

睾酮通过 SDF-1 α /CXCR4 轴调控骨髓内皮祖细胞迁移

徐颖佳, 任国庆, 郭书华, 孙文文, 张浩

(江苏大学附属医院急诊科, 江苏省镇江市 212001)

[关键词] 内皮祖细胞; 睾酮; 迁移; SDF-1 α /CXCR4 轴

[摘要] **目的** 探讨雄激素睾酮对小鼠骨髓源性内皮祖细胞(BM-EPC)迁移功能的影响及其机制。**方法** 6周龄雄性 BALB/C 小鼠, 切除双侧睾丸, 饲养 4 周, 培养、鉴定 BM-EPC。收集贴壁细胞随机分为 8 组: 分别添加 0、1、10、100 nmol/L 睾酮以及相应浓度睾酮加氟他胺(雄激素受体阻断剂)预处理。Transwell 实验检测各组 BM-EPC 经或未经趋化因子受体 4(CXCR4)抑制剂 AMD3100 处理后向基质细胞衍生因子 1 α (SDF-1 α)的迁移。逆转录聚合酶链反应和 Western blot 检测各组 BM-EPC CXCR4 的表达。Transwell 实验检测 BM-EPC 的迁移。**结果** 与对照组相比, 睾酮呈浓度依赖性促进 BM-EPC 向 SDF-1 α 迁移(放大 200 倍视野下, A 组: 61.80 ± 9.31 ; B 组: 83.20 ± 6.53 ; C 组: 107.00 ± 12.85 ; D 组: 134.80 ± 8.64 ; $P < 0.05$)。与对照组相比, 睾酮呈浓度依赖性促进 BM-EPC CXCR4 mRNA 的表达(CXCR4 mRNA 的相对表达量: A 组: 0.065 ± 0.005 ; B 组: 0.114 ± 0.002 ; C 组: 0.149 ± 0.019 ; D 组: 0.209 ± 0.013 ; $P < 0.05$)。睾酮呈浓度依赖性促进 BM-EPC CXCR4 蛋白的表达(CXCR4 与 Actin 表达量之比: A 组: 0.23 ± 0.06 ; B 组: 0.40 ± 0.02 ; C 组: 0.62 ± 0.04 ; D 组: 0.77 ± 0.05 ; $P < 0.05$), 但此作用被雄激素受体阻断剂氟他胺阻断。AMD3100 阻断了不同浓度睾酮对 BM-EPC 的迁移作用。**结论** 睾酮通过雄激素受体途径作用于 SDF-1 α /CXCR4 轴, 上调 BM-EPC CXCR4 的表达而增强其迁移功能。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Testosterone Regulates the Migratory Capacity of Bone Marrow-derived Endothelial Progenitor Cells via SDF-1 α /CXCR4 Axis

XU Ying-Jia, REN Guo-Qing, GUO Shu-Hua, SUN Wen-Wen, and ZHANG Hao

(Emergency Department, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[KEY WORDS] Endothelial Progenitor Cell; Testosterone; Migration; SDF-1 α /CXCR4 Axis

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effects and mechanisms of testosterone on the migratory capacity of bone marrow-derived endothelial progenitor cells (BM-EPC). **Methods** BM-EPC were cultured and identified from 6-week-old orchietomized BALB/C male mice. The adherent cells were collected and divided into eight groups randomly, and cocultured with 0, 1, 10, 100 nmol/L testosterone or corresponding concentration of testosterone and androgen receptors antagonists flutamide. BM-EPC migration towards stroma cell-derived factor-1 α (SDF-1 α) was assessed by the method of transwell chamber with or without treatment of chemokine receptor 4 (CXCR4) inhibitor AMD3100, and the CXCR4 expression in BM-EPC was detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot. BM-EPC migration was assessed by the method of transwell. **Results** Compared with control group, the migration towards SDF-1 α of BM-EPC was increased by testosterone in a dose-dependent manner (group A: 61.80 ± 9.31 ; group B: 83.20 ± 6.53 ; group C: 107.00 ± 12.85 ; group D: 134.80 ± 8.64 ; $P < 0.05$). The CXCR4 mRNA expression of BM-EPC was increased by testosterone in a dose-dependent manner compared with control group (group A: 0.065 ± 0.005 ; group B: 0.114 ± 0.002 ; group C: 0.149 ± 0.019 ; group D: 0.209 ± 0.013 ; $P < 0.05$). The CXCR4 protein expression of BM-EPC was increased by testosterone in a dose-dependent manner compared with control group (group A: 0.23 ± 0.06 ; group B: 0.40 ± 0.02 ; group C: 0.62 ± 0.04 ; group D: 0.77 ± 0.05 ; $P < 0.05$). However, these effects were blocked

[收稿日期] 2013-09-02

[基金项目] 镇江市科技计划项目(SH2012032)

[作者简介] 徐颖佳, 硕士研究生, 研究方向为骨髓内皮祖细胞与缺血性心脏病, E-mail 为 xuyingjia_621@163.com。通讯作者任国庆, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为缺血性心脏病的临床与基础, E-mail 为 doctorgq@sohu.com。郭书华, 硕士研究生, 研究方向为骨髓内皮祖细胞与缺血性心脏病。

by flutamide. Different concentrations of testosterone on the role of BM-EPC migration were blocked by AMD3100.

Conclusion Testosterone enhances the migratory capacity of BM-EPC by up-regulating the CXCR4 expression via androgen receptors pathway.

循环内皮祖细胞对心血管系统的保护作用已有公认,雄激素对男性心血管系统动脉硬化的发生发展有阻抑作用也得到许多研究证实^[1],因此,雄激素与循环内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)的相关关系成为近年来不少学者的研究热点。骨髓源性内皮祖细胞(bone marrow-derived endothelial progenitor cell, BM-EPC)具有归巢到血管损伤部位并参与血管修复和新生的作用,在多种心血管疾病发病过程中起抑制作用^[2]。基质细胞衍生因子1 α (stroma cell derived factor-1 α , SDF-1 α)及其唯一受体趋化因子受体4(chemokine receptor 4, CXCR4)组成的 SDF-1 α /CXCR4 轴对内皮祖细胞的迁移起重要作用^[3]。我们推论睾酮可能通过 SDF-1 α /CXCR4 轴影响 BM-EPC 的迁移功能,进而实现对心血管系统的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

6 周龄 BALB/C 小鼠,体重 18 ~ 20 g,由扬州大学比较医学中心提供;EGM-2MV 购自 Lonza 公司;SDF-1 α 购自 Peprotech 公司;AMD3100 购自 Cayman 公司;小鼠淋巴细胞分离液试剂盒购自 TBD 公司;胎牛血清购自 Gibco 公司;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、睾酮、氟他胺、FITC 标记的荆豆凝集素 I (fluoresceine isothiocyanate ulex europeaus agglutinin-I, FITC-UEA-I) 购自 Sigma 公司;Dil 标记的乙酰化低密度脂蛋白(Dil-acetylated low density lipoprotein, Dil-ac-LDL) 购自广州奕源生物科技有限公司;Transwell 小室、细胞培养板购自 Corning 公司;1:250 胰蛋白酶购自上海生物工程技术有限公司;引物购自生工生物工程上海有限公司;PrimeScript RT reagent Kit、SYBR Premix Ex Taq 购自 Takara 公司;多克隆兔抗小鼠 CXCR4 抗体购自 eBioscience 公司,羊抗兔 IgG-辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP) 二抗购自 Santa Cruz Biotechnology 公司。

1.2 小鼠去势模型建立和 BM-EPC 分离、培养

6 周龄 BALB/C 小鼠,体重 18 ~ 20 g,在 200 mg/kg 氟胺酮麻醉作用下,行双侧睾丸切除术,术后正常喂养 4 周。颈椎脱臼法处死小鼠,并将其

置于 75% 酒精中浸泡 10 min。在无菌操作台上用注射器将其胫骨、股骨髓冲出,使用淋巴细胞分离液试剂盒分离骨髓单个核细胞。在细胞计数板中计数,用含 20% 胎牛血清的 EGM-2MV 培养基调整细胞密度为 5×10^9 /L,接种于纤维连接蛋白包被的 6 孔板中,在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 4 天后,去除未贴壁细胞。显微镜下观察并记录细胞生长状况。

1.3 BM-EPC 鉴定

对贴壁细胞进行鉴定:加入 2.4 mg/L Dil-ac-LDL 37 $^{\circ}$ C 共培育 4 h,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)洗 2 次,4% 多聚甲醛固定 10 min, PBS 浸洗 3 次,10 mg/L FITC-UEA-I 37 $^{\circ}$ C 共培养 1 h,再用 PBS 浸洗 3 次,多波长激光共聚焦显微镜下观察(放大 200 倍),双染阳性的细胞被认为是正在分化的 BM-EPC。

1.4 实验分组

将贴壁的 BM-EPC 随机分成 8 组,并对每组细胞进行处理。A 组:即对照组, BM-EPC + 0 nmol/L 睾酮; B 组: BM-EPC + 1 nmol/L 睾酮; C 组: BM-EPC + 10 nmol/L 睾酮; D 组: BM-EPC + 100 nmol/L 睾酮; E 组: BM-EPC + 0 nmol/L 睾酮 + 500 nmol/L 氟他胺; F 组: BM-EPC + 1 nmol/L 睾酮 + 500 nmol/L 氟他胺; G 组: BM-EPC + 10 nmol/L 睾酮 + 500 nmol/L 氟他胺; H 组: BM-EPC + 100 nmol/L 睾酮 + 500 nmol/L 氟他胺。加入氟他胺各组在氟他胺预处理 3 h 后,再加入相应浓度睾酮。各组 BM-EPC 继续培养 48 h。

1.5 BM-EPC 体外迁移实验

分别收集各组 BM-EPC,调整细胞密度为 5×10^8 /L。Transwell 小室上方加入 200 μ L 细胞悬液,下方加含 100 μ g/L SDF-1 α 的 EBM-2 培养基 600 μ L。各组在细胞培养箱中孵育 24 h 后, PBS 洗涤 Transwell 小室迁移膜,4% 多聚甲醛固定,苏木素染色,200 倍视野下观察计数。每一样本随机选取 5 个视野,计数每个视野下染色细胞数,取其平均值。

1.6 逆转录聚合酶链反应检测 BM-EPC CXCR4 mRNA 的表达

用 Trizol 提取 8 组 BM-EPC 总 RNA,紫外分光光度法测定其含量与纯度,逆转录成 cDNA,反应体系:37 $^{\circ}$ C 15 min,85 $^{\circ}$ C 5 s,4 $^{\circ}$ C 5 min。CXCR4 上游

引物: 5'-GCAGCAGGTAGCAGTGAAAC-3', 下游引物: 5'-AGTAGATGCTGGGCAGGAAGAT-3', 扩增片段长度为 216 bp; β -actin 上游引物: 5'-GTCCT-CACCCTCCAAAAG-3', 下游引物: 5'-GCTGCCT-CAACACCTCAACCC-3', 扩增片段长度为 266 bp; 反应体系: 95°C 30 s, 95°C 5 s, 60°C 20 s, 40 个循环。扩增后统计 Ct 值之差, 比较各组 mRNA 表达量的变化。产物经琼脂糖凝胶电泳, 自动成像分析系统下成像, 重复 3 次。

1.7 Western blot 检测 BM-EPC CXCR4 的表达

取各组细胞, 用蛋白裂解液充分裂解, 收集各组细胞总蛋白, 采用 BCA 法进行蛋白定量。取等量蛋白液, 热变性后进行 12% SDS-PAGE 凝胶电泳, 将蛋白转印到硝酸纤维素膜上, 封闭后先用兔抗鼠 CXCR4 抗体(1:500)4°C 孵育过夜, 再用相应 HRP 标记的二抗(1:5000)室温孵育 2 h, ECL 发光液显色发光。扫描并分析条带的吸光度值, 结果以 actin 的光密度作为参照。

1.8 AMD3100 对 BM-EPC 迁移的影响

分别收集 A 组和 C 组 BM-EPC, 调整细胞密度为 $5 \times 10^8/L$ 。每组迁移实验分为 3 个亚组, 即 I 亚组: Transwell 小室上方加入 200 μL 细胞悬液, 下方加含 100 $\mu g/L$ SDF-1 α 的 EBM-2 培养基 600 μL ; II 亚组: 200 μL 细胞悬液与 CXCR4 抑制剂 AMD3100 (5 mg/L) 在 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养

30 min 后加入小室上方, 下方加入含 100 $\mu g/L$ SDF-1 α 的 EBM-2 培养基 600 μL ; III 亚组: 即空白对照组, 小室上方加入 200 μL 细胞悬液, 小室下方加入 EBM-2 培养基 600 μL 。各组在细胞培养箱中孵育 24 h 后, PBS 洗涤 Transwell 小室迁移膜, 4% 多聚甲醛固定, 苏木素染色, 200 倍视野下观察计数。每一样本随机选取 5 个视野, 计数每个视野下染色细胞数, 取其平均值。

1.9 统计学分析

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 16.0 统计软件分析, 多组数据比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BM-EPC 鉴定

倒置相差显微镜下观察细胞形态学特征: 培养至 7 天的 BM-EPC 形态多样, 有类圆形也有梭形(图 1a)。对细胞进行双荧光染色鉴定: 在激光共聚焦显微镜下, BM-EPC 吸附 FITC-UEA-I 呈绿色(图 1b), 染色阳性率近 100%; 吸附 Dil-ac-LDL 呈红色(图 1c), 染色阳性率近 100%; BM-EPC 同时吸附 FITC-UEA-I 和 Dil-ac-LDL 呈黄色(图 1d), 说明这些细胞是正在分化的 BM-EPC, 双染阳性率为 $85.37\% \pm 4.80\%$ 。

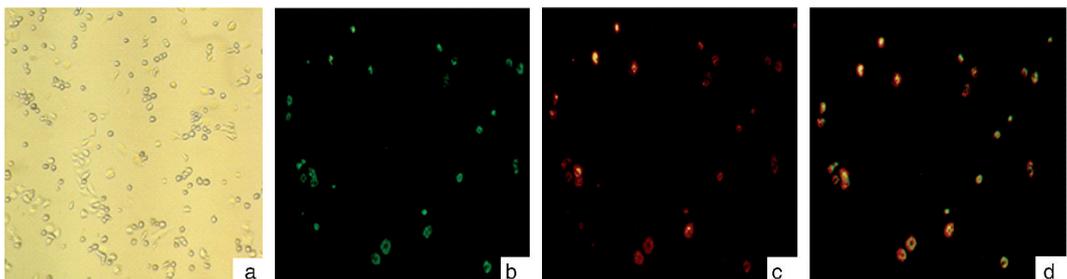


图 1. 骨髓内皮祖细胞的鉴定结果($\times 200$) a 为培养 7 天的 BM-EPC; b 为 BM-EPC 吸附 FITC-UEA-I 呈绿色; c 为 BM-EPC 吸附 Dil-ac-LDL 呈红色; d 为 BM-EPC 同时吸附 FITC-UEA-I 和 Dil-ac-LDL 呈黄色。

Figure 1. The results of identification of bone marrow-derived endothelial progenitor cells ($\times 200$)

2.2 睾酮通过雄激素受体途径上调 BM-EPC 向 SDF-1 α 的迁移

睾酮呈浓度依赖性促进 BM-EPC 向 SDF-1 α 迁移(A 组: 61.80 ± 9.31 ; B 组: 83.20 ± 6.53 ; C 组: 107.00 ± 12.85 ; D 组: 134.80 ± 8.64 ; $P < 0.05$), 但这种作用被雄激素受体阻断剂氟他胺阻断(图 2)。

2.3 睾酮对 BM-EPC CXCR4 mRNA 表达的影响

逆转录聚合酶链反应(reverse transcription poly-

merase chain reaction, RT-PCR)结果显示, 与对照组相比, 睾酮呈剂量依赖性模式促进 BM-EPC CXCR4 mRNA 的表达(CXCR4 mRNA 的相对表达量: A 组: 0.065 ± 0.005 ; B 组: 0.114 ± 0.002 ; C 组: 0.149 ± 0.019 ; D 组: 0.209 ± 0.013 ; $P < 0.05$)。但睾酮的这种作用被雄激素受体阻断剂氟他胺阻断。

2.4 睾酮对 BM-EPC CXCR4 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示, 睾酮呈剂量依赖性模式

促进 BM-EPC CXCR4 蛋白的表达 (CXCR4 表达量与 Actin 表达量之比: A 组: 0.23 ± 0.06 ; B 组: 0.40 ± 0.02 ; C 组: 0.62 ± 0.04 ; D 组: 0.77 ± 0.05 ; $P <$

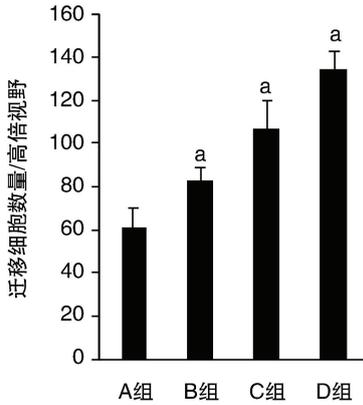


图 2. 睾酮通过雄激素受体途径上调 CXCR4 促进 BM-EPC 的迁移 ($\times 200$) a 为 $P < 0.05$, 与 A 组比较。

Figure 2. Testosterone enhances the migratory capacity of BM-EPC by up-regulating the CXCR4 expression via androgen receptors pathway ($\times 200$)

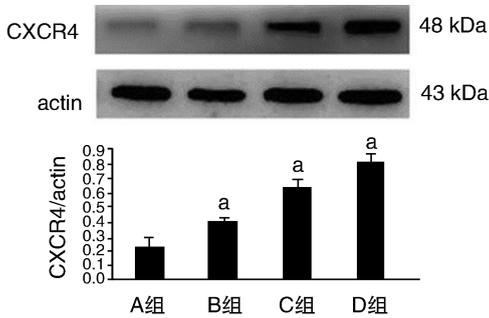
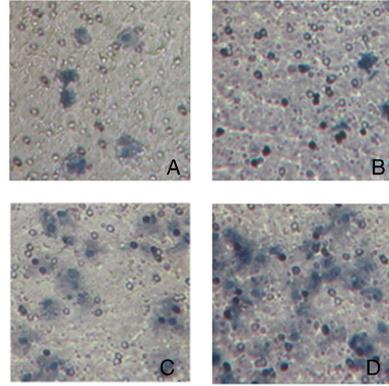


图 3. Western blot 检测各组 BM-EPC CXCR4 的表达 a 为 $P < 0.05$, 与 A 组比较。

Figure 3. The expression of BM-EPC CXCR4 in every group were assessed by Western blot

2.5 不同浓度睾酮对 BM-EPC 向 SDF-1 α 的迁移作用被 AMD3100 阻断

按照“1.8”项方法,分别对 A 组和 C 组的研究发现, A 组 BM-EPC 经 CXCR4 抑制剂 AMD3100 处理后,向 SDF-1 α 迁移的细胞数量明显减少(A 组 II 亚组的 28.60 ± 4.83 比 A 组 I 亚组的 61.80 ± 9.31 , $P < 0.05$),但与空白对照组差异无统计学意义(A 组 II 亚组的 28.60 ± 4.83 比 A 组 III 亚组的 29.80 ± 2.77 , $P > 0.05$)。C 组 BM-EPC 经 CXCR4 抑制剂 AMD3100 处理后,向 SDF-1 α 迁移的细胞数量明显减少(C 组 II 亚组的 52.40 ± 5.13 比 C 组 I 亚组的 105.00 ± 5.48 , $P < 0.05$),但与空白对照组差异无统计学意义(C 组 II 亚组的 52.40 ± 5.13 比 C 组 III 亚组的 50.00 ± 5.39 , $P > 0.05$) (图 4)。

0.05),但此作用被雄激素受体阻断剂氟他胺阻断。CXCR4 蛋白表达量以直方图表示,分别代表每组 CXCR4 表达量与 actin 表达量之比(图 3)。

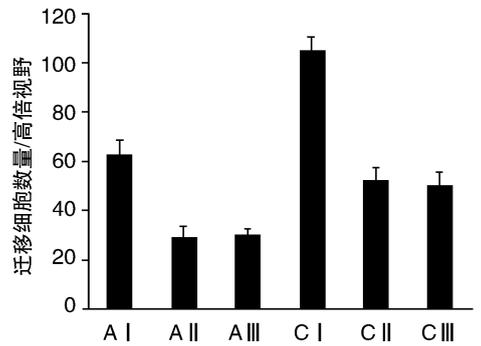


图 4. 不同浓度睾酮对 BM-EPC 的迁移作用被 AMD3100 阻断 ($\times 200$)

Figure 4. Different concentrations of testosterone on the role of BM-EPC migration were blocked by AMD3100 ($\times 200$)

3 讨论

内皮祖细胞是一类具有高增殖潜能的前体细胞,在内皮损伤后的修复中起重要作用^[4]。因其具有更强的增殖和抗凋亡能力,逐渐取代了内皮细胞而成为血管再生领域的研究热点。研究发现,EPC 的生物学特性受到诸多因素的影响,如高浓度葡萄糖能增加体外培养条件下内皮祖细胞的凋亡^[5],氧化型低密度脂蛋白亦可诱导其凋亡^[6]等。本课题组前期研究也发现,不同时期心肌梗死患者内皮祖细胞的表达不同。在 EPC 修复梗死心肌过程中,其增值、迁移、归巢等生物学功能直接决定着 EPC 修复梗死心脏的效果^[7]。随着人们对其研究和认识

的不断深入,内皮祖细胞在治疗缺血性心脏病中的作用也逐渐得到重视。本文主要以 BM-EPC 为研究对象,探讨睾酮对其迁移功能影响的相关机制。

睾酮是雄性动物体内最主要的雄性激素。已有研究证实睾酮对细胞胰岛素的分泌、血管活性物质、炎症因子等均有不同程度的影响。近年来越来越多的临床研究显示血浆睾酮水平低下会增加男性心血管疾病的风险^[8,9]。Dockery 等^[10]报道血浆睾酮水平下降会增加男性动脉硬化的程度。临床研究证实给予男性心肌梗死患者睾酮治疗可以有效改善其预后。这些均说明睾酮对心血管系统具有保护作用。本实验中在给予去势雄性小鼠 BM-EPC 不同剂量的睾酮处理后,其迁移能力呈浓度梯度增加,证实了睾酮对 BM-EPC 迁移能力的影响。EPC 上有雄激素受体的表达,Foresta 等^[11]研究证实睾酮可通过雄激素受体途径促进 EPC 的迁移与增值,这与本实验中氟他胺阻断了睾酮促进 EPC 迁移能力的结果相吻合。

CXCR4 是一个具有 7 次跨膜结构的 G 蛋白偶联受体,在白细胞、造血干细胞等表面均有表达。CXCR4 与其唯一的天然配体 SDF-1 α 形成的 SDF-1 α /CXCR4 轴在造血干细胞的迁移、血细胞生成及 B 细胞、粒系祖细胞的发育过程中起重要作用^[12]。研究发现 EPC 有 CXCR4 表达,移植转染 SDF-1 α 的 EPC 到小鼠缺血后肢,可以明显增加 EPC 的募集以及血流的恢复^[13]。同时临床研究发现,冠状动脉严重狭窄但侧支良好的冠心病患者循环内皮祖细胞数量的增加可能与血浆 SDF-1 α 水平增高有关^[14]。而本实验从 mRNA 和蛋白水平证实了 BM-EPC CXCR4 表达的增加,进而证实了睾酮通过上调 BM-EPC CXCR4 的表达促进其迁移功能。AMD3100 作为 CXCR4 的阻断剂,能有效阻断 SDF-1 α /CXCR4 轴的生物学功能,一旦与 CXCR4 结合,其抑制效应至少持续 24 h^[15]。Kajiyama 等^[16]研究证实,SDF-1 α /CXCR4 轴在卵巢癌细胞的生长和转移中起了重要作用,而 AMD3100 能明显抑制其转移,这与本实验中 AMD3100 阻断了睾酮对 BM-EPC 迁移作用的结果一致。

本研究结果从体外角度证明了睾酮通过 SDF-1 α /CXCR4 轴调控骨髓内皮祖细胞的迁移,但是睾酮对在体 BM-EPC 迁移功能的影响及机制仍不确定,后续实验将对在体 BM-EPC 进行研究,为 BM-EPC 移植治疗动脉粥样硬化性心血管疾病提供实验依据。

[参考文献]

[1] Ruige JB, Mahmoud AM, De Bacquer D, et al. Endogenous testos-

terone and cardiovascular disease in healthy men: a Meta-analysis [J]. *Heart*, 2011, 97(11): 870-875.

- [2] Ramcharan KS, Lip GY, Stonelake PS, et al. The endotheliome: a new concept in vascular biology[J]. *Thromb Res*, 2011, 128(1): 1-7.
- [3] Kucia M, Reza R, Miekus K, et al. Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis[J]. *Stem Cells*, 2005, 23(7): 879-894.
- [4] Calzi SL, Neu MB, Shaw LC, et al. Endothelial progenitor dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy: treatment concept to correct diabetes-associated deficits[J]. *EPMA J*, 2010, 1(1): 88-100.
- [5] 李琳, 董润湘, 徐寒松, 等. 葡萄糖对人外周血内皮祖细胞凋亡的影响[J]. *中国医师杂志*, 2010, 12(12): 1 620-622.
- [6] 李秀丽, 谢秀梅, 陈晓彬, 等. 氧化型低密度脂蛋白对人脐静脉内皮祖细胞增殖、凋亡及 Bcl-2 表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15(10): 755-758.
- [7] Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells: characterization and role in vascular biology [J]. *Circ Res*, 2004, 95(4): 343-353.
- [8] Laughlin GA, Barrett-Connor E, Bergstrom J. Low serum testosterone and mortality in older men[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(1): 68-75.
- [9] Hougaku H, Fleg JL, Najjar SS, et al. Relationship between androgenic hormones and arterial stiffness, based on longitudinal hormone measurements[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2006, 290(2): E234-E242.
- [10] Dockery F, Bulpitt CJ, Agarwal S, et al. Effect of androgen suppression compared with androgen receptor blockade on arterial stiffness in men with prostate cancer[J]. *J Androl*, 2009, 30(4): 410-415.
- [11] Foresta C, Zuccarello D, De Toni L, et al. Androgens stimulate endothelial progenitor cells through an androgen receptor-mediated pathway[J]. *Clin Endocrinol*, 2008, 68(2): 284-289.
- [12] Aiuti A, Webb I, Bleul C, et al. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34⁺ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34⁺ progenitors to peripheral blood[J]. *J Exp Med*, 1997, 185(1): 111-120.
- [13] Kucia M, Jankowski K, Reza R, et al. CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion[J]. *J Mol Histol*, 2004, 35(3): 233-245.
- [14] 祁学文, 刘海峰, 马龙乐, 等. 冠状动脉严重狭窄的稳定型心绞痛患者侧支循环与内皮祖细胞的关系研究[J]. *中国医师杂志*, 2011, 13(9): 1 177-180.
- [15] Hatse S, Princen K, Bridger G, et al. Chemokine receptor inhibition by AMD3100 is strictly confined to CXCR4[J]. *FEBS Letters*, 2002, 527(1): 255-262.
- [16] Kajiyama H, Shibata K, Terauchi M, et al. Involvement of SDF-1 α /CXCR4 axis in the enhanced peritoneal metastasis of epithelial ovarian carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(1): 91-99.

(此文编辑 曾学清)