国家项目点击

DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.02.005

基于SDF-1/CXCR4轴探讨雷公藤多糖诱导胰腺干细胞分化的机制研究

贾微,宁志莹,岑妍慧,刘鑫,杨瑞,李博佳,李森,张宸康
(广西中医药大学,广西 南宁 530023)

摘要:目的 探究雷公藤多糖通过基质细胞衍生因子-1(SDF-1)/CXC型趋化因子受体4(CXCR4)轴诱导胰腺干细胞分化的机制。方法 取新生第4天昆明小鼠的胰腺组织制备原代胰腺干细胞,使用免疫组化法鉴定胰腺干细胞;使用双硫腙(DTZ)染色法鉴定胰岛β细胞;使用倒置荧光显微镜对各培养时间点细胞进行拍照记录;使用酶联免疫吸附(ELISA)法检测细胞各给药时间点SDF-1释放量;使用实时荧光定量PCR(qPCR)技术检测各组细胞SDF-1和CXCR4的相对mRNA表达量;使用蛋白免疫印迹试验(WB)检测各组细胞SDF-1和CXCR4蛋白表达量。结果 使用免疫组化法鉴定所取细胞Nestin阳性、呈棕黄色;双硫腙(DTZ)染色呈阳性,且给药组细胞阳性染色细胞数量明显高于对照组细胞($P<0.05$);对照组细胞SDF-1释放量相对持平,实验组细胞SDF-1释放量随着时间的迁移逐步上升,在第26天达到峰值,随后SDF-1释放量随着时间的迁移逐步下降;qPCR技术检测显示实验组细胞SDF-1和CXCR4的相对mRNA表达量显著高于对照组细胞($P<0.05$);WB检测结果显示实验组细胞SDF-1和CXCR4蛋白表达量显著高于对照组细胞($P<0.05$)。结论 雷公藤多糖可以通过SDF-1/CXCR4轴诱导胰腺干细胞分化。

关键词:雷公藤多糖;胰腺干细胞;基质细胞衍生因子-1;CXC型趋化因子受体4
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)02-0025-08

Exploring Mechanism of Tripterygium Wilfordii Polysaccharides Inducing Pancreatic Stem Cell Differentiation Based on SDF-1/CXCR4 Axis

JIA Wei, NING Zhiying, CEN Yanhui, LIU Xin, YANG Rui, LI Bojia, LI Sen, ZHANG Chenkang
(Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi, China)

Abstract: *Objective* To investigate the mechanism of Tripterygium wilfordii polysaccharides inducing pancreatic stem cell differentiation through stromal cell-derived factor-1(SDF-1)/CXC chemokine receptor-4(CXCR4) axis. *Methods* Primary pancreatic stem cells were prepared from pancreatic tissue from Kunming mice on day 4 of neonatal birth. The immunohistochemistry method was used to identify the pancreatic stem cells. Islet β cells were identified by dithiazone(DTZ) staining. An inverted fluorescence microscope was used to photograph and record the cells at various cultivation time points. The release of SDF-1 from cells were detected at various administration time points by using enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). The relative mRNA expression levels of SDF-1 and CXCR4 in each group were detected by real-time fluorescence quantitative PCR (qPCR) technology. The expression levels of SDF-1 and CXCR4 proteins in each group were detected by Western blot assay (WB). *Results* The cells obtained was Nestin positive and Brownish-yellow were identified by immunohistochemistry method. DTZ staining was positive, and the number of positive stained cells in the treatment group was significantly higher than that in the control group($P<0.05$). The release of SDF-1 from the control group cells remained relatively stable, while the release of SDF-1 from the experimental group cells gradually increased over time and reached its peak on the 26th day. Subsequently, the release of SDF-1 gradually decreased over time. The relative mRNA expression levels of SDF-1 and CXCR4 in the experimental group cells were significantly higher than those in the control group cells detected by qPCR technology($P<0.05$). The ex-

基金项目:国家自然科学基金项目(82260861);广西一流学科建设开放课题(2019XK137);广西一流学科建设项目重点课题(2018XK023,2018XK024);广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2021KY0291);广西中医药大学桂派杏林拔尖人才项目(2022C002);广西中医药大学桂派中医药传承创新团队资助项目(2022B004);广西中医药大学校级重点硕士研究生科研创新项目(YCSZ2022003);广西中医药大学大学生创新创业训练计划项 目(202210600017,202010600018);广西中医药大学校级科研项目(2019MS001)

作者简介:贾微(1982-),男,辽宁沈阳人,教授,硕士,研究方向:中草药防治相关疾病的应用基础及症候研究。
通讯作者:岑妍慧(1980),女,广西北海人,教授,博士,研究方向:中草药防治相关疾病的应用基础。
刘鑫(1993-),女,河北石家庄人,硕士研究生,研究方向:中草药防治相关疾病的应用基础。E-mail:liuxinmedicine@163.com。

pression levels of SDF - 1 and CXCR4 proteins in the experimental group cells were significantly higher than those in the control group cells by WB($P < 0.05$). *Conclusion* Tripterygium wilfordii polysaccharides can induce pancreatic stem cell differentiation through the SDF - 1/CXCR4 axis.

Keywords: Tripterygium wilfordii polysaccharides; pancreatic stem cell; stromal cell derived factor - 1; CXC chemokine receptor - 4

糖尿病是一种由自身免疫功能代谢紊乱、遗传等因素作用于机体导致胰腺释放胰岛功能减退或胰岛素抵抗而引起的体内代谢失调、血糖升高的状态。虽然注射胰岛素对于糖尿病的治疗具有一定疗效,但是若想治愈糖尿病只能通过胰腺或者胰岛的移植,可由于移植供体的缺乏、移植手术所造成的创伤,以及移植后的长期免疫抑制治疗所引起的排斥、感染或者后遗症等各类不良反应[1],使得此类疗法临床广泛应用和推广的难度相对较大。随着近年来对于干细胞的研究的兴起,人们将治愈糖尿病的希望转向了胰腺干细胞,并且已经有研究证实了胰腺干细胞的存在,在一定条件下可以将其诱导分化为胰岛细胞[2-10]。胰腺干细胞具有干细胞特有的快速增殖和分化潜能,但是分化过程不涉及横向分化的问题,在体外对胰腺干细胞进行特定条件下的诱导分化,可以得到大量的胰岛细胞;不仅如此,利用自身胰腺干细胞进行分化得到的胰岛细胞,可以有效地避免异体移植所产生的免疫排斥反应[8-10],所以诸多优点使诱导胰腺干细胞分化为胰岛细胞进而治疗糖尿病成为了突破糖尿病的新方向。

雷公藤泛指卫矛科雷公藤属植物,味苦、辛,性凉,归肝、心、肾、胃四经,具有清热解毒、祛风除湿、消肿止痛、杀虫止痒、舒筋通络及活血化瘀等功效[11-12]。在中医学理论中,活血化瘀具有"祛瘀血"和"生新"两方面的作用,一方面通过祛瘀、去腐、化旧等方法来祛除瘀血等病理产物,另一方面通过生新方法来生新脉、生新血、生新物,二者相辅相成[13-14]。有研究表明,活血化瘀方药的活血化瘀功效可以通过改善局部微环境,提高干细胞的存活率,促进其增殖分化[14]。本课题组前期研究发现,雷公藤多糖在特定条件下可以诱导胰腺干细胞定向分化为胰岛 β 细胞[15]。但是该诱导分化机制尚不明确。

研究表明,趋化因子基质细胞衍生因子 1(SDF - 1)及其受体 CXC 型趋化因子受体 4(CXCR4)组成的生物轴与多种信号通路有着密切的联系,因此其与细胞多项生理功能密切相关[16-24]。研究发现,SDF - 1/CXCR4 轴可以在造血干细胞、内皮祖细胞和骨髓间充质干细胞等多种干/祖细胞的存活、增殖、动员、迁移和黏附等过程中发挥重要作用,另外,SDF - 1 /CXCR4 生物轴对骨髓间充质干细胞的增殖、分化以及黏附具有促进作用[15-20]。基于这些研究发现,可以看出 SDF - 1/CXCR4 轴可以参与干细胞的增殖、迁移和黏附[21-23],而这些都是干细胞分化的重要前提,所以课题组认为在雷公藤多糖诱导胰腺干细胞分化的实验过程中,SDF - 1/CXCR4 轴可能也发挥了重要的作用。因此,本研究旨在探讨雷公藤多糖诱导胰腺干细胞分化的作用机制,以期为临床治疗糖尿病提供一定的参考价值。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级别昆明(KM)小鼠新生乳鼠,购自广西中医药大学动物实验中心。

1.2 试剂与仪器

雷公藤多糖(货号:A1918)四川省维克奇生物科技有限公司;低糖培养基(货号:C11885500BT) Gibico;胎牛血清(货号:13011 - 0311)北京四季青生物科技有限公司;青链霉素混合液(货号:P1400)北京索莱宝科技有限公司;胰酶(货号:S0001)江苏亲科生物研究中心有限公司;双硫腙(货号:D10227)北京沃凯生物科技有限公司;SDF - 1 酶联免疫吸附(Elisa)试剂盒(货号:RX202859M)睿信生物科技有限公司;实时荧光定量 PCR 试剂盒(货号:MQ00701S)莫纳生物技术有限公司;RNA 提取试剂盒(货号:MI20201S)莫纳生物技术有限公司;反转录试剂盒(货号:MR05101M)莫纳生物技术有限公司;SDF - 1 与 CXCR4 引物购于北京擎科生物科技有限公司;RIPA 裂解液(货号:)碧云天生物技术有限公司;SDF - 1 一抗(货号:A1303)、CXCR4 一抗(货号:A1325),ABclonal 公司; GAPDH(货号:GB15004),武汉赛维尔生物科技有限公司;羊抗兔二抗(货号:S0001)江苏亲科生物研究中心有限公司;全功能酶标仪(型号:Synergy H1)美国 Biotek Instruments, Inc;离心机(型号:ST 16R)赛默飞世尔科技公司;实时荧光定量 PCR 仪(型号:StepOnePlus) Applied Biosystems;基因扩增仪(型号:L96G)杭州朗基科学仪器有限公司;倒置相差显微镜(型号:CKX41)日本奥林巴斯公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 取新生第 4 天 KM 小鼠胰腺,PBS 浸泡清洗 2 ~ 3 遍,剪碎组织块至 1 mm^3 大小,加入 1 mL 胰酶消化 5 min,加入 2 倍体积的含胎牛血清(FBS)的低糖培养基终止消化,800 r/min,离心 5 min,弃去上清液,加入低糖培养基重悬,并接种于细胞培养瓶中,置 37 ℃、5% CO_2 及饱和湿度的恒温培养箱中培养 24 h,弃去上清,更换含 FBS 的低糖培养基,每隔 48 h 进行换液。

1.3.2 胰腺干细胞鉴定 使用倒置相差显微镜观察细胞的形态学特征,并进行拍照记录;取培养第 3 天的胰腺干细胞进行免疫组化实验鉴定。免疫组化前 1 d,将分离到的胰腺干细胞传至 24 孔板中。待细胞长至 50% 后,用兔抗 Nestin 作为一抗,通用性生物素标记羊抗小鼠 IgG 作为二抗进行免疫组化染色分析,具体操作按照 Histostain TM - Plus Kits 操作程序进行常规免疫组化染色。

1.3.3 细胞分组及处理 将细胞分为对照组和实验组,对照组常规培养细胞,每 48 h 更换含 10% FBS 的低糖培养基,实验组每 48 h 更换含 5% 雷公藤多糖[20] 及 10% FBS 的低糖培养基。

1.3.4 取培养 6 d 的细胞使用双硫腙(DTZ)染色法鉴定胰岛 β 细胞 DTZ 10 mg 溶于 3 mL 无水乙醇,加 Hanks 液 12 mL,此为储存液,临用时用 Hanks 液(pH 7.8)1∶100 稀释,0.22

μm 孔径滤膜过滤,滴入各组细胞,室温 10 min 后,镜检。倒置相差显微镜对各组细胞每 48 h 进行观察拍照并记录。

1.3.5 使用酶联免疫吸附(ELISA)法检测细胞各给药时间点 SDF-1 释放量 取对照组和实验组第 0、2、4、6、8……42 d 的细胞培养基,4000 r/min 离心 20 min,收集上清液,按 Elisa 试剂盒说明书进行操作,在酶标仪上测出 OD 值,并对数据进行统计学分析。

1.3.6 使用实时荧光定量 PCR(qPCR)技术检测各组细胞 SDF-1 和 CXCR4 的相对 mRNA 表达量 用 Monzol 试剂提取各组细胞的总 RNA。以 RNA 为模板反转录为 cDNA 后,使用 qPCR 技术检测各组细胞中 SDF-1 和 CXCR4 的 mRNA 水平,内参为 GAPDH。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算各组细胞中 SDF-1、CXCR4 mRNA 的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因名称	上游引物	下游引物
SDF-1	5′-AATCCTCAACACTCCAAACT-3′	5′-CTCTTCTTCTGTCGCTTCT-3′
CXCR4	5′-GAGACTATGACTCCAACAAGG-3′	5′-ATGACCAGGATCACCAAT-3′
GAPDH	5′-AGGTTGTCTCCTGCGACTTCA-3′	5′-GGGTGGTCCAGGGTTTCTTA-3′

1.3.7 使用蛋白免疫印迹试验(WB)检测各组细胞 SDF-1 和 CXCR4 蛋白表达量 提取各组细胞总蛋白,对蛋白进行定量、电泳分离。转 PVDF 膜后室温条件下封闭 2 h,最后再分别加 SDF-1(1∶500)、CXCR4(1∶500)、GAPDH(1∶500)一抗,4 ℃孵育过夜,加入二抗(1∶1000),37 ℃孵育 1 h。ECL 试剂显影,使用 Image J 软件分析各个蛋白条带灰度值,以 GAPDH 为内参,计算 SDF-1、CXCR4 蛋白水平。

1.4 统计学处理

实验数据使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较行 t 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺干细胞鉴定

胰腺干细胞贴壁生长,呈现出明显的分裂和生长状态,并很快形成一个大的群体,这些细胞大而圆,单核,核质比高,具有强烈的细胞质折射,以及很强的增殖能力(插页Ⅲ图 1)。使用免疫组化法鉴定所培养的细胞 Nestin 阳性、呈棕黄色(插页Ⅲ图 2)。

2.2 DTZ 染色结果

对照组与实验组经 DTZ 染色后均出现棕红色阳性,且实验组阳性染色细胞数量明显高于对照组(插页Ⅳ图 3)。

2.3 倒置相差显微镜结果

观察对照组和实验组两组细胞的观察记录,各组细胞随着培养时间的迁移均出现增殖、分化、集聚现象,相比于对照组细胞,实验组细胞生长状态更为显著(插页Ⅳ-Ⅴ图 4)。

2.4 细胞 SDF-1 释放量

对照组细胞 SDF-1 释放量变化不大($P>0.05$),实验组细胞 SDF-1 释放量在第 0~10 天变化不大,与对照组细胞上清液中的 SDF-1 释放量没有明显差距($P>0.05$);在第 10~26 天,SDF-1 释放量随着时间的增加而逐步上升,在第 26 天达到峰值,随后在第 26~42 天,SDF-1 释放量随着时间的增加而逐步下降,且在第 12~40 天,实验组与对照组细胞上清液中的 SDF-1 释放量的差值先逐步上升后逐步下降,该差值具有统计学意义($P<0.05$);在第 42~46 天,对照组与实验组细胞上清液中的 SDF-1 释放量没有明显差距($P>0.05$)(插页Ⅵ图 5)。

2.5 细胞中 SDF-1、CXCR4 mRNA 水平

与对照组相比,实验组细胞中 SDF-1、CXCR4 的 mRNA 表达水平均明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)(表 2)。

表 2 各组细胞中 SDF-1、CXCR4 mRNA 水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SDF-1 mRNA	CXCR4 mRNA
对照组	6	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
实验组	6	14.15 ± 0.07	7.19 ± 0.09

2.6 细胞中 SDF-1、CXCR4 蛋白水平

与对照组相比,实验组细胞中 SDF-1、CXCR4 的蛋白表达量均明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)(图 6、表 3)。

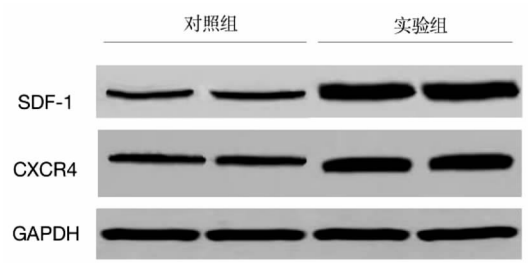


图 6 各组细胞中 SDF-1、CXCR4 蛋白印迹图

表 3 各组细胞中 SDF-1、CXCR4 蛋白水平的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SDF-1(/GAPDH)	CXCR4(/GAPDH)
对照组	6	0.49 ± 0.05	0.55 ± 0.07
实验组	6	1.86 ± 0.07	1.12 ± 0.09

3 讨论

糖尿病是一种全身性疾病,全球患病率居高不下[24]。胰岛移植为治愈糖尿病提供了新方向和方法。本课题组在前期研究中发现雷公藤多糖可以诱导胰腺干细胞分化为胰岛 β 细胞[15]。雷公藤具有活血化瘀的功效,中医理论认为活血化瘀具有“祛瘀”和“生新”两方面的作用,且两者相辅相成[13]。“祛瘀”是通过“活血”作用调节气血关系,维持脉道通利,既可以保证干细胞在血液中的顺利运行,让干细胞在迁移时通畅无阻,还可以修复受损组织的气血津液,促进干细胞增殖和分化;而“生新”则是指通过促进先天之精化生气血,推动血液运行,使得“瘀血祛而新血生”,机体“复其真气”,从而也推动干细胞的增殖、迁移和分化,最后达到气机通畅、脏腑调和的功效[25-26]。由此我们推测,雷公藤多糖可以通过雷公藤“活血化瘀”的功效,改善了胰腺干细胞所处的微环境,最终达到了促进胰腺干细胞增殖、迁移和分化的作用,这也体现了《黄帝内经》中“疏其气血,令其条达”的思想。

本研究通过免疫组化实验证实细胞的 Nestin 呈阳性:Nestin 是一种中间丝类型的高分子量蛋白,在未分化和具有增殖能力的细胞中表达,是神经干细胞和胰腺干细胞的分子标志物;且观察细胞发现大而圆且折光度高的胰腺干细胞会随着培养时间的增加不断进行增殖,与此同时还会沿着特定的方向迁移并逐步聚集成团,符合胰腺干细胞的细胞形态学特征及生理特性。由此可以确定本研究所使用的细胞正是胰腺干细胞。

除此之外,在对细胞进行形态学观察的过程中发现,相较于对照组,实验组随着给药时间的积累,细胞出现了更为明显地向某一方向大量迁移、聚集并变形分化,且在迁移过程中还出现了大量增殖的现象。有研究发现,SDF-1/CXCR4 轴可增强内皮细胞、肝癌细胞和 $CD34^+$ 细胞等多种细胞的趋化和黏附能力[21-23]。除此之外,SDF-1/CXCR4 轴还可以在造血干细胞、内皮祖细胞、骨髓间充质干细胞和心肌干细胞等多种干/祖细胞的存活、增殖、动员、迁移、黏附和分化等过程中发挥重要作用[16-20]。由此本课题组推测雷公藤多糖诱导胰腺干细胞分化的作用机制可能与 SDF-1/CXCR4 轴有关。

通过 Elisa 实验发现,在第 10~42 天,实验组细胞上清液中的 SDF-1 释放量随着细胞培养天数的增加先上升后下降,而对照组细胞的 SDF-1 释放量在全程变化不大($P>0.05$),且实验组 SDF-1 释放量明显高于对照组($P<0.05$)。结合 qPCR 实验和 WB 实验发现实验组的 SDF-1 和 CXCR4 的 mRNA 含量以及蛋白表达量均明显高于对照组。由此可见,雷公藤多糖在诱导胰腺干细胞分化的过程中激活了 SDF-1/CXCR4 信号通路,进而刺激了细胞大量释放 SDF-1,并且激发了 SDF-1/CXCR4 信号轴中的相关分子 SDF-1 和 CXCR4 表达增强。DTZ 实验证实了实验组分化出的胰岛 β 细胞明显高于对照组,由此可以进一步推断 SDF-1/CXCR4 通路表达增强可以促进胰腺干细胞定向分化为胰岛 β 细胞。

综上所述,雷公藤多糖可以通过激活 SDF-1/CXCR4 信号通路进而促进胰腺干细胞分化为胰岛 β 细胞。本研究为体外获取大量胰岛 β 细胞,从而用以移植治疗糖尿病提供了新的思路与方法。但是本研究仅仅验证了 SDF-1/CXCR4 轴在雷公藤多糖促进胰腺干细胞分化过程中的作用,但是 SDF-1/CXCR4 轴与雷公藤多糖促进胰腺干细胞分化过程中出现的细胞增殖、迁移、黏附、归巢等生理活动的具体相关关系尚未进行论证,并且对其他靶点、通路途径也未进行验证,仍有不足之处。在后续的研究中,将会进一步探索和完善雷公藤多糖促进胰腺干细胞分化的作用机制以及 SDF-1/CXCR4 轴对雷公藤多糖促进胰腺干细胞分化的具体作用与影响。

参考文献

[1] SCHMIED B M, LIU G, MATSUZAKI H, et al. Differentiation of islet cells in long-term culture[J]. Pancreas, 2000, 20(4): 337-347.
[2] 陈维平, 岑妍慧, 叶健, 等. 昆明小鼠胰腺干细胞分离培养及特异性标志物巢蛋白的鉴定[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(7): 1282-1283, 封3.
[3] 岑妍慧, 何国珍, 黄波, 等. 新生昆明小鼠胰腺干细胞体外分离、培养及自然分化的潜能[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(6): 1019-1023.
[4] 王海林, 戴睿武. 胰腺干细胞组织来源与分子标记物的研究进展[J]. 肝胆外科杂志, 2017, 25(6): 477-480.
[5] 刘智伟,张冲,王进,等. 胰腺干细胞和胰岛细胞在糖尿病大鼠治疗中的疗效观察[J]. 中国现代医学杂志,2020,30(6):1-8.
[6] CHEN B, WANG L, HU S Y, et al. Would pancreas duct-epithelium-derived stem/progenitor cells enhance islet allograft survival by means of islets recruitment and tolerance induction in Edmonton protocol era? [J]. Med Hypotheses, 2008, 70(3): 661-664.
[7] THATAVA T, KUDVA Y C, EDUKULLA R, et al. Intrapatient variations in type 1 diabetes-specific iPS cell differentiation into insulin-producing cells[J]. Mol Ther, 2013, 21(1): 228-239.
[8] QADIR MMF, ÁLVAREZ-CUBELA S, KLEIN D, et al. P2RY1/ALK3-expressing cells within the adult human exocrine pancreas are BMP-7 expandable and exhibit progenitor-like characteristics[J]. Cell Rep, 2018, 22(9): 2408-2420.
[9] 岑妍慧. 小鼠胰腺干细胞在胎鼠成纤维细胞饲养层条件下的体外连续传代培养[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(40): 7964-7968.
[10] CEN Y H, YANG R, JIA W, et al. Establishment and identification of pancreatic stem cell strain derived from islets of Kunming mice under feeder layer conditions[J]. Chinese journal of tissue engineering research, 2017, 21(13): 2087-2092.
[11] 赵国平, 戴慎, 陈仁寿. 中药大辞典[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 3459-3465.
[12] 康冰亚, 赵熙婷, 杨亚蕾, 等. 雷公藤的药理作用及临床应用[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(6): 102-106.
[13] 张金生, 张宝霞, 朱慧芳, 等. 干细胞、微环境与活血化瘀[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(23): 3484-3490.
[14] 张金生, 张宝霞, 杜梅梅, 等. 体外心肌微环境下益气活血化瘀方药诱导骨髓间充质干细胞向心肌样细胞分化的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(2): 106-112.
[15] 岑妍慧, 李中华, 贾微, 等. 雷公藤多糖诱导胰腺干细胞成胰岛样细胞团(英文)[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(5): 729-735.
[16] 王逵. SDF-1α/CXCR4 轴对心肌干细胞迁移及归巢修复心肌的影响[D]. 重庆: 第三军医大学, 2013.
[17] 程明秀, 赵宗江, 田晨, 等. 补肾益髓生血法 AA 大鼠含药血清对 BMSCs 与 BMNCs 共培养 BMNCs 增殖分化及 SDF-1/CXCR4/PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(8): 2877-2881, 前插 1.
[18] 王志红, 林芸, 叶海燕, 等. 过表达 CXCR4 促进小鼠骨髓间充质干细胞的归巢和增殖[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2019, 35(5): 393-398.
[19] 段亚妮, 木拉提·阿比来列提, 朱雁秋, 等. LncRNA Xist 通过调控 SDF-1/CXCR4 轴促进大鼠骨髓间充质干细胞增殖与迁移[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2020, 41(1): 37-43.
[20] 黄钟炼, 罗绍伟, 林海明, 等. SDF-1/CXCR4 介导体外冲击波促进大鼠骨髓间充质干细胞的黏附、迁移作用[J]. 颈腰痛杂志, 2019, 40(6): 721-726.
[21] 李桥川, 李云涛, 孟恒星, 等. 基质细胞衍生因子-1 和血小板第 4 因子对体外扩增后脐血 $CD34^+$ 细胞黏附特性和趋化功能的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2006, 14(1): 83-88.
[22] 邹杰. SDF-1/CXCR7 在 ox-LDL 诱导单核细胞迁移及粘附中的作用研究[D]. 成都: 成都医学院, 2015.
[23] 王灵巧, 蔡绍晢, 戴小珍. CXCR7/SDF-1 对肝癌细胞 HepG2 增殖、迁移和黏附作用的影响[J]. 生命科学研究, 2010, 14(2): 100-105.
[24] GRECO N, LAUGHLIN M J. Umbilical cord blood stem cells for myocardial repair and regeneration[J]. Methods Mol Biol, 2010, 660: 29-52.
[25] 张金生, 张宝霞. 三论活血化瘀治法理论——"干细胞循环理论"与"活血化瘀治法理论"研究相关性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 248-251.
[26] 张进, 徐志伟, 史亚飞, 等. 基于干细胞的"脏腑之精"理论内涵研究[J]. 中医杂志, 2012, 53(5): 364-367.

基于 SDF－1/ CXCR4 轴探讨雷公藤多糖诱导胰腺干细胞分化的机制研究

（正文见 25－28 页）

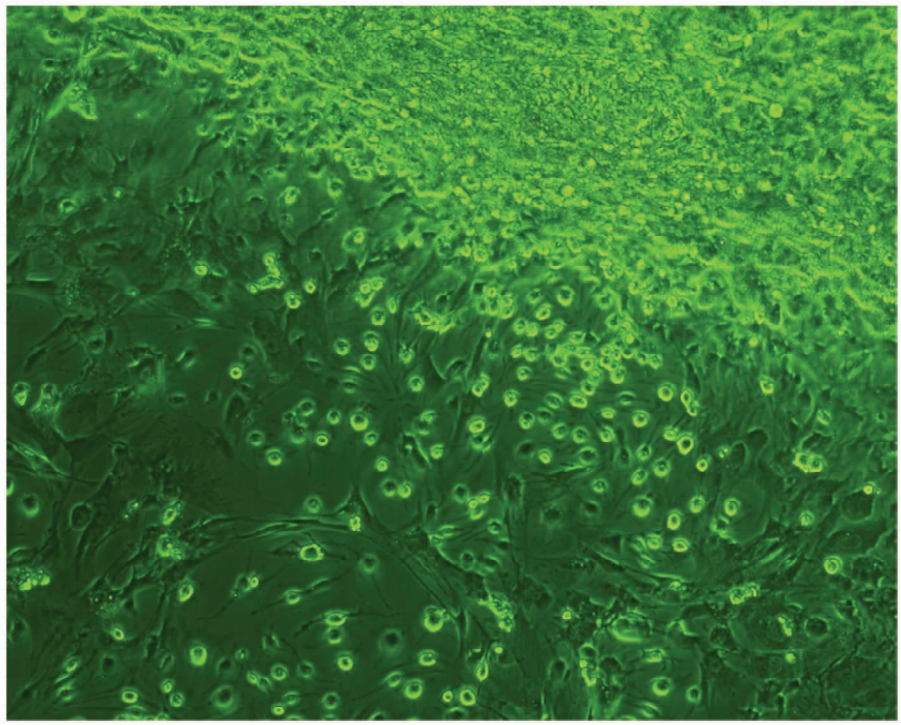


图 1　常规培养 3 d 的胰腺干细胞

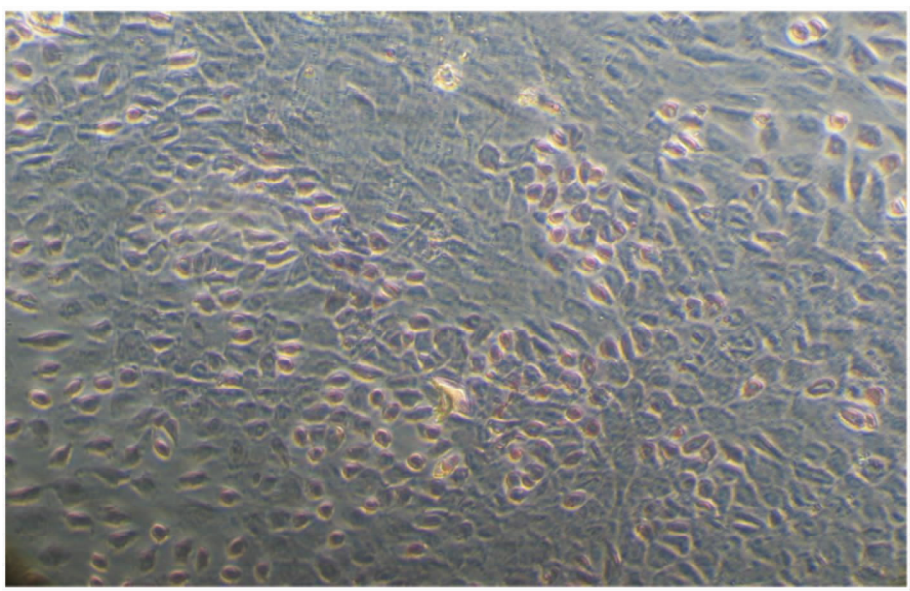
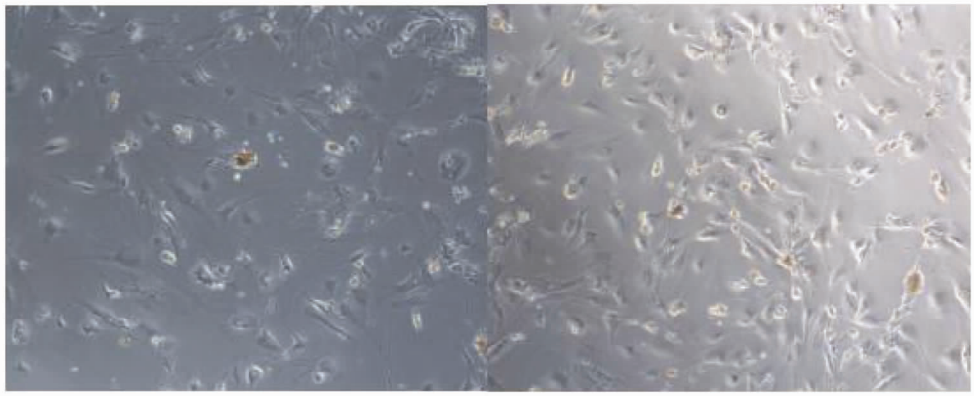
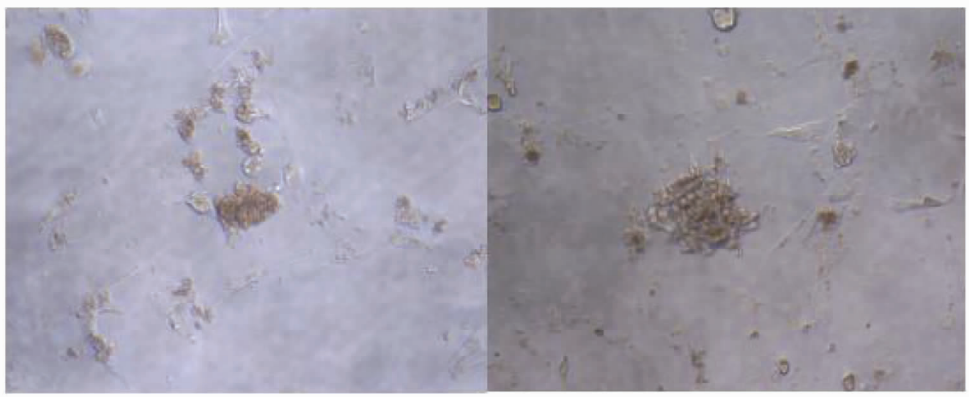


图 2　经免疫组化鉴定胰腺干细胞细胞质呈棕黄色染色

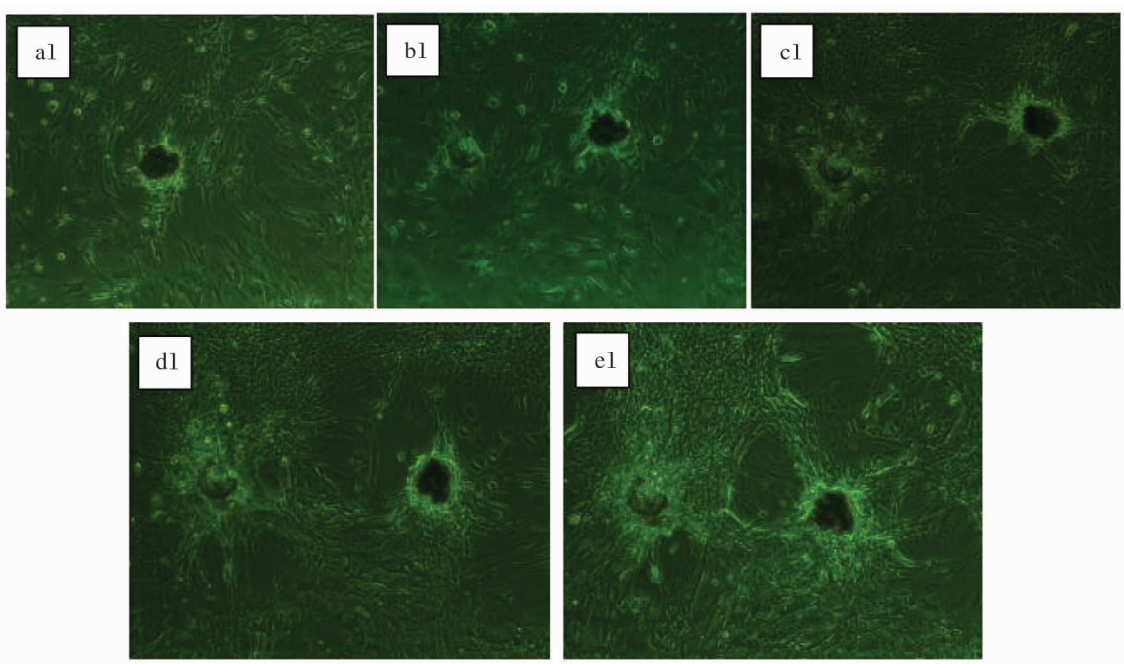


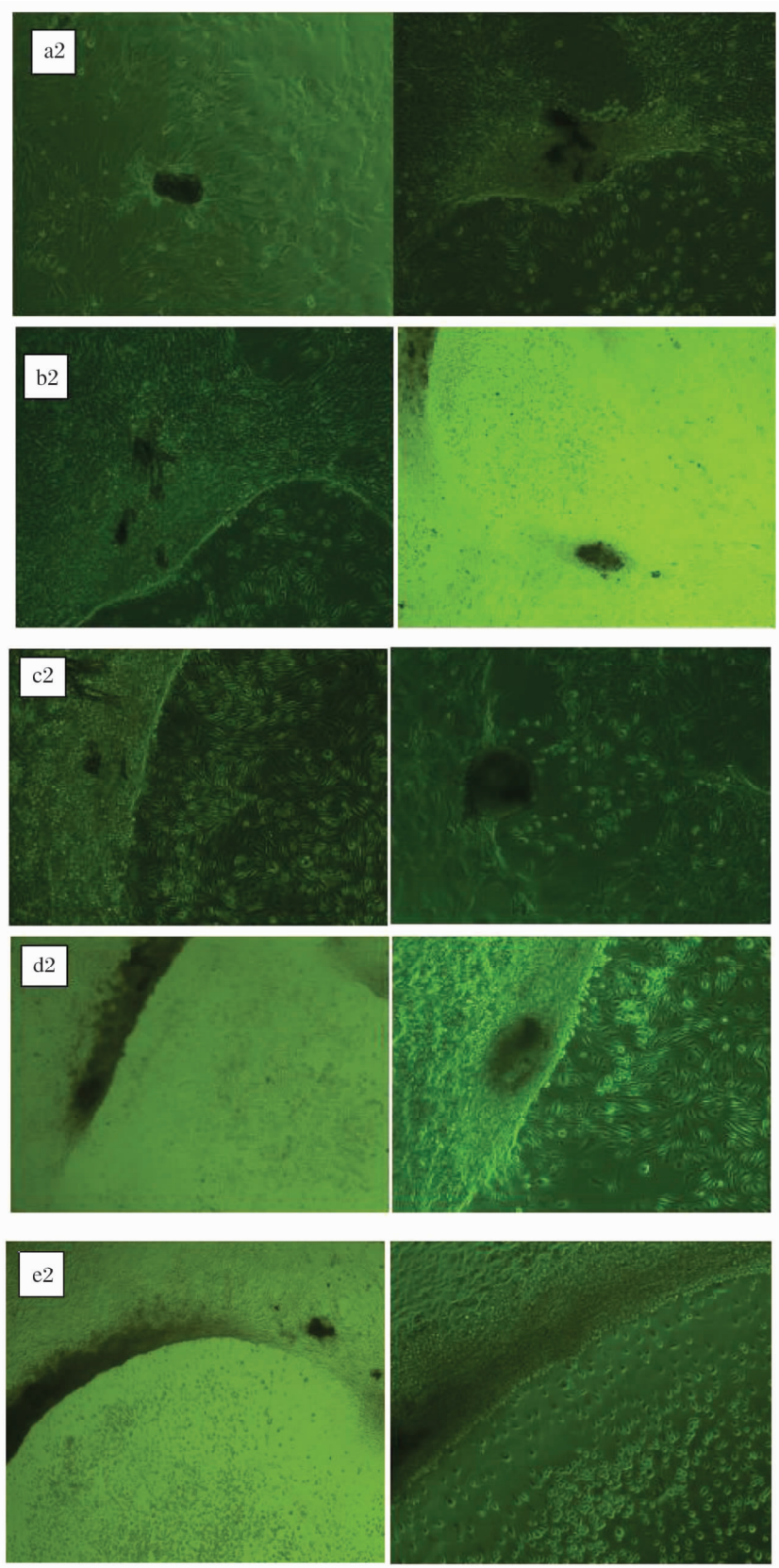
A 对照组细胞



B 实验组细胞

图 3 经 DTZ 染色后各组细胞均出现阳性反应





注：对照组：a1：培养 2 d、b1：培养 4 d、c1：培养 6 d、d1：培养 8 d、e1：培养 10 d；实验组：a2：培养 2 d、b2：培养 4 d、c2：培养 6 d、d2：培养 8 d、e2：培养 10 d。

图 4　倒置相差显微镜结果