

基底膜促细胞分化

于美男 孔庆宏 郭雅馨 浦天洋 王冠林*

(昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要 个体发育取决于细胞分化。在细胞分化中, 基因按一定的时间和空间次序选择地表达, 通过基因的开启或关闭, 最终表达特定的蛋白质。细胞分化受多种因素的影响, 其中, 基底膜是细胞分化的影响因素之一。基底膜中的主要成分有胶原、层黏连蛋白、蛋白聚糖, 它们分别在细胞分化中起到一定作用。该文主要阐述基底膜及其主要成分在促细胞分化的作用和参与细胞分化的机制, 为研究细胞分化提供新的思路。

关键词 细胞分化; 基底膜; 胶原; 层黏连蛋白; 蛋白聚糖

Roles of Basement Membrane in Cell Differentiation

Yu Meinan, Kong Qinghong, Guo Yaxin, Pu Tianyang, Wang Guanlin*

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract The ontogenesis depends on cell differentiation. In cell differentiation, genes have the choice expression according to certain time and the spatial order. And through turning genes on or off, the specific protein is expressed. Cell differentiation is affected by a variety of factors, and the basement membrane is one of the factors affecting cell differentiation. The main constituents of the basement membrane are collagen, laminin and perlecan. Each of them play a role in cell differentiation. This paper mainly elaborates the function and mechanism of basement membrane and its main components that are involved in cell differentiation, which will provide new ideas for cell differentiation.

Keywords cell differentiation; basement membrane; collagen; laminin; perlecan

个体的成长发育离不开细胞分化, 细胞分化是指同一起来源的细胞逐渐产生出形态结构和功能特征各不相同的细胞类群的过程。细胞通过复杂的调节系统响应内部和外部环境的变化, 控制特定基因库表达的转录因子的激活^[1]。细胞分化的方向可因为环境因素的影响而改变。研究表明, 体外培养的间充质干细胞的命运受到各种外部因素的影响, 包括特定的细胞来源、供体年龄、细胞培养基、补充因子、O₂浓度及三维支架等^[2]。骨髓细胞可以分化成肝细胞系, 然而他们的分化和增殖很弱, 细胞特征也很难发现, 仅用含有肝细胞生长因子的培养基也不

足以起到促细胞分化的作用。用含有肝细胞生长因子的人工基底膜培养大鼠骨髓细胞, 通过RT-PCR检测到了肝细胞的标记物白蛋白的表达, 证明基底膜在细胞分化中起到重要的作用^[3]。基底膜不仅对骨髓细胞有促分化作用, 对其他细胞系也起到促分化作用, 但是其促分化的机制我们还不是很明确, 本文围绕基底膜及其主要成分在促细胞分化的机制方面进行阐述。

1 基底膜结构

基底膜(basement membrane, BM)是围绕大多

收稿日期: 2017-08-15 接受日期: 2017-09-25

国家自然科学基金(批准号: 81360162、81260351)和云南省科学基金(批准号: 2015FB139、2014DA002)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65920747, E-mail: glwang83@gmail.com

Received: August 15, 2017 Accepted: September 25, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81360162, 81260351) and the Natural Science Foundation of Yunnan Province (Grant No.2015FB139, 2014DA002)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65920747, E-mail: glwang83@gmail.com

网络出版时间: 2018-01-03 17:23:08

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180103.1723.018.html>

数动物组织的比较薄的可以自组装的细胞外基质薄膜(图1)。BM的出现与动物多细胞的起源相吻合, 这表明BM对于组织的形成是必不可少的。BM由层黏连蛋白(Laminin)聚合物网络和胶原(Collagen)聚合物网络组成, 而Collagen和Laminin网络是通过巢蛋白(Nidogen)和肝素-硫酸蛋白聚糖(Perlecan)连接起来的。BM通常与细胞生命周期相关, 通过与黏附受体、整合素和硫酸糖脂的相互作用而锚定于细胞表面^[4]。BM中的其他成分, 如糖蛋白和蛋白多糖(包括纤维蛋白、血红素、集聚蛋白和Collagen XVIII), 它们相互组合产生生物化学和生物物理学上不同的结构, 在体外细胞培养方面上起各种作用^[4]。

2 基底膜与细胞分化

在多细胞机体中, 细胞与细胞间复杂的相互作用调节着细胞的生长和分化。此相互作用中, BM是重要的物质基础, 其通过与细胞表面的受体结合来传导信号, 引发细胞的生理反应。

2.1 基底膜参与细胞分化的可能机制

目前对于基底膜如何参与细胞分化机制的研究还不了解, 但是有报道表明, 在细胞分化期间有相关基因的上调或下调以及信号通路的开启或关闭。当用重建基底膜培养胚胎干细胞时, 可以检测到上皮细胞的特异性蛋白角蛋白18、19、5和1的表达; 同时, 也观察到骨形态发生蛋白质/转化生长因子- β (bone morphogenetic proteins/transforming growth factor- β , BMPs/TGF- β)信号通路里的许多

生长因子及其相关配体的表达也上调, c-jun N-末端激酶1(c-jun N-terminal kinase 1, JNK1)的活化和JNK1下游Jun家族转录因子的表达增加^[5]。有研究发现, 在添加有抗坏血酸、 β -甘油磷酸和地塞米松的羊膜基质上培养的人牙顶端乳头细胞, 可以检测到丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的另外一种亚型胞外信号调节激酶ERK1/2(extracellular signaling-regulated kinase 1/2)的活化, 使核心结合因子 α -1(core-binding factor alpha-1, Cbfa-1)磷酸化, 成骨细胞转录因子Runx2(runt-related transcription factor 2)表达量上调, 促进成骨细胞分化^[6]。细胞外基质在大鼠胰腺外分泌细胞分化期间, 细胞外基质通过与细胞膜上的 β 1整合素结合使得p38MAPK磷酸化, pax6表达上调, 促使胰岛素mRNA和蛋白水平都增加, 从而使大鼠胰腺外分泌细胞分化为胰岛B细胞^[7]。可见, BM与细胞表面的特异性受体结合, 激活细胞内的信号反应, 促使细胞分化(图2)。

2.2 基底膜与干细胞的关系

基底膜可以促进干细胞分化为多种细胞, 对干细胞而言具有多种用途, 基底膜提取物在胚胎干细胞扩增期间, 薄的基底膜提取物涂层不能促进干细胞的分化, 而厚的基底膜提取物涂层可以促进干细胞的分化^[8]。体外培养的间充质基质细胞的特征是增殖寿命短, 增殖分化的能力逐渐降低, 而在基底膜蛋白(Laminin-1、Laminin-5、Collagen IV和纤连蛋白)存在下, 间充质基质细胞的体外增殖和分化为中胚层细

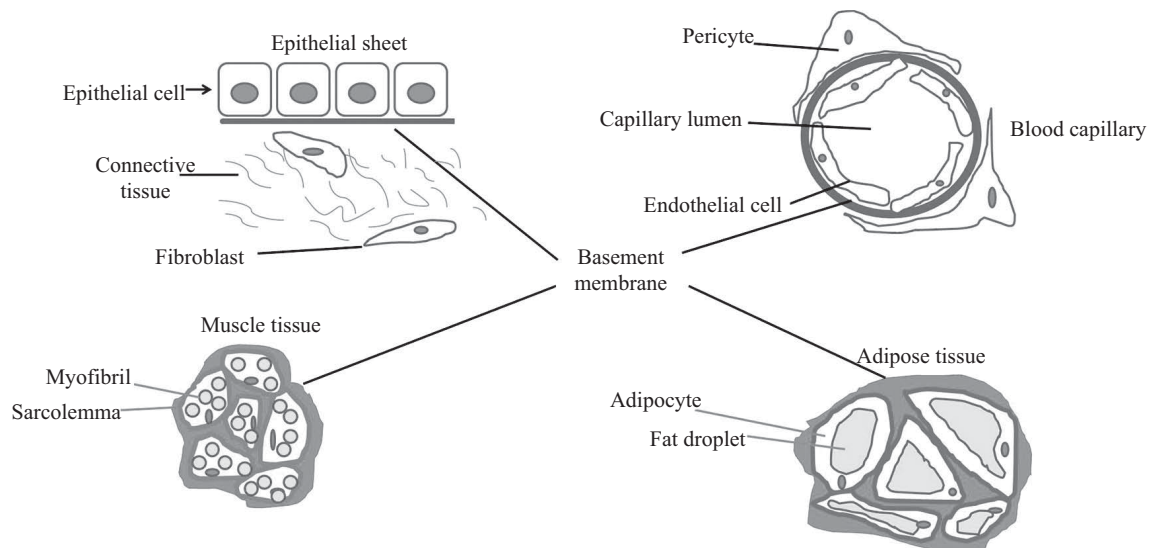


图1 基底膜的结构(根据参考文献[4]修改)

Fig.1 The structure of basement membrane (modified from reference [4])

胞谱系的能力显著提高; 同时也可增加脂肪组织来源的间充质干细胞分化为成骨细胞的能力^[9-10]。

2.3 基底膜促黏附、生长、分化

基底膜不仅对于细胞起到促分化作用, 对其他细胞系的黏附、生长和分化也起到了一定的作用。在无血清条件下培养的结肠腺癌细胞的贴壁能力完全丧失, 但是在涂布有基底膜的培养板上重新培养时, 细胞重新贴壁, 并且细胞的生长状态更好^[11], 基底膜基质促进人支气管上皮细胞分化为腺泡细胞, 利用基底膜基质促分化能力所建立的这种体外模型系统是可重复的、稳定的, 并可用于腺泡分化和增生的研究^[12]。同时也有研究表明, 羊膜基质可以促进人牙顶端乳头细胞分化为成骨细胞^[6]。可见, BM在细胞附着、形态保持和分化上起着重要作用。

不同浓度的基底膜促进人牙髓干细胞的牙源性分化的程度是不一样的^[13], 说明了基底膜在最适的浓度下对细胞促分化作用最佳。基底膜的主要成分有Collagen、Laminin和连接两者的桥梁分子Perlecan, 证明在细胞黏附、生长和分化期间这几种成分发挥了重要的作用。

3 基底膜组分与细胞分化

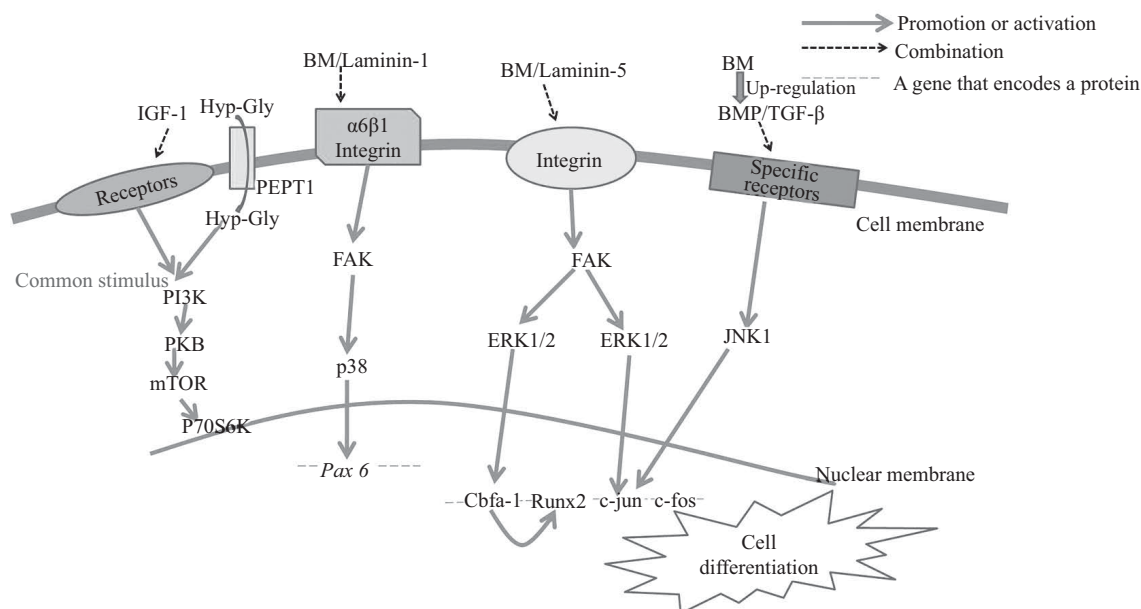
3.1 Collagen与细胞分化

3.1.1 Collagen结构

Collagen存在于体内各种器

官和组织, 是细胞外基质的框架结构, 可由成纤维细胞、软骨细胞、成骨细胞及某些上皮细胞合成并分泌到细胞外, 其种类繁多, 但组成成分相似。Collagen IV是BM中的主要成分之一, 它由三条 α 链组成三股螺旋结构(α chain triple helix)蛋白。 α 链主要结构特征为约130个氨基酸残基组成的氨基端胶原区, 称为7S区; 约1 400个氨基酸组成的大胶原区 (large collagen zone), 包含无数重复性的三联体序列甘氨酸-X-Y(X、Y代表一系列其他氨基酸), 并被15~20个非胶原区中断, 这些中断区为三螺旋的弹性所必需; 约230个氨基酸残基的羧基端非胶原区, 称为C-端的球状非胶原(non-collagen, NC)区^[14]。通常7S区发生四聚化, NC区发生二聚化^[14](图3)。

3.1.2 Collagen参与细胞分化机制 将成肌细胞培养在Collagen水解物羟基丙氨酸-甘氨酸(Hyp-Gly)上时, 肽/组氨酸转运蛋白1(peptide transporter 1, PEPT1)表达量增加, PEPT1介导Hyp-Gly到细胞内与胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor 1, IGF-1)及其受体复合物协同作用, 激活磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), 促使蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)磷酸化, 诱导哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)的磷酸化, 活化的mTOR诱导下游底物的磷酸化, 如核糖体p70S6激酶的磷酸化, 使肌管特异性



Pax 6: 配对盒基因, 翻译成的蛋白质作为重要的转录因子。

Pax 6: paired box gene, translated into protein as an important transcription factor.

图2 参与细胞分化的主要信号通路图

Fig.2 Signal pathways involved in cell differentiation

肌球蛋白重链和原肌球蛋白结构蛋白的合成增加, 证明Hyp-Gly通过PI3K/PKB/mTOR途径促进成肌细胞肌原性分化^[15]。

Collagen作为支架系统, 在细胞修复、分化培养方面也发挥了重要的作用。装载有碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的透明质酸钠Collagen骨架可以增强细胞膜上成纤维细胞生长因子受体1(fibroblast growth factor receptor 1, FGFR1)受体的活性, 使ERK1/2信号通路中关键因子c-jun和c-fos的表达量增加, 促使神经干细胞分化成成熟功能神经元^[16]。在壳聚糖Collagen复合物膜上培养小鼠颅顶前骨细胞, 可以检测到成骨细胞标记基因Collagen I和碱性磷酸酶的表达, 同时也发现ERK1/2的磷酸化及其下游调节成骨细胞分化的重要因子Runx2的转录活性也增强, 说明了壳聚糖Collagen复合物膜加速了小鼠颅顶前骨细胞向成骨细胞方向增殖、分化和基质矿化^[17](图2)。

3.1.3 Collagen促黏附、分化 Collagen种类繁多, 各种类型的Collagen在培养细胞时所起的作用也有差别。用Collagen I培养成釉细胞时, 其与细胞表面 $\alpha 2\beta 1$ 整合素结合促进更细长的成釉细胞谱系的形成, 增强细胞黏附, 而用Collagen I和 $\alpha 2\beta 1$ 整合素抗体共同培养细胞时, 其黏附能力明显减少^[18]。在缺乏生长因子的情况下, 可以使用Collagen II和硫酸软骨素促进骨髓来源的间充质干细胞分化为软骨细胞^[19]。用藻酸盐与Collagen IV共同培养小鼠胚胎干细胞, 检测到原始生殖细胞特异性小鼠脉管同系物(mouse vasa homologue, Mvh)内源蛋白的表达, 证明Collagen IV可促进小鼠胚胎干细胞分化为原始生殖细胞^[20]。

在培养细胞时, 各种类型Collagen总的效果是

促进细胞黏附、生长和分化。使用添加有生长因子的Collagen凝胶培养小肠上皮细胞, 可观察到小肠上皮细胞的贴壁性良好, RT-PCR可检测到上皮细胞上绒毛蛋白1、黏蛋白2、嗜落粒蛋白A和溶菌酶1的表达, 而在没有Collagen凝胶的条件下培养的上皮细胞悬浮起来, 无法存活^[21], 可见Collagen凝胶促进了小肠上皮细胞的黏附和生长。同时也有研究表明Collagen支架微环境可以促进骨髓细胞分化为调节性树突细胞^[22]。

3.2 Laminin与细胞分化

3.2.1 Laminin结构 Laminin是基底膜的另一个主要组成成分(图4), 由 α 链、 β 链和 γ 链组成异源三聚体多糖糖蛋白^[23], 分子量约900 kDa, 其中 α 链400 kDa, β 链225 kDa, γ 链205 kDa。3条肽链在空间形成十字架结构, 包括3条短臂和1条长臂。其中, 每条短臂上都有两个小球形结构, 3条短臂的球形结构可以和胶原结合, 长臂 α 链的5个球状C-末端结构域与细胞表面受体结合, 短臂的非球形部分也可以和细胞表面受体结合, 通过Laminin介导, 细胞可黏附在基底膜基质上。3条短臂上有半胱氨酸残基, 可以形成二硫键, 利于空间联系的稳固性^[24]。

3.2.2 Laminin参与细胞分化机制 有文献报道, Laminin能够诱导PKB和ERK的激活, 促进人间充质干细胞分化成胰岛素生成细胞^[26]。Laminin-5诱导局部黏着激酶(focal adhesion kinase, FAK)活化, 从而激活ERK1/2和Runx2/Cbfa-1信号级联反应, 促进间充质干细胞分化为成骨细胞^[27]。细胞整合素 $\alpha 6\beta 1$ 与Laminin-1相互作用也是通过FAK信号通路激活MAPK/ERK级联反应, 使人间充质干细胞分化为神经突样细胞^[28](图2)。由此可见, Laminin参与细胞分化的机制主要是通过MAPK激酶通路促使细胞分化。

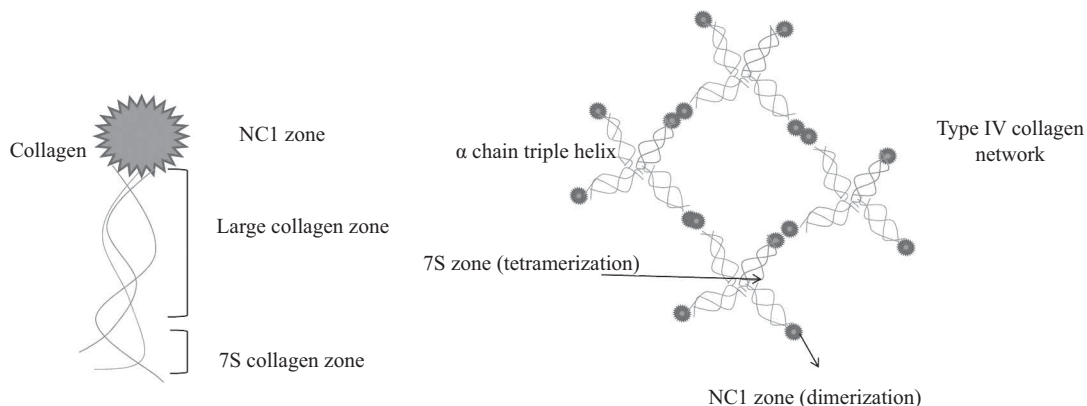


图3 胶原结构(根据参考文献[4]修改)

Fig.3 The structure of Collagen (modified from reference [4])

3.2.3 Laminin中特殊的结构对细胞分化的影响 Laminin可以促进间充质干细胞分化为肝细胞,同时也可以促进软骨祖细胞分化为软骨细胞,这其中,Laminin分子的特殊结构起到一定的促分化作用^[29-30]。基质大分子Laminin-3对小鼠胚胎早期发育至关重要,当小鼠缺乏Laminin $\alpha 1$ 长链C-末端第四至五的两个球状结构域时,其内胚层组织标记物Dab2(disabled-2)表达缺陷,表明在细胞分化期间Laminin $\alpha 1$ 长链C-末端第四至五的两个球状结构域起到了重要作用^[23]。研究表明,基质中的Laminin-3可以促使肝细胞分化,小鼠Laminin $\alpha 1$ 的A13肽($\alpha 1$ 链RQVFQVAYLLLKA)可促使肝细胞黏附和分化,B160($\beta 1$ 链VILQSSAADIR)和C16($\gamma 1$ 链KAFDITYVRLKF)也可以促细胞黏附,并且比A13肽促细胞黏附能力更强。在B160和C16两种肽上培养的肝细胞也有白蛋白、酪氨酸氨基转移酶、色氨酸-2,3-双加氧酶和细胞色素P450的表达^[31],说明是Laminin的三条肽链协同作用促使细胞分化。

3.2.4 Laminin对细胞分化的抑制作用 有研究发现,Laminin不仅可以促进细胞分化,也可抑制细胞分化,外源性Laminin-5通过其 $\alpha 3$ 长链C-末端第三个球状结构域与细胞表面整合素受体结合强烈抑制软骨祖细胞系分化,并发现Laminin-5的105 kDa $\gamma 2$ 链比Laminin-5的150 kDa $\gamma 2$ 链抑制细胞分化作用更强^[25]。同时也有研究表明,Laminin-5促进间充质干细胞增

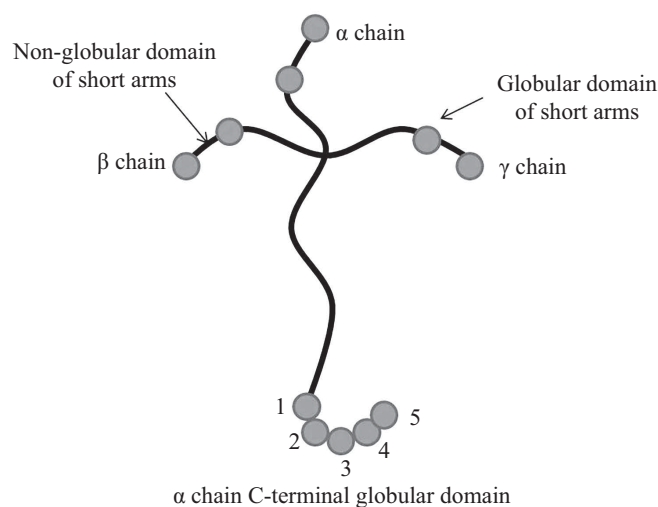
殖,抑制间充质干细胞分化为软骨细胞^[32]。

研究表明,Collagen和Laminin对细胞的促分化作用也是不一样的,当用Collagen IV和Laminin共培养骨髓间充质干细胞时,发现Laminin可以促使骨髓间充质干细胞分化为胰岛样细胞,分泌胰岛素^[33];Laminin-5和Collagen I能够促进间充质干细胞附着,而Laminin-1和Laminin-5则促进间充质干细胞分化为成骨细胞^[34]。

3.3 Perlecan与细胞分化

3.3.1 Perlecan结构 基底膜中的桥梁分子Perlecan(图5)由五个不同结构域组成,其N-末端结构域I含有硫酸乙酰肝素(heparan sulfate)侧链和硫酸软骨素侧链的糖胺聚糖(glycosaminoglycan, GAG)附着位点^[35],C-末端结构域具有三个Laminin样球状结构域(Laminin type-Globular domain)。Perlecan通常被分泌到细胞周围,介导信号分子的传递,其模块化蛋白质核心与细胞外基质成分、受体和生长因子相互作用,如:FGF1、2、7、9、10、18,并且这种相互作用可促进血管生成及软骨形成。可见,Perlecan在软骨发育和分化期间可能发挥着重要作用^[36]。

3.3.2 Perlecan参与细胞分化机制 用Perlecan培养软骨细胞时,其可结合成纤维细胞生长因子2(fibroblast growth factor 2, FGF2)并定位到软骨细胞膜特定受体,激活MAPK/ERK1和ERK2促使细胞增殖^[36]。Perlecan也可与肝素结合生长因子(heparin



短壁球型结构与胶原结合,短臂非球形结构与细胞表面受体结合, α 链C-末端球状结构域与细胞表面受体结合。

Globular domain of short arms combined with collagen. Non-globular domain of short arms combined with cell surface receptors. α chain C-terminal globular domain combined with cell surface receptors.

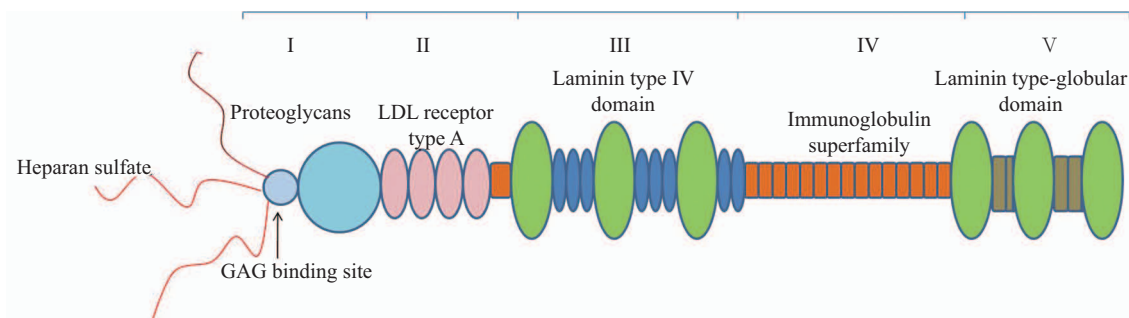
图4 层黏连蛋白结构(根据参考文献[25]修改)

Fig.4 The structure of Laminin (modified from reference [25])

binding growth factors, HBGF) 和 TGF- β /BMPs 等因子结合, 硫酸乙酰肝素侧链和硫酸软骨素侧链通过 GAG 结合位点连接到 Perlecan 结构域 I 上, 这种结合增强了 HBGF、BMP-2 和 TGF- β 1 因子的生物活性, 促进间充质干细胞分化为软骨细胞, 形成软骨样组织^[35]。同时也有研究表明, Perlecan 的五个结构域中, 仅携带 GAG 结合位点的 Perlecan 结构域 I 与 BMP-2 因子协同作用促进间充质干细胞分化为软骨细胞^[37]。

可见, Perlecan 结构域 I 在促细胞分化中起到重要作用。

3.3.3 Perlecan 促细胞分化 研究表明, Perlecan 可促进滑膜间充质干细胞分化为软骨细胞^[38]。外源性 Perlecan 抑制间充质干细胞分化为脂肪细胞, 促进间充质干细胞分化为成骨细胞, 基于这些结果, 我们可以采用添加外源性 Perlecan 或阻断内源性 Perlecan 的方法, 来调控间充质干细胞的分化方向^[39]。综上, 我



结构域 I: 蛋白聚糖; 结构域 II: LDL 受体 A 型; 结构域 III: 层黏连蛋白 IV 型结构域; 结构域 IV: 免疫球蛋白超家族; 结构域 V: 层黏连蛋白型-球状结构域。

Domain I: proteoglycans; domain II: LDL receptor type A; domain III: Laminin type IV domain; domain IV: immunoglobulin superfamily; domain V: Laminin type-globular domain.

图5 Perlecan 结构(根据参考文献[36]修改)

Fig.5 The structure of Perlecan (modified from reference [36])

表1 基底膜主要组分及功能

Table 1 Main components of basement membrane and their functions

主要成分 Main components	结构 Structures	受体 Receptors	功能 Functions	相互作用 Interactions	参考文献 References
Collagen	Three α chains form triple helix structural proteins, divided into 7S collagen zone and NC1 non-collagen zone	α 1 β 1, α 2 β 1 integrins, and so on	Promoting cell adhesion and differentiation	Collagen binds to Perlecan domain I and domain IV	[36]
Laminin	α , β and γ chains form heterotrimeric polysaccharide sugar chains. Crossed structure (three short arms and one long arm)	α 3 β 1, α 6 β 1 integrins, α -dystroglycan, and so on	Promoting cell adhesion, protein kinase activity to promote cell differentiation	Globular structure of Laminin short arms can be combined with Collagen	[24]
Perlecan	Five different domains constitute proteoglycans	β 1, α 2 β 1 integrins, α -dystroglycan, and so on	Combined with growth factors to migrate to specific receptors on the cell membrane to play a role in promoting angiogenesis and osteoblastic differentiation of stem cells	The heparin sulfate chain of the Perlecan domain I GAG binding site binds to the cysteine residues of Laminin three short arms to form a disulfide bond	[24,36]

们可以看出Perlecan主要与干细胞的成骨分化潜能相关。

通过研究基底膜及其主要成分(表1)在细胞分化中的作用,我们发现,细胞分化主要是通过基底膜上的Laminin和Collagen与细胞表面整合素受体结合,激活MAPK的三种亚型ERK、JNK和p38激酶通路以及PKB通路,调节细胞分化的下游转录因子的表达,促使细胞分化,而Perlecan可以与许多细胞外基质成分、受体和生长因子相互作用,并靶向特定的部位调节细胞的生理作用(图4)。研究表明,单独用Laminin或Collagen培养细胞没有BM促细胞分化效果好,说明基底膜的各个成分相互作用能够最大程度地调节细胞的分化^[9-10]。当然,基底膜的其他成分在调节细胞分化的生理活性方面也发挥着重要作用,有待我们进一步研究。

4 结语

在疾病或创伤性损伤之后中枢神经系统的自发再生能力有限,而移植外源性神经干细胞来代替丢失或死亡的神经元有望促进中枢神经系统的恢复。骨髓细胞可分化为肝细胞,移植外源性骨髓细胞到受损的肝脏部位可促使肝脏再生。神经干细胞、骨髓细胞、成肌细胞和软骨祖细胞等细胞很难找到合适的体外培养条件,同时我们把细胞植入体内也面临着很多问题,例如,如何将移植的外源细胞固定在受伤部位,避免其分散到其他地方;怎样控制外源细胞的活性和存活率;怎样避免免疫排斥反应。因此,研究基底膜及其组成成分在促细胞分化中的作用,将有助于我们精确培养细胞,解决我们当前所面临的细胞难培养的问题,把基底膜及相关促细胞生长和分化因子作为培养细胞的骨架系统一起植入到受伤组织,使我们所建立的疾病治疗模型系统更接近于体内模型系统,减少免疫排斥反应,提高疾病治愈力,有助于未来临床治疗的应用,为治疗人类的疾病作出贡献。

参考文献 (References)

- 1 Cerone L, Neufeld Z. Differential gene expression regulated by oscillatory transcription factors. *PLoS One* 2012; 7(1): e30283.
- 2 Sisakhtnezhad S, Alimoradi E, Akrami H. External factors influencing mesenchymal stem cell fate *in vitro*. *Eur J Cell* 2017; 96(1): 13-33.
- 3 Okumoto K, Saito T, Hattori E, Ito JI, Suzuki A, Misawa K, *et al.* Differentiation of rat bone marrow cells cultured on artificial basement membrane containing extracellular matrix into a liver cell lineage. *J Hepatol* 2005; 43(1): 110-6.
- 4 Jayadev R, Sherwood DR. Basement membranes. *Curr Biol* 2017; 27(6): R207-11.
- 5 Ho HY, Moffat RC, Patel RV, Awah FN, Baloue K, Crowe DL. Embryoid body attachment to reconstituted basement membrane induces a genetic program of epithelial differentiation via jun N-terminal kinase signaling. *Stem Cell Res* 2010; 5(2): 144-56.
- 6 Chen YJ, Chung MC, Jane Yao CC, Huang CH, Chang HH, Jeng JH, *et al.* The effects of acellular amniotic membrane matrix on osteogenic differentiation and ERK1/2 signaling in human dental apical papilla cells. *Biomaterials* 2012; 33(2): 455-63.
- 7 Hamamoto K, Yamada S, Hara A, Kodera T, Seno M, Kojima I. Extracellular matrix modulates insulin production during differentiation of AR42J cells: functional role of Pax6 transcription factor. *J Cell Biochem* 2011; 112(1): 318-29.
- 8 Arnaoutova I, George J, Kleinman HK, Benton G. Basement membrane matrix (BME) has multiple uses with stem cells. *Stem Cell Rev* 2012; 8(1): 163-9.
- 9 Kang BJ, Ryu HH, Park SS, Kim Y, Woo HM, Kim WH, *et al.* Effect of matrigel on the osteogenic potential of canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *J Vet Med Sci* 2012; 74(7): 827-36.
- 10 Lindner U, Kramer J, Behrends J, Driller B, Wendler NO, Boehrsen F, *et al.* Improved proliferation and differentiation capacity of human mesenchymal stromal cells cultured with basement-membrane extracellular matrix proteins. *Cytotherapy* 2010; 12(8): 992-1005.
- 11 Vilasaliu D, Falcone FH, Stolnik S, Garnett M. Basement membrane influences intestinal epithelial cell growth and presents a barrier to the movement of macromolecules. *Exp Cell Res* 2014; 323(1): 218-31.
- 12 Wu X, Peters-Hall JR, Bose S, Pena MT, Rose MC. Human bronchial epithelial cells differentiate to 3D glandular acini on basement membrane matrix. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 44(6): 914-21.
- 13 Paduano F, Marrelli M, White LJ, Shakesheff KM, Tatullo M. Odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells on hydrogel scaffolds derived from decellularized bone extracellular matrix and Collagen type I. *PLoS One* 2016; 11(2): e0148225.
- 14 王云峰, 丁洁. IV型胶原分子结构的研究与Alport综合征. 肾脏病与透析肾移植杂志(Wang Yunfeng, Ding Jie. *J Nephrol Dialy Transplant*) 2004; 13(1): 71-4.
- 15 Kitakaze T, Sakamoto T, Kitano T, Inoue N, Sugihara F, Harada N, *et al.* The collagen derived dipeptide hydroxyprolyl-glycine promotes C2C12 myoblast differentiation and myotube hypertrophy. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 478(3): 1292-7.
- 16 Duan H, Li X, Wang C, Hao P, Song W, Li M, *et al.* Functional hyaluronate collagen scaffolds induce NSCs differentiation into functional neurons in repairing the traumatic brain injury. *Acta Biomater* 2016; 45: 182-95.
- 17 Wang X, Wang G, Liu L, Zhang D. The mechanism of a chitosan-collagen composite film used as biomaterial support for MC3T3-E1 cell differentiation. *Sci Rep* 2016; 6: 39322.
- 18 He P, Zhang Y, Kim SO, Radlanski RJ, Butcher K, Schneider RA, *et al.* Ameloblast differentiation in the human developing

- tooth: effects of extracellular matrices. *Matrix Biol* 2010; 29(5): 411-9.
- 19 Tamaddon M, Burrows M, Ferreira SA, Dazzi F, Apperley JF, Bradshaw A, *et al.* Monomeric, porous type II collagen scaffolds promote chondrogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells *in vitro*. *Sci Rep* 2017; 7: 43519.
- 20 Mansouri V, Salehi M, Omrani MD, Niknam Z, Ardeshiryajimi A. Collagen-alginate microspheres as a 3D culture system for mouse embryonic stem cells differentiation to primordial germ cells. *Biologicals* 2017; 48: 114-20.
- 21 Jabaji Z, Sears CM, Brinkley GJ, Lei NY, Joshi VS, Wang J, *et al.* Use of collagen gel as an alternative extracellular matrix for the *in vitro* and *in vivo* growth of murine small intestinal epithelium. *Tissue Eng Part C Methods* 2013; 19(12): 961-9.
- 22 Fang Y, Wang B, Zhao Y, Xiao Z, Li J, Cui Y, *et al.* Collagen scaffold microenvironments modulate cell lineage commitment for differentiation of bone marrow cells into regulatory dendritic cells. *Sci Rep* 2017; 7: 42049.
- 23 Akerlund M, Carmignac V, Scheele S, Durbeej M. Laminin alpha1 domains LG4-5 are essential for the complete differentiation of visceral endoderm. *Cell Tissue Res* 2009; 338(1): 129-37.
- 24 徐彤. 层黏连蛋白的结构及功能. *国外医学(免疫学分册)* (Xu Tong. Structure and function of laminin. *Foreign Medicine*) 1996; (5): 253-6.
- 25 Hashimoto J, Ogawa T, Tsubota Y, Miyazaki K. Laminin-5 suppresses chondrogenic differentiation of murine teratocarcinoma cell line ATDC5. *Exp Cell Res* 2005; 310(2): 256-69.
- 26 Lin HY, Tsai CC, Chen LL, Chiou SH, Wang YJ, Hung SC. Fibronectin and laminin promote differentiation of human mesenchymal stem cells into insulin producing cells through activating Akt and ERK. *J Biomed Sci* 2010; 17: 56.
- 27 Salaszyk RM, Klees RF, Boskey A, Plopper GE. Activation of FAK is necessary for the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells on laminin-5. *J Cell Biochem* 2007; 100(2): 499-514.
- 28 Mruthyunjaya S, Manchanda R, Godbole R, Pujari R, Shiras A, Shastry P. Laminin-1 induces neurite outgrowth in human mesenchymal stem cells in serum/differentiation factors-free conditions through activation of FAK-MEK/ERK signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391(1): 43-8.
- 29 Khalaj Z, Lotfi AS, Kabir-Salmani M. Laminin matrix promotes hepatogenic terminal differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Iran J Basic Med Sci* 2016; 19(1): 34-42.
- 30 Schminke B, Frese J, Bode C, Goldring MB, Miosge N. Laminins and Nidogens in the pericellular matrix of chondrocytes: their role in osteoarthritis and chondrogenic differentiation. *Am J Pathol* 2016; 186(2): 410-8.
- 31 Kikkawa Y, Kataoka A, Matsuda Y, Takahashi N, Miwa T, Katagiri F, *et al.* Maintenance of hepatic differentiation by hepatocyte attachment peptides derived from laminin chains. *J Biomed Mater Res A* 2011; 99(2): 203-10.
- 32 Hashimoto J, Kariya Y, Miyazaki K. Regulation of proliferation and chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells by laminin-5 (laminin-332). *Stem Cells* 2006; 24(11): 2346-54.
- 33 Pokrywczynska M, Lewandowska MA, Krzyzanowska S, Jundzill A, Rasmus M, Warda K, *et al.* Transdifferentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into the Islet-like cells: the role of extracellular matrix proteins. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2015; 63(5): 377-84.
- 34 Mittag F, Falkenberg EM, Janczyk A, Gotze M, Felka T, Aicher WK, *et al.* Laminin-5 and type I collagen promote adhesion and osteogenic differentiation of animal serum-free expanded human mesenchymal stromal cells. *Orthop Rev (Pavia)* 2012; 4(4): e36.
- 35 Yang W, Gomes RR, Brown AJ, Burdett AR, Alicknavitch M, Farach-Carson MC, *et al.* Chondrogenic differentiation on perlecan domain I, collagen II, and bone morphogenetic protein-2-based matrices. *Tissue Eng* 2006; 12(7): 2009-24.
- 36 Whitelock JM, Melrose J, Iozzo RV. Diverse cell signaling events modulated by perlecan. *Biochemistry* 2008; 47(43): 11174-83.
- 37 Gomes RR Jr, Joshi SS, Farach-Carson MC, Carson DD. Ribozyme-mediated perlecan knockdown impairs chondrogenic differentiation of C3H10T1/2 fibroblasts. *Differentiation* 2006; 74(1): 53-63.
- 38 Sadatsuki R, Kaneko H, Kinoshita M, Futami I, Nonaka R, Culley KL, *et al.* Perlecan is required for the chondrogenic differentiation of synovial mesenchymal cells through regulation of Sox9 gene expression. *J Orthop Res* 2017; 35(4): 837-46.
- 39 Nakamura R, Nakamura F, Fukunaga S. Contrasting effect of perlecan on adipogenic and osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells *in vitro*. *Anim Sci J* 2014; 85(3): 262-70.