调节作用。例如, CXCR4在乳腺癌和胶质母细胞瘤细胞系中表达显示, 肿瘤组织CXCL12和CXCR4的表达水平比正常组织的高, CXCR4基因的反义表达或者CXCL12和CXCR4的抑制都会降低胶质母细胞瘤细胞增殖率; 恶性胶质瘤中CXCL12和CXCR4表达水平随肿瘤等级增加而增加^[62-63]。Begum等^[64]在人类肝细胞癌研究中发现, 肿瘤组织中的趋化因子表达mRNA有所减少。这一观察结果促使作者将CXCL12作为一种肿瘤抑制基因。在癌前腺瘤中, CXCL12 mRNA表达逐渐减少, 但与正常组织相比, 其在结肠、食管、胃癌的表达不变。而在胃癌中肿瘤和淋巴结转移、肿瘤侵袭、血管生成或疾病阶段的CXCL12表达水平之间没有明显的相关性^[65]。因此, 尽管CXCL12可能会导致胶质母细胞瘤和胰腺癌的进展, 但它可能是肝癌和消化道癌的抑癌基因^[66]。另外, Koshiba等^[67]表明, CXCL12/CXCR4相互作用可促进转移过程。当乳腺癌细胞转移到其他目标器官, 如淋巴结、骨髓、肺等, 其组织中都有较高的CXCL12含量, 这很大程度上依赖于肿瘤细胞CXCR4的高表达^[43]。这与胰腺癌中CXCR4过度表达与转移的关系的结果一致; 通过单克隆抗体抑制CXCR4或CXCL12在体内表达的同时也明显抑制了皮下淋巴瘤的生长, 增强了肿瘤小鼠的整体生存能力^[68]。总的来说, 各项数据均表明, CXCL12/CXCR4相互作用不仅作用于肿瘤生长, 而且还在肿瘤转移中起作用。

G蛋白-偶联受体(GPCR)的运行机制即CXCR4受体的激活是由细胞内的异源三聚体G蛋白与质膜的细胞内表面的相关联系来控制的。这个异源三聚体由G α 、G β 和G γ 三个亚单位组成, 其基部又与鸟嘌呤核苷酸(GDP)相连。根据其配体结合的活性, GDP被替换为三磷酸鸟苷(GTP), 同时会导致亚单位分裂成 $\beta\gamma$ 二聚体和 α 单元同GTP绑定, 而GTP则被快速水解为GDP, 从而促使受体的重组及G蛋白三聚体的合成^[69]。SDF-1与CXCR4的结合激活了多种G蛋白耦合途径, 如G α i和G $\beta\gamma$ 亚基均可触发磷脂酰肌醇3(PI3K)及其下游靶向AKT、细胞分裂活化蛋白激酶(MAPK)以及核转录因子NF- κ B信号通路^[70]。子单元G $\beta\gamma$ 通过磷脂酶C(PLC)和Ca²⁺的动员激活了磷脂酰二磷酸磷肌醇(PIP2)、二酰基甘油(DAG)和三磷酸肌醇(IP3)途径。钙离子含量的升高导致了脯氨酸氨酶(PYK2)的激活, 进一步激活ERK1/2的

下游通路。此外,在神经元的初级培养中,CXCR4还通过GPCRs的Gi组分抑制某些cAMP通路。在与SDF-1结合后的CXCR4诱导了酪氨酸蛋白激酶JAK2和JAK3的活化,并通过Gai蛋白启动了STAT信号通路(包括STAT1、2、3、5亚型)。所有这些信号通路都与细胞增殖、分化、迁移、存活和细胞凋亡有关。再者,SDF-1/CXCR4已被证明能够引起GRK磷酸化和 β -抑制蛋白的活化,而这一过程反而促进了CXCR4的内化和脱敏化,从而阻止受体与G蛋白的持续交互作用^[71]。SDF-1与CXCR4之间的相互作用可以被AMD3100抑制,该化合物已被广泛应用于药理工具,以揭示CXCR4和SDF-1在各种环境中的参与。然而,有人声称AMD3100可以作为CXCR7变构剂,为CXCR7招募 β -抑制蛋白,在未来的实验中应该考虑这个特性。人 β -防御蛋白3、CX549、T140被发现是CXCR4的新型拮抗剂,具有竞争性抑制SDF-1与CXCR4结合的能力^[44,72-73]。

综上所述,一方面,CXCL12/CXCR4与血管生成密切相关,它为肿瘤细胞提供营养,并有效地增加肿瘤细胞的代谢。CXCL12与VEGF的共同是诱导肿瘤血管生成和促进肿瘤转移的重要因素,可以直接刺激血管生成。研究表明,CXCL12/CXCR4可以调节多种肿瘤细胞增殖。另一方面,CXCL12在间接促进VEGF分泌的同时还促进了内皮细胞MMP-2、MMP-9的表达,刺激内皮细胞的趋化和毛细血管通道的形成,从而间接调控血管生成。CXCL12对其受体CXCR4的结合可以通过激活细胞外信号调控激酶(ERK)和AKT信号通路影响多种细胞类型的增殖。激活ERK磷酸化并调控其他细胞蛋白和转录因子,带来基因表达和细胞周期过程的变化。

4 结语与展望

本报告总结了近年来关于趋化因子SDF-1对血管内皮细胞的再生、迁移、黏附、周期、凋亡等影响的最新研究进展。血管是机体当中的重要组成部分,它在机体内的生理、生化指标直接影响着各器官的生理功能。现今发现的人类多项疑难病症或许都与趋化因子的损伤有着密切联系,如糖尿病、心脑血管疾病及癌症等。为了使与血管相关的机体功能得到恢复与完善,现已通过各种手段实现了血管的再生,其中通过成体干细胞进行诱导已较为成熟。而脂肪间充质干细胞材料易得、性状稳定,在体外

单独培养时自体可以分泌多种促血管生成因子,并且因子间还具有拮抗作用,对于新形成的血管来说,脂肪间充质干细胞在保持血管结构区域稳定作用中起着重要作用。再者,脂肪间充质干细胞对外界趋化因子的作用较为敏感,具有较低的免疫抗性,在体外可促进并成功诱导血管内皮细胞的形成。这些特点都促使趋化因子和脂肪成为当今干细胞的研究热点,希望以上总结的研究成果可以为血管的研究提供新的思路,为临床医学提供理论依据。

参考文献 (References)

- 1 Wingate K, Floren M, Tan Y, Tseng PO, Tan W. Synergism of matrix stiffness and vascular endothelial growth factor on mesenchymal stem cells for vascular endothelial regeneration. *Tissue Eng Part A* 2014; 20(17/18): 2503-12.
- 2 Wingate K, Bonani W, Tan Y, Bryant SJ, Tan W. Compressive elasticity of three-dimensional nanofiber matrix directs mesenchymal stem cell differentiation to vascular cells with endothelial or smooth muscle cell markers. *Acta Biomaterialia* 2012; 8(4): 1440-9.
- 3 Yang M, Zhang GG, Wang T, Wang X, Tang YH, Huang H, *et al.* TBX18 gene induces adipose-derived stem cells to differentiate into pacemaker-like cells in the myocardial microenvironment. *Int J Mol Med* 2016; 38(5): 1403-10.
- 4 Merfeld-Clauss S, Gollahalli N, March KL, Traktuev DO. Adipose tissue progenitor cells directly interact with endothelial cells to induce vascular network formation. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(9): 2953-66.
- 5 Folkman J. Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci Am* 1996; 275(3): 150-4.
- 6 Kryczek I, Lange A, Mottram P, Alvarez X, Cheng P, Hogan M, *et al.* CXCL12 and vascular endothelial growth factor synergistically induce neoangiogenesis in human ovarian cancers. *Cancer Res* 2005; 65(2): 465-72.
- 7 Bowersox JC, Sorgente N. Chemotaxis of aortic endothelial cells in response to fibronectin. *Cancer Res* 1982; 42(7): 2547-51.
- 8 Terranova VP, DiFlorio R, Lyall RM, Hic S, Friesel R, Maciag T. Human endothelial cells are chemotactic to endothelial cell growth factor and heparin. *J Cell Biol* 1985; 101(6): 2330-4.
- 9 Strieter RM, Polverini PJ, Arenberg DA, Kunkel SL. The role of CXC chemokines as regulators of angiogenesis. *Shock* 1995; 4(3): 155-60.
- 10 Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, *et al.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275(5302): 964-7.
- 11 Asahara T, Takahashi T, Masuda H, Kalka C, Chen D, Iwaguro H, *et al.* VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J* 1999; 18(14): 3964-72.
- 12 Sun XT, Yuan XW, Zhu HT, Deng ZM, Yu DC, Zhou X, *et al.* Endothelial precursor cells promote angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18(35): 4925-33.
- 13 Gao D, Mittal V. The role of bone-marrow-derived cells in tumor

- growth, metastasis initiation and progression. *Trends Mol Med* 2009; 15 (8): 333-43.
- 14 Kopp HG, Ramos CA, Rafii S. Contribution of endothelial progenitors and proangiogenic hematopoietic cells to vascularization of tumor and ischemic tissue. *Curr Opin Hematol* 2006; 13(3): 175-81.
 - 15 Peters BA, Diaz LA, Polyak K, Meszler L, Romans K, Guinan EC, *et al.* Contribution of bone marrow-derived endothelial cells to human tumor vasculature. *Nat Med* 2005; 11(3): 261-2.
 - 16 Lyden D, Hattori K, Dias S, Costa C, Blaikie P, Butros L, *et al.* Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. *Nat Med* 2001; 7(11): 1194-201.
 - 17 Zhou L, Xia J, Qiu X, Wang P, Jia R, Chen Y, *et al.* *In vitro* evaluation of endothelial progenitor cells from adipose tissue as potential angiogenic cell sources for bladder angiogenesis. *PLoS One* 2015; 10(2): e0117644.
 - 18 Ankrum JA, Ong JF, Karp JM. Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged. *Nat Biotechnol* 2014; 32(3): 252-60.
 - 19 Armulik A, Genove G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. *Dev Cell* 2011; 21(2): 193-215.
 - 20 Tzeng YS, Chung NC, Chen YR, Huang HY, Chunang WP, Lai DM. Imbalanced osteogenesis and adipogenesis in mice deficient of the chemokine Cxcl12/Sdfl in the bone mesenchymal stem/progenitor cells. *J Bone Miner Res* 2018; 33(4): 679-90.
 - 21 Efimenko A, Dzhoyashvili N, Kalinina N, Kochegura T, Akchurin R, Tkachuk V, *et al.* Adipose-derived mesenchymal stromal cells from aged patients with coronary artery disease keep mesenchymal stromal cell properties but exhibit characteristics of aging and have impaired angiogenic potential. *Stem Cells Trans Med* 2014; 3(1): 32-41.
 - 22 Li Q, Guo Y, Chen F, Liu J, Jin P. Stromal cell-derived factor-1 promotes human adipose tissue-derived stem cell survival and chronic wound healing. *Exp Ther Med* 2016; 12(1): 45-50.
 - 23 Lee A, Bae S, Lee SH, Kweon OK, Kim WH. Hair growth promoting effect of dermal papilla like tissues from canine adipose-derived mesenchymal stem cells through vascular endothelial growth factor. *J Vet Med Sci* 2017; 78(12): 1811-8.
 - 24 Bunnell BA, Estes BT, Guilak F, Gimble JM. Differentiation of adipose stem cells. *Methods Mol Biol* 2008; 456: 155-71.
 - 25 吕涛, 肖菁, 曹宜林. 脂肪组织来源间充质干细胞生物学特性及与肥胖的关系. *中国细胞生物学学报* (Lü Tao, Xiao Ran, Cao Yilin. Adipose tissue-derived stem cells biological properties and its role in obesity. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2014; 36(2): 236-41.
 - 26 Gimble JM, Bunnell BA, Chiu ES, Guilak F. Concise review: adipose-derived stromal vascular fraction cells and stem cells: let's not get lost in translation. *Stem Cells* 2011; 29(5): 749-54.
 - 27 Planat-Benard V, Silvestre JS, Cousin B, Andre M, Nibbelink M, Tamarat R, *et al.* Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells: physiological and therapeutic perspectives. *Circulation* 2004; 109(5): 656-63.
 - 28 Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 2007; 100(9): 1249-60.
 - 29 Madonna R, De Caterina R. Adipose tissue: a new source for cardiovascular repair. *J Cardiovasc Med* 2010; 11(2): 71-80.
 - 30 Rehman J, Traktuev D, Li J, Merfeld-Clauss S, Temm-Grove CJ, Bovenkerk JE, *et al.* Secretion of angiogenic and antiapoptotic factors by human adipose stromal cells. *Circulation* 2004; 109(10): 1292-8.
 - 31 Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, Yanagawa B, Tanaka K, Hao H, *et al.* Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nat Med* 2006; 12(4): 459-65.
 - 32 Sumi M, Sata M, Toya N, Yanaga K, Ohki T, Nagai R. Transplantation of adipose stromal cells, but not mature adipocytes, augments ischemia-induced angiogenesis. *Life Sci* 2007; 80(6): 559-65.
 - 33 Nombela-Arrieta C, Ritz J, Silberstein LE. The elusive nature and function of mesenchymal stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12(2): 126-31.
 - 34 Rubina K, Kalinina N, Efimenko A, Lopatina T, Melikhova V, Tsokolava Z, *et al.* Adipose stromal cells stimulate angiogenesis via promoting progenitor cell differentiation, secretion of angiogenic factors, and enhancing vessel maturation. *Tissue Eng Part A* 2009; 15(8): 2039-50.
 - 35 Kim M, Kim C, Choi YS, Kim M, Park C, Suh Y. Age-related alterations in mesenchymal stem cells related to shift in differentiation from osteogenic to adipogenic potential: implication to age-associated bone diseases and defects. *Mech Ageing Dev* 2012; 133(5): 215-25.
 - 36 Jimi S, Ito K, Kohno K, Ono M, Kuwano M, Itagaki Y, *et al.* Modulation by bovine angiogenin of tubular morphogenesis and expression of plasminogen activator in bovine endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 211(2): 476-83.
 - 37 Gao X, Xu Z. Mechanisms of action of angiogenin. *Acta Biochim Biophys Sin* 2008; 40(7): 619-24.
 - 38 Reiss Y. Angiopoietins. *Recent Results Cancer Res* 2010; 180: 3-13.
 - 39 Lawler PR, Lawler J. Molecular basis for the regulation of angiogenesis by thrombospondin-1 and -2. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2(5): a006627.
 - 40 van Hinsbergh VW, Koolwijk P. Endothelial sprouting and angiogenesis: matrix metalloproteinases in the lead. *Cardiovasc Res* 2008; 78(2): 203-12.
 - 41 Lip GY, Blann A. von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders? *Cardiovasc Res* 1997; 34(2): 255-65.
 - 42 Bielenberg DR, Bucana CD, Sanchez R, Mulliken JB, Folkman J, Fidler IJ. Progressive growth of infantile cutaneous hemangiomas is directly correlated with hyperplasia and angiogenesis of adjacent epidermis and inversely correlated with expression of the endogenous angiogenesis inhibitor, IFN-beta. *Int J Oncol* 1999; 14(3): 401-8.
 - 43 Salcedo R, Oppenheim JJ. Role of chemokines in angiogenesis: CXCL12/SDF-1 and CXCR4 interaction, a key regulator of endothelial cell responses. *Microcirculation* 2015; 10(3/4): 359-70.
 - 44 Teicher BA, Fricker SP. CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16(11): 2927-31.
 - 45 Murphy PM, Baggiolini M, Charo IF, Hebert CA, Horuk R, Matsushima K, *et al.* International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev* 2000; 52(1): 145-76.
 - 46 Balabanian K, Lagane B, Infantino S, Chow KY, Harriague J, Moepps B, *et al.* The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and

- signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes. *J Biol Chem* 2005; 280(42): 35760-6.
- 47 Wang J, Wang J, Sun Y, Song W, Nor JE, Wang CY, *et al.* Diverse signaling pathways through the SDF-1/CXCR4 chemokine axis in prostate cancer cell lines leads to altered patterns of cytokine secretion and angiogenesis. *Cell Signal* 2005; 17(12): 1578-92.
- 48 Meng W, Xue S, Chen Y. The role of CXCL12 in tumor microenvironment. *Gene* 2018; 641: 105-10.
- 49 Kim BG, Kim YH, Stanley EL, Garrido-Martin EM, Lee YJ, Oh SP. CXCL12-CXCR4 signalling plays an essential role in proper patterning of aortic arch and pulmonary arteries. *Cardiovasc Res* 2017; 113(13): 1677-87.
- 50 Zhang RN, Pang B, Xu SR, Wan PC, Guo SC, Ji HZ, *et al.* The CXCL12-CXCR4 signaling promotes oocyte maturation by regulating cumulus expansion in sheep. *Theriogenology* 2017; 107: 85-94.
- 51 Feil C, Augustin HG. Endothelial cells differentially express functional CXC-chemokine receptor-4 (CXCR-4/fusin) under the control of autocrine activity and exogenous cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 247(1): 38-45.
- 52 Murdoch C, Monk PN, Finn A. Cxc chemokine receptor expression on human endothelial cells. *Cytokine* 1999; 11(9): 704-12.
- 53 Salcedo R, Resau JH, Halverson D, Hudson EA, Dambach M, Powell D, *et al.* Differential expression and responsiveness of chemokine receptors (CXCR1-3) by human microvascular endothelial cells and umbilical vein endothelial cells. *Faseb J* 2000; 14(13): 2055-64.
- 54 Salcedo R, Wasserman K, Young HA, Grimm MC, Howard OM, Anver MR, *et al.* Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor induce expression of CXCR4 on human endothelial cells: *in vivo* neovascularization induced by stromal-derived factor-1 α . *Am J Pathol* 1999; 154(4): 1125-35.
- 55 Badillo AT, Chung S, Zhang L, Zoltick P, Liechty KW. Lentiviral gene transfer of SDF-1 α to wounds improves diabetic wound healing. *J Surg Res* 2007; 143(1): 35-42.
- 56 Mayorga ME, Kiedrowski M, McCallinhart P, Forudi F, Ockunzzi J, Weber K, *et al.* Role of SDF-1: CXCR4 in impaired post-myocardial infarction cardiac repair in diabetes. *Stem Cells Transl Med* 2018; 7(1): 115-24.
- 57 Askari AT, Unzek S, Popovic ZB, Goldman CK, Forudi F, Kiedrowski M, *et al.* Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet* 2003; 362(9385): 697-703.
- 58 Kijowski J, Baj-Krzyworzeka M, Majka M, Reza R, Marquez LA, Christofidou-Solomidou M, *et al.* The SDF-1-CXCR4 axis stimulates VEGF secretion and activates integrins but does not affect proliferation and survival in lymphohematopoietic cells. *Stem Cells* 2001; 19(5): 453-66.
- 59 Molino M, Woolkalis MJ, Prevost N, Pratico D, Barnathan ES, Tarabozetti G, *et al.* CXCR4 on human endothelial cells can serve as both a mediator of biological responses and as a receptor for HIV-2. *Biochim Biophys Acta* 2000; 21(2): 227-40.
- 60 Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L, *et al.* G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. *Nat Immunol* 2002; 3(7): 687-94.
- 61 Mbeunkui F, Johann DJ Jr. Cancer and the tumor microenvironment: a review of an essential relationship. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63(4): 571-82.
- 62 Rempel SA, Dudas S, Ge S, Gutierrez JA. Identification and localization of the cytokine SDF1 and its receptor, CXC chemokine receptor 4, to regions of necrosis and angiogenesis in human glioblastoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6(1): 102-11.
- 63 Sehgal A, Keener C, Boynton AL, Warrick J, Murphy GP. CXCR-4, a chemokine receptor, is overexpressed in and required for proliferation of glioblastoma tumor cells. *J Surg Oncol* 1998; 69(2): 99-104.
- 64 Begum NA, Coker A, Shibuta K, Swanson RS, Chen LB, Mori M, *et al.* Loss of hIRH mRNA expression from premalignant adenomas and malignant cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 229(3): 864-8.
- 65 Mitra P, Shibuta K, Mathai J, Shimoda K, Banner BF, Mori M, *et al.* CXCR4 mRNA expression in colon, esophageal and gastric cancers and hepatitis C infected liver. *Int J Oncol* 1999; 14(5): 917-25.
- 66 Schrader AJ, Lechner O, Templin M, Dittmar KE, Machtens S, Mengel M, *et al.* CXCR4/CXCL12 expression and signalling in kidney cancer. *Br J Cancer* 2002; 86(8): 1250-6.
- 67 Muller A, Homey B, Soto H, Ge N, Catron D, Buchanan ME, *et al.* Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; 410(6824): 50-6.
- 68 Bertolini F, Dell'Agnola C, Mancuso P, Rabascio C, Burlini A, Monestiroli S, *et al.* CXCR4 neutralization, a novel therapeutic approach for non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 2002; 62(11): 3106-12.
- 69 Nagasawa T, Tachibana K, Kishimoto T. A novel CXC chemokine PBSF/SDF-1 and its receptor CXCR4: their functions in development, hematopoiesis and HIV infection. *Semin Immunol* 1998; 10(3): 179-85.
- 70 Cui L, Qu H, Xiao T, Zhao M, Jolkkonen J, Zhao C. Stromal cell-derived factor-1 and its receptor CXCR4 in adult neurogenesis after cerebral ischemia. *Restor Neurol Neurosci* 2013; 31(3): 239-51.
- 71 Kumar P, Lau CS, Mathur M, Wang P, DeFea KA. Differential effects of beta-arrestins on the internalization, desensitization and ERK1/2 activation downstream of protease activated receptor-2. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 293(1): 18.
- 72 Wu KJ, Yu SJ, Shia KS, Wu CH, Song JS, Kuan HH, *et al.* A Novel CXCR4 Antagonist CX549 Induces Neuroprotection in Stroke Brain. *Cell Transplant* 2017; 26(4): 571-83.
- 73 Cheng X, Wang H, Zhang X, Zhao S, Zhou Z, Mu X, *et al.* The role of SDF-1/CXCR4/CXCR7 in neuronal regeneration after cerebral ischemia. *Front Neurosci* 2017; 11: 590.