

1088-1089.

[26] Grillenberger M, Neumann CG, Murphy SP, et al. Food supplements have a positive impact on weight gain and the addition of animal source foods increases lean body mass of Kenyan school children[J]. J Nutr, 2003, 133(11 Suppl 2): S3957-3964.

[27] Takahashi E. Secular trend in milk consumption and growth in Japan[J]. Hum Biol, 1984, 56(3): 427-437.

[28] 钟燕, 黄承钰, 何涛, 等. 益生菌和酸奶对乳糖不耐受者结肠菌群作用研究[J]. 卫生研究, 2006, 35(5): 587-591.

[29] 乔蓉, 黄承钰, 杜辉章, 等. 牛奶不耐受的膳食改善措施研究[J]. 中华预防医学杂志, 2007, 41(1): 17-20.

[20] 赵显峰, 荫士安. 乳糖不耐受以及解决方法的研究动态[J]. 中国学校卫生, 2007, 28(12): 1151-1153.

[31] 龚群, 张凤玲, 何琳, 等. 0~6 岁儿童乳糖酶缺乏的现状与健康关系的研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2008, 16(5): 567-569.

(收稿日期: 2010-05-10 修回日期: 2010-11-10)

· 综 述 ·

## SDF-1/CXCR4 轴在 MSCs 移植治疗肝病中的作用

熊 全 综述, 陈东风 审校

(第三军医大学大坪医院消化内科, 重庆 400042)

**关键词:** 趋化因子 CXCL12; 受体, CXCR4; 肝病; 间充质干细胞; 迁移

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2011. 15. 035

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)15-1537-03

近年来, 干细胞移植在治疗肝硬化、肝衰竭等肝病中逐渐发挥了重要的作用, 为中晚期肝病患者带来了福音。在临床上干细胞的移植途径包括肝动脉移植途径、门静脉移植途径、外周静脉移植途径等, 都取得了较好的疗效, 那么不同移植方式的干细胞是如何进入并定植在肝脏这个微环境中的呢? 大量研究证实, 在干细胞向器官或组织损伤部位迁移的过程中, 干细胞表面分布的众多受体及其相关配体参与其中并发挥作用, 特别是基质细胞衍生因子-1(stromal-derived factor 1, SDF-1) 及 CXC 家族趋化因子受体 CXCR4(C-X-C chemokine receptor 4, CXCR4) 组成的 SDF-1/CXCR4 生物轴在干细胞向损伤部位迁移并定植的过程中起了关键的作用。为了提高干细胞移植治疗疾病的效率, 进一步认识干细胞移植治疗各种疾病的机制, 现就 SDF-1/CXCR4 轴在干细胞移植治疗肝病中发挥的作用进行综述。

### 1 SDF-1/CXCR4 的生物学特性

SDF-1 来源于骨髓基质细胞, 又称为 CXCL12, 是 CXC 趋化因子家族成员, 在器官或组织受损的情况下表达。CXCR4 是一个 7 次跨膜的 G 蛋白偶联受体, 属于 CXC 家族趋化因子受体, 可以在淋巴细胞、造血干细胞、单核细胞、多种基质细胞上表达。过去的研究一直认为 CXCR4 是 SDF-1 的惟一受体。近年研究发现 CXCR7 也可以与 SDF-1 结合, 并发挥一定的生物学效应<sup>[1]</sup>。目前有学者认为, SDF-1 与 CXCR4 具有很强的亲和力, 它们构成的生物轴参与了细胞间信息的传递, 在促进新生血管形成, 调控干细胞的迁移和归巢, 介导免疫及炎症反应, 调节恶性肿瘤的生长、浸润及转移等方面发挥了很大的作用<sup>[2-5]</sup>。

表达 CXCR4 的骨髓干细胞在受损组织表达的 SDF-1 趋化作用下, 能够向着 SDF-1 进行定向迁移。Honzarenko 等<sup>[6]</sup>体外培养间充质干细胞(MSCs)时, 在第 2 代 MSCs 中发现了独特的趋化因子受体: CC 趋化因子受体(CCR1, CCR7, CCR9), CXC 趋化因子受体(CXCR4, CXCR5, CXCR6)以及趋

化因子(CCL2, CCL4, CCL5, CCL20, CXCL12, CXCL8, CX<sub>3</sub>CL1)。其中多种趋化因子和受体均可以诱导骨髓 MSCs 的迁移, 特别是 SDF-1 可以促使骨髓 MSCs 张力丝的形成, 符合骨髓 MSCs 向骨髓归巢和定植的理论。Ruster 等<sup>[7]</sup>流式分析发现 MSCs 表面仅有少量 CXCR4 表达, Ryu 等<sup>[8]</sup>最近研究发现在脐血 MSCs 中约有 18% 的 MSCs 表达 CXCR4。学者们发现在体外培养的 MSCs 中, 不到 1% 的 MSCs 表面表达 CXCR4, 而 83%~98% 的 MSCs 在细胞内表达 CXCR4, 仅有 12.2% 的 CD34<sup>+</sup> 细胞内表达了 CXCR4, 学者们认为就是表达于 MSCs 表面的这些极少量的 CXCR4 促使了 MSCs 的迁移<sup>[9-10]</sup>。由此可见, SDF-1 对表达 CXCR4 的骨髓 MSCs 具有强大的趋化作用, 其与 CXCR4 的特异结合有利于骨髓 MSCs 的定向迁移。在组织/器官损伤的情况下, SDF-1 能促进 MSCs 募集并定植于损伤部位, 发挥 MSCs 对损伤组织/器官的修复作用。

### 2 SDF-1/CXCR4 轴在 MSCs 治疗肝病中的作用

MSCs 是一个多潜能分化的细胞, 在体外加入诱导剂培养, 可以分化为脂肪细胞、骨细胞、软骨细胞、肝样细胞等。当 MSCs 进入到损伤肝脏后, 通过转分化为肝样细胞、与肝细胞融合或者分泌细胞因子等机制, 促进肝脏的恢复, 改善肝脏的功能。

Jung 等<sup>[11]</sup>将人脐血 MSCs 移植到四氯化碳引起的肝硬化大鼠模型体内, 大鼠肝硬化程度降低, 进入大鼠体内的 MSCs 能够表达清蛋白和甲胎蛋白。Liang 等<sup>[12]</sup>将体外扩增的大鼠脂肪 MSCs 移植到四氯化碳引起的急性肝损伤大鼠模型体内后, 大鼠的血清转氨酶降低, 清蛋白增加, 移植后 2 周定植于肝内 MSCs 数量和肝功能的改善达到峰值。Kharaziha 等<sup>[13]</sup>通过门静脉或者外周静脉移植途径, 对 8 例肝硬化晚期患者进行自体骨髓 MSCs 移植, 移植后半年, 患者肝功能得到好转, 血清清蛋白增加, 胆红素降低, 肌酐降低, 患者未出现不良反应。

与其他损伤器官/组织的干细胞移植治疗相比, MSCs 移

植治疗肝病的方式更加灵活,有多种移植途径可以选择。MSCs 在治疗肝病的各种移植途径中,均体现了 SDF-1/CXCR4 轴发挥的重要作用。Terada 等<sup>[14]</sup>在对肝硬化、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、病毒性肝炎以及自身免疫性肝炎患者的研究中,发现在汇管区的胆管上皮细胞及增生的胆管中有 SDF-1 的表达,并且肝脏炎症浸润的淋巴细胞可表达 CXCR4。还发现 SDF-1 和 CXCR4 不但在肝炎患者肝组织中表达增加,而且外周血中 SDF-1 表达水平也显著升高,在肝硬化晚期患者血浆中也检测到 SDF-1 的表达。以上研究表明,肝脏损伤引起 SDF-1 的表达上调,不但可以促使表达 CXCR4 的干细胞迁移,还可以促进炎症细胞向肝脏的募集,由 SDF-1 组成的微环境对肝脏损伤的修复发挥着重要作用。Terai 等<sup>[15]</sup>用绿色荧光蛋白(green fluorescent protein,GFP)标记的骨髓 MSCs 通过大鼠尾静脉移植到肝损伤的大鼠体内,发现大鼠肝脏中有 MSCs 表达,并且 MSCs 在病变区域分化和增殖,形成肝索,4 周后病变区域增生达 25%;而在健康对照组未受损的肝脏中无表达。由此表明,MSCs 在血液循环中向损伤的肝脏定向迁移,并定植于肝脏,促进肝脏的恢复。Hatch 等<sup>[16]</sup>研究发现在损伤的肝脏组织中 SDF-1 主要分布在 CXCR4 表达阳性的卵圆细胞上。表明在修复过程中,通过 SDF-1 对 CXCR4 的吸引,而驱使肝干细胞向肝脏受损部位聚集,以此完成对肝脏的修复。Jin 等<sup>[17]</sup>将骨髓干细胞移植到小鼠肝损伤模型体内,发现移植后模型鼠肝损伤得到改善,移植的骨髓干细胞在损伤肝脏中表达,损伤肝组织内 SDF-1 和 CXCR4 的表达均增加。Jung 等<sup>[18]</sup>将 SDF-1 注入急性肝损伤模型大鼠的腹腔,同时予以对照组生理盐水注射,将标记好的 MSCs 通过尾静脉移植,发现注入 SDF-1 组的大鼠肝脏的 MSCs 较对照组多,血清 AST、ALT、清蛋白的改善也较对照组明显。

### 3 在 MSCs 移植治疗肝病中影响 SDF-1/CXCR4 轴效应的因素

**3.1 SDF-1 的表达** Wynn 等<sup>[9]</sup>发现 MSCs 的迁移对 SDF-1 具有剂量依赖性,在 30 ng/mL 时,迁移能力最强。Jung 等<sup>[18]</sup>研究证明,肝损伤后出现 SDF-1 表达,MSCs 移植到体内后 SDF-1 表达增加,相对于骨髓和脾脏,更多的 MSCs 进入到损伤的肝脏中,MSCs 对肝脏具有修复作用,SDF-1/CXCR4 轴在 MSCs 归巢到损伤器官的过程中发挥了重要的作用。Jin 等<sup>[17]</sup>发现预先对肝损伤大鼠体内注入 SDF-1 后再移植 MSCs,将有更多的 MSCs 定植于损伤的肝脏中,肝功能改善也更明显。赖勇强等<sup>[19]</sup>研究证实,在肝纤维化阶段,肝脏仍具有较强的修复与再生能力,肝内表达 SDF-1 $\alpha$  增多,趋化肝干细胞向肝内定植并诱导其分化而修复肝损伤。肝硬化时,肝内 SDF-1 $\alpha$  表达水平低下,这或许是硬化肝脏再生与修复能力低下的重要因素。

**3.2 血浆清蛋白对 SDF-1 介导迁移的影响** Ryser 等<sup>[20]</sup>研究表明 SDF-1 介导的造血祖细胞的迁移是从清蛋白浓度较高的部位向浓度较低的部位迁移的。因此,在 MSCs 移植治疗肝病的过程中,调节血液中清蛋白的浓度,有可能对 MSCs 的迁移产生影响。

**3.3 CXCR4 在 MSCs 的表达** Wynn 等<sup>[9]</sup>研究发现 MSCs 的迁移与在 MSCs 细胞表面表达 CXCR4 的数量成正相关。Shi

等<sup>[21]</sup>研究表明 Flk1+MSCs 内的 CXCR4 可以在数小时内转移到细胞表面,多种细胞因子可以引起 MSCs 内部及表面 CXCR4 的表达,从而增加 MSCs 向 SDF-1 迁移的能力。Zhang 等<sup>[22]</sup>体外实验研究发过表达 CXCR4 的 MSCs 具有更强的向 SDF-1 的迁移能力。在体外实验中通过将 CXCR4 转染到 MSCs 后使其高表达,MSCs 向 SDF-1 趋化的能力大大增强。Kyriakou 等<sup>[23]</sup>研究发过表达 CXCR4 的 MSCs 在体外培养中具有更强的趋化能力;增强表达 CXCR4 的 MSCs 移植到正常 NOD/SCID 大鼠,MSCs 的归巢作用没有明显的改变;却可以增加被<sup>137</sup>铯以 325 cGy 照射 24 h 后的  $\beta$ 2m/NOD/SCID 大鼠向骨髓及脾脏的 MSCs 迁移数量。

**3.4 流体剪力** Ruster 等<sup>[7]</sup>发现 MSCs 在通过平行平板流动装置时,在每平方米 0.5 达因剪力作用下,CXCR4 的表达增加了 1 倍;MSCs 在血流中通过滚动,并与内皮细胞紧紧黏附,分布于肺、肝、脾等组织中。

**3.5 体外培养** 有研究发现,随着 MSCs 体外扩增的代数增加,CXCR4 表达显著降低。Kyriakou 等<sup>[23]</sup>也发现体外培养时间增加将降低 MSCs 的迁移能力。Son 等<sup>[24]</sup>研究发现体外培养的骨髓和脐血 MSCs 随着培养代数从第 5 代到第 12 代,MSCs 表达的 CXCR4 量逐渐降低,由 SDF-1 介导的干细胞迁移数量也逐渐减少。De Becker 等<sup>[25]</sup>研究发现体外扩增 MSCs 时,较高的细胞汇合度将会降低 MSCs 移植到体内后的迁移能力。

**3.6 细胞因子** Shi 等<sup>[21]</sup>在培养基中加入细胞因子:Flt-3 配体,SCF,IL-6,HGF 和 IL-3 后,在 24~48 h 内可以促进 Flk1+MSCs 细胞内外的 CXCR4 的表达,从而增加 MSCs 的迁移能力。Li 等<sup>[26]</sup>研究发现转染至心肌祖细胞的簇连蛋白(高密度脂蛋白的成分)的高表达,可以增加心肌祖细胞 CXCR4 的表达和增强心肌祖细胞向 SDF-1 的迁移。金属蛋白酶 3 的组织抑制剂(TIMP3)对 MSCs 的迁移具有抑制作用。

**3.7 受体的年龄** Kyriakou 等<sup>[23]</sup>将人的骨髓 MSCs 移植到 NOD/SCID 大鼠体内,发现在周龄小的大鼠体内,MSCs 向骨髓及脾的迁移能力更强。

### 参考文献:

- [1] Mazinghi B,Ronconi E,Lazzeri E,et al. Essential but differential role for CXCR4 and CXCR7 in the therapeutic homing of human renal progenitor cells[J]. J Exp Med, 2008,205(2):479-490.
- [2] 攀伟奇,陈芳琳,敖绪军,等. CXCR4 阳性 Lewis 肺癌细胞具有促发新生血管形成的特征[J]. 重庆医学,2009,38(22):2825-2826,2830.
- [3] McCandless EE,Wang Q,Woerner BM,et al. CXCL12 limits inflammation by localizing mononuclear infiltrates to the perivascular space during experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Immunol,2006,177(11):8053-8064.
- [4] Li H,Fan X,Houghton J. Tumor microenvironment; the role of the tumor stroma in cancer[J]. J Cell Biochem, 2007,101(4):805-815.

- [5] 喻亚群,陈谦,钱立元,等.肝细胞肝癌组织中 CXCL12 及其受体 CXCR4 的表达变化[J].山东医药,2010,50(34):15-16.
- [6] Honczarenko M, Le Y, Swierkowski M, et al. Human Bone Marrow Stromal Cells Express a Distinct Set of Biologically Functional Chemokine Receptors [J]. Stem Cell, 2006, 24(4):1030-1041.
- [7] Ruster B, Gottig S, Ludwig RJ, et al. Mesenchymal stem cells display coordinated rolling and adhesion behavior on endothelial cells[J]. Blood, 2006, 108(12):3938-3944.
- [8] Ryu CH, Park SA, Kim SM, et al. Migration of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells mediate by stromal cell-derived factor-1/CXCR4 axis via Akt, ERK, and p38 signal transduction pathways[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 398(1):105-110.
- [9] Wynn RF, Hart CA, Corradi-Perini C, et al. A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow[J]. Blood, 2004, 104(9):2643-2645.
- [10] Kollet O, Petit I, Kahn J, et al. Human CD34(+) CXCR4(-) sorted cells harbor intracellular CXCR4, which can be functionally expressed and provide NOD/SCID repopulation[J]. Blood, 2002, 100(8):2778-2786.
- [11] Jung KH, Shin HP, Lee S, et al. Effect of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in a cirrhotic rat model[J]. Liver Int, 2009, 29(6):898-909.
- [12] Liang L, Ma T, Chen W, et al. Therapeutic potential and related signal pathway of adipose-derived stem cell transplantation for rat liver injury[J]. Hepatol Res, 2009, 39(8):822-832.
- [13] Kharaziha P, Hellstrom PM, Noorinayer B, et al. Improvement of liver function in liver cirrhosis patients after autologous mesenchymal stem cell injection: a phase I-II clinical trial[J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2009, 21(10):1199-1205.
- [14] Terada R, Yamamoto K, Hakoda T, et al. Stromal cell-derived factor-1 from biliary epithelial cells recruits CXCR4-positive cells: implications for inflammatory liver diseases [J]. Lab Invest, 2003, 83(5):665-672.
- [15] Terai S, Sakaida I, Yamamoto N, et al. An In Vivo Model for Monitoring Trans-Differentiation of Bone Marrow Cells into Functional Hepatocytes[J]. J Biochem, 2003, 134(4):551-558.
- [16] Hatch HM, Zheng D, Jorgensen ML, et al. SDF-1alpha/CXCR4: a mechanism for hepatic oval cell activation and bone marrow stem cell recruitment to the injured liver of rats[J]. Cloning Stem Cells, 2002, 4(4):339-351.
- [17] Jin SZ, Meng XW, Han MZ, et al. Stromal cell derived factor-1 enhances bone marrow mononuclear cell migration in mice with acute liver failure[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(21):2657-2664.
- [18] Jung YJ, Ryu KH, Cho SJ, et al. Syngenic bone marrow cells restore hepatic function in carbon tetrachloride-induced mouse liver injury[J]. Stem Cells Dev, 2006, 15(5):687-695.
- [19] 赖勇强,廖彩仙,廖欣鑫,等.肝纤维化和肝硬化患者肝内基质细胞衍生因子-1 $\alpha$ 水平的变化[J].肝胆外科杂志, 2009, 17(4):306-308.
- [20] Ryser MF, Thieme S, Bornhauser M, et al. Serum albumin strongly influences SDF-1 dependent migration[J]. Int J Hematol, 2009, 89(3):269-275.
- [21] Shi M, Li J, Liao L, et al. Regulation of CXCR4 expression in human mesenchymal stem cells by cytokine treatment: role in homing efficiency in NOD/SCID mice[J]. Haematologica, 2007, 92(7):897-904.
- [22] Zhang D, Fan GC, Zhou X, et al. Over-expression of CXCR4 on mesenchymal stem cells augments myoangiogenesis in the infarcted myocardium[J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 44(2):281-292.
- [23] Kyriakou C, Rabin N, Pizzey A, et al. Factors that influence short-term homing of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a xenogeneic animal model[J]. Haematologica, 2008, 93(10):1457-1465.
- [24] Son BR, Marquez-Curtis LA, Kucia M, et al. Migration of bone marrow and cord blood mesenchymal stem cells in vitro is regulated by stromal-derived factor-1-CXCR4 and hepatocyte growth factor-c-met axes and involves matrix metalloproteinases [J]. Stem Cells, 2006, 24(5):1254-1264.
- [25] De Becker A, Van Hummelen P, Bakkus M, et al. Migration of culture-expanded human mesenchymal stem cells through bone marrow endothelium is regulated by matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-3[J]. Haematologica, 2007, 92(4):440-449.
- [26] Li Y, Qu J, Shelat H, et al. Clusterin induces CXCR4 expression and migration of cardiac progenitor cells[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(20):3435-3442.