



# HIF-1 信号通路在介导 DMOG 动员 MSCs 中的作用

胡韶君<sup>1</sup>, 余勤<sup>1</sup>, 刘丽珍<sup>2</sup>, 葛婷婷<sup>1</sup>

(1. 浙江中医药大学生命科学院, 杭州 310053;  
2. 浙江大学医学院附属第一医院骨髓移植中心, 杭州 310003)

**【摘要】** 目的 探讨 HIF-1 及下游 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 和 VEGF/VEGFR 通路在介导 DMOG 动员 MSCs 中的作用机制。方法 将雄性 SD 大鼠, 随机分为五组: 生理盐水对照组、DMOG 组、YC-1 组、AMD3100 组、SU5416 组。分别采用 CFU-F 法与流式细胞术检测大鼠骨髓和外周血中 MSCs 的数量; ELISA 法检测骨髓上清及外周血清中 SDF-1 $\alpha$  及 VEGF 蛋白浓度; Western blotting 法检测骨髓细胞中 HIF-1 $\alpha$ 、SDF-1 $\alpha$  及 VEGF 蛋白表达水平。结果 同 NS 组比较, DMOG 组 CFU-Fs 数量显著增加, 且 CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> 细胞群比例增加 ( $P < 0.05$ ); 同 DMOG 组比较, YC-1 组、AMD3100 组、SU5416 组 CFU-Fs 数量均显著减少, 且 CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> 细胞群比例降低 ( $P < 0.05$ ); 同 DMOG 组比较, YC-1 组 HIF-1 $\alpha$  浓度及蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ ), AMD3100 组 SDF-1 $\alpha$  浓度及蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ ), SU5416 组 VEGF 浓度及蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ )。结论 DMOG 可能通过上调 HIF-1 $\alpha$ , 从而调控其下游 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 通路及 VEGF/VEGFR 通路诱导 MSCs 的动员。

**【关键词】** 间充质干细胞动员; DMOG; 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; 基质细胞衍生因子-1 $\alpha$ ; 血管内皮生长因子

**【中图分类号】** R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 01-0009-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.001.002

## Mechanism of HIF-1 signaling pathway in mediating MSCs mobilization with DMOG

HU Shao-jun<sup>1</sup>, YU Qin<sup>1</sup>, LIU Li-zhen<sup>2</sup>, GE Ting-ting<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;  
2. Bone Marrow Transplantation Center, The First Affiliate Hospital, Medical School of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the role of HIF-1 and its downstream SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 and VEGF/VEGFR pathway in mediating MSC mobilization with DMOG. **Methods** Male SD rats were randomly divided into five groups: Normal saline control group, DMOG group, YC-1 group, AMD3100 group, SU5416 group. We used CFU-F assay and flow cytometry to determine the number of MSCs in rat bone marrow (BM) and peripheral blood (PB) in each group, respectively. The concentrations of SDF-1 $\alpha$  and VEGF both in BM and PB serum in each group were detected by ELISA. Western blotting was used to test protein levels of HIF-1 $\alpha$ , SDF-1 $\alpha$  and VEGF in BM. **Results** Compared with NS group, the number of CFU-Fs as well as the percentage of CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> cells increased in DMOG group ( $P < 0.05$ ); Compared with DMOG group, the number of CFU-Fs as well as the percentage of CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> cells decreased in YC-1 group, AMD3100 group and SU5416 group ( $P < 0.05$ ). Compared with DMOG group, the concentration and protein expression

[基金项目] 国家自然科学基金(81270566); 教育部高校博士点专项科研基金(20130101120022)。

[作者简介] 胡韶君(1989-), 硕士, 研究方向: 干细胞基础与临床研究。

[通讯作者] 余勤(1962-), 教授, 博士生导师, 研究方向: 干细胞基础与临床研究, E-mail: qinyu3587@aliyun.com。

of HIF-1 $\alpha$  decreased significantly in YC-1 group ( $P < 0.05$ ), the concentration and protein expression of SDF-1 $\alpha$  decreased significantly in AMD3100 group ( $P < 0.05$ ), the concentration and protein expression of VEGF decreased significantly in SU5416 group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** DMOG can induce MSCs mobilization possibly via up-regulating the expression of HIF-1 $\alpha$  and activating its downstream SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 and VEGF/VEGFR pathway.

**【Key words】** Mesenchymal stem cells mobilization; DMOG; Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ ; Stromal cell-derived factor-1 $\alpha$ ; Vascular endothelial growth factor

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs) 动员指应用动员剂或采用动员措施促使骨髓中 MSCs 释放并迁移到外周血<sup>[1]</sup>。在组织损伤需要 MSCs 参与修复的第一时间, 给予动员措施, MSCs 即可在短时间内从骨髓进入循环池, 迁移、归巢入损伤部位, 参与损伤修复, 此举具有体外细胞移植修复损伤无法比拟的低创性和高效性, 因此 MSCs 动员方法及其机制的研究具有重要的临床意义<sup>[1-3]</sup>。但是, 目前尚缺乏临床可行的 MSCs 动员措施, 动员机制也不明确。我们前期实验研究发现, 脯氨酸羟化酶抑制剂—二甲基乙二酰基甘氨酸(dimethylxaloylglycine, DMOG) 对小鼠 MSCs 具有动员作用<sup>[4]</sup>。缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor -1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 是缺氧诱导 MSCs 动员的关键因子, 在 MSCs 动员过程中起中心作用<sup>[5]</sup>。HIF-1 直接调控的下游信号基质细胞衍生因子-1 $\alpha$  (SDF-1 $\alpha$ )/CXC 族细胞因子受体 4 (CXCR4) 通路及血管内皮生长因子 (VEGF)/血管内皮生长因子受体 (VEGFR) 通路在干细胞动员与 MSCs 迁移中起重要作用<sup>[6]</sup>。

本研究通过给予 HIF-1 拮抗剂 YC-1 下调 HIF-1 的表达, CXCR4 拮抗剂 AMD3100 阻断 SDF-1/CXCR4 通路, VEGFR 拮抗剂 SU5416 阻断 VEGF/VEGFR 通路, 探讨 HIF-1 及下游 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 通路和 VEGF/VEGFR 通路在 DMOG 诱导 MSCs 动员中的作用机制。研究结果将为 MSCs 动员剂的开发提供实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

清洁级 SD 大鼠, 4 周龄, 80  $\pm$  10 g, 雄性, 来源于上海西普尔-必凯实验动物有限公司【SCXK(沪)2008-0016】。实验在浙江中医药大学动物实验中心进行【SYXK(浙)2008-0115】。

### 1.2 主要试剂与仪器

药品及主要试剂: DMOG (Cayman 公司); YC-1、AMD3100、SU5416 (Sigma 公司); 兔抗大鼠 CD45-

FITC 抗体、兔抗大鼠 CD90-PE 抗体、荧光同型对照抗体、兔抗大鼠 HIF-1 $\alpha$  抗体、兔抗大鼠 SDF-1 $\alpha$  抗体、兔抗大鼠 VEGF 抗体、兔抗大鼠 GAPDH 抗体、山羊抗兔二抗 (Abcam 公司); DMEM/F12 1:1 培养基 (Invitrogen 产品); 胎牛血清 (FBS, Gibco 产品); 红细胞裂解液 (北京鼎国生物科技公司)、大鼠淋巴细胞分离液 (天津灏洋生物制品科技有限公司); 分子生物学实验常用试剂 (Sigma 公司); SDF-1 $\alpha$ 、VEGF ELISA 检测试剂盒 (RayBiotech 公司)。

主要仪器: SpectraMax Plus384 酶标仪 (MD 公司); FC500MCL 型流式细胞仪 (Becton Dickinson 公司); Mini PROTEAN 型垂直电泳槽、1703940 型半干转印槽 (Bio-RAD 公司) 等。

### 1.3 实验分组

雄性 SD 大鼠随机分为 5 组: ①生理盐水对照组 (NS): 给予相同体积的生理盐水; ②DMOG 组: 腹腔注射 DMOG 40 mg/kg; ③YC-1 组: 腹腔注射 DMOG 40 mg/kg, YC-1 10 mg/kg; ④AMD3100 组: 腹腔注射 DMOG 40 mg/kg, AMD3100 5 mg/kg; ⑤SU5416 组: 腹腔注射 DMOG 40 mg/kg, SU5416 5 mg/kg。每组 5 只, 连续给药 7 d。

### 1.4 大鼠骨髓及外周血单个核细胞提取

各处理组连续给药 7 d 后, 无菌条件下取出大鼠股骨和胫骨, 剔除肌肉、脂肪等, PBS 冲出骨髓单个核细胞 (bonemarrow mononuclear cells, BMMNCs), 1000 r/min 离心 5 min, 弃去上清, 按 1:2 加入红细胞裂解液裂解 5 min, 1000 r/min 离心 5 min, 重悬计数; 10% 水合氯醛 (3.5 mL/kg) 腹腔注射麻醉 SD 大鼠, 无菌条件下, 10 mL 注射器取腹腔动脉血 5 mL, 缓慢加入含 5 mL 淋巴细胞分离液的离心管中, 2000 r/min 离心 20 min, 吸取白雾层, PBS 洗涤 2 次后, 重悬计数外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMNCs)。

### 1.5 大鼠骨髓及外周血中 MSCs 数量检测

将计数后 BMMNCs 及 PBMNCs 以  $3 \times 10^6$  cells/mL 重悬于含有 20% FBS、1% 青-链霉素的 DMEM/F12 培养基中, 接种于 25 cm<sup>2</sup> 的塑料培养瓶中, 置

于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。7 d 后换新鲜培养基,以后每 3 d 换液一次,培养 14 d 后,显微镜下观察计数骨髓 CFU-Fs(将呈成纤维样生长,且细胞密度大于 50 个细胞的集落标记为 1 个 CFU-F)与外周血 CFU-Fs。CFU-Fs 数量即为骨髓与外周血中 MSCs 数量。

### 1.6 大鼠骨髓及外周血中 CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> 细胞群比例检测

将 1 × 10<sup>5</sup> 个 BMMNCs 及 PBMNCs 分别重悬于含 100 μL PBS 的流式管中,并设置单色及双色同型对照组。每管细胞加 2 μL 兔抗大鼠 CD45-FITC 抗体及 5 μL 兔抗大鼠 CD90-PE 抗体。室温避光条件孵育 30 min 后,PBS 洗去未结合抗体,流式细胞仪检测 CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> 细胞群比例。

### 1.7 骨髓上清及外周血清中 SDF-1α、VEGF 浓度检测

各处理组连续给药 7 d 后,无菌条件下取各组大鼠外周血、股骨及胫骨,方法如 1.4。PBS 冲出 BMMNCs,4℃,1000 r/min 离心 10 min,收集骨髓上清;取各组大鼠外周血 5 mL,4℃,1000 r/min 离心 20 min,收集外周血血清,酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA)检测 SDF-1α、VEGF 浓度,具体过程按照试剂盒说明书操作。

### 1.8 HIF-1α、SDF-1α 及 VEGF 蛋白表达检测

取各组大鼠 BMMNCs,方法如 1.4。收集各组大鼠 BMMNCs 至 1.5 mL EP 管中,加 200 μL 预冷的细胞裂解液裂解样本 5 min,充分裂解后,4℃,12000 r/min 离心 20 min,保留上清。马斯蓝染色法测定各组蛋白总量,将各组蛋白浓度稀释至 5 μg/μL。SDS-PAGE 电泳,半干法转膜,封闭 2 h,分别加兔抗大鼠 HIF-1α 抗体、兔抗大鼠 SDF-1α 抗体、兔抗大鼠 VEGF 抗体、兔抗大鼠 GAPDH 抗体(HIF-1α 稀释度 1:1000, SDF-1α 稀释度 1:1000, VEGF 稀释度 1:1000, GAPDH 稀释度 1:2000, 4℃ 孵育过夜,洗膜液漂洗 3 次,加山羊抗兔二抗(稀释度 1:2000)室温孵育 1 h,洗膜液漂洗 3 次, ECL 显影,待胶片出现清晰的蛋白条带,拍照,用 Image J 软件进行吸光度分析,测出各组样本蛋白相对表达水平。

### 1.9 统计学处理

实验数据经 SPSS 19.0 软件统计分析,数据结果以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,成组数据分析采用 t 检验,各组间数据采用单因素方差分析,处理结

果以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CFU-F 法与流式细胞术检测大鼠骨髓及外周血中 MSCs 数量

CFU-F 法结果显示:DMOG 组大鼠骨髓及外周血 CFU-Fs 数量较 NS 组显著增加(13.4 ± 1.14 VS 9.2 ± 0.83; 2.6 ± 0.54 VS 1.4 ± 0.54,  $P < 0.05$ )。YC-1、AMD3100、SU5416 组骨髓 CFU-Fs 数量较 DMOG 组显著降低(9.8 ± 0.83、10.4 ± 1.14、9.6 ± 1.14 VS 13.4 ± 1.14,  $P < 0.05$ ),同时外周血 CFU-Fs 数量也显著降低(1.2 ± 0.83、1.6 ± 0.54、1.6 ± 0.54 VS 2.6 ± 0.54,  $P < 0.05$ )(表 1)。

表 1 骨髓及外周血中 CFU-Fs 数量  
Tab.1 The number of CFU-Fs in BM and PB

组别 (Group)	骨髓 CFU-Fs (BM CFU-Fs)	外周血 CFU-Fs (PB CFU-Fs)
生理盐水对照组(NS group)	9.2 ± 0.83	1.4 ± 0.54
DMOG 组(DMOG group)	13.4 ± 1.14 <sup>#</sup>	2.6 ± 0.54 <sup>#</sup>
YC-1 组(YC-1 group)	9.8 ± 0.83 <sup>*</sup>	1.2 ± 0.83 <sup>*</sup>
AMD3100 组(AMD3100 group)	10.4 ± 1.14 <sup>*</sup>	1.6 ± 0.54 <sup>*</sup>
SU5416 组(SU5416 group)	9.6 ± 1.14 <sup>*</sup>	1.6 ± 0.54 <sup>*</sup>

注:与 NS 组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ;与 DMOG 组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。

Note: Compared with NS group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; compared with DMOG group, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ .

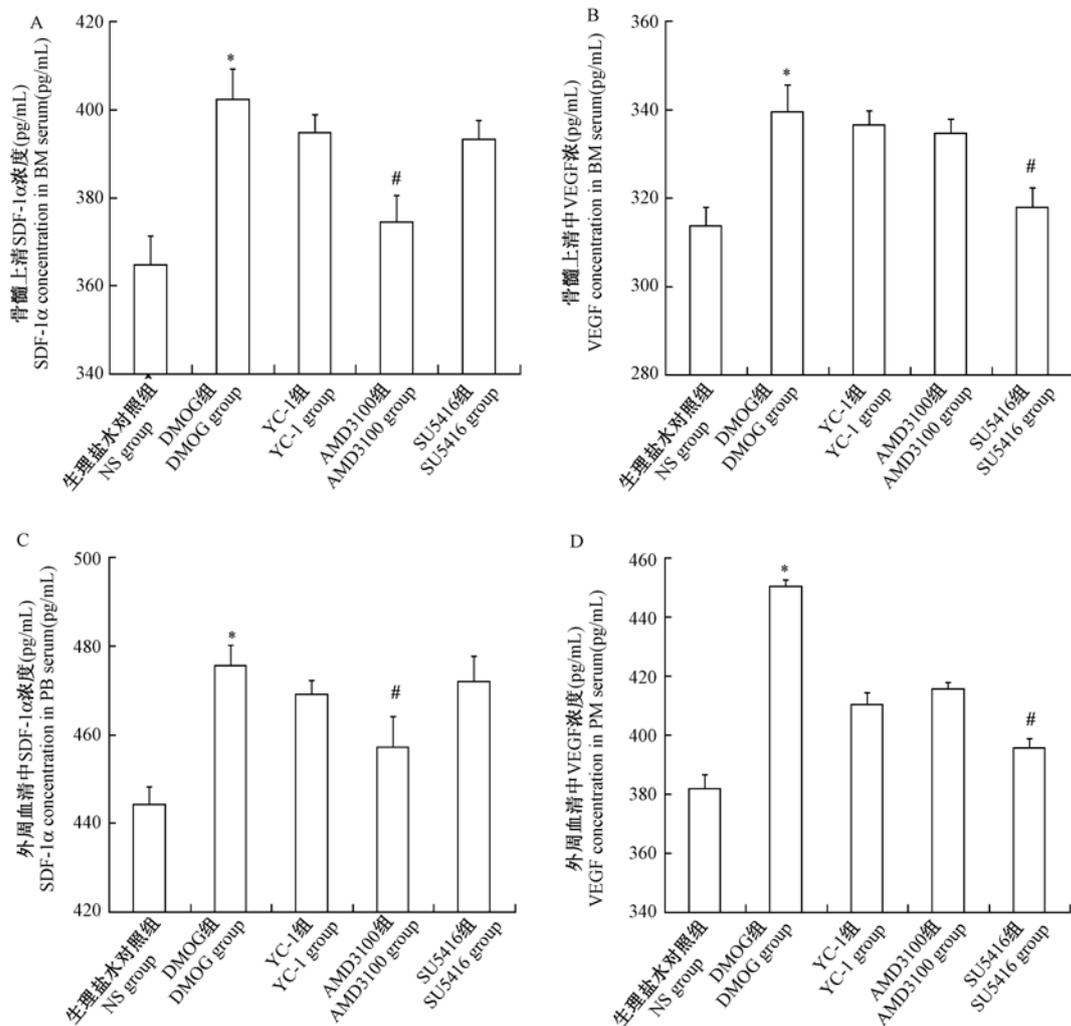
流式细胞术结果显示:DMOG 组骨髓与外周血中 CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> 细胞群比例与 NS 组比较明显升高(3.67 ± 0.17% VS 2.94 ± 0.06%, 15.3 ± 0.33% VS 6.37 ± 0.23%,  $P < 0.05$ )。YC-1、AMD3100、SU5416 组骨髓与外周血中 CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> 细胞群比例与 DMOG 组比较显著降低(2.52 ± 0.05%、2.55 ± 0.10%、2.48 ± 0.07% VS 3.67 ± 0.17%; 12.6 ± 0.31%、13.1 ± 0.55%、11.6 ± 0.53% VS 15.3 ± 0.33%,  $P < 0.05$ )(彩插 2 图 1)。

### 2.2 ELISA 检测大鼠骨髓上清及外周血清中 SDF-1α、VEGF 浓度

ELISA 检测结果显示:DMOG 组处理 7 d 后,大鼠骨髓上清及外周血清中 SDF-1α、VEGF 浓度与 NS 组相比显著升高( $P < 0.05$ )。AMD3100 处理组大鼠骨髓上清及外周血清中 SDF-1α 浓度同 DMOG 相比显著降低( $P < 0.05$ )。SU5416 处理组大鼠骨髓上清及外周血清中 VEGF 浓度同 DMOG 相比显著降低( $P < 0.05$ )(图 2)。

### 2.3 Western blotting 法检测大鼠骨髓细胞中 HIF-1α、SDF-1α、VEGF 的表达

Western blotting 结果显示, HIF-1α、SDF-1α、



注:A,骨髓上清 SDF-1 $\alpha$  浓度;B,骨髓上清中 VEGF 浓度;C,外周血清中 SDF-1 $\alpha$  浓度;  
D,外周血清中 VEGF 浓度。与 NS 组比较,\* $P < 0.05$ 。与 DMOG 组比较,# $P < 0.05$ 。

图 2 骨髓上清及外周血清中 SDF-1 $\alpha$  及 VEGF 浓度

Note:A, SDF-1 $\alpha$  concentration in BM serum;B, VEGF concentration in BM serum;C, SDF-1 $\alpha$  concentration in PB serum;  
D, VEGF concentration in PM serum. Compared with NS group,\* $P < 0.05$ . Compared with DMOG group,# $P < 0.05$ .

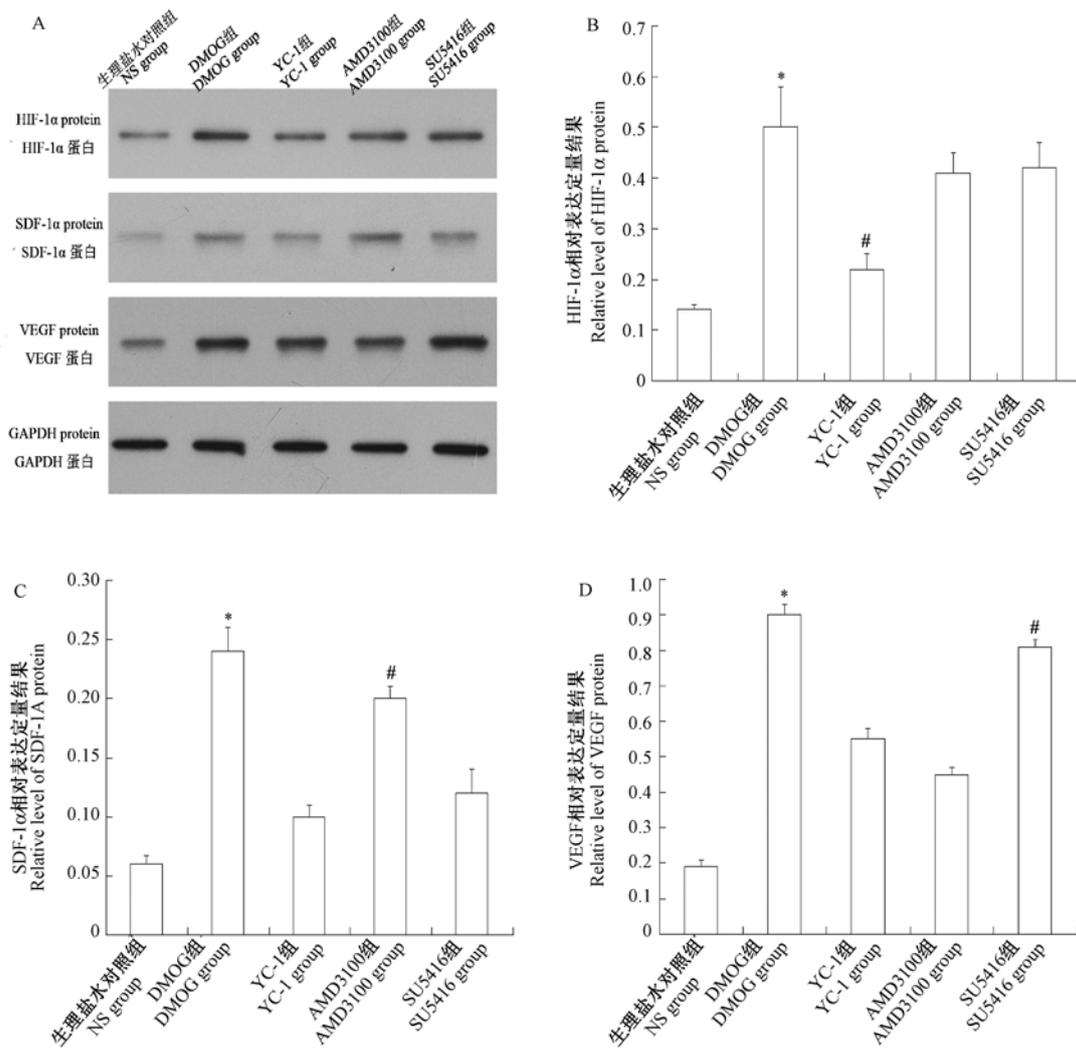
Fig. 2 Quantification of SDF-1 $\alpha$  and VEGF concentrations in BM and PB

VEGF 表达在给予 DMOG 后明显增加( $P < 0.05$ )。YC-1 组 HIF-1 $\alpha$  表达较 DMOG 组明显降低( $P < 0.05$ )。AMD3100 组 SDF-1 $\alpha$  表达较 DMOG 组明显降低( $P < 0.05$ )。SU5416 组 VEGF 表达较 DMOG 组显著降低(图 3)。

### 3 讨论

MSCs 动员方法及其机制的研究具有重要的临床意义。我们前期研究发现脯氨酸羟化酶抑制剂—DMOG 对小鼠 MSCs 具有动员作用<sup>[4]</sup>,然而其潜在机制尚不十分明确。研究发现,脯氨酸羟化酶在 HIF-1 的调控中有至关重要的作用,因而被认为

是体内的氧感受器<sup>[7]</sup>。HIF-1 $\alpha$  是脯氨酸羟化酶(proline hydroxylase, PHD)唯一的底物。脯氨酸羟化酶抑制剂(PHD inhibitor, PHI)通过抑制 PHD 的活性,而抑制 HIF-1 $\alpha$  的羟化,减少常氧状态下 HIF-1 $\alpha$  的降解,从而稳定 HIF-1 $\alpha$  的表达,上调 HIF-1 信号通路。DMOG 为酮戊二酸类似物,通过与内源性的 2-酮戊二酸竞争从而抑制脯氨酸羟化酶,是当前脯氨酸羟化酶抑制剂研究的热点<sup>[8-9]</sup>。在本研究中,我们采用 CFU-F 法和流式细胞术定量检测骨髓及外周血中 MSCs 的数量,结果显示 DMOG 组骨髓与外周血 MSCs 数量较 NS 组显著增加,CD45<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup> 细胞群比例与 NS 组比明显升高,验证了



注:A,各组大鼠骨髓细胞 HIF-1α、SDF-1α、VEGF 的表达水平;B、C、D:分别为 HIF-1α、SDF-1α、VEGF 相对表达定量结果。与 NS 组比较, \*  $P < 0.05$ 。与 DMOG 组比较, #  $P < 0.05$ 。

**图 3** 骨髓细胞中 HIF-1α、SDF-1α 及 VEGF 蛋白表达水平

Note: A: The expression level of HIF-1α, SDF-1α and VEGF in BM cells; B, C, D: Relative levels of HIF-1α, SDF-1α and VEGF proteins were presented as the fold increase normalized to NS. Compared with NS group, \*  $P < 0.05$ . Compared with DMOG group, #  $P < 0.05$ .

**Fig. 3** The protein expression of HIF-1α, SDF-1α and VEGF

DMOG 对 MSCs 的动员作用。

HIF-1 由 HIF-1α 及 HIF-1β 两个亚基构成, HIF-1β 为 HIF-1 的构成性亚基,在细胞浆中稳定表达;HIF-1α 为 HIF-1 的调节性亚基。YC-1 作为靶向 HIF-1α 抑制剂,可以有效抑制动物体内 HIF-1α 的表达<sup>[10-12]</sup>。本研究结果发现, YC-1 可以明显抑制 HIF-1α 上调。抑制 HIF-1 通路后, YC-1 组的 MSCs 动员效率明显降低,且 SDF-1α 浓度及蛋白表达显著降低,表明 HIF-1α 在 DMOG 诱导的 MSCs 动员中起重要作用。研究证实, SDF-1α 在内皮细胞受转录因子 HIF-1 直接调控。CXCR4 是目前所知的

SDF-1α 的唯一受体。同时国内外研究与我们前期研究均发现 SDF-1α/CXCR4 通路在 MSCs 迁移中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。AMD3100 是 SDF-1α 受体 CXCR4 的阻断剂,能竞争性地结合 CXCR4,有效阻断 SDF-1α/CXCR4 通路。我们研究结果发现,阻断 SDF-1α/CXCR4 通路后, AMD3100 组 MSCs 动员效率明显降低,且 SDF-1α 浓度及蛋白表达显著降低。VEGF/VEGFR 是介导骨髓微环境改变、促进 MSCs 迁移的重要通路。VEGF 是受 HIF-1 直接调控的细胞生长因子,可通过与其特异性受体 VEGFR 结合激活酪氨酸蛋白激酶活性,促进内皮细胞分裂增

殖、促进新生血管的形成、提高血管通透性<sup>[13]</sup>。SU5416 是一种脂溶性小分子合成受体酪氨酸激酶抑制剂<sup>[14-15]</sup>,它通过与酪氨酸激酶受体内激酶结构域结合竞争性抑制 ATP 而发挥作用。本研究通过 SU5416 特异性阻断 VEGF/VEGFR 通路,结果发现 MSCs 动员效率降低,且 VEGF 浓度及蛋白表达降低。既往研究证实,VEGF/VEGFR 与 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 通路存在一定的交互作用,VEGF 可上调胶质瘤细胞与血管内皮细胞中 SDF-1 $\alpha$  及其受体 CXCR4 的表达,但并不影响 SDF-1 $\alpha$  向细胞外分泌<sup>[16-17]</sup>。本研究结果提示,SU5416 抑制骨髓细胞 VEGF 表达的同时对 SDF-1 $\alpha$  蛋白表达也有一定的抑制作用,但骨髓上清中分泌型 SDF-1 $\alpha$  水平并没有显著变化。VEGF 与 SDF-1 通路之间相互作用的具体机制还需进一步研究。

综上所述,DMOG 诱导 MSCs 动员可能的作用机制为:机体接受 DMOG 后,抑制 HIF-1 $\alpha$  的羟化,HIF-1 信号上调,调控其下游基因 SDF-1 $\alpha$ 、VEGF 表达增加,故 DMOG 可能通过上调 HIF-1,从而调控其下游 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 通路与 VEGF/VEGFR 通路诱导 MSCs 动员。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Levesque JP, Winkler IG, Larsen SR, *et al.* Mobilization of bone marrow-derived progenitors [M]. *Handb Exp Pharmacol*; Springer Berlin Heidelberg, 2007; 3-36.
- [ 2 ] Mansilla E, Marin GH, Drago H, *et al.* Bloodstream cells phenotypically identical to human mesenchymal bone marrow stem cells circulate in large amounts under the influence of acute large skin damage: new evidence for their use in regenerative medicine [J]. *Transplant Proc*, 2006, 38(3): 967-969.
- [ 3 ] Pitchford SC, Hahnel MJ, Jones CP, *et al.* Troubleshooting: Quantification of mobilization of progenitor cell subsets from bone marrow in vivo [J]. *Pharmacol Toxicol Methods*, 2010, 61(2): 113-121.
- [ 4 ] 刘伟,余勤,刘丽珍,等. 脯氨酸羟化酶抑制剂对小鼠间充质干细胞的动员作用 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2013, 37(12): 1371-1376.
- [ 5 ] Liu LZ, Yu Q, Lin J, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  is essential for hypoxia-induced mesenchymal stem cell mobilization into the peripheral blood [J]. *Stem Cells and Development*, 2011, 20(11): 1961-1971.
- [ 6 ] Chen CP, Lee MY, Huang JP, *et al.* Trafficking of multipotent mesenchymal stromal cells from maternal circulation through the placenta involves vascular endothelial growth factor receptor-1 and integrins [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(2): 550-561.
- [ 7 ] Demidenko ZN, Blagosklonny MV. The purpose of the HIF-1/PHD feedback loop: to limit mTOR-induced HIF-1 $\alpha$  [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(10): 1557-1562.
- [ 8 ] Bernhardt WM, Gottmann U, Doyon F, *et al.* Donor treatment with a PHD-inhibitor activating HIFs prevents graft injury and prolongs survival in an allogeneic kidney transplant model [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(50): 21276-21281.
- [ 9 ] Liu XB, Wang JA, Ogle ME, *et al.* Prolyl hydroxylase inhibitor dimethylxylglycine enhances mesenchymal stem cell survival [J]. *Cell Biochem*, 2009, 106(5): 903-11.
- [ 10 ] Shin, DH, Kim, JH, Jung, YJ, *et al.* Preclinical evaluation of YC-1, a HIF inhibitor, for the prevention of tumor spreading [J]. *Cancer Lett*, 2007, 255(1): 107-116.
- [ 11 ] Yeo EJ, Chun YS, Cho YS, *et al.* YC-1: a potential anticancer drug targeting hypoxia-inducible factor 1 [J]. *Natl Cancer Inst*, 2003, 95(7): 516-525.
- [ 12 ] Pan SL, Guh JH, Peng, CY, *et al.* YC-1 [3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzyl indazole] inhibits endothelial cell functions induced by angiogenic factors in vitro and angiogenesis in vivo models [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2005, 314(1): 35-42.
- [ 13 ] Fong GH. Regulation of angiogenesis by oxygen sensing mechanisms [J]. *Mol Med*, 2009, 87(6): 549-560.
- [ 14 ] Mendel DB, Schreck RE, West DC, *et al.* The angiogenesis inhibitor SU5416 has long-lasting effects on vascular endothelial growth factor receptor phosphorylation and function [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(12): 4848-4858.
- [ 15 ] Sukbuntherng J, Cropp G, Hannah A, *et al.* Pharmacokinetics and interspecies scaling of a novel VEGF receptor inhibitor, SU5416 [J]. *Pharm Pharmacol*, 2001, 53(12): 1629-1636.
- [ 16 ] Hong X, Jiang F, Kalkanis SN, *et al.* SDF-1 and CXCR4 are up-regulated by VEGF and contribute to glioma cell invasion [J]. *Cancer Letters*, 2006, 236(1): 39-45.
- [ 17 ] David Z, Yevgeniy L, Li L, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 and VEGF upregulate CXCR4 in glioblastoma: implications for angiogenesis and glioma cell invasion [J]. *Laboratory Investigation*, 2006, 86: 1221-1232.

[ 修回日期 ] 2014-10-09