

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.06.003

[http://www.crter.org]

毛洪波, 邹赛, 唐俊明, 杨建业, 王家宁, 孔霞, 郭凌娜, 郑飞, 张蕾, 黄永章. 骨髓间充质干细胞分泌基质细胞衍生因子1保护心肌细胞[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(6):963-968.

骨髓间充质干细胞分泌基质细胞衍生因子1保护心肌细胞*****

毛洪波¹, 邹赛¹, 唐俊明^{2,3}, 杨建业², 王家宁², 孔霞², 郭凌娜², 郑飞², 张蕾², 黄永章²

1 湖北省竹溪县人民医院内科, 湖北省竹溪县 442300

2 湖北医药学院附属人民医院临床医学研究所, 湖北省十堰市 442000

3 湖北医药学院生理学教研室, 湖北省十堰市 442000

文章亮点:

1 已有的研究表明基质细胞衍生因子1不仅可以通过促进干细胞迁移到心肌梗死部位再生心肌和血管而修复心脏, 也有大量实验报道基质细胞衍生因子1的动员迁移的CXCR4阳性细胞参与了心肌和血管的再生。实验初步验证了间充质干细胞表达基质细胞衍生因子1并重点观察了其对心肌细胞的幸存能力的影响, 体外实验发现基质细胞衍生因子1明显减少了心肌细胞的凋亡。

2 实验结果发现间充质干细胞表达的基质细胞衍生因子1激活了心肌细胞pAkt, 心肌细胞凋亡数目明显减少, 体外实验进一步发现CXCR4阻断剂AMD3100阻断了间充质干细胞条件培养基的抗心肌细胞凋亡作用; 同时PI3-K特异性阻断剂LY294002也阻断了间充质干细胞条件培养基所介导的抗心肌细胞凋亡作用。因此, 间充质干细胞条件培养基通过分泌的基质细胞衍生因子1作用于CXCR4激活PI3-K/Akt信号途径发挥对心肌细胞的保护作用。

关键词:

干细胞; 骨髓干细胞; 间充质干细胞; H9C2细胞; 心肌细胞; 心肌梗死; 基质细胞源衍生因子1; 凋亡; PI3-K/Akt; 国家自然科学基金; 干细胞图片文章

摘要

背景: 有研究显示表达CXCR4的干细胞能够沿着基质细胞衍生因子1的浓度梯度迁移到心肌梗死部位再生心肌和血管而改善心脏的功能。

目的: 探索间充质干细胞通过其分泌的基质细胞衍生因子1对心肌细胞的保护作用。

方法: 收集培养2 d的间充质干细胞条件培养基。在缺氧条件, 利用基质细胞衍生因子1受体CXCR4阻断剂AMD3100或PI3-K/Akt途径阻断剂LY294002预处理H9C2细胞后, 利用AnnexinV/PI双标法流式细胞术分析间充质干细胞条件培养基作用下H9C2细胞凋亡的变化; Western blotting分析H9C2细胞磷酸化Akt蛋白的表达; RT-PCR分析间充质干细胞基质细胞衍生因子1的表达。

结果与结论: RT-PCR结果显示间充质干细胞表达基质细胞衍生因子1, Western blotting结果显示间充质干细胞条件培养基增加了H9C2细胞磷酸化Akt蛋白的水平。AnnexinV/PI分析发现间充质干细胞条件培养基明显降低了H9C2细胞缺氧复氧后的凋亡, 且这种抗凋亡作用能被CXCR4阻断剂AMD3100或PI3-K/Akt途径阻断剂LY294002所阻断。说明间充质干细胞通过其分泌的基质细胞衍生因子1通过激活PI3-K/Akt途径保护H9C2细胞, 增加H9C2细胞的幸存能力。

Stromal cell-derived factor-1 from bone marrow mesenchymal stem cells protects myocardial cells

Mao Hong-bo¹, Zou Sai¹, Tang Jun-ming^{2,3}, Yang Jian-ye², Wang Jia-ning², Kong Xia², Guo Ling-yun², Zheng Fei², Zhang Lei², Huang Yong-zhang²

1 Department of Cardiology, Renmin Hospital of Zhuxi, Zhuxi County 442300, Hubei Province, China

2 Institute of Clinical Medicine, Renmin Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, Hubei Province, China

3 Department of Physiology, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, Hubei Province, China

毛洪波, 男, 1974年生, 湖北省竹溪县人, 汉族, 1996年湖北民族学院毕业, 主治医师, 主要从事临床内科方面的研究。104815371@qq.com

通讯作者: 唐俊明, 博士, 副教授, 硕士生导师, 湖北医药学院临床医学研究所, 湖北省十堰市 442000 tangjm416@163.com

中图分类号: R394.2
文献标识码: A
文章编号: 2095-4344
(2013)06-00963-06

收稿日期: 2012-11-20
修回日期: 2013-01-09
(20111220012/D·S)

Mao Hong-bo, Attending physician, Department of Cardiology, Renmin Hospital of Zhuxi, Zhuxi County 442300, Hubei Province, China
104815371@qq.com

Corresponding author: Tang Jun-ming, M.D., Associate professor, Master's supervisor, Institute of Clinical Medicine, Renmin Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyian 442000, Hubei Province, China; Department of Physiology, Hubei University of Medicine, Shiyian 442000, Hubei Province, China
tangjm416@163.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81170095*, 30700306*; a grant from Department of Health of Hubei Province, No. JX5B24*; grants for Education in Hubei Province, No. T201112*; grants for Scientific Research Program for College Students in Yunyang Medical University*.

Received: 2012-11-20

Accepted: 2013-01-09

Abstract

BACKGROUND: Several studies have demonstrated that stem cells expressing CXCR4 can migrate into myocardial infarction region to improve the heart function by regenerating myocardial tissue and vessels under the gradient concentrations of stromal cell-derived factor-1.

OBJECTIVE: To investigate the protective effect of stromal cell-derived factor-1 from bone marrow mesenchymal stem cells on myocardial cells.

METHODS: Conditioned medium of bone marrow mesenchymal stem cells cultured for 2 days was collected. Under hypoxic condition, H9C2 cells were pretreated with CXCR4 inhibitor AMD3100 (5 mg/mL) or PI3-K/Akt inhibitor LY294002 (10 μ M) for 1 hour. After treated with bone marrow mesenchymal stem cell conditioned medium, H9C2 cell apoptosis was analyzed by Annexin V/PI double staining methods. Expression of Akt and pAkt in H9C2 cells was analyzed by Western blotting. Expression of stromal cell-derived factor-1 was analyzed by RT-PCR.

RESULTS AND CONCLUSION: RT-PCR results showed that bone marrow mesenchymal stem cells expressed stromal cell-derived factor-1. Western blotting results showed that bone marrow mesenchymal stem cell conditioned medium increased pAkt protein level in H9C2 cells. Annexin V/PI analysis showed that bone marrow mesenchymal stem cell conditioned medium significantly decreased apoptosis of H9C2 cells induced by hypoxia/reoxygenation and this anti-apoptotic effect could be blocked by CXCR4 inhibitor AMD3100 or PI3-K/Akt inhibitor LY294002. Stromal cell-derived factor-1 from mesenchymal stem cells plays an important role in the protection of cardiomyocytes through PI3-K/Akt signal pathway.

Key Words: stem cells; bone marrow-derived stem cells; bone marrow mesenchymal stem cells; H9C2; myocardial cells; myocardial infarction; stromal cell-derived factor-1; apoptosis; PI3-K/Akt; National Natural Science Foundation of China; stem cell photographs-containing paper

Mao HB, Zou S, Tang JM, Yang JY, Wang JN, Kong X, Guo LY, Zheng F, Zhang L, Huang YZ. Stromal cell-derived factor-1 from bone marrow mesenchymal stem cells protects myocardial cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2013;17(6):963-968.

0 引言

心肌梗死是严重威胁人类健康的主要疾病之一。近年来, 干细胞作为一种具有多向分化潜能和高增殖的细胞而被广泛应用于移植治疗心肌梗死, 从中发现移植的干细胞可以在心肌梗死部位驻留、存活、增殖、分化为心肌细胞和血管细胞等改善修复受损的心脏^[1-2]。已有研究发现, 表达CXCR4的干细胞能够沿着基质细胞衍生因子1的浓度梯度迁移到心肌梗死部位再生心肌和血管而改善心脏的功能^[3]。而最近研究报道骨髓间充质干细胞表达基质细胞衍生因子1。而有研究提示基质细胞衍生因子1对内皮细胞、间充质干细胞等通过基质细胞衍生因子1/CXCR4轴可通过上调Akt而发挥对干细胞的保护作用^[4]。因此作者推测间充质干细胞除了分化为心肌细胞和血管细胞而修复心肌梗死外^[5], 可能通过分泌的基质细胞衍生因子1而发挥出明显的保护心肌细胞的效应。实验利用间充质干细胞条件培养基, 观察其对心肌细胞的保护作用是否与基质细胞衍生因子1/CXCR4轴有关及其可能的信号机制。

1 材料和方法

设计: 细胞水平实验。

时间及地点: 于2009年1月至2011年12月在湖北医药学院附属人民医院临床医学研究所完成。

材料:

实验动物: 健康SD大鼠3只, 雄性, 体质量(40 $\pm$ 5) g, SPF级, 由湖北医药学院实验动物中心提供, 动物合格证号为SCXK(鄂)-2010-0008; 实验动物使用许可证号为SYXK(鄂)-2009-0021。动物在屏障系统环境下, 用专用的饲料(购自湖北省实验动物中心)和灭菌水分笼饲养。

实验过程中对动物的处置符合医学伦理学标准。

骨髓间充质干细胞通过其分泌的基质细胞衍生因子1保护心肌细胞实验的主要试剂、仪器:

Main experimental reagents and equipment:

试剂及仪器	来源
H9c2 细胞	中国科学院上海细胞库
DMEM 培养基	美国 Gibco 公司
胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)	杭州四季清
胰酶	美国 Sangon 公司
CO ₂ 细胞培养箱	美国科学仪器公司
倒置荧光显微镜	日本 Nikon 公司
图像分析系统	美国 Media Cybernetics 公司
CD29	美国 BioLegend 公司
CD90、CD45	美国 eBioscience 公司
CD34	美国 Santan Cruz 公司
地塞米松、β-磷酸甘油、维生素 C、胰岛素、CXCR4 阻断剂 AMD3100	美国 Sigma 公司
磷酸肌醇 3 激酶(PI3K) 阻断剂 LY294002	Alexis biochemicals, USA

实验方法:

骨髓间充质干细胞的培养: 采用全骨髓法分离培养大鼠骨髓间充质干细胞^[6], 给予大鼠腹腔注射肝素5 000 U, 15 min后断颈处死, 收集双侧胫股骨中全骨髓。按 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 细胞浓度接种于75 cm²培养瓶, 24 h后换液, 去除未贴壁的细胞。以后三四天完全换液1次, 12~14 d后细胞密度达80%~90%, 用2.5 g/L 的胰酶消化后1:3传代, 记为P1代细胞(P1MSC)。随后按上述方法传代培养。

骨髓间充质干细胞的鉴定:

成骨诱导: 取第3代细胞培养至90%融合后6孔板加入成骨诱导液(体积分数15% FBS-DMEM, 含地塞米松 $4 \times 10^{-6} \text{ g/L}$ 、β-磷酸甘油1 g/L、维生素C 0.5 g/L), 每72 h换液, 诱导2周。Von Kossa's染色鉴定矿化结节。

成脂肪诱导: 取第3代细胞培养至90%融合后6孔加入成脂肪诱导液(10 mg/L胰岛素), 每72 h换液。诱导2周, 苏丹III染色鉴定脂肪细胞。

流式细胞术鉴定骨髓间充质干细胞表面标记特征: 用1 mL注射器将 10^7 L^{-1} 骨髓间充质干细胞吹打混匀后, 取600 μL, 至少含有 2×10^6 细胞等分为4份, 分别加入4个Eppendorf管中, a管为标准对照, 加入8 μL山羊IgG1-FITC; b管加入4 μL CD34 mAB(一抗); c管加入4 μL CD45 mAB(一抗); d管加入4 μL CD90 mAB(一抗); e管加入4 μL CD29 mAB(一抗), 4℃下避光孵育60 min, 洗涤液离心1 000 r/min, 5 min, 离心半径12.5 cm, 用PBS洗一两次。在b、c、d、e管中加入8 μL山羊IgG1-FITC(荧光二抗), 4℃下避光孵育30 min。洗

涤液洗2次。加入固定液1 mL, 细胞仪(Beckman Coulter)检测表面标志, 应用Cotfit软件分析结果^[7]。

骨髓间充质干细胞条件培养基的收集: 取第3代骨髓间充质干细胞培养, 待其融合生长达到80%时, 更换新的含体积分数2%胎牛血清的DMEM培养基, 培养48 h后, 收集细胞培养基, 离心, 祛除细胞碎片, 即为间充质干细胞条件培养基。收集后以备后续试验用。

建立缺氧复氧损伤模型: 将H9c2细胞以 $1 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ 的细胞浓度接种于75 cm²培养瓶中, 待细胞融合生长达到70%时, 更换培养基, PBS洗3遍, 加入含体积分数2%胎牛血清的低糖DMEM培养基, 随后将其放置于缺氧复氧的培养箱中, 缺氧21 h后, 将其取出, 分别再将培养基更换为含体积分数15%胎牛血清的DMEM液。然后再将各组细胞置于37℃、体积分数5% CO₂培养箱中复氧6 h^[3]。在建立上述细胞缺氧复氧损伤模型的基础上, 再将按上述方法培养的H9c2细胞, 更换加入含体积分数2%胎牛血清的低糖DMEM培养基10 μmol/L为对照组; 加入10 μmol/L骨髓间充质干细胞条件培养基, 即为间充质干细胞组; 为观察间充质干细胞条件培养基是否通过经基质细胞衍生因子1/CXCR4轴发挥作用, 先行CXCR4阻断剂AMD3100(5 g/L)处理1 h, 后再加骨髓间充质干细胞条件培养基, 即为AMD3100处理组; 为观察间充质干细胞条件培养基保护心肌细胞与PI3-K/Akt途径的关系, 先行PI3-K/Akt阻断剂LY294002(10 μmol/L)处理1 h, 后再加入骨髓间充质干细胞条件培养基, 即为PI3-K/Akt阻断组。后续实验的处理与上述类似。

Annexin V/PI双染法流式细胞术分析细胞凋亡: 缺氧复氧处理后, 收集细胞, 各组用4℃预冷的PBS洗2次, 每组取细胞总数约为 $1 \times 10^9 \text{ L}^{-1}$ 上机检测, 按Annexin V/PI双染法说明书进行流式细胞术分析细胞凋亡。

Western blot检测凋亡蛋白磷酸化Akt蛋白的表达: H9c2细胞缺氧复氧处理后, 收集各组细胞, 分别加入400 μL RIPA, 用枪头反复吹打均匀, 室温放置10 min, 离心半径12.5 cm, 15 000 r/min离心5 min, 收集上清, 采用BCA法测定蛋白浓度。制作蛋白浓度曲线, 调整各组蛋白浓度为同一水平行SDS-PAGE电泳, 经SDS-PAGE分离后把凝胶电转印至硝酸纤维素膜(NC膜), 5%脱脂牛奶封闭2 h, 1:1 000稀释的一抗, 4℃孵育过夜。TBS-T洗3次, 每次8 min, 按1:5 000稀释的二抗, 室温振摇2 h。TBS-T漂洗3次后加1 mL ECL化学发光剂, 使用BIO-RAD-ChemiDOC显影。用ImageJ软件进行灰度分析。抗小鼠α-tubulin(sigma, 1:10 000)作为内参^[8]。

RT-PCR分析基质细胞衍生因子1的表达: 按试剂盒说明

书方法抽提RNA, 反转录制备cDNA, 随后按RT-PCR试剂盒方法扩增检测基质细胞衍生因子1。引物如下: 基质细胞衍生因子1(225 bp)正义链: 5'TTG CCA GCA CAA AGA CAC TCC 3'; 反义链: 5'-GAC ATA AGC CAA ACG AAA CCT C-3'; GAPDH (623 bp)正义链: 5'CCA AAA GGG TCA TCA TCT CC' 3, 反义链: 5'GTA GGC CAT GAG GTC CAC CAC' 3。扩增体系为20 μ L, 参数为: 95 $^{\circ}$ C, 4 min, 30循环, 变性温度: 94 $^{\circ}$ C, 45 s, 退火温度: 58 $^{\circ}$ C, 40 s, 延长温度: 72 $^{\circ}$ C, 40 s^[9-10]。

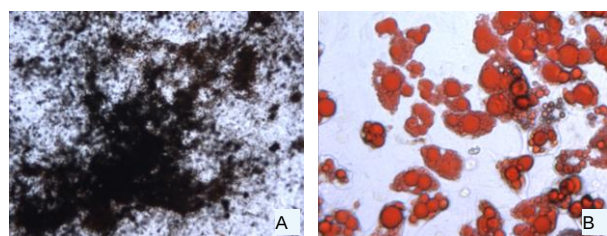
主要观察指标: 主要通过检测凋亡指标 (AnnexinV/PI) 观察间充质干细胞条件培养基对心肌细胞的保护作用及可能分子机制。

统计学分析: 所有指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间计量资料采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 骨髓间充质干细胞的培养结果 由于造血干细胞不贴壁生长, 经过数次换液, 悬浮的造血干细胞逐渐被清除。贴壁细胞经3次传代后, 第3代细胞形态均一、成纤维细胞样生长。

2.2 骨髓间充质干细胞的鉴定 第3代细胞成脂、成骨诱导2周后, 油红O染色、Von Kossa's染色均呈阳性反应, 具有成骨成脂肪等多向分化潜能(成骨分化、成脂肪分化), 见图1。流式细胞术分析培养的细胞免疫表型, 结果表明细胞骨髓间充质干细胞低表达CD34、CD45; 高表达CD90、CD29, 符合公认的骨髓间充质干细胞免疫表型, 见图2; RT-PCR显示骨髓间充质干细胞表达基质细胞衍生因子1, 见图3。

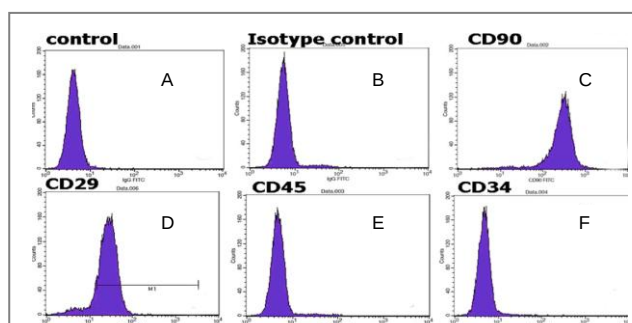


A: 成骨分化, Von Kossa's 染色 B: 成脂分化, 油红 O 染色

注: 细胞成脂、成骨诱导 2 周后, 均呈阳性反应, 证明其具有成骨成脂肪等多向分化(成骨分化、成脂肪分化)潜能。

图 1 第 3 代骨髓间充质干细胞的成骨成脂分化($\times 400$)

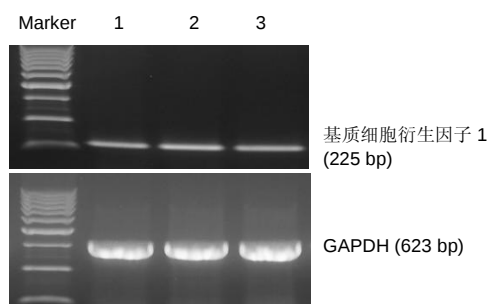
Figure 1 Osteogenic and adipogenic differentiation of passage 3 bone marrow mesenchymal stem cells ($\times 400$)



注: A 为对照组; B 为同型对照; C 为 CD90 阳性表达率 96.7%; D 为 CD29 阳性表达率 94.6%; E 为 CD34 阳性表达率 0.79%; F 为 CD45 阳性表达率 0.84%。符合骨髓间充质干细胞的表面标记。

图 2 骨髓间充质干细胞的流式细胞术分析鉴定

Figure 2 Flow cytometric analysis of bone marrow mesenchymal stem cell surface marker

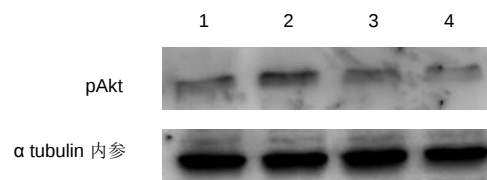


注: 1, 2, 3 均示骨髓间充质干细胞 RT-PCR 显示骨髓间充质干细胞表达基质细胞衍生因子 1。

图 3 骨髓间充质干细胞表达基质细胞衍生因子 1 的 RT-PCR 分析

Figure 3 RT-PCR analysis on stromal cell-derived factor-1 expression in bone marrow mesenchymal stem cells

2.3 骨髓间充质干细胞Western blotting结果 骨髓间充质干细胞条件培养基增加了H9C2细胞缺氧复氧时磷酸化Akt蛋白的水平, 见图4。



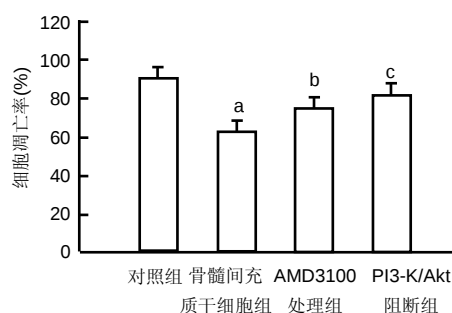
1: 对照组; 2: 骨髓间充质干细胞组; 3: AMD3100 处理组; 4: PI3-K/Akt 阻断组

注: 说明骨髓间充质干细胞条件培养基增加了 H9C2 细胞缺氧复氧时磷酸化 Akt 蛋白的表达水平。

图 4 H9C2 细胞表达磷酸化 Akt 蛋白的 Western blotting

Figure 4 Detection of pAkt protein expression in H9C2 cells by Western blotting

2.4 H9C2细胞凋亡结果 AnnexinV/PI双标法流式细胞术分析结果显示: 间充质干细胞条件培养基降低了H9C2细胞缺氧复氧时的细胞凋亡, CXCR4阻断剂AMD3100能够有效地阻断间充质干细胞条件培养基所介导的H9C2细胞抗凋亡效应, PI3K/Akt阻断剂LY294002能够有效地阻断间充质干细胞条件培养基对H9C2细胞的保护效应, 见图5。



与对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与骨髓间充质干细胞组比较, ^b $P < 0.05$; ^c $P < 0.05$ 。

注: 间充质干细胞条件培养基降低了 H9C2 细胞缺氧复氧时的细胞凋亡, CXCR4 阻断剂 AMD3100 能够有效地阻断间充质干细胞条件培养基所介导的 H9C2 细胞抗凋亡效应, PI3K/Akt 阻断剂 LY294002 能够有效地阻断间充质干细胞条件培养基对 H9C2 细胞的保护效应。

图5 AnnexinV/PI 双标法流式细胞分析 H9C2 细胞凋亡结果

Figure 5 Flow cytometric analysis on H9C2 cell apoptosis by AnnexinV/PI double staining method

3 讨论

已知基质细胞衍生因子1及其受体CXCR4是骨髓源干细胞迁移归巢到骨髓所必须的信号分子^[11-13]。近来有学者研究发现基质细胞衍生因子1参与诱导骨髓造血干/祖细胞动员并迁移到心脏、肝脏、脑等组织损伤部位^[14-15]。并通过组织再生而实现受损组织的修复。而近来发现基质细胞衍生因子1提高了干细胞的幸存能力^[16-17]。而以前的研究提示: 间充质干细胞除了分化为心肌细胞和血管细胞而修复心肌梗死外^[9], 可能通过分泌的基质细胞衍生因子1而发挥出明显的保护心肌细胞的效应^[18-19]。本实验利用间充质干细胞条件培养基, 观察其对心肌细胞的保护作用是否与基质细胞衍生因子1/CXCR4轴有关及其可能的信号机制。

已有的研究表明基质细胞衍生因子1不仅可以通

过促进干细胞迁移到心肌梗死部位再生心肌和血管而修复心脏^[3]。在作者的实验中发现间充质干细胞表达基质细胞衍生因子1, 而有研究报道基质细胞衍生因子1的动员迁移的CXCR4阳性细胞参与了心肌和血管的再生^[9,13-14]。而且有研究表明间充质干细胞通过其分泌的基质细胞衍生因子1动员干细胞迁移至心梗部位再生修复受损的心脏^[19-21]。

实验重点观察了间充质干细胞表达的基质细胞衍生因子1对心肌细胞的幸存能力的影响。体外实验发现基质细胞衍生因子1明显减少了心肌细胞的凋亡。已知Akt是一种重要的细胞保护分子, 并且Akt的表达与激活受PI3-K的调节^[17-20]。实验结果发现间充质干细胞表达的基质细胞衍生因子1激活了心肌细胞磷酸化Akt蛋白, 心肌细胞凋亡数目明显减少, 体外实验进一步发现CXCR4阻断剂AMD3100阻断了间充质干细胞条件培养基的抗心肌细胞凋亡作用; 同时PI3-K特异性阻断剂LY294002也阻断了间充质干细胞条件培养基所介导的抗心肌细胞凋亡作用。因此, 间充质干细胞条件培养基通过分泌的基质细胞衍生因子1作用于CXCR4激活PI3-K/Akt信号途径发挥对心肌细胞的保护作用。

可见, 在间充质干细胞移植修复心肌梗死的过程中能够通过基质细胞衍生因子1/CXCR4轴激活PI3-K/Akt信号途径发挥对心肌细胞的保护作用, 从而促进缺血的心肌和冬眠心肌获得恢复以补充坏死的心肌, 从而缩小梗死区域面积, 加强心室壁的厚度和弹性。总之, 间充质干细胞移植对于治疗缺血性心脏疾病是一很好的潜在的治疗策略。

致谢: 感谢国家自然科学基金委、湖北省卫生厅及湖北省教育基金对本实验的资助。

基金声明: 国家自然科学基金(81170095;30700306);湖北省卫生厅项目(JX5B24); 湖北省教育基金(T201112); 郧阳医学院大学生科研项目。

作者贡献: 唐俊明设计实验及审校全文并对论文负责; 毛洪波和邹赛执行实验、资料收集并撰写全文; 杨建业动物管理; 王家宁实验评估; 孔霞细胞培养指导; 郑飞执行蛋白检测; 张蕾执行 RT-PCR 实验; 郭凌郎执行凋亡流式检测分析; 黄永章进行蛋白检测分析。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物处置应符合 2009 年《Ethical

issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Tang J, Xie Q, Pan G, et al. Mesenchymal stem cells participate in angiogenesis and improve heart function in rat model of myocardial ischemia with reperfusion. *Eur J Cardio thoracic Surg*. 2006; 3(2):353-361.
- [2] Tang JM, Wang JN, Yang JY, et al. Nanfang Yike Daxue Xuebao. 2007; 27(1):38-42.
唐俊明, 王家宁, 杨建业, 等. 移植的间充质干细胞与宿主心肌匹配整合实验研究[J]. 南方医科大学学报, 2007, 27(1):38-42.
- [3] Yu J, Li M, Qu Z, et al. SDF-1/CXCR4-mediated migration of transplanted bone marrow stromal cells toward areas of heart myocardial infarction through activation of PI3K/Akt. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2010;55(5):496-505.
- [4] Guo Y, Hangoc G, Bian H, et al. SDF-1/CXCL12 enhances survival and chemotaxis of murine embryonic stem cells and production of primitive and definitive hematopoietic progenitor cells. *Stem Cells*. 2005; 23(9):1324-1332.
- [5] Wang Y, Zhang J, Tang JM, et al. Disi Junyi Daxue Xuebao. 2009;30(15):1375-1378.
王杨, 张娟, 唐俊明, 等. 腺病毒介导的基质细胞衍生因子-1对心肌梗死大鼠心脏功能的影响[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(15): 1375-1378.
- [6] Liu QH, Cheng FJ, Gao QP, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2006;10(13): 35-37.
刘岐焕, 程范军, 高清平, 等. 骨髓间充质干细胞成纤维样集落的培养方法及多向分化潜能[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2006, 10(13): 35-37.
- [7] Liu QH, Chen L, Cheng FJ, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2008;12(21):4017-4020.
刘岐焕, 陈龙, 程范军, 等. 鼠尾胶在小鼠外周血间充质干细胞分离培养中的作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(21): 4017-4020.
- [8] Huang GQ, Wang JN, Tang JM, et al. The combined transduction of copper, zinc-superoxide dismutase and catalase mediated by cell-penetrating peptide, PEP-1, to protect myocardium from ischemia-reperfusion injury. *J Transl Med*. 2011 May 21;9:73.
- [9] Zhao T, Zhang D, Millard RW, et al. Stem cell homing and angiomyogenesis in transplanted hearts are enhanced by combined intramyocardial SDF-1alpha delivery and endogenous cytokine signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2009;296(4):H976-986.
- [10] Liu CF, Chen LH, Yang W, et al. *Shanxi Yixue*. 2010;39(9): 1107-1110.
刘春风, 陈亮华, 杨伟, 等. 间充质干细胞成血管因子受体表达特征及其意义[J]. 陕西医学, 2010, 39(9): 1107-1110.
- [11] Ghadge SK, Mühlstedt S, Özcelik C, et al. SDF-1α as a therapeutic stem cell homing factor in myocardial infarction. *Pharmacol Ther*. 2011;129(1):97-108.
- [12] Sharma M, Afrin F, Satija N, et al. Stromal-derived factor-1/CXCR4 signaling: indispensable role in homing and engraftment of hematopoietic stem cells in bone marrow. *Stem Cells Dev*. 2011;20(6):933-946.
- [13] Larocca TJ, Jeong D, Kohlbrenner E, et al. XCR4 gene transfer prevents pressure overload induced heart failure. *J Mol Cell Cardiol*. 2012 Jun 3.
- [14] Tang J, Wang J, Yang J, et al. Adenovirus-mediated stromal cell-derived factor-1alpha gene transfer induces cardiac preservation after infarction via angiogenesis of CD133+ stem cells and anti-apoptosis. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2008; 7(5):767-770.
- [15] Shichinohe H, Kuroda S, Yano S, et al. Role of SDF-1/CXCR4 system in survival and migration of bone marrow stromal cells after transplantation into mice cerebral infarct. *Brain Res*. 2007; 1183:138-147.
- [16] Kortessidis A, Zannettino A, Isenmann S, et al. Stromal-derived factor-1 promotes the growth, survival, and development of human bone marrow stromal stem cells. *Blood*. 2005;105(10): 3793-3801.
- [17] Broxmeyer HE, Kohli L, Kim CH, et al. Stromal cell-derived factor-1/CXCL12 directly enhances survival/antiapoptosis of myeloid progenitor cells through CXCR4 and G(alpha)i proteins and enhances engraftment of competitive, repopulating stem cells. *J Leukoc Biol*. 2003;73(5):630-638.
- [18] Tang JM, Wang JN, Zhang L, et al. VEGF/SDF-1 promotes cardiac stem cell mobilization and myocardial repair in the infarcted heart. *Cardiovasc Res*. 2011; 91(3):402-411.
- [19] Zhang M, Mal N, Kiedrowski M, et al. SDF-1 expression by mesenchymal stem cells results in trophic support of cardiac myocytes after myocardial infarction. *FASEB J*. 2007;21(12): 3197-3207.
- [20] Bonaros N, Sondermeijer H, Wiedemann D, et al. Downregulation of the CXCR4 chemokine receptor 4/stromal cell-derived factor 1 pathway enhances myocardial neovascularization, cardiomyocyte survival, and functional recovery after myocardial infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2011;142(3):687-96, 696.e1-2.
- [21] Saxena A, Fish JE, White MD, et al. Srivastava D. Stromal cell-derived factor-1alpha is cardioprotective after myocardial infarction. *Circulation*. 2008; 117(17): 2224-2231.