

文章编号: 1004-0374(2010)10-1069-05

SDF-1/CXCR4 轴在骨再生修复中的研究进展

廖新根¹, 殷明², 李士勇^{3*}, 吴梨华¹, 刘哲¹, 付明福¹

(1 南昌大学研究生院医学部, 南昌 330006; 2 南昌大学第二附属医院骨科, 南昌 330006;

3 南昌大学第二附属医院分子医学中心, 南昌 330006)

摘要 基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)及其受体CXCR4构成SDF-1/CXCR4轴系统具有许多重要的生物学特性和功能。近年来随着该领域的研究不断深入,越来越多的发现表明,SDF-1/CXCR4轴系统在组织损伤及修复中起着重要作用,其在骨组织再生修复中的作用也日益受到关注。该文主要对SDF-1/CXCR4轴系统的生物学特性及其在骨再生修复中的作用进行综述。

关键词: 基质细胞衍生因子-1; SDF-1/CXCR4轴系统; 生物学特性; 骨再生修复

中图分类号: Q813; R683 **文献标识码:** A

Progress of SDF-1/CXCR4 axis in bone regeneration

LIAO Xin-gen¹, YIN Ming², LI Shi-yong^{3*}, WU Li-hua¹, LIU Zhe¹, FU Ming-fu¹

(1 Graduate School of Medicine, Nanchang University, Nanchang 330006, China; 2 Second Affiliated Hospital of

Nanchang University, Nanchang 330006, China; 3 Center for Molecular Medicine, Second Affiliated Hospital of

Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract: The SDF-1/CXCR4 axis system constituted by stromal cell-derived factor -1 (SDF-1) and its receptor CXCR4 has many important biological characteristics and functions. With deepening research in the field in recent years, the growing number of findings suggest that the SDF-1/CXCR4 axis system plays an important role in regeneration and repair of tissue injury, what's more, the role of SDF-1/CXCR4 axis system in the regeneration of bone tissue are also increasingly concerned. This article reviews the biological characteristics of the SDF-1/CXCR4 axis system and its role in bone regeneration and repair.

Key words: stromal cell-derived factor-1; SDF-1/CXCR4 axis system; biological characteristics; bone regeneration and repair

骨创伤修复是一个复杂生理过程,涉及到多种细胞和分子的参与。骨髓中的造血细胞和免疫细胞以及血管细胞和骨骼细胞及其前体细胞被募集到受损区域,在损伤区的微环境中,多种因子(炎症因子、趋化因子和生长因子等)开启细胞分子信号转导,进而影响各细胞的趋化、迁移、黏附、增殖、分化以及细胞外基质蛋白的合成^[1]。基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)属于 α 趋化因子家族成员,其特异性受体CXCR4在许多细胞表面表达。近年来研究发现,SDF-1及其受体CXCR4构成SDF-1/CXCR4轴,不仅参与调控胚胎发育和生后造血干细胞归巢,而且在组织损伤及骨

损伤修复过程中发挥重要作用。骨再生修复部位SDF-1的分泌增加;骨髓、外周循环血以及骨创伤软组织周围CXCR4⁺的组织定向干细胞(tissue-committed stem cell, TCSC)沿着SDF-1浓度梯度迁移到达损伤部位,参与骨修复与重建;SDF-1还参与血管新生,为骨再生修复提供必要的营养支持。本文主要对SDF-1/CXCR4轴体系统的生物学特性及其在骨再生修复中的作用进行综述。

收稿日期: 2010-05-12; 修回日期: 2010-06-16

*通讯作者: E-mail: syliwy@gmail.com; Tel: 0791-6300984

1 SDF-1/CXCR4 轴系统概述

目前,人类趋化因子系统至少包括40种趋化因子和18种趋化因子受体。趋化因子是一种具有诱导细胞直接向其趋化迁移的小相对分子质量蛋白,根据其分子结构N端两个半胱氨酸残基(CC)间是否被另一个氨基酸残基(X)插入,分为两大亚家族——CXC和CC趋化因子。趋化因子受体属于7次跨膜G蛋白偶联的细胞膜表面受体家族,依据其特异性结合某种趋化因子的性质分别被命名为CXCR1~5、CCR1~11、XCR1以及CX3CR1。SDF-1/CXCR4轴归属趋化因子系统。

1.1 SDF-1

基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1),属于CXC趋化因子亚家族,系统命名为CXCL12(CXC chemokine ligand 12)^[2],是一高度保守相对分子质量分泌型蛋白,人与小鼠种属间有99%的同源性。*Cxcl12*基因片段选择性地表达出两种异构体SDF-1 α 和SDF-1 β ^[3],它们具有相似的生物学活性。它通过与其受体结合来传递信号,在造血、发育和免疫系统形成中起重要作用。在成熟个体,骨髓基质细胞是分泌SDF-1的主要来源,这为造血干细胞(HSCs)和前体细胞的增殖与分化创造了有利的微环境^[4]。HSCs主要受CXCL12的趋化^[5],这不仅对干细胞保留于骨髓造血微环境以及循环血中的造血干细胞向骨髓特异性归巢很重要,而且对造血干细胞在骨髓微环境中的存活和增殖也很关键^[6]。在许多正常组织,如心脏、肝、脾以及肾脏中都有SDF-1的表达。

1.2 CXCR4

CXCR4是7次跨膜G蛋白偶联细胞膜受体,广泛表达于单核细胞、淋巴细胞以及所有CD34⁺细胞膜表面。最早关于CXCR4的研究集中在它对人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的病理作用上,它是T型热带(X4)HIV病毒进入CD4⁺T细胞的一个共受体^[7]。*Cxcl12*或*Cxcr4*基因敲除的小鼠表现出相似的致死表型,包括B淋巴细胞生成和骨髓造血障碍^[8],神经和心血管发育异常^[9]。

1.3 SDF-1/CXCR4 轴

以往学者都认为SDF-1与其受体CXCR4相互作用是钥匙和锁的一对一关系,即CXCR4是SDF-1的惟一高度特异性受体,但近来发现SDF-1也能与CXCR7相互作用引起下游细胞内信号转导^[10]。SDF-1/CXCR4轴相互作用后转导细胞内特定信号并

介导相应的生物效应,对维持胚胎发育、调控干细胞迁移和归巢、介导免疫和炎症反应以及参与组织损伤修复等有重要作用,也参与HIV感染和恶性肿瘤的浸润转移。

1.4 SDF-1/CXCR4 轴介导的信号转导通路

SDF-1与CXCR4结合激活CXCR4受体偶联的G蛋白,继而激活下游信号转导途径,其主要信号通路包括(图1):(1)黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、桩蛋白(paxillin)、富脯氨酸激酶-2(proline-rich kinase-2, Pyk-2)、p130Cas等参与黏附作用(adhesion);(2)磷酸肌醇-3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB, 或者AKT)/核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)途径;(3)p42/44促丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-associated protein kinase, MAPK)/Elk-1途径;(4)Janus激酶(Janus kinase, JAK)/转录信号传导子与激活子(signal transducer and activator of transcription, STATs)途径;(5)酪氨酸磷酸酶I(tyrosine phosphatase 1, SHP1)、SHP2和CD45。

SDF-1/CXCR4轴通过以上信号转导通路,引起的生物学效应主要包括细胞动员、趋化反应、黏附以及促进细胞分泌基质金属蛋白酶(MMPs)和血管内皮生长因子(VEGF)等。除了调节细胞的归巢外,该轴对细胞的增殖和生存是否有直接影响在学术界还存在争议^[11]。

2 SDF-1/CXCR4 轴与骨再生修复

各种骨科疾病诸如骨创伤、骨坏死以及骨肿瘤所致的骨缺损都需要骨再生来修复,人体骨骼自身具有很强大的再生修复能力,是惟一不留痕痕性再生修复器官^[12]。然而,对于大段骨缺损和骨折愈合骨不连等疾病临床治疗还很棘手,主要靠移植替代治疗,包括自体骨移植、同种异体骨移植以及组织工程骨替代移植,自体松质骨移植是治疗的金标准^[13]。然而,目前为止这些治疗措施都存在不同程度的缺陷,寻找到更加合理科学的治疗方法迫在眉睫。越来越多的研究发现,SDF-1/CXCR4轴体系统在组织损伤及修复中起着重要的作用,深入研究其在骨再生修复中的机制与作用为寻找治愈这些疾病和促进骨再生提供线索和开辟新思路。

2.1 骨损伤部位SDF-1的表达

骨损伤后,损伤部位SDF-1的分泌迅速增加,分泌SDF-1的组织主要是骨膜^[14]。骨组织损伤时有许多因素调节SDF-1的表达,其中包括各种炎症介

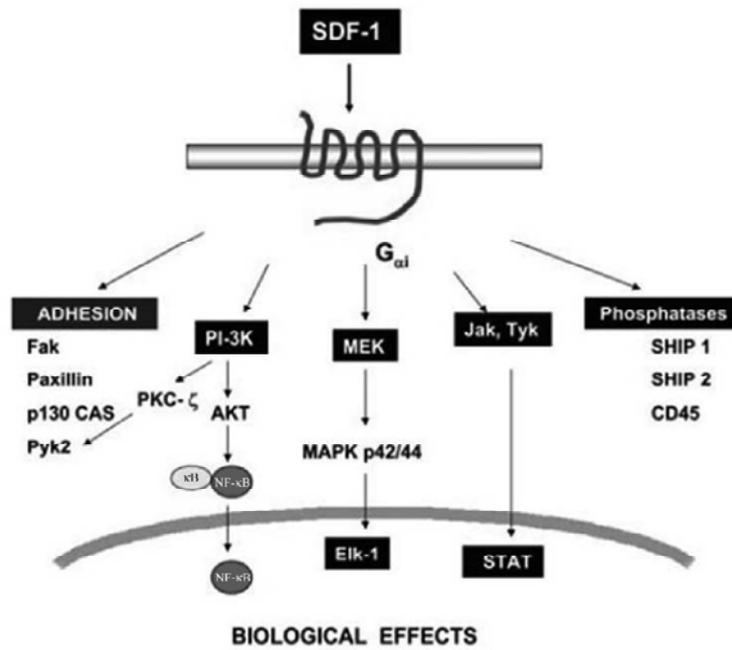


图1 SDF-1/CXCR4轴介导的信号转导途径^[11]

质、细胞外基质的变化和机械力量的改变。骨损伤往往伴随局部组织缺血、缺氧，调节细胞缺氧反应的一个重要转录因子——缺氧诱导因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)在组织缺血、缺氧状态下分解受阻，HIF-1 在骨损伤区域迅速累积。HIF-1 促进其下游 60 多种靶基因表达，其中包括血管内皮生长因子(VEGF)和 SDF-1。组织受损缺血缺氧区域的 SDF-1 基因表达主要受 HIF-1 的调控。HIF-1 诱导 SDF-1 表达，继而增加循环血中的 CXCR4⁺ 干/祖细胞向缺血区域迁移、黏附和归巢^[15]。在活体内，HIF-1 诱导 SDF-1 在缺血组织中的表达量与受损区域氧张力下降值成正比；在组织再生修复过程中，随着组织局部氧张力的恢复，SDF-1 的表达也逐渐下降趋于正常表达量^[15]。HIF-1 除了诱导 SDF-1 表达增加外，还能够增强单核细胞和肿瘤细胞的 SDF-1 受体 CXCR4 表达和功能^[16]。

2.2 骨损伤部位 CXCR4⁺ 干细胞的募集参与骨再生

骨损伤后再生修复和重建必需要选择性募集局部组织或循环血中的干细胞，骨髓中存在着各种 CXCR4⁺ 的组织定向干细胞(TCST)，它们的迁移受 SDF-1 依赖的方式调控^[17]。骨组织损伤时，在 SDF-1-CXCR4 轴的作用下组织定向干细胞进入外周血，趋化迁移到损伤部位，参与骨组织的再生。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一种多潜能

干细胞，具有向包括成骨细胞、成软骨细胞在内的多细胞谱系分化潜能，以修复组织器官的结构和功能^[18]，这使得它成为骨再生的良好种子细胞。在骨再生修复过程中，募集到骨损伤部位的 MSCs 包含有受损组织局部骨膜、骨髓来源的 MSCs 和循环血中的 MSCs。循环血中的 MSCs 感受到组织受到损伤，募集到该部位，在损伤部位微环境下向组织特异分化^[19]。越来越多的文献数据显示 SDF-1 / CXCR4 轴对 MSCs 的生物学和生理学功能起着重要作用^[20]。Kitaori 等^[14]应用小鼠骨移植模型证实了 SDF-1 mRNA 表达在活体骨移植体内增加，SDF-1 蛋白在活体移植骨的骨膜上高表达，抗 SDF-1 抗体或 CXCR4 拮抗剂 TF10416 能够抑制新骨的形成，体外 SDF-1 对 MSCs 的趋化作用呈剂量依赖关系，体内迁移实验显示 MSCs 向 SDF-1 募集后参与软骨内成骨修复。因此，他们认为，SDF-1 在骨损伤的骨膜上诱导表达增加，趋化 MSCs 向该部位募集，继而促进软骨内成骨修复骨损伤。除了 MSCs 募集外，骨髓动员到外周血循环中的成骨祖细胞(osteoblast progenitor cells, OPCs)也可以通过 SDF-1-CXCR4 轴募集到骨形成部位参与骨再生修复^[21]。

2.3 SDF-1/CXCR4 轴通过血管新生方式参与骨再生

骨是一个高度血管化组织，骨细胞和血管之间存在非常紧密的联系以维系骨骼的完整性。血管新

生(angiogenesis)在骨骼发育和骨再生修复中起着关键性作用。CXCR4在血管内皮祖细胞(endothelial stem cells, EPCs)的膜表面表达,向SDF-1呈浓度梯度趋化迁移到达骨损伤区域。SDF-1可动员骨髓源性EPCs进入新生血管活跃区,在原位分化为内皮细胞参与血管发生^[22]。SDF-1不仅通过募集EPCs到缺血区促进血管新生,而且还诱导骨髓来源的c-Kit⁺干细胞向EPCs和内皮细胞分化^[23]。SDF-1/CXCR4轴介导的信号途径是调控血管新生的分子枢纽^[24]。SDF-1/CXCR4轴至少可以通过两条途径促进缺血缺氧区域血管新生^[25]: ①募集骨髓源性的干/祖细胞并诱导其分泌血管生成因子,从而促进血管新生; ②募集血管内皮细胞及其祖细胞参加血管新生。Grunewald等^[26]应用大鼠建立VEGF促血管形成的模型中发现,大鼠的心脏和肝脏有大量血管生成,新生血管周围有大量骨髓来源的干细胞,血管周围的成纤维细胞和平滑肌细胞表达的SDF-1水平也显著升高;给予CXCR4拮抗剂可阻止源自骨髓的干细胞募集到心脏和肝脏,并减少新生血管形成,因此他们认为组织表达的VEGF对骨髓干细胞向该组织的迁移、募集是必要的,并且其促血管生成作用是通过SDF-1得以维持。VEGF能促进血管内皮细胞SDF-1的分泌和内皮细胞膜表面CXCR4的表达,SDF-1也能刺激VEGF在内皮细胞中表达,从而SDF-1/CXCR4轴与VEGF之间构成了一条旁分泌环路,两者相互影响,形成协同作用。通过阻断SDF-1 / CXCR4可以抑制VEGF依赖的血管形成。

3 用 SDF-1/CXCR4 轴促进骨再生修复的可能策略

SDF-1 / CXCR4轴与骨再生修复关系密切,深入研究SDF-1 / CXCR4轴可以使我们更好理解骨再生修复的病理生理学机制,同时也启发我们应用SDF-1 / CXCR4轴来寻找促进骨再生修复的新策略。

在SDF-1方面,受损区域给予SDF-1蛋白或腺病毒基因转染骨损伤组织使其过表达分泌SDF-1等手段来提高局部SDF-1含量,进而加速骨再生修复,目前该策略在心肌梗死动物模型已证实了其作用^[27],但局部SDF-1蛋白对MMP-2等蛋白水解酶很敏感,消除其在局部组织蛋白酶的水解作用将有利于SDF-1更好地发挥其功能。Segers等^[28]研发出一种新的趋化因子S-SDF-1(S4V),它能够耐受蛋白酶的水解,并且能保持趋化因子趋化生物学活性,在心梗动物模型中,显示良好的CXCR4⁺干细胞募集作用。

在CXCR4方面,采用某些方法使参与骨再生修复的干细胞诸如MSCs、骨祖细胞大量动员到循环血,继而迁移到损伤区。粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、巨细胞集落刺激因子(M-CSF)、红细胞生成素(EPO)等因子能够动员骨髓CXCR4⁺干细胞入循环血^[29]。动员到循环血中的CXCR4⁺干细胞可以通过采集血标本很容易、安全和重复地获得^[21],利用获得的这些干细胞将有望开发出一项新的基于干细胞的骨再生方法。缺氧预处理干细胞使其表面CXCR4表达上调,或采用*cxcr4*基因修饰干细胞使其表面CXCR4过表达,高表达CXCR4的干细胞能更好地向组织缺血受损区募集。

骨组织工程是再生医学研究中有望成为治疗大段骨缺损等骨再生困难性骨科疾病的热门领域。SDF-1/CXCR4轴应用于骨组织工程可能会产生良好效果。通过模拟骨髓微环境来设计骨组织工程支架材料的内部微结构,尤其是SDF-1在支架中缓释技术的应用,更好地使种子细胞如MSCs、骨祖细胞、EPCs和内皮细胞等在支架内部生存、增殖和分化,形成有功能的骨组织和血管结构。这些种子细胞也可以通过SDF-1/CXCR4轴来调节它们的生物学活性,以期达到最佳的骨再生修复。

4 总结与展望

SDF-1 / CXCR4轴生物学作用在心血管、肝脏、肿瘤、HIV感染以及脑梗塞等很多领域的研究已逐步深入,SDF-1 / CXCR4轴在骨组织再生修复中的作用也越来越受到关注,但该领域的研究尚处于起步阶段,还有许多问题亟待弄清楚,例如:(1)募集到骨损伤区参与骨再生的干细胞,如MSCs,主要有两个组织来源——骨髓动员后入循环血中的MSCs和损伤局部骨膜存在的MSCs,这两个不同来源的MSCs对SDF-1 / CXCR4轴反应有无差异性;(2)有报道MSCs只有少部分表达CXCR4^[21],那么大部分不表达CXCR4的MSCs对SDF-1 / CXCR4轴是否没影响;(3)SDF-1 / CXCR4轴应用于骨组织工程研究的文献报道还不多。随着SDF-1 / CXCR4轴在骨再生修复的基础研究的不断深入,这将为促进骨再生修复开辟思路和寻找到新策略。

[参 考 文 献]

- [1] Dimitriou R, Tsiridis E, Giannoudis PV. Current concepts of molecular aspects of bone healing. *Injury*, 2005, 36(12): 1392-404
- [2] Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system

- and their role in immunity. *Immunity*, 2000, 12(2): 121-7
- [3] De La Luz Sierra M, Yang F, Narazaki M, et al. Differential processing of stromal-derived factor-1 α and stromal-derived factor-1 β explains functional diversity. *Blood*, 2004, 103(7): 2452-9
- [4] Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell*, 2004, 116(6): 769-78
- [5] Wright DE, Bowman EP, Wagers AJ, et al. Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chemokines. *J Exp Med*, 2002, 195(9): 1145-54
- [6] Burger JA, Kipps TJ. CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. *Blood*, 2006, 107(5): 1761-7
- [7] Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, et al. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*, 1996, 272(5263): 872-7
- [8] Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, et al. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature*, 1996, 382(6592): 635-8
- [9] Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, et al. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature*, 1998, 393(6685): 591-4
- [10] Burns JM, Summers BC, Wang Y, et al. A novel chemokine receptor for SDF-1 and I-TAC involved in cell survival, cell adhesion, and tumor development. *J Exp Med*, 2006, 203(9): 2201-13.
- [11] 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. *Stem Cells*, 2005, 23(7): 879-94
- [12] Frohlich M, Grayson WL, Wan LQ, et al. Tissue engineered bone grafts: biological requirements, tissue culture and clinical relevance. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2008, 3(4): 254-64
- [13] Bueno EM, Glowacki J. Cell-free and cell-based approaches for bone regeneration. *Nat Rev Rheumatol*, 2009, 5(12): 685-97
- [14] Kitaori T, Ito H, Schwarze M, et al. Stromal cell-derived factor 1/CXCR4 signaling is critical for the recruitment of mesenchymal stem cells to the fracture site during skeletal repair in a mouse model. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(3): 813-23
- [15] Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, et al. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. *Nat Med*, 2004, 10(8): 858-64
- [16] Schioppa T, Uranchimeg B, Saccani A, et al. Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia. *J Exp Med*, 2003, 198(9): 1391-402
- [17] Kucia M, Wojakowski W, Reza R, et al. The migration of bone marrow-derived non-hematopoietic tissue-committed stem cells is regulated in an SDF-1-, HGF-, and LIF-dependent manner. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2006, 54(2): 121-35
- [18] Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*, 2003, 102(10): 3483-93
- [19] Shyu WC, Lee YJ, Liu DD, et al. Homing genes, cell therapy and stroke. *Front Biosci*, 2006, 11: 899-907
- [20] Dar A, Goichberg P, Shinder V, et al. Chemokine receptor CXCR4-dependent internalization and resecretion of functional chemokine SDF-1 by bone marrow endothelial and stromal cells. *Nat Immunol*, 2005, 6(10): 1038-46
- [21] Otsuru S, Tamai K, Yamazaki T, et al. Circulating bone marrow-derived osteoblast progenitor cells are recruited to the bone-forming site by the CXCR4/stromal cell-derived factor-1 pathway. *Stem Cells*, 2008, 26(1): 223-34
- [22] Hur J, Yoon CH, Lee CS, et al. Akt is a key modulator of endothelial progenitor cell trafficking in ischemic muscle. *Stem Cells*, 2007, 25(7): 1769-78
- [23] Abbott JD, Huang Y, Liu D, et al. Stromal cell-derived factor-1 α plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation*, 2004, 110(21): 3300-5
- [24] Petit I, Jin D, Rafii S. The SDF-1-CXCR4 signaling pathway: a molecular hub modulating neo-angiogenesis. *Trends Immunol*, 2007, 28(7): 299-307
- [25] Takahashi M. Role of the SDF-1/CXCR4 system in myocardial infarction. *Circ J*, 2010, 74(3): 418-23
- [26] Grunewald M, Avraham I, Dor Y, et al. VEGF-induced adult neovascularization: recruitment, retention, and role of accessory cells. *Cell*, 2006, 124(1): 175-89
- [27] Saxena A, Fish JE, White MD, et al. Stromal cell-derived factor-1 α is cardioprotective after myocardial infarction. *Circulation*, 2008, 117(17): 2224-31
- [28] Segers VFM, Tokunou T, Higgins LJ, et al. Local delivery of protease-resistant stromal cell derived factor-1 for stem cell recruitment after myocardial infarction. *Circulation*, 2007, 116(15): 1683-92
- [29] Brunner S, Winogradow J, Huber BC, et al. Erythropoietin administration after myocardial infarction in mice attenuates ischemic cardiomyopathy associated with enhanced homing of bone marrow-derived progenitor cells via the CXCR-4/SDF-1 axis. *FASEB J*, 2009, 23(2): 351-61