

改善骨髓间充质干细胞迁移归巢方法的研究进展

杜春彦¹, 戴鑫², 冯泽国¹, 郭全义³, 杨静¹, 张娜¹, 余军¹, 张卫东¹

解放军总医院, 北京 100853 ¹麻醉手术中心; ²实验动物中心; ³骨科再生医学北京市重点实验室、全军骨科战创伤重点实验室

摘要: 骨髓间充质干细胞 (bone marrow stromal cells, BMSCs) 是一类具有自我更新能力和多向分化潜能的组织干细胞, 已有研究证实 BMSCs 移植可治疗多种疾病, 并取得理想结果。然而, 当前研究表明移植后的 BMSCs 仅有少量能到达并停留在靶组织, 限制了 BMSCs 的治疗效果。本文主要对当前研究中提高 BMSCs 的迁移及归巢效应的策略进行综述, 旨在为 BMSCs 的临床应用提供理论依据。

关键词: 骨髓间充质干细胞; 迁移; 归巢

中图分类号: R 329.2 文献标志码: A 文章编号: 2095-5227(2017)02-0167-04 DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2017.02.020

网络出版时间: 2017-01-16 16:27 网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20170116.1627.008.html

Advances in methods of improving migration and homing of mesenchymal stromal cells

DU Chunyan¹, DAI Xin², FENG Zeguo¹, GUO Quanyi³, YANG Jing¹, ZHANG Na¹, YU Jun¹, ZHANG Weidong¹

¹Anesthesia and Operation Center; ²Animal Experiment Center; ³Beijing Key Lab of Regenerative Medicine in Orthopaedics, Key Lab of Musculoskeletal Trauma & War Injuries Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: FENG Zeguo. Email: beijing_301@sina.com; GUO Quanyi. Email: doctorguo@163.com

Abstract: Bone marrow stromal cells (BMSCs) represent a type of progenitor cells which is characterized by self-renewal and differentiation potential. At the moment, many trials applying BMSCs for treatment of multiple diseases have achieved ideal therapeutic effect. However, current research shows that this process does not appear to be highly efficacious because only a few cells reach the target tissue after systemic administration. Herein, we review the current understanding of BMSCs' homing and migration, with a particular focus on the strategies that have been developed to ameliorate this process and provide some theoretical basis for clinical applications.

Keywords: bone marrow stromal cells; migration; homing

骨髓间充质干细胞 (bone marrow stromal cells, BMSCs) 是存在于骨髓中的非造血成体干细胞, 具有多向分化潜能, 在特定的诱导环境下可向软骨细胞、骨细胞、脂肪细胞、神经细胞等方向进行分化^[1-2]。同时, BMSCs 因其取材方便、易体外培养扩增、低免疫原性等优点而成为组织工程中的理想种子细胞^[3-4]。目前 BMSCs 广泛应用于中枢神经系统疾病的治疗, 其治疗效果受 BMSCs 归巢率的影响, 因此治疗中需要 BMSCs 成功迁移到靶组织。BMSCs 的迁移可受多种配体和受体相互作用的影响, 如基质细胞衍生因子 SDF-1a 及其受体 CXCR4、趋化因子 CXCL13 及其受体 CXCR5、CD44、透明质酸、血管内皮生长因子与血管内皮生长因子受体 1 等^[5]。目前研究表明经静脉、动脉、局部注射途径给予 BMSCs 治疗时, 仅有一小部分 BMSCs 能到达损伤组织, 且存活率较低^[6-7]。国内外学者对 BMSCs 的迁移归巢机制进行了深入的研究, 但是对于如何提高 BMSCs 的归巢效应尚

未明确, 因此本文针对提高 BMSCs 迁移归巢能力技术的研究进展进行综述。

1 基质细胞衍生因子 1a 预处理骨髓间充质干细胞

BMSCs 的归巢是一个复杂过程, 机制尚未完全阐明, 其中 SDF-1a/CXCR4 在 BMSCs 的迁移过程中发挥关键作用^[8]。大量研究证实组织损伤后基质细胞衍生因子 1 (stromal cell-derived factor-1a, SDF-1a) 表达水平显著提高, SDF-1a 及其受体 CXCR4 形成的 SDF-1a/CXCR4 轴可引起骨髓基质、黏附分子、细胞因子、化学介素的裂解和退化从而导致 BMSCs 易于穿过内皮细胞并从骨髓中释放, 表达 CXCR4 的 BMSCs 沿着 SDF-1a 的浓度梯度完成迁移过程^[9-10]。到达靶组织的 BMSCs 可通过免疫抑制作用、抗炎作用发挥治疗作用。若阻断损伤组织中 SDF-1a 或 CXCR4 的表达, BMSCs 则不能迁移至靶组织, 提示 SDF-1a 不仅有趋化作用, 还可促使 BMSCs 迁移至损伤组织^[11]。孙立影和韩明子^[12]研究发现 SDF-1a 预处理的 BMSCs 细胞表面 CXCR4 的受体表达数量增加, 而趋化因子 CXCR4 受体数量的增加可显著增强 SDF-1a/CXCR4 轴介导的 BMSCs 的归巢能力。另外有研究报道, 不同质量浓度的 SDF-1a 对 BMSCs 迁移归巢能力的影响不同, 0.05 ~ 0.2 mg/L 质量浓度的 SDF-1a 可促进 BMSCs 迁移且迁移数量会随 SDF-1a 浓度的增加而提高, 因此 BMSCs 趋化归巢到损伤组织的能力更强。但是, 当 SDF-

收稿日期: 2016-10-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81472092)

Supported by the National Natural Science Funds of China (81472092)

作者简介: 杜春彦, 女, 硕士。研究方向: 骨髓间充质干细胞对神经病理性疼痛的治疗。Email: duchunyan1991@163.com

通信作者: 冯泽国, 男, 主任医师, 硕士生导师。Email: beijing_301@sina.com; 郭全义, 男, 主任医师, 硕士生导师。Email: doctorguo@163.com

1a质量浓度为0.2~0.5 mg/L时, SDF-1a失去对BMSCs的促迁移能力, BMSCs迁移数量不再增加^[13]。因此在一定浓度内适当提高SDF-1a在损伤组织中的表达会对BMSCs的归巢发挥促进作用。Son等^[14]研究证实SDF-1a只通过CXCR4受体对BMSCs的迁移归巢发挥作用。但是最新研究发现SDF-1a可通过其他受体发挥作用如CXCR7, 且进一步发现SDF-1a-CXCR4与SDF-1a-CXCR7反应轴在影响BMSCs归巢迁移中发挥协同作用, 进而也证明了BMSCs向靶器官迁移是受趋化性的作用而不是化学刺激作用^[5,15]。但是SDF-1a-CXCR4与SDF-1a-CXCR7反应轴之间调控因素如何促进BMSCs归巢迁移尚未明确, 值得进一步的研究。

2 低氧预适应骨髓间充质干细胞

低氧预适应(hypoxic preconditioning, HP)是指通过短暂的非致死性低氧浓度诱导内源性保护通路以增强其对后续缺氧的耐受性。严重缺氧对BMSCs的增殖有抑制作用, 但适宜的低氧预处理可通过调节激酶ERK和抗凋亡蛋白Bcl-2的表达、稳定线粒体膜、抑制细胞色素C释放、促进细胞生物合成和细胞旁分泌等机制来促进BMSCs生长增殖, 诱发BMSCs表达归巢分子^[16]。Lykov等^[17]发现, BMSCs在骨髓中的生存环境氧浓度为2%左右, 而移植前BMSCs在体外扩增时通常处于20%的氧浓度。钟启和曾慧兰^[18]针对低氧预处理BMSCs的研究实验发现, 当BMSCs处于3%的氧体积分数培养后, BMSCs的迁移能力明显增强, 激光共聚焦显微镜观察发现, 低氧预处理的BMSCs迁移到人工基底膜下的细胞量多于正常培养条件组。适度低氧预处理不仅能促进干细胞生长增殖也能明显增强细胞的迁移能力。最新的研究表明, 低氧环境下可激活低氧诱导因子(hypoxia inducible factor-1 α , HIF1 α)信号通路, 通路活化后产生的HIF1 α 转录因子可产生适合干细胞生存的微环境^[19]。HIF1 α 可诱导并上调组织表达SDF1a、整合素 β 1、促红细胞生成素、血管内皮细胞生长因子等细胞因子, 表达水平上调后的细胞因子将引起组织周围微环境的变化, 刺激KiL蛋白酶、NO产生^[17], 促进BMSCs循浓度梯度向损伤组织迁移, 参与损伤组织的修复^[20]。同时SDF-1a可通过调节基质金属蛋白酶的表达来促进细胞外基质、基底膜的降解, 这一过程通过增加局部血管的通透性促进BMSCs穿过内皮细胞游出, 进而提高BMSCs的归巢效率^[21]。大量动物实验证实, 移植前对BMSCs进行低氧预处理更有利于损伤组织的修复。Lee等^[21]研究证实BMSCs在2%~5%的低氧环境下培养后其增殖和迁移能力均增强, 而经低氧环境培养的BMSC在20%正常氧环境培养后, 其归巢能力明显降低, 这说明低氧预适应处理BMSCs能显著提高其归巢迁移能力, 并有助于提高BMSCs的治疗效果。

3 细胞因子预处理骨髓间充质干细胞

Kyriakou等^[22]的研究表明仅3.9%的BMSCs细胞膜上表达有CXCR4受体, 而且随着体外培养时间的延长, BMSCs表面表达的CXCR4受体含量逐渐降低;另外, 种植密度、传代次数、基础培养基、血清、血小板裂解液都会影响BMSCs表面归巢分子CXCR4、CXCR7等的表达^[23]。

Chamberlain等^[24]发现在细胞传代过程中使用胰酶消化细胞时, 细胞表面的趋化因子受体表达降低。由于BMSCs在体外培养时归巢分子表达率较低, 因此提高体外培养情况下BMSCs归巢分子的表达, 可使BMSCs更有效地向损伤部位迁移和归巢, 将能显著提高BMSCs的治疗作用。Shi等^[25]发现在BMSCs基础培养液中加入flt3配体、干细胞因子(SCF)、IL-3、IL-6、肝细胞生长因子混合物可显著提高BMSCs细胞膜上CXCR4受体的表达。Ponte等^[26]研究发现, 在培养基加入胰岛素样生长因子、TNF- α 、IL-1 β 、IFN- γ 可增加CXCR4的表达, 同时还观察到抗CXCR4单克隆抗体可拮抗趋化因子CXCL12的迁移作用, 从侧面证实了趋化因子对BMSCs体外迁移的特异性, 而迁移到损伤或炎症部位的BMSCs通过其分泌因子或外泌体参与到组织的修复和稳态中^[27-29]。Mcandrews等^[30]研究发现体外培养BMSCs时加入TGF- β 1, 可通过活化ERK1及PI3K转导通路来促进BMSCs分泌MMP, 培养6 h后取培养液上清检测发现MMP含量升高, 组织中的MMP可通过降解细胞外基质、基底膜来实现迁移归巢效应, 同时发现BMSCs磷脂酰肌醇激酶P13K-Akt水平较对照组升高^[31-32]。Li等^[33]的研究表明使用促红细胞生成素(EPO)干预BMSCs后, BMSCs从Transwell上室迁移到下室的细胞数量显著高于对照组。同时, P13K/Akt通路磷酸化水平也显著升高而使用P13K/Akt通路抑制剂预处理后, EPO对BMSCs的迁移能力消失, 提示EPO可通过激活P13K/Akt通路来促进BMSCs的迁移效应^[34]。BMSCs对细胞因子的反应是通过信号通路产生的, 信号通路在细胞迁移归巢中相互作用、相互整合, 正是这些独立而互相依存的通路改善了BMSCs移植后的存活能力, 提高了BMSCs的治疗效果。

4 基因工程处理骨髓间充质干细胞

基因工程又称基因拼接技术和DNA重组技术, 是以分子遗传学为基础, 以分子生物学和微生物学的现代方法为手段, 将不同来源的基因按预先设计的蓝图, 在体外构建DNA分子, 然后导入活细胞, 以改变生物原有的遗传特性, 获得新品种^[35]。许多研究人员已设计转染或转导实验将表达CXCR4的基因质粒(pMSCV-CXCR4-IRES-GFP)通过病毒或者非病毒载体导入BMSCs, 采用反转录聚合酶链反应(RT-PCR)、流式细胞分析仪、免疫荧光染色检测CXCR4在BMSCs中的表达。RT-PCR结果证实转基因CXCR4在BMSCs中表达, 流式细胞分析仪检测44.8%的CXCR4基因表达为阳性, 绿色荧光蛋白阳性率为57%, 越来越多的证据表明经基因工程处理的骨髓间充质干细胞CXCR4表达升高, 与对照组相比, CXCR4基因修饰BMSCs定向迁移能力提高近5倍^[36]。对迁移和未能迁移至靶器官的BMSCs的基因研究发现, 迁移至靶器官的BMSCs有多种基因表达, 其中Nur77和Nurr1核受体表达最高, 通过基因沉默技术使BMSCs的Nur77和Nurr1核受体失表达, BMSCs向靶组织的迁移效应消失, 提示BMSCs通过的Nur77和Nurr1核受体发挥归巢效应^[37]。Snail基因转录因子在肿瘤细胞的侵袭转移中发挥重要调控作用。国内学者通过借鉴肿瘤迁移的相关机制来

研究提高 BMSCs 迁移及存贮能力的策略。查运红等^[38]发现,通过脂质体法用重组真核表达载体(pCAGGSneo-snaill-HA)转染 BMSCs 后, Snail 在 BMSCs 内获得长期表达, Snail 基因修饰后的 BMSCs AKT、ERK1/2 磷酸化水平升高, 可通过提高细胞膜表面 CXCR4 特异性受体表达水平来增强 BMSCs 的趋化效应, 提示 P13K 和 ERK 信号通路在 Snail 基因修饰的 BMSCs 的迁移归巢中发挥重要作用。Won 等^[8]的研究发现基因工程处理对 BMSCs 的活性、增殖能力、黏附能力和分化能力无不良影响^[40]。Bessis 等^[41]对病毒载体引入质粒 DNA 的研究发现, 病毒载体有致瘤和免疫风险。另外, 这一技术生产成本较高, 这些缺点限制了病毒载体的应用。针对上述问题, Wiehe 等^[42]采用非病毒模式转染 DNA, 使用 mRNA 的核转染可引起 90% BMSCs 归巢分子表达水平升高, 并通过超声波和微泡插入短小的干扰 RNA 来促进细胞存活^[43]。目前进行的化学、病毒、脂质剂的研究, 与病毒转染相比, 价格更适宜, 转染效率也更高。

5 外加磁场诱导骨髓间充质干细胞的定向迁移

在早期的归巢实验中发现, 对靶组织进行化疗和放疗后, 组织中的 SDF-1 α 水平增加可促进 BMSCs 向靶组织归巢, 这表明细胞的迁移和归巢受靶组织的影响。然而, 临床应用中需要细胞表面有一定量的归巢分子的表达, BMSCs 的治疗效果与迁移到损伤组织的细胞量直接相关。因此, 提高 BMSCs 治疗过程中组织特异性归巢是一个重要问题。Tukmachev 等^[44]研究发现, 超顺磁氧化铁纳米粒子(superparamagnetic iron oxide nanoparticle, SPION)标记后的 BMSCs 在神经病理性疼痛大鼠中被捕捉的数量显著高于非 SPION 标记组, SPION 标记的干细胞聚集在磁化系统的捕捉区域, 脑脊髓的组织分析表明损伤部位 BMSCs 的分布和永磁体的磁力、磁场梯度力呈数量相关性。与躯体内深器官相比, 脑、脊髓的特殊解剖学特点使其能更准确地暴露在外界磁场中, 其对 SPION 标记的干细胞吸引磁化能力更强, 因此通过磁场的定向诱导可促使移植的 BMSCs 向损伤部位迁移以增加损伤组织部位的细胞数量来达到治疗的效果^[45]。但 SPION 标记细胞也存在一些不足之处, 如 SPION 会引起巨噬细胞的氧化损伤, DNA 生物学特性失活, BMSCs 在体内增殖过程中会稀释铁, 凋亡的 BMSCs 在体内释放的铁会使未标记细胞产生假阳性, 因此 MRI 追踪时候敏感性低^[46]。另外磁场对 SPION 标记的 BMSCs 的定向迁移作用除受磁场的磁强度外, 还与 SPION 在 BMSCs 内的浓度、分布、大小等因素相关, 因此需找适合标记细胞的纳米颗粒类型和磁性靶向剂量。另外, 高强度磁场可引起磁场附近热量增加, 这在某种程度上会对体内器官造成不良影响。

6 结语

目前静脉给予 BMSCs 是治疗的首选途径, 但是这一过程需要有足够数量的细胞归巢到靶组织。体外扩增的 BMSCs 存在大量的变异性, 细胞培养条件的不同会对细胞表面的趋化因子的表达、细胞的扩增能力、分化能力产生重大影响。而在体外规范化培养的基础上, 可根据 BMSCs 向损伤组织的迁移机制, 对 BMSCs 进行适当干预如低氧

预适应处理、添加细胞因子、基质细胞衍生因子等。干预处理后的细胞通过改变细胞外界微环境来提高细胞的归巢效能。尽管这些方法在临床实验中尚未得到充分验证, 但在动物疾病模型中已获得良好的治疗效果。目前, 有关 BMSCs 的研究中仍在进行中, 需要进一步阐述 BMSCs 的归巢机制以及影响这一机制的因素, 为提高 BMSCs 在临床上的使用效果提供理论依据。

参考文献

- 1 刘翠, 张欣然, 刘东华, 等. 维生素 C 对兔骨髓间充质干细胞成脂分化的影响 [J]. 解放军医学院学报, 2016, 37 (3): 246-250.
- 2 Chen G, Park CK, Xie RG, et al. Intrathecal bone marrow stromal cells inhibit neuropathic pain via TGF- β secretion [J]. J Clin Invest, 2015, 125 (8): 3226-3240.
- 3 孙辉, 李毅, 孙涛. 不同方式注射骨髓间充质干细胞对溃疡性结肠炎大鼠模型的疗效 [J]. 解放军医学院学报, 2014, 35 (11): 1155-1159.
- 4 Siniscalco D, Rossi F, Maione S. Stem cell therapy for neuropathic pain treatment [J]. J Stem Cells Regen Med, 2007, 3 (1): 2-11.
- 5 Honczarenko M, Le Y, Swierkowski M, et al. Human bone marrow stromal cells Express a distinct set of biologically functional chemokine receptors [J]. Stem Cells, 2006, 24 (4): 1030-1041.
- 6 Sarkar D, Spencer JA, Phillips JA, et al. Engineered cell homing [J]. Blood, 2011, 118 (25): e184-e191.
- 7 Gleeson BM, Martin K, Ali MT, et al. Bone Marrow-Derived mesenchymal stem cells have innate procoagulant activity and cause microvascular obstruction following intracoronary delivery: amelioration by antithrombin therapy [J]. Stem Cells, 2015, 33 (9): 2726-2737.
- 8 Won YW, Patel AN, Bull DA. Cell surface engineering to enhance mesenchymal stem cell migration toward an SDF-1 gradient [J]. Biomaterials, 2014, 35 (21): 5627-5635.
- 9 De Becker A, Riet IV. Homing and migration of mesenchymal stromal cells: How to improve the efficacy of cell therapy? [J]. World J Stem Cells, 2016, 8 (3): 73-87.
- 10 寇明文, 杨平, 赵戈, 等. 基质衍生因子 (SDF-1) 对骨髓间充质干细胞定向迁移的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2012, 12 (8): 1438-1442.
- 11 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 [J]. Cardiovasc Revasc Med, 2006, 7 (1): 19-24.
- 12 孙立影, 韩明子. 基质细胞衍生因子 1 对骨髓间充质干细胞的趋化作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16 (9): 992-997.
- 13 束波, 刘志江, 范芳. 基质细胞衍生因子 1 α 预处理大鼠骨髓间充质干细胞的迁移 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16 (27): 5046-5051.
- 14 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.
- 15 王玉兰, 何晓梅, 唐薇, 等. 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 [J]. 解剖学报, 2014, 45 (5): 639-645.
- 16 刘小菲, 沈丽华, 姜立志, 等. 低氧预适应对骨髓基质干细胞作用的影响 [J]. 交通医学, 2013, 27 (2): 141-144.
- 17 Lykov AP, Nikonorova YV, Bondarenko NA, et al. Proliferation, Migration, and Production of Nitric Oxide by Bone Marrow Multipotent Mesenchymal Stromal Cells from Wistar Rats in Hypoxia and Hyperglycemia [J]. Bull Exp Biol Med, 2015, 159 (4):

- 443-445.
- 18 钟启, 曾慧兰. 低氧对间充质干细胞生物学特性的影响 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13 (40): 7942-7946.
- 19 Jun EK, Zhang QK, Yoon BS, et al. Hypoxic conditioned medium from human amniotic Fluid-Derived mesenchymal stem cells accelerates skin wound healing through TGF-beta/SMAD2 and PI3K/Akt pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15 (1): 605-628.
- 20 庄培袁, 吕刚, 范仲凯, 等. NGF beta/HIF-1 alpha 双重转染的骨髓间充质干细胞对神经轴突再生的作用 [J]. 解放军医学院学报, 2014, 35 (11): 1141-1146.
- 21 Lee HJ, Ryu JM, Jung YH, et al. Novel pathway for Hypoxia-Induced proliferation and migration in human mesenchymal stem cells: involvement of HIF-1 alpha, FASN, and mTORC1 [J]. *Stem Cells*, 2015, 33 (7): 2182-2195.
- 22 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.
- 23 王瑾, 黄梁浒, 王庆华, 等. 长期培养对基质细胞衍生因子 1/CXCR4 介导间充质干细胞迁移的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16 (1): 61-64.
- 24 Chamberlain G, Smith H, Rainger GE, et al. Mesenchymal stem cells exhibit firm adhesion, crawling, spreading and transmigration across aortic endothelial cells: effects of chemokines and shear [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (9): e25663.
- 25 Shi MX, Li J, Liao LM, 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.
- 26 Ponte AL, Marais E, Gally N, et al. The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities [J]. *Stem Cells*, 2007, 25 (7): 1737-1745.
- 27 Li YX, Yu XY, Lin SG, et al. Insulin-like growth factor I enhances the migratory capacity of mesenchymal stem cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 356 (3): 780-784.
- 28 Fan HY, Zhao GF, Liu L, et al. Pre-treatment with IL-1 beta enhances the efficacy of MSC transplantation in DSS-induced colitis [J]. *Cell Mol Immunol*, 2012, 9 (6): 473-481.
- 29 Dziembowska M, Tham TN, Lau P, et al. A role for CXCR4 signaling in survival and migration of neural and oligodendrocyte precursors [J]. *Glia*, 2005, 50 (3): 258-269.
- 30 Mcandrews KM, McGrail DJ, Ravikumar NA. Mesenchymal stem cells induce directional migration of invasive breast cancer cells through TGF-beta [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16941.
- 31 Zhang F, Tsai S, Kato K, et al. Transforming growth factor-beta promotes recruitment of bone marrow cells and bone marrow-derived mesenchymal stem cells through stimulation of MCP-1 production in vascular smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284 (26): 17564-17574.
- 32 郑丽芳, 梅元武, 姜丹, 等. 转化生长因子 beta 1 促进骨髓间充质干细胞 Snail 表达的信号转导通路 [J]. 解剖学报, 2010, 41 (5): 702-708.
- 33 Li J, Guo WC, Xiong M, et al. Effect of SDF-1/CXCR4 axis on the migration of transplanted bone mesenchymal stem cells mobilized by erythropoietin toward lesion sites following spinal cord injury [J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36 (5): 1205-1214.
- 34 Lin H, Luo X, Jin B, et al. The Effect of EPO Gene Overexpression on Proliferation and Migration of Mouse Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 71 (3): 1365-1372.
- 35 Nowakowski A, Walczak P, Janowski M, et al. Genetic engineering of mesenchymal stem cells for regenerative medicine [J]. *Stem Cells Dev*, 2015, 24 (19): 2219-2242.
- 36 张悦, 欧来良, 程兆康, 等. CXCR4 基因修饰骨髓间充质干细胞体外迁移实验 [J]. 生物医学工程学杂志, 2009, 26 (3): 595-600.
- 37 Bobis-Wozowicz S, Miekus K, Wybieralska EA, et al. Genetically modified adipose tissue-derived mesenchymal stem cells overexpressing CXCR4 display increased motility, invasiveness, and homing to bone marrow of NOD/SCID mice [J]. *Exp Hematol*, 2011, 39 (6): 686-696.
- 38 查运红, 梅元武, 毛玲, 等. Snail 基因修饰对骨髓基质干细胞骨架结构稳定作用及促迁移和对无血清培养诱导细胞凋亡的保护作用研究 [J]. 生物工程学报, 2007, 23 (4): 645-651.
- 39 倪吉祥, 刘先哲, 查运红, 等. Snail 基因修饰对骨髓间充质干细胞 CXCR4 表达水平及向 SDF-1 趋化能力的影响 [J]. 生物工程学报, 2009, 25 (2): 242-250.
- 40 Sarkar D, Vemula PK, Zhao WA, et al. Engineered mesenchymal stem cells with self-assembled vesicles for systemic cell targeting [J]. *Biomaterials*, 2010, 31 (19): 5266-5274.
- 41 Bessis N, GarciaCozar FJ, Boissier MC. Immune responses to gene therapy vectors: influence on vector function and effector mechanisms [J]. *Gene Ther*, 2004, 11 (Suppl 1): S10-S17.
- 42 Wiehe JM, Kaya Z, Homann JM, et al. GMP-adapted overexpression of CXCR4 in human mesenchymal stem cells for cardiac repair [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 167 (5): 2073-2081.
- 43 Otani K, Yamahara K, Ohnishi S, et al. Nonviral delivery of siRNA into mesenchymal stem cells by a combination of ultrasound and microbubbles [J]. *J Control Release*, 2009, 133 (2): 146-153.
- 44 Tukmachev D, Lunov O, Zablotskii V, et al. An effective strategy of magnetic stem cell delivery for spinal cord injury therapy [J]. *Nanoscale*, 2015, 7 (9): 3954-3958.
- 45 黄国庆, 李欣, 廖晓星, 等. 外加磁场诱导超顺磁氧化铁标记骨髓间充质干细胞迁移的体外研究 [J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2011, 32 (5): 683-688.
- 46 Sasaki H, Tanaka N, Nakanishi KA, et al. Therapeutic effects with magnetic targeting of bone marrow stromal cells in a rat spinal cord injury model [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36 (12): 933-938.