

• 基础研究 •

毛冬青甲素促进骨髓间充质干细胞迁移的实验研究

郑关毅¹ 李庆双^{1,2} 张碧琴^{1,3} 陈晓东⁴ 江 琼⁴

摘要 **目的** 观察毛冬青甲素(ilexonin A, IA)干预大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)后基质细胞衍生因子(SDF-1)特异性受体 CXCR4 和 Wnt 通路中 β -连环蛋白(β -catenin)、糖原合成激酶(GSK-3 β)的表达情况,探讨 IA 预处理促进 BMSCs 体外迁移的分子机制。**方法** 采用全骨髓贴壁法体外分离、培养、纯化大鼠并行 BMSCs 鉴定。将 BMSCs 分为对照组、Wnt3a 组、IA 组、IA + Wnt3a 组、IA + Dkk1 组、Dkk1 组。以 Wnt 信号通路的激动剂 Wnt3a、抑制剂 Dkk1 干预,Western blot 法观察 β -catenin、GSK-3 β 与 CXCR4 的表达关系。**结果** 与对照组比较,Wnt3a 组、IA 组 CXCR4、 β -catenin 蛋白表达显著增强、GSK-3 β 蛋白表达显著减弱($P < 0.05$),Dkk1 组 CXCR4、 β -catenin 蛋白表达显著减弱($P < 0.05$);与 Wnt3a 组、IA 组分别比较,IA + Wnt3a 组 CXCR4 蛋白显著增强,GSK-3 β 蛋白表达显著减弱($P < 0.05$);与 Dkk1 组比较,IA + Dkk1 组 CXCR4、 β -catenin 蛋白表达显著增强,GSK-3 β 蛋白表达显著减弱($P < 0.05$);与 IA 组比较,IA + Dkk1 组 β -catenin 的表达显著减弱,GSK-3 β 蛋白表达显著增强($P < 0.05$)。**结论** IA 上调 CXCR4 的表达,可能与 BMSCs 的 Wnt/ β -catenin 信号通路激活有关,发挥其促迁移的作用。

关键词 骨髓间充质干细胞;毛冬青甲素;CXC 趋化因子受体蛋白 4;Wnt/ β -连环蛋白;糖原合成激酶 3 β

Ilexonin A Promoted the Migration of Bone Mesenchymal Stem Cells ZHENG Guan-yi¹, LI Qing-shuang^{1,2}, ZHANG Bi-qin^{1,3}, CHEN Xiao-dong⁴, and JIANG Qiong⁴ 1 Department of Traditional Chinese Medicine, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou (350001); 2 Department of Geriatrics, 174th Hospital of the People's Liberation Army, Xiamen, Fujian (361000); 3 Department of Geriatrics, First Hospital of Fuzhou, Fuzhou (350009); 4 Institute of Burn, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou (350001)

ABSTRACT **Objective** To observe the expressions of chemokine CXC motif receptor4 (CXCR4), β -catenin and glycogen synthesis kinase 3 β (GSK-3 β) of the Wnt pathway after ilexonin A (IA) intervened bone mesenchymal stem cells (BMSCs) *in vitro*, and to elucidate molecular mechanism of IA for enhancing *in vitro* migration ability of BMSCs. **Methods** By using whole bone marrow adherent method, isolation, cultivation, purification, and identification of rat BMSCs *in vitro* were performed. BMSCs were divided into the blank control group, Wnt3a group, IA group, IA + Wnt3a group, IA + Dkk1 group, Dkk1 group. After intervened by activator Wnt3a and inhibitor Dkk1, the expression relations among β -catenin, GSK-3 β , and CXCR4 were observed by Western blot. **Results** Compared with the control group, expressions of CXCR4 and β -catenin protein were significantly increased in Wnt3a group and IA group ($P < 0.05$), GSK-3 β protein expression was significantly attenuated in Dkk1 group ($P < 0.05$). CXCR4 and β -catenin protein expressions were significantly attenuated in Dkk1 group ($P < 0.05$). Compared with Wnt3a group and IA group respectively, expression of CXCR4 was significantly increased in IA + Wnt3a group ($P < 0.05$), GSK-3 β protein expression was significantly attenuated ($P < 0.05$). Compared with Dkk1 group, expressions of CXCR4 and β -catenin were significantly increased, GSK-3 β pro-

基金项目:福建省自然科学基金科技资助项目(No. 2014J01327)

作者单位:1.福建医科大学附属协和医院中医科(福州 350001);2.中国人民解放军第一七四医院老年科(厦门 361000);3.福州市第一医院老年科(福州 350009);4.福建医科大学附属协和医院烧伤研究所(福州 350001)

通讯作者:郑关毅, Tel: 059183357896 - 8100, E-mail: drzhenggy@126.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 201800822. 276

tein expression was significantly attenuated ($P < 0.05$) in IA + Dkk1 group ($P < 0.05$). Compared with IA group, expression of β -catenin was significantly attenuated, and GSK-3 β protein expression was significantly enhanced ($P < 0.05$) in IA + Dkk1 group ($P < 0.05$). Conclusion IA might up-regulate the expression of CXCR4, which might be related with activating Wnt/ β -catenin signaling pathway of BMSCs and playing its role in promoting migration.

KEYWORDS bone marrow mesenchymal stem cell; Ilexonin A; chemokine CXC motif receptor4; Wnt/ β -catenin; glycogen synthesis kinase 3 β

骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)移植后,可分化为神经元标记的细胞能替换坏死的神经细胞并介入宿主神经功能重建,同宿主神经细胞创建突触联络,对神经细胞发生、血管发生和轴突发育生长有促进作用。通过 Transwell 迁移实验^[1],活化经典 Wnt 信号通路促进 BMSCs 迁移到急性肺损伤小鼠的肺组织, Wnt/ β -catenin 信号通路和 SDF-1 α /CXCR4 可能共同干预细胞的迁移。Wnt3a 是 Wnt 信号通路的激活剂,在添加 Wnt3a 的培养基下 BMSCs 的增殖和迁移能力明显增强,并且诱导其分化^[2]。

毛冬青甲素(Ilexonin A, IA)是从中药毛冬青中加工分离提取的化合物,具有活血化瘀、抗血栓、抗炎症等广泛的药理作用^[3],笔者前期工作表明,大鼠脑缺血再灌注后内源性 bFGF 和 GAP-43 表达程度增高,皮层亦出现 Brdu/NeuN 的双标阳性细胞^[4],而 IA 干预后 bFGF 和 GAP-43 显著增高,相应皮层 Brdu/NeuN 的双标阳性细胞增加^[5]。因此,本实验通过观察 BMSCs 的 Wnt 信号通路的 GSK-3 β 、 β -catenin 与 CXCR4 蛋白表达的关系,从而进一步探讨 IA 促进 BMSCs 迁移的机制。

材料与方法

1 动物 雄性 SD 大鼠 8 只,21~28 日龄,体重 60~100 g,清洁级,购于上海斯莱克实验动物有限公司,实验动物生产许可证批号 SCXK(沪):2012-0002。自由饮食,室温 22~25℃,每日光照 12 h,本实验经福建医科大学附属协和医院伦理委员会批准。

2 药物 注射用 IA 注射液,40 mg/2 mL,购自广东省博罗先锋药业,生产批号:090101。

3 试剂及仪器 兔抗大鼠 β -catenin 多克隆抗体、兔抗大鼠 GSK-3 β 多克隆抗体(美国 CST 公司);Wnt3a 因子、Dkk1 因子(美国 PeproTech 公司);小鼠抗大鼠 CD29-PE 单克隆抗体、小鼠抗大鼠 CD45-PE 单克隆抗体、小鼠抗大鼠 CD90-PE 单克隆抗体(美国 Biolegend 公司);小鼠抗大鼠 CD34-PE 单克

隆抗体(美国 Santa Cruz 公司);一抗兔抗大鼠 CXCR4 抗体(美国 Abcam 公司);胎牛血清、DMEM/F12、青霉素-链霉素溶液、0.25% 胰蛋白酶(0.03% EDTA)、PBS(美国 GIBCO 公司);SDS、DTT、溴酚蓝(美国 Sigma 公司);RIPA 裂解液、PMSF 蛋白酶抑制剂、BCA 法蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、ECL(碧云天公司);HRP 标记抗兔或抗鼠 IgG 抗体、化学发光液(武汉博士德生物公司);进口羊血清工作液(北京中杉金桥公司);甘油、BSA(美国 BBI 公司);PVDF 膜(美国伯乐 Bio-Rad 公司);吐温-20(上海生工生物工程公司)。CO₂ 恒温培养箱(日本三洋公司);超净工作台(中国苏净集团);流式细胞仪(英国 Apogee 公司);倒置显微镜(日本 Olympus 公司);垂直电泳仪、转膜仪、全自动凝胶图像分析仪(美国伯乐 Bio-Rad 公司);低温离心机(德国 Hermle 公司)。

4 方法

4.1 BMSCs 的分离与培养 大鼠 BMSCs 的原代分离培养:取的雄性 SD 大鼠 2 只,颈椎脱臼处死后,将其放置于装有 75% 酒精的无菌碗中浸泡 5 min 消毒。无菌条件下取股骨及胫骨,去除干骺端、附着肌腱、肌肉及骨膜。用 PBS 液洗涤骨 3 次,剪掉股骨和胫骨的骨骺端,露出骨髓腔,用添加青、链霉素(1:100 稀释)的含 10% 胎牛血清 DMEM/F12 培养基冲出骨髓,将冲出的骨髓制成单细胞悬液,将收获的全部骨髓液用吸管反复轻微吹打,尽量不起气泡,用 200 目筛网过滤,以去除组织块。将细胞悬液 1 000 r/min,离心 5 min,弃上清,加入含胎牛血清的培养液,重新悬浮沉淀的细胞。调节细胞密度,以 1×10^9 个/L 的细胞密度接种于 25 cm² 培养瓶中,置 37℃、CO₂ 饱和湿度培养箱中培养。

4.2 大鼠 BMSCs 的培养、纯化及传代 原代培养过程中,48 h 后全量更换培养基,以后每 2~3 天全量更换新鲜培养基。待细胞铺满培养瓶底至细胞融合成单层,密度长至 80%~90% 融合时,用 0.25% 胰酶消化,必须在镜下观察,以防止消化过度,待 50%~60% 脱落,及时加入含胎牛血清的培养液终止消化,

1:2 的比例进行传代培养。

4.3 大鼠 BMSCs 流式鉴定 取第 3 代细胞生长汇合至 80% 以上,弃培养基,加入 0.05% 胰酶消化 1~2 min,加入含血清完全培养基终止消化,反复吹打制备单细胞悬液,离心 1 000 r/min × 5 min,弃上清,加入 PBS 重悬细胞沉淀,离心 1 000 r/min × 5 min,弃上清,加入 500 μ L PBS 缓冲液重悬,将单细胞悬液分装至 5 支样品管中,每管约 5×10^5 个细胞。每管分别加 5 μ L PBS (阴性对照)、5 μ L PE 标记 anti-rat CD29、5 μ L PE 标记 anti-rat CD90、5 μ L PE 标记 anti-rat CD34、5 μ L PE 标记 anti-rat CD45 抗体,轻轻吹打混匀,置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱内避光孵育 30 min;加入 3 mL PBS 离心 1 000 r/min × 5 min,弃上清,每管加 500 μ L PBS 缓冲液重悬,上机待测。

4.4 实验分组 取生长状态良好的第 3 代大鼠 BMSCs,以 2×10^5 孔/mL 的密度接种至 6 孔板中,实验分为 6 组:对照组:含 10% 胎牛血清 DMEM/F12 培养基培养 BMSCs;Wnt3a 组:添加 100 ng/mL Wnt3a 作用于 BMSCs;IA 组:添加 6.25 μ g/mL IA^[6] 作用于 BMSCs;IA + Wnt3a 组:添加 6.25 μ g/mL IA 和 100 ng/mL Wnt3a 作用于 BMSCs;IA + Dkk1 组:添加 6.25 μ g/mL IA 和 100 ng/mL Dkk1 作用于 BMSCs。以上各组置于 5%、37 $^{\circ}$ C CO₂ 培养箱培养时间 48 h 后,预冷 PBS 冲洗 3 遍,用蛋白裂解液提取蛋白。

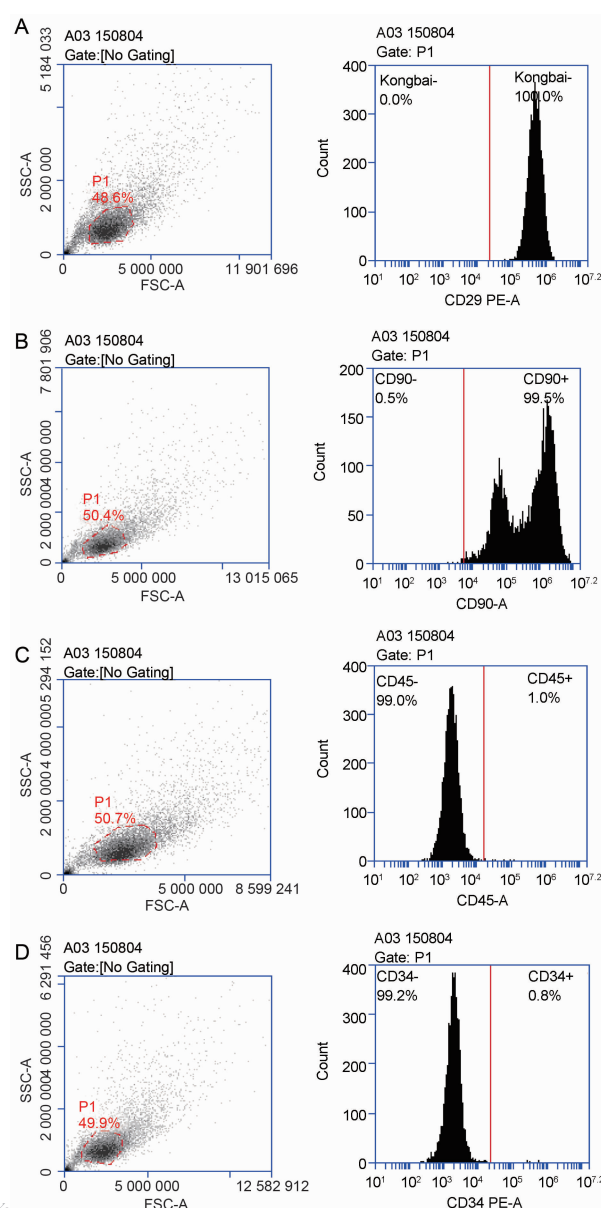
4.5 CXCR4、GSK-3 β 、 β -catenin 蛋白表达 取生长状态良好的第 3 代大鼠 BMSCs,以 2×10^5 孔/mL 的密度接种至 6 孔板中,置于 5%、37 $^{\circ}$ C CO₂ 培养箱培养时间 48 h 后,预冷 PBS 冲洗 3 遍,用蛋白裂解液提取蛋白,应用 BCA 法测定提取的蛋白浓度。配制 10% 的分离胶进行蛋白 SDS-PAGE 变性电泳,电泳结束后,将蛋白电转印至 PVDF 膜上。转膜完毕,把膜置入新鲜配制的 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,把膜置入兔抗大鼠 CXCR4 多克隆抗体 (1:1 000)、兔抗大鼠 β -catenin 多克隆抗体 (1:1 000)、兔抗大鼠 GSK-3 β 多克隆抗体 (1:1 000)、小鼠 β -actin 单克隆抗体 (1:2 000) 中,4 $^{\circ}$ C 冰箱孵育过夜。次日,TBST 洗膜 5 × 10 min,把膜放入相应二抗 HRP 标记山羊抗兔 IgG (1:6 000)、HRP 标记山羊抗小鼠 IgG (1:6 000),室温孵育 2 h,TBST 洗膜 5 × 10 min。ECL 化学发光法显影。内参照为 β -actin 蛋白,实验重复 3 次。计算各条带的灰度值。

4.6 统计学方法 所有数据均用统计软件 SPSS 19.0 处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采

用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法;若数据不符合正态分布,则采用秩和检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 流式细胞仪鉴定 BMSCs 表面标记物结果 (图 1) 第 3 代 BMSCs,CD29 阳性细胞比率为 100.0% (图 1A),CD90 阳性细胞比率为 99.5% (图 1B),CD45 阳性细胞比率为 1.0% (图 1C),CD34 阳性细胞比率为 0.8% (图 1D) 本次实验所获得细胞是 BMSCs,杂细胞少且很均一,符合后继实验要求。



注: A 为 CD29 阳性率 100.0%; B 为 CD90 阳性率 99.5%; C 为 CD45 阳性率 1.0%; D 为 CD34 阳性率 0.8%

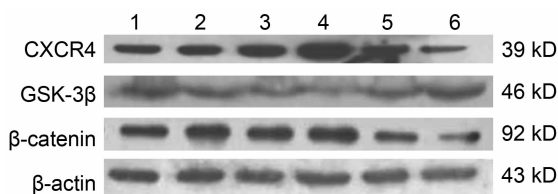
图 1 流式细胞仪检测 BMSCs 的表面标记物

2 各组 CXCR4、GSK-3 β 、 β -catenin 蛋白表达比较(表 1, 图 2) 与对照组比较, Wnt3a 组、IA 组 CXCR4、 β -catenin 蛋白表达显著增强($P < 0.05$), GSK-3 β 蛋白表达显著减弱($P < 0.05$), Dkk1 组 CXCR4、 β -catenin 蛋白表达显著减弱($P < 0.05$); 与 Wnt3a 组、IA 组分别比较, IA + Wnt3a 组 CXCR4 蛋白表达显著增强, GSK-3 β 蛋白的表达显著减弱($P < 0.05$); 与 Dkk1 组比较, IA + Dkk1 组 CXCR4、 β -catenin 蛋白表达显著增强($P < 0.05$)。GSK-3 β 蛋白表达组显著减弱($P < 0.05$); 与 IA 组比较, IA + Dkk1 组 GSK-3 β 蛋白表达显著增强($P < 0.05$)。 β -catenin 蛋白表达组显著减弱($P < 0.05$)。

表 1 各组 CXCR4、GSK-3 β 、 β -catenin 蛋白表达情况比较 (OD 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	CXCR4	GSK-3 β	β -catenin
对照	3	0.645 $\pm$ 0.039	1.055 $\pm$ 0.045	0.564 $\pm$ 0.045
Wnt3a	3	0.753 $\pm$ 0.037 * Δ	0.717 $\pm$ 0.043 * Δ	0.747 $\pm$ 0.041 *
IA	3	0.934 $\pm$ 0.040 * Δ	0.612 $\pm$ 0.040 * Δ	0.707 $\pm$ 0.038 *
IA + Wnt3a	3	1.031 $\pm$ 0.085	0.437 $\pm$ 0.037	0.742 $\pm$ 0.046
IA + Dkk1	3	0.954 $\pm$ 0.040 Δ	0.837 $\pm$ 0.032 Δ $\circ$	0.465 $\pm$ 0.027 Δ $\circ$
Dkk1	3	0.533 $\pm$ 0.042 *	1.023 $\pm$ 0.092	0.358 $\pm$ 0.031 *

注:与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 IA + Wnt3a 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 Dkk1 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 IA 组比较, $\circ P < 0.05$



注:1 为对照组; 2 为 Wnt3a 组; 3 为 IA 组; 4 为 IA + Wnt3a 组; 5 为 IA + Dkk1 组; 6 为 Dkk1 组

图 2 各组骨髓间充质干细胞 CXCR4、GSK-3 β 及 β -catenin 蛋白表达比较

讨 论

间充质干细胞于骨髓组织中的干骺端含量丰富, 且提取相对比较方便。所提取、培养细胞经流式细胞仪可检测到 CD29 和 CD90 表达阳性, CD34 和 CD45 表达阴性, 表明是纯度相当高的 BMSCs, 有异于造血细胞。

在经典 Wnt/ β -catenin 通路中, β -连环蛋白处于信号通路上的中心位置, 对该通路起决定性的作用, 其取决于细胞内 β -连环蛋白的量和活性状态, 分泌的 Wnt 配体(即激活剂)与胞膜上的受体低密度脂蛋白受体相关蛋白(low-density lipoprotein receptor-

related proteins, LRP)/卷曲蛋白复合体结合, 引起复合体空间构象发生变化, 将胞外信号内传, 抑制 GSK-3 β 和酪蛋白激酶(casein kinase 1, CK-1 α)活性, 引起 β -catenin 专门降解复合体[由 CK-1、轴蛋白、GSK-3 β 和结肠腺癌息肉蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)等构成]解离, 导致 β -catenin 磷酸化过程中断, 无法被常规降解, 在细胞中越积越多, 转运入细胞核与淋巴样增强因子(lymphoid enhancing factor, LEF)/与 T 细胞因子(T-cell factor, TCF)结合后, 形成转录因子复合物, 选择性的激活下游目标基因。当无 Wnt 信号时, 上述的降解复合物可磷酸化 β -catenin 氨基末端, 从而使其被泛素化(参与的酶有泛素激活酶、泛素结合酶、泛素结合酶)降解, 细胞质内 β -catenin 的水平非常低, 只能在胞膜检测其表达^[7]。

SDF-1 α /CXCR4 轴在骨髓间充质干细胞的迁移, 血管发生, 移植细胞增殖和存活等方面发挥重要作用。在胆管癌细胞中, 敲除 CXCR4 基因后, 将抑制 Wnt 信号通路^[8]。激活 CXCR4 化学因子受体, 可能间接激活 Wnt 信号通路, 故可增加 β -catenin 水平, 促进细胞迁移^[9]。在 BMSCs 中, SDF-1 α /CXCR4 轴与 Wnt 信号通路可能有潜在关联。

本研究中, IA、Wnt3a 均促进 CXCR4、 β -catenin 表达, 而 IA + Wnt3a CXCR4 蛋白的表达较 Wnt3a、IA 均显著增强, 提示 IA 与 Wnt3a 有协同作用; Dkk1 抑制 CXCR4、 β -catenin 表达; 而 IA + Dkk1 较 Dkk1 的 CXCR4、 β -catenin 表达显著增强, 提示 IA 可部分逆转 Dkk1 的抑制作用。IA、Wnt3a 抑制 GSK-3 β 的表达, IA + Wnt3a 使 GSK-3 β 表达显著性下调, IA + Dkk1 较 Dkk1 或 IA GSK-3 β 表达显著下调/上调($P < 0.05$)。至于 Wnt3a 如何促进 CXCR4 的表达, 至今尚未明确, 但已有研究表明, CXCR4 作为细胞跨膜蛋白, 与下游 PI3K、MAPKs、NF- κ B 信号通路都存在一定联系^[10]。Wnt3a 激活 Wnt 通路后, 下游蛋白可能与其他信号通路相互作用, 进而促进 CXCR4 表达; 也可能是提高的 CXCR4 表达, 激活下游 AKT, 进而抑制 GSK-3 β , 促进 β -catenin 转入核, 间接激活 Wnt 信号通路^[11]。Dkk1 是 Wnt 信号通路的抑制剂, Dkk1 可能是通过抑制了 MSCs 自身分泌的 SDF-1 α , 抑制 CXCR4 的表达^[12]; 但也可能是通过抑制 Wnt 信号通路, 进而抑制 CXCR4 表达。

笔者前期研究表明, 在脑缺血再灌注模型中, IA 可能通过激活 Wnt 信号通路促进神经再生^[13]。本研究发现, IA 预处理 BMSCs 促使 GSK-3 β 、 β -catenin

的表达相应下调/上调,激活 Wnt 信号通路,推测 CXCR4 表达增加与 Wnt 信号通路激活有关;此外,IA 也可能是同其他中药如川芎嗪、黄芪皂甙等的作用一样,先上调 BMSCs 中 SDF-1 α 的表达,进而诱导 CXCR4 表达,继而激活 Wnt 信号通路^[14,15]。

应用了 Wnt 信号通路特异性激动剂 Wnt3a 和抑制剂 Dkk1,可以直观对比看出 IA 在 Wnt 信号通路中的作用。可以得出,IA 上调 CXCR4 表达与 Wnt 通路中的两关键蛋白 GSK-3 β 、 β -catenin 相应下调/上调有一定相关性,IA 促进 CXCR4 表达与激活 Wnt 信号通路有关。更加具体机制有待后续进一步研究。本研究虽未能具体阐明上调 CXCR4 蛋白的机制,但也发现了 CXCR4 蛋白增加与激活 Wnt 信号通路有关,与 Jia W 等^[16]在卵巢癌细胞及组织研究中一致。用 Wnt 信号通路特异性激活剂和抑制剂都能影响 CXCR4 蛋白的表达,这更说明 SDF-1 α /CXCR4 轴与 Wnt 信号通路有关。

综上所述,本研究结果提示下一步用 IA 预处理 BMSCs,有望提高移植 BMSCs 的迁移率,加快脑缺血损伤移植后神经功能恢复。但是,SDF-1 α /CXCR4 轴可能只是参与 BMSCs 迁移的因素之一,毕竟在 BMSCs 表面还有其他受体,其他趋化因子是怎样促进 BMSCs 迁移?而 SDF-1 α /CXCR4 轴涉及的信号转导通路远不止 Wnt 信号通路,其他通路又是如何调节的?以上问题有待于深入开展更多研究证实。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Liu AR, Liu L, Chen S, et al. Activation of canonical wnt pathway promotes differentiation of mouse bone marrow-derived MSCs into type II alveolar epithelial cells, confers resistance to oxidative stress, and promotes their migration to injured lung tissue *in vitro* [J]. J Cell Physiology, 2013, 228(6): 1270–1283.
- [2] Shang YC, Wang SH, Xiong F, et al. Wnt3a signaling promotes proliferation, myogenic differentiation, and migration of rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2007, 28(11): 1761–1774.
- [3] 华海婴,李艳瑛.毛冬青甲素药理作用的研究[J].中国现代医药杂志,2006,8(11):137–138.
- [4] 石旺清,郑关毅,陈晓东,等.大鼠脑缺血再灌注后 bFGF 和 GAP-43 的表达与神经再生[J].中国应用生理学杂志,2013,29(1):63–67.
- [5] 郑关毅,石旺清,陈晓东,等.毛冬青甲素对大鼠脑缺血再灌注后 bFGF、GAP-43 的表达及神经元再生的影响[J].药科学报,2011,46(9):1065–1071.
- [6] 李庆双,郑关毅,张碧琴,等.毛冬青甲素对大鼠骨髓间充质干细胞增殖及迁移的影响[J].中国药理学通报,2018,(3):358–364.
- [7] Behrens J, Jerchow BA, Würtele M, et al. Functional interaction of an axin homolog, conductin, with beta-catenin, APC, and GSK3beta [J]. Science, 1998, 280(5363): 596–599.
- [8] Zhao S, Jing W, Qin C. Blockade of CXCL12/CXCR4 signaling inhibits intrahepatic cholangiocarcinoma progression and metastasis via inactivation of canonical Wnt pathway [J]. Exp Clin Cancer Res, 2014, 33(1): 1–12.
- [9] Luo Y, Cai J, Xue H, et al. SDF1alpha/CXCR4 signaling stimulates beta-catenin transcriptional activity in rat neural progenitors [J]. Neurosci Lett, 2006, 398(3): 291–295.
- [10] Moll NM, Ransohoff RM. CXCL12 and CXCR4 in bone marrow physiology [J]. Expert Rev Hematol, 2010, 3(3): 315–322.
- [11] Lu Y, Hu B, Guan GF, et al. SDF-1/CXCR4 promotes F5M2 osteosarcoma cell migration by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. Med Oncol, 2015, 32(7): 1–10.
- [12] Smadja DM, D'Audigier C, Weiswald LB, et al. The Wnt antagonist Dickkopf-1 increases endothelial progenitor cell angiogenic potential [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(12): 2544–2552.
- [13] Zhang BQ, Zheng GY, Han Y, et al. Ilxeronin A promotes neuronal proliferation and regeneration via activation of the canonical Wnt signaling pathway after cerebral ischemia reperfusion in rats [J]. eCAM, 2016, 2016(4): 1–11.
- [14] 戴儒丽,闫福曼,周乐全,等.川芎嗪对大鼠骨髓间充质干细胞 SDF-1 表达的影响[J].中药药理与临床,2011,27(5):29–31.
- [15] 王莹,李文媛,李明秋,等.黄芪皂甙联合骨髓间充质干细胞对脑缺血再灌注大鼠血管生成的影响[J].解剖学研究,2011,33(5):323–326.
- [16] Jia W, Jing C, Fang H, et al. Silencing of CXCR4 blocks progression of ovarian cancer and depresses canonical Wnt signaling pathway [J]. Int J Gynecol Cancer, 2011, 21(6): 981–987.

(收稿:2017-08-02 在线:2018-11-04)

责任编辑:段碧芳

英文责编:张晶晶