

文章编号: 1004-0374(2010)08-0783-05

巨核细胞生成调控相关细胞因子及其作用研究进展

陈石磊, 王军平*

(第三军医大学军事预防医学院全军复合伤研究所, 创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400038)

摘要: 造血干细胞分化生成巨核细胞是一个十分复杂的过程, 包括造血干细胞动员及其向巨核系祖细胞分化, 巨核系祖细胞增殖、分化生成未成熟巨核细胞, 巨核细胞的成熟和血小板释放等过程。研究发现, 造血干细胞动员及其向各系细胞分化的大部分过程都在一种称为“龕”的结构中进行, 多种龕内信号分子参与了造血干细胞的动员和分化调控。该文对造血干细胞龕内参与造血干细胞动员和分化生成巨核细胞的几种重要细胞因子及其调控作用进行综述。

关键词: 造血干细胞; 龕; 巨核细胞生成; 细胞因子; 调控

中图分类号: Q813 **文献标识码:** A

Relative cytokines and their regulatory roles in megakaryocytopoiesis

CHEN Shi-lei, WANG Jun-ping*

(State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: It is a quite complex process that hematopoietic stem cells differentiate into megakaryocytes, which is composed of the mobilization of hematopoietic stem cell and differentiation into megakaryocyte progenitor cells, the proliferation of megakaryocyte progenitor cell, generation of mature megakaryocytes, megakaryocyte maturation and platelet release etc. It has been found that the mobilization of hematopoietic stem cell and the differentiation into most lineages are in a structure called “niche”. A variety of signaling molecules involved in the regulation of hematopoietic stem cell mobilization and differentiation. This review is focus on several important cytokines participating in hematopoietic stem cell mobilization and megakaryocytopoiesis and their regulatory role in the niche.

Key words: hematopoietic stem cell; niche; megakaryocytopoiesis; cytokines; regulation

造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)是研究最多的成体干细胞, 目前普遍认为HSC的表型为: CD34+CD38-Lin-HLA-DR-Thy-1+C-kit+CFA-1-CD45-RA-CD71-Rhp^{du11}, 它能分化成血液系统的全部细胞。早在1978年, Schofield^[1]首次用“niche”(龕)来描述骨髓中适宜HSC生存的特定微环境, 在该特殊空间内, HSC主要以一种凝集态球体方式存在, 龕通过多种信号分子(包括细胞因子、趋化因子、蛋白酶等)来调节HSC的自我更新、增殖及其向特定细胞系分化等过程。近年来, 人们在研究巨核细胞生成调控分子机制的过程中发现, 一些重要细胞因子在造血干细胞龕内参与了HSC的动员及

其向巨核细胞的分化过程, 本文重点就这些细胞因子的调控作用进行阐述。

1 HSC龕的组成及作用

HSC龕可支持并调节HSC及其后代的增殖、分化、成熟和释放等过程。HSC的增殖、分裂和自

收稿日期: 2010-04-15; 修回日期: 2010-06-24

基金项目: 国家高科技发展计划(“863”计划)(2007AA02Z152); 全军医学科研“十一五”计划科技攻关项目(06G076)

*通讯作者 E-mail: wangjunp@yahoo.com Tel: 023-68752283

我更更新一般在龕的内侧进行,一旦从内侧游离于龕, HSC 即趋向分化成熟直至衰老死亡。造血龕包括了除造血细胞以外的所有支持和调节造血细胞定居、增殖、分化、发育和成熟的内环境(包括微血管系统、神经、基质、结缔组织等间质成分),主要由基质细胞(成纤维细胞、巨噬细胞、脂肪细胞、网状细胞和内皮细胞)、细胞外基质(胶原、蛋白多糖和纤维连接蛋白、层黏连蛋白、血细胞黏结蛋白)及造血生长因子组成。目前,人们把造血龕分成两部分:骨内膜区和血管区。大多数人认为,在骨髓组织中两者都存在。而对于血管龕,还可能存在于胎儿的卵黄囊、主动脉-性腺-中肾区、胰腺、肝脏、脾以及成人的肝、脾等区域。在骨内膜区,由于含氧量低, HSC 处于静止状态;血管区含氧量高,干细胞/祖细胞则处于活跃的增殖状态。骨内膜龕主要负责长期维持 HSC 的静止状态并阻止其分化、自我更新和维持数量等,在需要时, HSC 可发育成熟。而当受到损伤刺激后,骨内膜龕中静止的 HSC 进行对称性分裂并流入血管龕,以维持血管龕中 HSC 的数量平衡。HSC 从骨内膜龕流入血管龕这一过程对于血管龕中血细胞的生成调控是非常重要的。而在血管龕内,除了含氧量高之外, HSC 还暴露于来自周围血液的激素、生长因子、营养物质等血液因子,因此,血管龕主要负责 HSC 的增殖和分化等^[2]。

2 HSC 龕内参与 HSC 动员和巨核细胞分化过程的主要细胞因子及其调控作用

HSC 之所以能够维持静止状态和进行自我更新,很大程度是受龕内众多信号分子的调控。这些信号分子包括细胞因子、趋化因子(包括黏附和细胞表面分子)、酶和离子等。在它们的作用下,干细胞通过对称性分裂产生两个子代细胞,其中一个子代细胞留在龕内,保持其干细胞特性;另一子代细胞将进入另一微环境,成为多潜能干细胞(MPP),而后再分化成各种祖细胞或迁移到特定部位分化为该部位的组织细胞^[3]。其中,参与 HSC 动员及其向巨核细胞分化的细胞因子主要有血小板生成素(TPO)、白细胞介素类分子、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、基质衍生因子(SDF)等,以下分别对它们在巨核细胞生成调控中的作用进行阐述。

2.1 血小板生成素

TPO 主要由肝脏和肾脏产生,其在循环中的水平受 c-mpl 受体调控。c-mpl 在 HSC、巨核系祖细

胞、巨核细胞分化的各个时期以及血小板中都有显著表达,然而只有 N-糖基化的 c-mpl 才能参与信号传导^[4]。TPO 可能是目前发现刺激巨核系祖细胞分化和成熟最有力的细胞因子。TPO 或其受体缺陷小鼠(TPO^{-/-}或 c-mpl^{-/-})骨髓中的巨核细胞和循环中血小板的数量会下降 90% 以上^[5]。Ballmaier 等^[6]发现, c-mpl 基因的功能性缺失和儿童先天性缺失都能导致严重的血小板减少症。除了能够刺激巨核祖细胞增殖分化生成巨核细胞外, TPO 还具有增大巨核细胞的体积和增加多倍体细胞数量的作用,并能促使血小板前体形成突起,这些突起最终形成单个的血小板。此外, TPO 还能与其他造血细胞生长因子协同促进 HSC 的自我更新,增加巨核祖细胞的数量^[7]。TPO 生物活性的发挥通过其受体 c-mpl 介导完成,在未结合 TPO 的情况下 c-mpl 处于失活状态;一旦与 TPO 相结合, c-mpl 即会发生二聚体化,并因此激活与之偶联的 Janus 激酶(JAK2)。激活的 JAK2 可使 c-mpl 胞内区酪氨酸残基磷酸化,进而激活下游的 STATs、PI-3K、MAPKs 等信号通路,最终通过 GATA-1、FOG-1 以及 P45 NF-E2 等转录因子调控细胞核内靶基因的转录,促进巨核祖细胞增殖分化生成巨核细胞^[8]。另一方面, TPO 还能降低胶原和凝血酶的水平,这些作用对 HSC 的动员都有非常重要的影响。Mazharian 等^[9]采用小鼠骨髓和鼠胎的两种原始巨核细胞研究发现, TPO 也可以通过激活细胞外信号调控激酶 ERK1/2,对巨核细胞的分化、迁移和血小板生成起调控作用,进一步说明 TPO 可以通过多条信号通路促进巨核细胞和血小板生成。

2.2 白细胞介素(interleukin, IL)

白细胞介素的种类较多,其中有相当部分在促进造血细胞增殖和诱导其分化方面发挥重要作用。IL-3、IL-6、IL-11 以及 IL-1 等均能增加巨核细胞集落形成单位(CFU-MK)和巨核细胞数量。白介素家族主要利用信号转导子 gp130 作为其信号受体亚基,通过 gp130 通路,使 PRL 样蛋白 E(PLP-E)与其受体结合而作用于巨核祖细胞,从而促进巨核祖细胞分化^[10]。IL-3 可由龕内的基质细胞等多种细胞分泌产生,可促进 CFU-MK 形成、巨核细胞核成熟以及 IL-6 分泌^[11],同时还具有与 TPO 协同促进未成熟祖细胞分化的作用,但也有 IL-3 在巨核细胞成熟的终末阶段并不发挥作用的报道^[12],甚至有 IL-3 能够抑制巨核细胞成熟的报道^[13]。在 HSC 龕内, IL-6 来源于血管区血管内皮细胞的分泌,能直接作用于早期或晚期巨核祖细胞促进其增殖和分化^[13];

此外, 它还能增强 CFU-MK 形成过程中 IL-3 或 TPO 对巨核细胞的作用, 以及调整血小板前体形成过程中细胞骨架的改变等作用^[14]。IL-11 主要由骨髓基质细胞分泌, 能与干细胞因子(SCF)、酪氨酸激酶受体 3 的配体(FL)、IL-3 等协同作用, 促进早期巨核系祖细胞的增殖。更为重要的是, IL-11 和 IL-6 还能够调控血小板前体的生成过程, 包括诱导巨核细胞体积增大、增加巨核细胞多倍体化、启动细胞骨架改变以及促进血小板释放等。重组 IL-11 及 IL-6 的这些作用已在体内实验中得到证实^[15]。目前, 重组 IL-11 是临床上用来治疗血小板减少症的主要药物之一^[8]。IL-1 也是造血调控的关键性因子, 主要由 HSC 龛的单核-巨噬细胞产生, 可诱导基质细胞中其他造血生长因子, 如 G-CSF、IL-6 和 IL-1 自身的分泌, 进而对 HSC 的动员进行调控^[16]。同样, 骨内膜龛中成骨细胞所分泌的 IL-8, 也是动员 HSC 的一个重要趋化因子^[17]。Fujiki 等^[18]报道, 在促红细胞生成素(EPO)和(或)SCF 存在的条件下, IL-9 也能够促使巨核细胞生成。

2.3 基质衍生因子-1 [SDF-1 (CXCL-12)]

在血管龛区, 由基质细胞产生的 SDF-1, 能够促进巨核细胞向内皮细胞龛之间的空隙移动, 进而促进血小板生成^[2]。SDF-1 信号通路包括 ras-raf-MAPK 和 p38 MAPK 两条通路。SDF-1 与其受体 CXCR-4 结合后, 能诱导 MAPK 激酶活化, 促使 ras-raf-MAPK (p42/44) 和 p38 及其下游靶点磷酸化, 这两条通路的激活能潜在影响巨核细胞的增殖及其向成熟过程的转变, 从而调控细胞的增殖和分化, 促进血小板生成^[19]。此外, SDF-1 能够诱导 PI-3K-AKT 通路的激活以及下游调节蛋白 NF- κ B 的磷酸化, 后者能调控基质金属蛋白酶 MMP-9 和血管内皮生长因子的表达和内源性分泌, 这两种蛋白对于巨核细胞从骨内膜龛移出以及后期的血小板前体形成都很重要^[20]。有些蛋白聚糖能够结合到 SDF-1 并将其递呈给受体 CXCR-4, 这些蛋白聚糖有利于增加 CD34⁺ 细胞的黏附性, 从而有利于该细胞跨内皮转移。然而, SDF-1 诱导的干细胞跨膜转移并不仅仅依赖 SDF-1 的浓度, 可能还依赖于趋化因子与细胞外基质及骨髓基质细胞的结合^[21]。近年发现, CAR 细胞与 HSC 动员关系密切。CAR 细胞是一种高表达 SDF-1 的网状细胞, 广泛分布于骨髓腔的骨小梁间, 与成骨细胞龛和血管龛中的 HSC 都有紧密的联系, 其作用可能与介导 HSC 在两个龛之间迁移, 或参与迁移信号通路相关的调节^[22], 但它和其

他多种造血祖细胞的关系仍有待深入研究。

2.4 成纤维细胞生长因子(FGFs)

龛内成纤维细胞分泌的 FGFs, 不仅能促进造血干/祖细胞的增殖, 维持其表型; 而且能影响造血前体细胞特异谱系的形成。研究发现, FGF-4 作为促细胞生成因子, 可直接作用于巨核细胞, 促进巨核细胞生成并诱导巨核细胞成熟^[7]。此外, FGF-4 也能诱导巨核细胞表面 VLA-4 和骨髓内皮细胞表面 VCAM-1 的表达, 通过增强巨核祖细胞对内皮细胞的黏附作用而促进巨核细胞的增殖和分化^[23]。Kashiwakura 等^[24]在无血清培养条件下, 用 FGF-2 联合 TPO、SCF、IL-3 等细胞因子体外培养胎盘/脐带血来源的 CD34⁺ 细胞, 在培养后第 6 和第 12 天, 发现 CFU-MK 增加近 1 倍, 与对照组相比巨核细胞数增加了 100~120 倍, 提示 FGF-2 也可促进巨核细胞生成, 但确切机制尚待深入研究。FGF-1 是多种细胞的促有丝分裂原, 也可能是巨核细胞生成的调控因子。研究发现, 它能协同粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)增加非定向造血干/祖细胞集落形成, 促进巨核细胞生成和成熟^[25]。然而, 由于 Schiedlmeier 等^[26]发现, 用 FGF 受体抑制剂 SU5402 处理 HoxB4 异位表达小鼠的 HSC, 能增强其再生能力, 提示 FGF 通路还存在与其他通路复杂的交互作用(crosstalking), 因此 FGF 通路在调控成人 HSC 以及胎儿造血发育中的作用仍然存在争议。

2.5 粒集落刺激因子(G-CSF)

在骨内膜龛中, 成纤维细胞可分泌产生髓系细胞特异的 G-CSF。G-CSF 通过两种方式促进造血干祖细胞的动员。首先, 它能激动交感神经系统释放去甲肾上腺素, 引起成骨细胞抑制而促进干细胞动员^[7]。此外, G-CSF 还能激活许多中性粒细胞特异的酶类, 如中性粒细胞弹性蛋白酶、组织蛋白酶 G、蛋白水解酶 3 和 MMP-9 等, 并能促使蛋白酶抑制剂及细胞黏附分子 VLA-4 降解, 从而使 HSC 与骨髓基质、黏连蛋白等的作用明显降低, 进而促进 HSC 动员^[27]。特别需要指出的是 MMP-9 可以水解结合到膜表面的 Kit 配体, 促使 HSC 离开成骨龛而转移至血管龛中, 而后 HSC 分化成各种造血祖细胞, 并在这里进行巨核细胞的成熟和血小板的释放等过程。同时, MMP-9 还能促使 SCF 脱落进入周围血液循环中, 后者可进一步发挥在造血动员中的作用^[24]。另外, Han 等^[28]研究发现, 用 G-CSF 联合 GM-CSF、IL-3 培养髓系祖细胞, 能够更有效地诱导下游靶点 STAT-5 的磷酸化, 提示 G-CSF 还能

与其他细胞因子进行交互作用。

3 其他相关因子的作用

除上述细胞因子之外,近年来,人们还发现一些其他相关因子在干细胞动员和巨核细胞分化中也发挥着重要的调控作用,如SCF能通过增强CFU-MK的分化活性,减少TPO诱导的凋亡和促进巨核细胞的成熟来增强TPO的活性。同时SCF也能通过增强IL-3和GM-CSF的活性而促进巨核细胞爆式集落形成单位(BFU-MK)的形成^[29]。GM-CSF和促红细胞生成素(EPO)等,也能单独或与TPO一起促进巨核细胞生长^[30]。葡萄糖胺聚糖(GAG)是龕内细胞外基质的主要组成成分,GAG能与龕中的细胞及生长因子相互作用,使生长因子和细胞进入造血龕内,从而影响HPSC的特性。Albanese等^[31]给动物注射GAG模拟物,发现其能够有效诱导造血干/祖细胞的快速动员,这一过程伴随着MMP-9的激活以及SDF-1的改变,其机制可能与SDF-1释放或MMP-9激活有关。另外,一些黏附分子在巨核细胞的成熟和分化过程中也可能发挥重要作用,如用VE-钙黏蛋白抗体阻断其作用会导致血小板生成受损^[2],提示VE-钙黏蛋白能够促进巨核细胞的存活和成熟分化。在干细胞的动员过程中,破骨细胞可快速增殖,从而分泌趋化因子和蛋白酶,而这些成分的分秘又导致骨髓细胞外基质、黏附分子、细胞因子和趋化因子的降解和分解,促使HSC跨膜转移^[32]。黏着斑激酶(FAK)是存在于龕内细胞和细胞外基质结合部位的黏着斑处的细胞质酪氨酸激酶,能调控体内ERK1/2的磷酸化而促进巨核细胞分化^[33]。而生长激素(GH)能调控多种细胞的增殖、凋亡和分化,也是促进巨核细胞生长和分化的重要成分。目前认为GH的调控机制主要有:直接与膜上的特异受体结合;间接刺激IGF-1产生;与其他细胞因子协同作用;间接作用于催乳素受体而促进血小板的生成^[34,35]。Mendez-Ferrer等^[36]研究表明,儿茶酚胺通路直接作用于HPSC而促使CD34⁺细胞迁移;5-羟色胺也很可能是一种血小板生成过程中的重要的反馈调节物质;Li等^[37]指出补体C3的裂解片段能够调节巨核细胞对SDF-1的反应性,激活MAPK(p42/44),同时也能增强MMP-9和VEGF的表达。这些结果表明,免疫系统、神经系统也可能参与到巨核细胞的生成过程中。因此,巨核细胞的生成过程很可能是一个多因子、多系统参与调控的过程,是多种因素协同作用的结果。在各种参与调节巨核细胞生成的

因子中,目前认为主要形成以下几条通路:TPO/c-mpl通路、依赖gp130的信号通路、Notch信号通路、NMDA受体以及FGF/SDF-1介导的信号通路^[38]。

4 结语

迄今,人们对HSC龕的定位、细胞和分子水平的特征等方面的研究取得了很多突破性的进展,但对造血龕种类的认识目前仍不是十分清楚,除骨内膜龕和血管龕之外,人们认为还可能还有其他类型的龕存在^[39]。同时,对龕内各种细胞因子在干细胞生存生长不同阶段的精确调控机制,尚存在争议,如虽然已证实p38MAPK信号通路参与了多种细胞因子的信号转导,然而Severin等^[40]认为该信号通路并未在巨核细胞的分化过程中发挥作用。可见,在HSC向巨核系分化、巨核细胞成熟及血小板生成等过程中,HSC龕及龕内诸多相关细胞因子的作用和调控机制尚待进一步深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*, 1978, 4(1-2): 7-25
- [2] Avezilla ST, Hattori K, Heissig B, et al. Chemokine-mediated interaction of hematopoietic progenitors with the bone marrow vascular niche is required for thrombopoiesis. *Nat Med*, 2004, 10(1): 64-71
- [3] Wilson A, Trumpp A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(2): 93-106
- [4] Moliterno AR, Hankins WD, Spivak JL. Impaired expression of the thrombopoietin receptor by platelets from patients with polycythemia vera. *N Engl J Med*, 1998, 338(9): 572-80
- [5] Bunting S, Widmer R, Lipari T, et al. Normal platelets and megakaryocytes are produced *in vivo* in the absence of thrombopoietin. *Blood*, 1997, 90(9): 3423-9
- [6] Ballmaier M, Germeshausen M, Schulze H, et al. *c-mpl* mutations are the cause of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Blood*, 2001, 97(1): 139-46
- [7] Katayama Y, Battista M, Kao WM, et al. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow. *Cell*, 2006, 124(2): 407-21
- [8] Pang L, Weiss MJ, Poncz M. Megakaryocyte biology and related disorders. *J Clin Invest*, 2005, 115(12): 3332-8
- [9] Mazharian A, Watson SP, Severin S. Critical role for ERK1/2 in bone marrow and fetal liver-derived primary megakaryocyte differentiation, motility, and proplatelet formation. *Exp Hematol*, 2009, 37(10): 1238-49. e5
- [10] Febbraio MA. Gp130 receptor ligands as potential therapeutic targets for obesity. *J Clin Invest*, 2007, 117(4): 841-49
- [11] Kimura T, Sakabe H, Tanimukai S, et al. Simultaneous activation of signals through gp130, c-kit, and interleukin-3 receptor promotes a trilineage blood cell production in the

- absence of terminally acting lineage-specific factors. *Blood*, 1997, 90(12): 4767-78
- [12] Monzen S, Osuda K, Miyazaki Y, et al. Radiation sensitivities in the terminal stages of megakaryocytic maturation and platelet production. *Rad Res*, 2009, 172(3): 314-20
- [13] Jenkins BJ, Quilici C, Roberts AW, et al. Hematopoietic abnormalities in mice deficient in gp130-mediated STAT signaling. *Exp Hematol*, 2002, 30(11): 1248-56
- [14] Gainsford T, Nandurkar H, Metcalf D, et al. The residual megakaryocyte and platelet production in c-mpl-deficient mice is not dependent on the actions of interleukin-6, interleukin-11, or leukemia inhibitory factor. *Blood*, 2000, 95(2): 528-34
- [15] Weich NS, Wang A, Fitzgerald M, et al. Recombinant human interleukin-11 directly promotes megakaryocytopoiesis *in vitro*. *Blood*, 1997, 90(10): 3893-902
- [16] Ozkurt ZN, Yagci M, Sucak GT, et al. Thrombopoietic cytokines and platelet count in multiple myeloma. *Platelets*, 2010, 21(1): 33-6
- [17] Rothe L, Collin-Osdoby P, Chen Y, et al. Human osteoclasts and osteoclast-like cells synthesize and release high basal and inflammatory stimulated levels of the potent chemokine interleukin-8. *Endocrinology*, 1998, 139(10): 4353-63
- [18] Fujiki H, Kimura T, Minamiguchi H, et al. Role of human interleukin-9 as a megakaryocyte potentiator in culture. *Exp Hematol*, 2002, 30(12): 1373-80
- [19] Deutsch VR, Tomer A. Megakaryocyte development and platelet production. *Br J Haematol*, 2006, 134(5): 453-66
- [20] Zhu J, Garrett R, Jung Y, et al. Osteoblasts support B-lymphocyte commitment and differentiation from hematopoietic stem cells. *Blood*, 2007, 109(9): 3706-12
- [21] Netelenbos T, van den Born J, Kessler FL, et al. Proteoglycans on bone marrow endothelial cells bind and present SDF-1 towards hematopoietic progenitor cells. *Leukemia*, 2003, 17(1): 175-84
- [22] Tokoyoda K, Egawa T, Sugiyama T, et al. Cellular niches controlling B lymphocyte behavior within bone marrow during development. *Immunity*, 2004, 20(6): 707-18
- [23] Avraham H, Banu N, Scadden DT, et al. Modulation of megakaryocytopoiesis by human basic fibroblast growth factor. *Blood*, 1994, 83(8): 2126-32
- [24] Kashiwakura I, Takahashi TA. Fibroblast growth factor and ex vivo expansion of hematopoietic progenitor cells. *Leuk Lymphoma*, 2005, 46(3): 329-33
- [25] Lee J, Dubey VK, Somasundaram T, et al. Conversion of type I 4:6 to 3:5 β -turn types in human acidic fibroblast growth factor: effects upon structure, stability, folding, and mitogenic function. *Proteins*, 2006, 62(3): 686-97
- [26] Schiedlmeier B, Santos AC, Ribeiro A, et al. HOXB4's road map to stem cell expansion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(43): 16952-7
- [27] Winkler IG, Hendy J, Coughlin P, et al. Serine protease inhibitors serpinA1 and serpinA3 are down-regulated in bone marrow during hematopoietic progenitor mobilization. *J Exp Med*, 2005, 201(7): 1077-88
- [28] Han L, Wierenga AT, Rozenveld-Geugien M, et al. Single-cell STAT5 signal transduction profiling in normal and leukemic stem and progenitor cell populations reveals highly distinct cytokine responses. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7989
- [29] Cortin V, Garnier A, Pineault N, et al. Efficient *in vitro* megakaryocyte maturation using cytokine cocktails optimized by statistical experimental design. *Exp Hematol*, 2005, 33(10): 1182-91
- [30] Bruno S, Gunetti M, Gammaitoni L, et al. *In vitro* and *in vivo* megakaryocyte differentiation of fresh and *ex vivo* expanded cord blood cells: rapid and transient megakaryocyte reconstitution. *Haematologica*, 2003, 88(4): 379-87
- [31] Albanese P, Caruelle D, Frescalone G, et al. Glycosaminoglycan mimetics-induced mobilization of hematopoietic progenitors and stem cells into mouse peripheral blood: Structure/function insights. *Exp Hematol*, 2009, 37(9): 1072-83
- [32] Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell*, 2002, 109(5): 625-37
- [33] Hitchcock IS, Fox NE, Prevost N, et al. Roles of focal adhesion kinase (FAK) in megakaryopoiesis and platelet function: studies using a megakaryocyte lineage-specific FAK knockout. *Blood*, 2008, 111(2): 596-604
- [34] Carlo-Stella C, Di Nicola M, Milani R, et al. Age- and irradiation-associated loss of bone marrow hematopoietic function in mice is reversed by recombinant human growth hormone. *Exp Hematol*, 2004, 32(2): 171-178
- [35] Tian ZG, Woody MA, Sun R, et al. Recombinant human growth hormone promotes hematopoietic reconstitution after syngeneic bone marrow transplantation in mice. *Stem Cells*, 1998, 16(3): 193-9
- [36] Mendez-Ferrer S, Lucas D, Battista M, et al. Hematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations. *Nature*, 2008, 452(7186): 442-44
- [37] Liu YS, Yang M. The effect of 5-hydroxytryptamine on the regulation of megakaryocytopoiesis. *Hematology*, 2006, 11(1): 53-6
- [38] Zheng C, Yang R, Han Z, et al. TPO-independent megakaryocytopoiesis. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2008, 65(3): 212-22
- [39] Suda T, Arai F, Hirao A. Hematopoietic stem cells and their niche. *Trends Immunol*, 2005, 26(8): 426-33
- [40] Severin S, Ghevaert C, Mazharian A. The mitogen-activated protein kinase signaling pathways: role in megakaryocyte differentiation. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(1): 17-26