

高表达CXCR4/CXCR7对小鼠胚胎肝干细胞增殖、迁移和抗氧化应激损伤的影响

肖程¹ 罗庆² 康权^{1*} 杨博¹ 王建¹ 龚梦嘉² 毕杨²

(¹重庆医科大学附属儿童医院肝胆外科, 重庆 400014; ²重庆医科大学附属儿童医院儿科研究所干细胞实验室, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地, 儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014)

摘要 该研究探讨了基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)/趋化性细胞因子受体4(chemotaxis cytokine receptor 4, CXCR4)和SDF-1/趋化性细胞因子受体7(CXCR7)对小鼠胚胎肝干细胞14-19(HP14-19)增殖、迁移和抗氧化应激损伤的影响。重组腺病毒Ad-CXCR4和Ad-CXCR7感染HP14-19细胞, 流式细胞术和Western blot检测细胞膜上CXCR4/CXCR7受体的表达; MTT法检测细胞增殖; Transwell法检测细胞迁移; 过氧化氢(H₂O₂)处理细胞, 建立氧化应激损伤模型, MTT法检测细胞活力; 酶学法检测乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性。结果显示, 感染腺病毒Ad-CXCR4/CXCR7后, HP14-19细胞膜CXCR4/CXCR7受体水平显著上调; 高表达CXCR7可增强细胞增殖活性, 而高表达CXCR4对细胞增殖活性无显著效果; 高表达CXCR4或CXCR7可显著增强SDF-1诱导的HP14-19细胞的迁移和氧化应激状态下的细胞存活率, 其中, CXCR7对迁移效应较强; 与对照组比较, 高表达CXCR4或CXCR7可降低H₂O₂造成的细胞LDH活性, 增强SOD活性。因此, CXCR4参与了SDF-1诱导的HP14-19细胞增殖作用, 且CXCR4/CXCR7介导SDF-1诱导HP14-19细胞的迁移和抗氧化应激损伤作用。

关键词 CXCR4/CXCR7; 肝干细胞; 细胞增殖; 细胞迁移; 氧化应激

Effect of Overexpression CXCR4/CXCR7 on Proliferation, Migration, Anti-oxidative Stress Damage of Mouse Embryonic Liver Stem Cell

Xiao Cheng¹, Luo Qing², Kang Quan^{1*}, Yang Bo¹, Wang Jian¹, Gong Mengjia², Bi Yang²

(¹Department of Hepatology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China;

²Laboratory of Stem Cell Biology and Therapy, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400014, China)

Abstract The aim of this article is to investigate the effect of SDF-1 (stromal cell-derived factor-1)/CXCR4 (chemotaxis cytokine receptor 4) and SDF-1/CXCR7 on the proliferation, migration and anti-oxidative stress of mouse embryonic liver stem cells. Recombinant adenovirus which containing CXCR4 or CXCR7 gene was applied to infect HP14-19, respectively. Flow cytometry and Western blot were used to detect the expression of CXCR4 or CXCR7 as membrane receptors. Cell proliferation activity was detected by MTT assay. Transwell assay was carried out to evaluate

收稿日期: 2016-10-11 接受日期: 2016-12-13

重庆市科委基础与前沿研究计划资助项目(批准号: cstc2013jcyA10026)和国家自然科学基金(批准号: 81172545)资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-63633113, E-mail: 564799351@qq.com

Received: October 11, 2016 Accepted: December 13, 2016

This work was supported by the Chongqing Municipal Science and Technology Commission Foundation and Advanced Research Projects (Grant No.cstc2013jcyA10026) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81172545)

*Corresponding author. Tel: +86-23-63633113, E-mail: 564799351@qq.com

网络出版时间: 2017-02-13 12:45:25

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170213.1245.002.html>

the SDF-1 induced migration ability of HP14-19 with CXCR4 or CXCR7 overexpression. HP14-19 was exposed to H_2O_2 to establish oxidative injury model. The cell viability with CXCR4 or CXCR7 overexpression was measured by MTT assay. Microplate reader was to evaluate the LDH and SOD levels. The expression of CXCR4 and CXCR7 receptor on HP14-19 was significantly higher after infection with adenovirus. Overexpression CXCR7 but not CXCR4 could enhance the proliferation of HP14-19. Overexpression of CXCR4 or CXCR7 significantly enhanced SDF-1 induced cell migration and cell survival rate of oxidative stress, in which CXCR7 showed a stronger migration effect. Compared with the control group, overexpression of CXCR4 or CXCR7 could reduce the LDH level and increased SOD activity caused by H_2O_2 . The results suggested that overexpression of CXCR4 was involved in the proliferation of HP14-19 mediated by SDF-1, and both CXCR4 and CXCR7 mediated the SDF-1 induced migration and anti-oxidative stress of HP14-19.

Keywords CXCR4/CXCR7; liver stem cell; cell proliferation; cell migration; oxidative stress

肝干细胞移植对终末期肝病治疗具有重要意义,目前肝干细胞移植的方式多种多样^[1-2]。但移植后干细胞定植于损伤肝脏的数量有限,病理微环境对干细胞的氧化损伤导致细胞存活能力低下等,这些大大限制了干细胞移植技术在再生医学中的应用^[3]。如能有效提高干细胞向靶器官的定向迁移归巢和抗氧化损伤能力,对于提高干细胞移植治疗效果无疑是一重大突破。基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)属于趋化因子蛋白质家族成员,是一种由骨髓基质细胞和不成熟的成骨细胞分泌的细胞因子,对细胞有强烈的趋化作用^[4-5]。SDF-1及趋化性细胞因子受体4(chemotaxis cytokine receptor 4, CXCR4)、趋化性细胞因子受体7(CXCR7)构成的SDF-1/CXCR4/CXCR7途径介导干细胞定向迁移归巢和抗氧化损伤的作用已受到广泛关注^[6],但在肝脏模型中尚无相关研究,且胚胎肝干细胞移植较其他干细胞在肝脏疾病的临床应用中有更多优势。小鼠胚胎肝干细胞14-19(HP14-19)稳定表达SV40T抗原,是一种可逆的、稳定的、非致瘤性的永生化干细胞,长期保持增殖活性和干细胞标志物,可用于研究干细胞生物学、肝脏器官形成、干细胞体内移植等多个方面^[7],其可改善急性肝衰竭小鼠的肝功能,但体内仅检测到少量细胞。本研究通过腺病毒介导SDF-1的特异性受体CXCR4/CXCR7在HP14-19细胞中高表达,探讨SDF-1/CXCR4/CXCR7途径对HP14-19细胞增殖、迁移和抗氧化应激损伤的作用,为提高肝干细胞移植治疗终末期肝病的疗效提供理论依据和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

小鼠胚胎肝干细胞株HP14-19由美国芝加哥大

学医学分子肿瘤实验室合作分离鉴定;重组腺病毒Ad-GFP、Ad-RFP、Ad-CXCR4、Ad-CXCR7由本实验室保存;胎牛血清、DMEM培养基、胰蛋白酶替代物购自美国Gibco公司;SDF-1细胞因子购于Peprotech公司;PE rat anti-mouse CD184(CXCR4)购于美国Becton, Dickinson and Company公司,APC anti-human/mouse CXCR7购自Biolegend公司;BCA蛋白质浓度测定试剂盒购自碧云天生物技术研究;全蛋白质提取试剂盒、MTT试剂盒购自凯基生物公司;LDH试剂盒、MDA试剂盒、SOD试剂盒购自南京建成生物研究所。

1.2 方法

1.2.1 检测重组腺病毒感染HP14-19细胞病毒滴度确定 将HP14-19按30%细胞汇合度接种于24孔板中,待细胞贴壁后,将重组腺病毒Ad-GFP、Ad-RFP、Ad-CXCR4、Ad-CXCR7倍比稀释感染HP14-19细胞,继续培养48 h后,荧光显微镜观察荧光阳性表达细胞数,筛选出最合适的感染滴度。

1.2.2 流式细胞术和Western blot检测HP14-19细胞CXCR4/CXCR7受体表达 将HP14-19按30%细胞融合度接种于6孔板中,细胞贴壁后,按病毒最适感染滴度分别感染腺病毒Ad-GFP、Ad-RFP、Ad-CXCR4、Ad-CXCR7,48 h后胰蛋白酶替代物消化细胞吹打均匀,PBS液洗2遍,离心收集细胞。未处理细胞作为空白对照组,实验组分别加入PE rat anti-mouse CD184和APC anti-human/mouse CXCR7抗体,避光孵育30 min,PBS洗2遍,应用流式细胞仪检测各细胞膜CXCR4/CXCR7的水平。同样培养的细胞感染病毒后48 h,用全蛋白质提取试剂盒提取细胞蛋白质,BCA法测定蛋白质浓度,5%浓缩胶、12%分离胶电泳,湿转法转膜,封闭,一抗4℃过夜,二抗室

温1 h, TBST洗膜3次, ECL发光显影拍照。

1.2.3 MTT法检测HP14-19增殖活性 将HP14-19按30%细胞汇合度接种于6孔板中, 细胞贴壁后, 按病毒最适感染滴度分别感染腺病毒, 即Ad-GFP组、Ad-RFP组、Ad-CXCR4组、Ad-CXCR7组。48 h后胰蛋白酶替代物消化细胞, 吹打均匀, 按 1×10^3 /孔接种于96孔板中, 每组设置5个复孔, 实验组每孔加入SDF-1细胞因子(100 ng/mL)。于细胞贴壁后及1、3、5、7 d分别加入1/10体积MTT试剂, 37 °C反应4 h, 弃上清, 加入150 μ L DMSO并充分振摇, 使结晶溶解后酶标仪于490 nm波长处测量每孔的吸光度(D)值, 绘制增殖曲线。

1.2.4 Transwell检测HP14-19迁移能力 感染病毒48 h后, 将以上分组细胞消化、吹打均匀, 分别接种至Transwell小室中(孔径8 μ m), 每组设置2个复孔。Transwell上腔加入细胞悬液100 μ L, Transwell下室加入500 μ L含有100 ng/mL SDF-1细胞因子的培养基, 于37 °C孵箱培养; 24 h后取出Transwell小室, 吸去Transwell上室多余液体, PBS清洗2遍, 用棉棒擦去膜上层细胞。加入结晶紫染液, 染色5 min, PBS洗2遍, 镜下观察; 100%乙醇200 μ L溶解结晶紫, 多功能酶标仪于570 nm波长测定吸光度。

1.2.5 MTT法检测HP14-19在氧化应激状态下细胞存活率 将未处理HP14-19按每孔 5×10^5 个接种于96孔板中, 分别设立空白组、对照组、实验组, 每组5个复孔。待细胞贴壁后换成无血清培养基, 实验组加入不同浓度 H_2O_2 , 使其终浓度分别为50、100、200、400、800 μ mol/L。24 h后每孔加入MTT试剂50 μ L, 37 °C孵育4 h, 弃培养基, 每孔加入150 μ L DMSO, 多功能酶标仪检测吸光度(D)值, 按以下公式计算每组细胞存活率, 选出最合适的 H_2O_2 浓度。细胞存活率 $= (D_{\text{实验组}} - D_{\text{空白组}}) / (D_{\text{对照组}} - D_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。再按对照组、实验组(Ad-GFP组、Ad-RFP组、Ad-CXCR4组、Ad-CXCR4+SDF-1组、Ad-CXCR7组、Ad-CXCR7+SDF-1组, 将腺病毒处理48 h的细胞接种于96孔板中, 每组5个复孔, 每孔 5×10^5 细胞。待细胞贴壁后换成无血清培养基, 选择最合适的 H_2O_2 浓度建立细胞氧化损伤模型, 同时, Ad-CXCR4+SDF-1组和Ad-CXCR7+SDF-1组加入100 ng/mL SDF-1细胞因子作为处理因素, 24 h后MTT法检测吸光度(D)值, 计算每组细胞存活率。

1.2.6 酶标仪检测LDH、SOD活性 按上述分组建立细胞氧化损伤模型后, 收集细胞以及细胞培养

液, 按乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)试剂盒和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒说明书处理细胞及细胞培养液, 多功能酶标仪测定吸光度, 计算各组LDH、SOD值。

1.3 统计学分析

数据均采用SPSS 19.0统计软件进行统计分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用t检验或单因素方差分析, 组间比较采用One-Way ANOVA分析。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 重组腺病毒感染HP14-19细胞

采用Ad-GFP、Ad-RFP、Ad-CXCR4、Ad-CXCR7感染HP14-19细胞后48 h, 荧光显微镜红/绿色荧光光路下观察到各组细胞均有荧光表达, 且荧光强度相当(图1), 说明病毒有效感染了HP14-19细胞。

2.2 流式细胞术与Western blot检测HP14-19细胞膜受体CXCR4/CXCR7的水平

流式细胞术检测结果显示, CXCR4/CXCR7受体在对照组水平分别为4.6%和27.5%, 感染Ad-CXCR4、Ad-CXCR7后, CXCR4/CXCR7受体水平分别为44.3%和77.4%(图2A~图2D); Western blot结果同样显示, 实验组CXCR4/CXCR7蛋白质水平也明显高于对照组(图2E)。

2.3 SDF-1/CXCR4/CXCR7对HP14-19细胞增殖能力的影响

与对照组相比, 高表达CXCR7可明显增加HP14-19细胞的增殖能力(P<0.01), 高表达CXCR4后HP14-19细胞的增殖活性稍有增高, 但无统计学意义(图3)。

2.4 SDF-1/CXCR4/CXCR7对HP14-19细胞迁移能力的影响

与对照组相比, 高表达CXCR4和CXCR7的实验组迁移细胞均显著增加(P<0.05), 且高表达CXCR7的HP14-19细胞组的迁移作用较高表达CXCR4组更强(图4)。

2.5 SDF-1/CXCR4/CXCR7对HP14-19细胞生存能力的影响

倒置显微镜下可见, H_2O_2 处理后HP14-19细胞变圆、皱缩。MTT法显示, 细胞存活率呈 H_2O_2 浓度依赖性。当细胞存活率为70%左右, 即 H_2O_2 浓度为200 μ mol/L处理细胞时, 损伤相对适中, 有统计学意义(P<0.05), 为最适氧化损伤模型浓度。

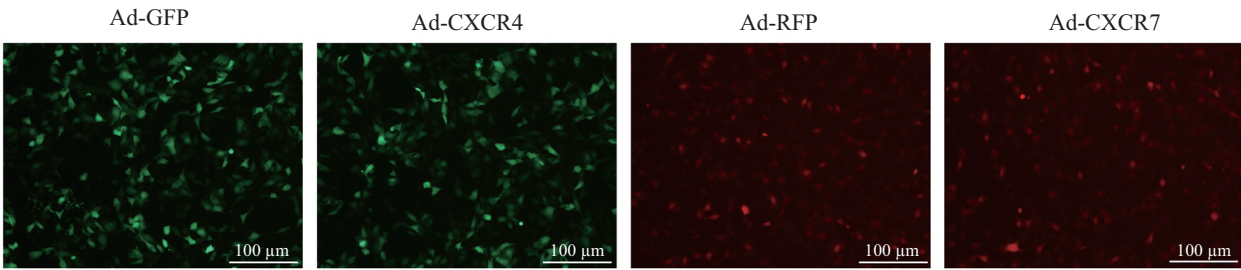
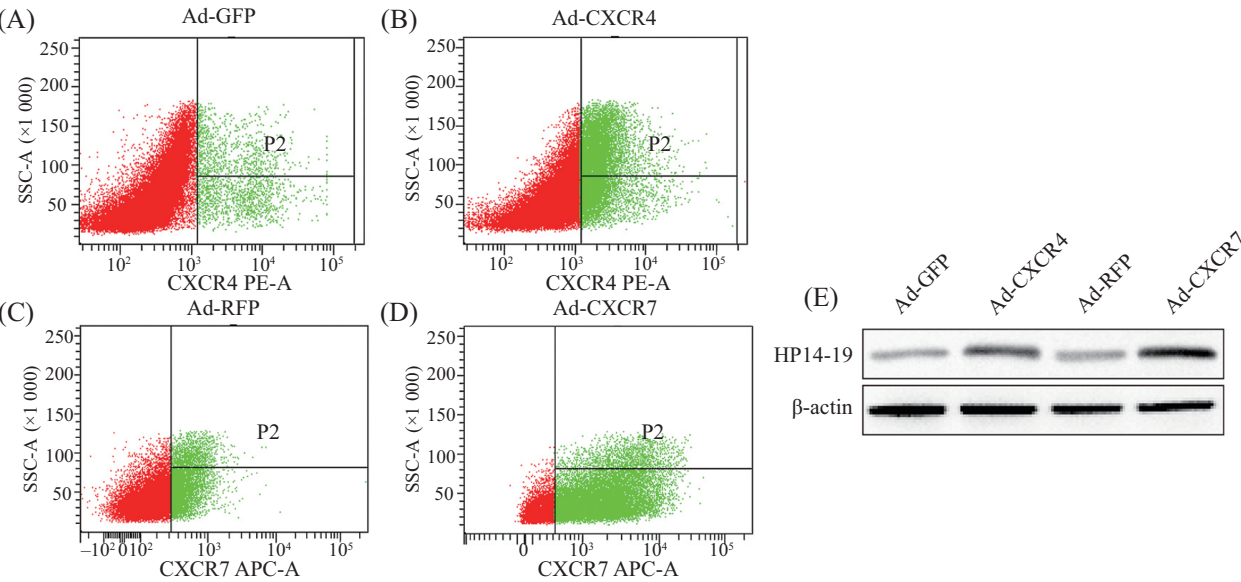


图1 病毒感染HP14-19细胞48 h后荧光强度情况

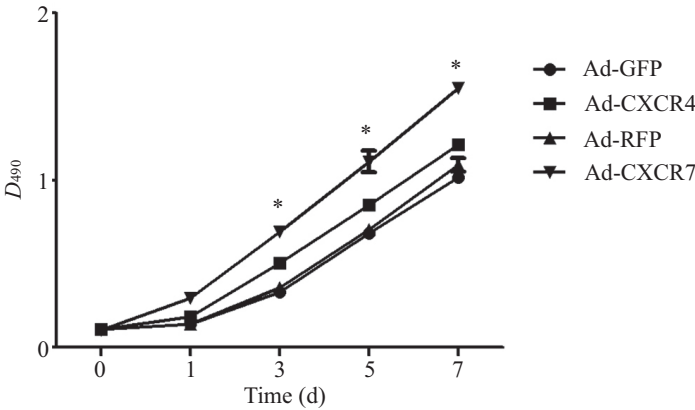
Fig.1 Fluorescent intensity of HP14-19 cells 48 h after infected with recombinant adenovirus



A: HP14-19细胞感染Ad-GFP; B: HP14-19细胞感染Ad-CXCR4; C: HP14-19细胞感染Ad-RFP; D: HP14-19细胞感染Ad-CXCR7; E: Western blot检测各组受体蛋白质水平。
A: HP14-19 infected by Ad-GFP; B: HP14-19 infected by Ad-CXCR4; C: HP14-19 infected by Ad-RFP; D: HP14-19 infected by Ad-CXCR7; E: receptor protein levels of each groups detected by Western blot.

图2 HP14-19细胞膜表面CXCR4/CXCR7受体的水平

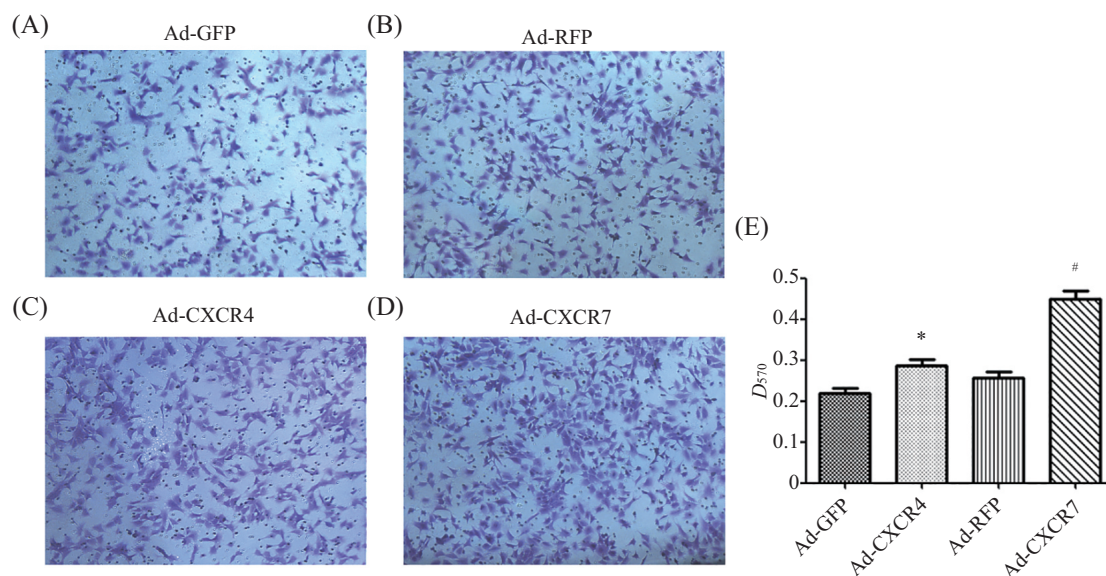
Fig.2 The protein level of CXCR4/CXCR7 receptor on HP14-19 cell surface



* $P < 0.05$, 与Ad-RFP组比较。
* $P < 0.05$ vs Ad-RFP group.

图3 MTT法检测高表达CXCR4/CXCR7后HP14-19的增殖能力

Fig.3 The effect of CXCR4/CXCR7 on the proliferation of HP14-19 detected by MTT method

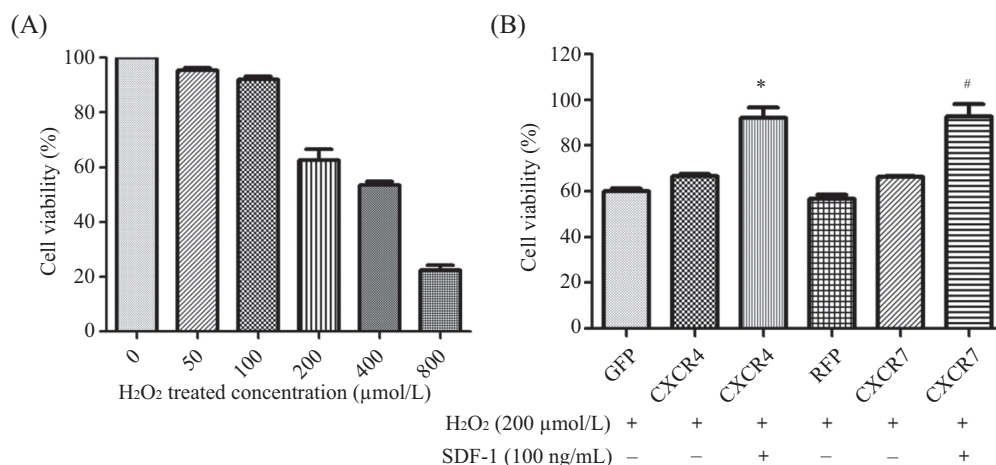


A~D: Ad-GFP组、Ad-CXCR4组、Ad-RFP组、Ad-CXCR7组的HP14-19细胞迁移情况(100 $\times$); E: 酶标仪测得各组迁移细胞吸光度, * P <0.05, 与Ad-GFP组比较; # P <0.05, 与Ad-RFP组比较。

A~D: the migrated cell of HP14-19 infected by Ad-GFP, Ad-CXCR4, Ad-RFP, Ad-CXCR7 (100 $\times$); E: the migration cell/field numbers of A, B, C, D groups. * P <0.05 vs Ad-GFP group; # P <0.05 vs Ad-RFP group.

图4 Transwell检测高表达CXCR4/CXCR7后HP14-19的迁移能力

Fig.4 The effect of CXCR4/CXCR7 on the migration of HP14-19 detected by Transwell



A: 不同 H_2O_2 浓度处理HP14-19细胞后细胞的存活率; B: 200 μ mol/L H_2O_2 浓度处理不同组细胞后各组细胞的存活率。* P <0.05, 与CXCR4组比较; # P <0.05, 与CXCR7组比较。

A: cell viability of HP14-19 treated with different concentrations H_2O_2 ; B: cell viability of different groups HP14-19 treated with 200 μ mol/L H_2O_2 . * P <0.05 vs CXCR4 group, # P <0.05 vs CXCR7 group.

图5 SDF-1诱导对高表达CXCR4/CXCR7的HP14-19细胞的存活作用

Fig.5 The effect of CXCR4 and CXCR7 on HP14-19 cell viability induced by SDF-1

在氧化损伤模型中, 高表达CXCR4/CXCR7本身对HP14-19细胞的存活率没有显著作用, 且加入SDF-1作为诱导因素后的细胞组存活率明显高于对照组和高表达CXCR4/CXCR7细胞组(P <0.05)(图5)。

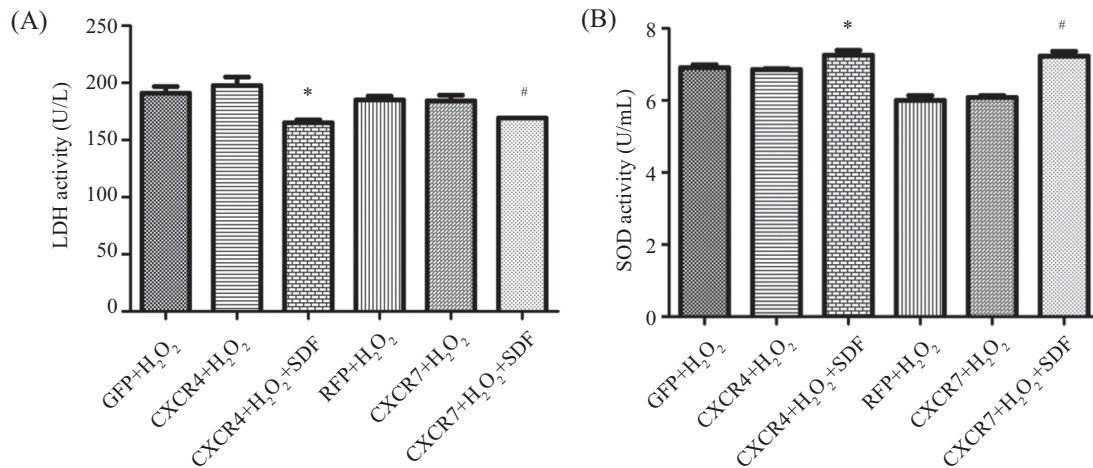
2.6 SDF-1/CXCR4/CXCR7对氧化损伤的HP14-19细胞LDH、SOD活性的影响

在200 μ mol/L H_2O_2 建立的氧化损伤模型中, 与

对照组相比, SDF-1可诱导高表达CXCR4/CXCR7细胞组的LDH活性降低, SOD活力增高, 组间比较有统计学意义(P <0.05)(图6)。

3 讨论

肝干细胞具有高度增殖和自我更新潜能, 且其作为组织工程种子细胞对于终末期肝病的治疗是目



A, B: 200 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂氧化损伤模型中各组细胞的LDH活性及SOD活力。* $P < 0.05$, 与CXCR4+H₂O₂组比较; # $P < 0.05$, 与CXCR7+H₂O₂组比较。
A,B: LDH and SOD activity of cells induced by 200 $\mu\text{mol/L}$ H₂O₂. * $P < 0.05$ vs CXCR4+H₂O₂ group, # $P < 0.05$ vs CXCR7+H₂O₂ group.

图6 SDF-1/CXCR4/CXCR7对氧化损伤HP14-19细胞的LDH、SOD活性的影响

Fig.6 The effect of SDF-1/CXCR4 and SDF-1/CXCR7 on the activity of LDH and SOD in HP14-19 of oxidative stress

前的研究热点之一,但干细胞被非靶器官截获、细胞存活能力低下等大大影响了其治疗效果。基质细胞衍生因子SDF-1属于CXC(chemotaxis cytokine)家族趋化因子成员,是生物体内的一种关键细胞趋化因子,可与多种干/祖细胞表面的CXCR受体结合。大量研究表明,SDF-1/CXCR4/CXCR7途径在干细胞动员、增殖、迁移、黏附、存活和旁分泌等方面发挥重要作用,有助于提高干细胞基础治疗的有效性。因此,探索SDF-1/CXCR4/CXCR7途径对HP14-19的生物学行为的影响,明确是否有助于提高干细胞对终末期肝病治疗的有效性奠定基础。

本课题组利用重组腺病毒感染HP14-19,流式细胞术及Western blot检测HP14-19细胞成功高表达CXCR4/CXCR7受体。CXCR4促进干细胞的迁移与归巢能力受到大家认可,Bhakta等^[9]观察到,提高干细胞表面CXCR4的表达,可显著增加SDF-1对干细胞的趋化作用。高福来等^[10]也提出,SDF-1/CXCR4途径通过磷酸肌醇-3激酶/蛋白激酶C/核因子- κ B(nuclear factor-kappaB, NF- κ B)途径、p42/44促丝裂原活化蛋白激酶/Elk-1途径等几个互补信号通路相互作用参与肝脏损伤的修复,对移植的干细胞定位到肝组织起到了关键作用。本研究发现,高表达CXCR4有助于HP14-19细胞的迁移,但其迁移能力较高表达CXCR7组稍弱,且高表达CXCR7可增加HP14-19细胞增殖能力。CXCR7对SDF-1的亲合力较CXCR4更强,且其对细胞增殖、迁移的研究结果报道不一。有文献表明,SDF-1与受体CXCR7结

合活化,激发下游信号通路,从而影响干细胞的增殖、迁移,且这种迁移能力可以被抗体抑制,但anti-CXCR7对干细胞迁移的抑制作用没有anti-CXCR4明显^[8]。SDF-1激活CXCR7后不引起Ca²⁺流动,这也与CXCR4不同,这表明CXCR7介导的信号通路与CXCR4介导的经典G蛋白偶联通路或有不同。此外,CXCR7也可作为一种非信号的诱导受体存在。

机体遭受有害刺激时,可产生氧化应激反应,乳酸脱氢酶(LDH)增加,超氧化物歧化酶(SOD)减少,氧化系统和抗氧化系统失调,有文章详细报道了胆汁淤积中的氧化应激反应^[11]。在干细胞治疗肝病过程中,移植干细胞受到机体微环境的不利影响,如氧化应激、炎症反应、缺血缺氧等^[12-13]。而SDF-1可通过CXCR7受体调节内皮祖细胞生物行为,SDF-1/CXCR4途径也参与抗氧化应激反应,有利于肝损伤的修复。故本研究通过SDF-1因子作用于高表达CXCR4/CXCR7受体的HP14-19发现,HP14-19在H₂O₂诱导的氧化应激模型中的生存率增加,LDH产生减少,抗氧化酶SOD的表达增加,证实SDF-1/CXCR4/CXCR7途径在抗氧化应激中发挥着一定的作用。

综上所述,SDF-1可通过CXCR4/CXCR7受体影响HP14-19的增殖、迁移归巢能力,也可增加HP14-19在氧化应激环境下的存活率和抗氧化损伤能力,这也许可提高干细胞体内移植治疗肝病的有效率,为临床应用提供可能途径。我们将进一步在动物模型中探究高表达CXCR4/CXCR7受体是否有利于

HP14-19细胞在损伤肝脏中的迁移、定植且保持更高存活率,并探索其具体作用机制。

参考文献 (References)

- 1 Herrera Sanchez MB, Bruno S, Grange C, Tapparo M, Cantaluppi V, Tetta C, *et al.* Human liver stem cells and derived extracellular vesicles improve recovery in a murine model of acute kidney injury. *Stem Cell Res Ther* 2014; 5(6): 124.
- 2 Herrera MB, Fonsato V, Bruno S, Grange C, Gilbo N, Romagnoli R, *et al.* Human liver stem cells improve liver injury in a model of fulminant liver failure. *Hepatology* 2013; 57(1): 311-9.
- 3 Nagamoto Y, Takayama K, Ohashi K, Okamoto R, Sakurai F, Tachibana M, *et al.* Transplantation of a human iPSC-derived hepatocyte sheet increases survival in mice with acute liver failure. *J Hepatol* 2016; 64(5): 1068-75.
- 4 Faber A, Roderburg C, Wein F, Saffrich R, Seckinger A, Horsch K, *et al.* The many facets of SDF-1 α , CXCR4 agonists and antagonists on hematopoietic progenitor cells. *J Biomed Biotechnol* 2007; 2007(3): 26065.
- 5 Chim H, Miller E, Gliniak C, Alsberg E. Stromal-cell-derived factor (SDF) 1- α in combination with BMP-2 and TGF- β 1 induces site-directed cell homing and osteogenic and chondrogenic differentiation for tissue engineering without the requirement for cell seeding. *Cell Tissue Res* 2012; 350(1): 89-94.
- 6 王玉兰, 何晓梅, 唐 薇, 顾怡萍, 张世春, 汤 曼. 基质细胞衍生因子-1 α /CXCR4/CXCR7轴对骨髓间充质干细胞迁移的影响. *解剖学报* (Wang Yulan, He Xiaomei, Tang Wei, Gu Yiping, Zhang Shichun, Tang Man. Effect of stromal cell derived factor-1 α /CXCR4 /CXCR7 axis on migration of the bone marrow mesenchymal stem cells. *Acta Anatomica Sinica*) 2014; 5: 639-45.
- 7 Bi Y, He Y, Huang J, Su Y, Zhu GH, Wang Y, *et al.* Functional characteristics of reversibly immortalized hepatic progenitor cells derived from mouse embryonic liver. *Cell Physiol Biochem* 2014; 34(4): 1318-38.
- 8 王灵巧. 基质细胞衍生因子(SDF-1)的新受体CXCR7对内皮祖细胞调节作用的初探(硕士论文). 重庆大学(Wang Lingqiao. Initial explorer for CXCR7/SDF-1 effect on endothelial progenitor cells. Chongqing University), 2010.
- 9 Bhakta S, Hong P, Koc O. The surface adhesion molecule CXCR4 stimulates mesenchymal stem cell migration to stromal cell-derived factor-1 *in vitro* but does not decrease apoptosis under serum deprivation. *Cardiovasc Res* 2006; 7(1): 19-24.
- 10 高福来, 韩明子, 金世柱, 胡宗晶. SDF-1/CXCR4轴在肝脏干细胞移植中的应用. *世界华人消化杂志* (Gao Fulai, Han Mingzi, Jin Shizhu, Hu Zongjing. Stromal cell-derived factor-1/ CXCR4 chemokine receptor-4 axis and hepatic stem cell transplantation. *World Chinese Journal of Digestology*) 2009; 17(24): 2474-7.
- 11 王 燕, 陆伦根. 氧化应激在胆汁淤积中的作用. *肝脏* (Wang Yan, Lu Lungen. The role of oxidative stress in cholestasis. *Chinese Hepatology*) 2012; 7: 501-3.
- 12 Liu GY, Jiang XX, Zhu X, He WY, Kuang YL, Ren K, *et al.* ROS activates JNK-mediated autophagy to counteract apoptosis in mouse mesenchymal stem cells *in vitro*. *Acta Pharmacol Sin* 2015; 36(12): 1473-9.
- 13 Ishizuka T, Hinata T, Watanabe Y. Superoxide induced by a high-glucose concentration attenuates production of angiogenic growth factors in hypoxic mouse mesenchymal stem cells. *J Endocrinol* 2011; 208(2): 147-59.