极度低氧条件下基质细胞衍生因子-1α过表达对间充质干细胞迁移的影响

王 辉[1] 徐亮亮[2] 孙大明[2] 孟 一[2] 张成龙[1] 许海甲[1] 宁 宇[3] 李章华[1]
1.武汉大学同仁医院骨科,湖北武汉 430000;2.武汉体育学院研究生院,湖北武汉 430000;
3.湖北省襄阳市中医医院骨科,湖北襄阳 441000

[摘要] 目的 研究极度低氧条件下基质细胞衍生因子-1α(SDF-1α)过表达对间充质干细胞(MSCs)迁移的影响。方法 将来源于两只普通级雄性日本大耳白兔[2 周龄,体重(250±30)g]的 MSCs 分为空白组(不进行干预),AMD3100 组[加入 SDF-1α 受体(CXCR4)特异性抑制剂 AMD3100],SDF-1α 腺病毒(Ad-SDF-1α)组(进行 Ad-SDF-1α 转染)和 Ad-SDF-1α+AMD3100 组(进行 Ad-SDF-1α 转染并添加 AMD3100)。四组在极度低氧(1%)条件下培养 48 h,通过 Transwell 实验检测其迁移能力,采用实时荧光定量 PCR 及 Western blot 检测迁移信号轴缺氧诱导因子-1(HIF-1α)、血管内皮生长因子(VEGF)、CXCR4 的 mRNA 及蛋白表达情况。结果 MSCs 贴壁后为梭形、多角形,呈克隆式生长,Ad-SDF-1α 转染后可观察到均一且明亮的绿色荧光。AMD3100 组光密度(*OD*)值低于空白组,Ad-SDF-1α 组 *OD* 值高于空白组,Ad-SDF-1α+AMD3100 组 *OD* 值高于 AMD3100 组且低于 Ad-SDF-1α 组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。AMD3100 组 VEGF、CXCR4 mRNA 表达低于空白组,Ad-SDF-1α 组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 mRNA 表达均高于空白组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。Ad-SDF-1α+AMD3100 组 VEGF、CXCR4 mRNA 表达均高于 AMD3100 组,HIF-1α、VEGF、CXCR4 mRNA 表达均低于 Ad-SDF-1α 组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。AMD3100 组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达低于空白组,Ad-SDF-1α 组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达均高于空白组,Ad-SDF-1α+AMD3100 组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达均高于 AMD3100 组且均低于 Ad-SDF-1α 组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 极度低氧条件下 SDF-1α 过表达仍可促进 MSCs 迁移,并一定程度上可逆转 AMD3100 的抑制效应。

[关键词] 极度低氧;间充质干细胞;基质细胞衍生因子-1α;迁移
[中图分类号] R318 [文献标识码] A [文章编号] 1673-7210(2022)06(a)-0005-06

Effects of stromal cell-derived factor-1α overexpression on migration of mesenchymal stem cells under extreme hypoxia

WANG Hui[1] *XU Liangliang*[2] *SUN Daming*[2] *MENG Yi*[2] *ZHANG Chenglong*[1] *XU Haijia*[1] *NING Yu*[3] *LI Zhanghua*[1]
1.Department of Orthopaedics, Tongren Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430000, China; 2.Graduate School, Wuhan Sports University, Hubei Province, Wuhan 430000, China; 3.Department of Orthopaedics, Xiangyang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hubei Province, Xiangyang 441000, China

[Abstract] Objective To investigate the effects of stromal cell-derived factor-1α (SDF-1α) overexpression on migration of mesenchymal stem cells (MSCs) under extreme hypoxia. **Methods** MSCs derived from two normal male Japanese white rabbits (two weeks of age, body weight [250±30] g) were divided into blank group (no intervention), AMD3100 group (added CXC subfamily receptor 4 [CXCR4] specific inhibitor AMD3100), SDF-1α adenovirus (Ad-SDF-1α) group (Ad-SDF-1α transfected), and Ad-SDF-1α+AMD3100 group (Ad-SDF-1α transfected and added AMD3100). The four groups were cultured under extreme hypoxia (1%) for 48 h, and the changes of migration ability were detected by Transwell

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81472103);湖北省自然科学基金项目(2020CFB369);湖北省卫生健康委面上项目(WJ2021M010);湖北省武汉市医学科研项目(WX18M01、WX20D91);湖北省武汉市科技局应用基础前沿项目(2019020701011471);湖北省襄阳市科技局医疗卫生领域科技计划项目(2020YL25)。

[作者简介] 王辉(1995.8-),男,武汉大学第二临床学院 2019 级骨科专业在读硕士研究生;研究方向:股骨头坏死的发生机制与基因治疗。
[通讯作者] 李章华(1973.7-),男,博士,教授,主任医师,硕士生导师;研究方向:股骨头坏死的发生机制与基因治疗。

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

experiment. The mRNA and protein expressions of HIF-1α, vascular endothelial growth factor (VEGF), and CXCR4 were detected by real-time quantitative PCR and Western blot. **Results** MSCs adhered to the wall in spindle and polygonal shape, and showed clonal growth. Uniform and bright green fluorescence could be observed after transfection with Ad-SDF-1α. The optical density (*OD*) value of AMD3100 group was lower than that of blank group, *OD* value of Ad-SDF-1α group was higher than that of blank group, *OD* value of Ad-SDF-1α+AMD3100 group was higher than that of AMD3100 group and lower than that of Ad-SDF-1α group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The mRNA expressions of VEGF and CXCR4 in AMD3100 group were lower than those in blank group, while the mRNA expressions of HIF-1α, VEGF, and CXCR4 in Ad-SDF-1α group were higher than those in blank group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The mRNA expressions of VEGF and CXCR4 in Ad-SDF-1α+AMD3100 group were higher than those in AMD3100 group, while the mRNA expressions of HIF-1α, VEGF, and CXCR4 were lower than those in Ad-SDF-1α group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The protein expressions of HIF-1α, VEGF, and CXCR4 in AMD3100 group were lower than those in blank group, while the protein expressions of HIF-1α, VEGF, and CXCR4 in Ad-SDF-1α group were higher than those in blank group, the protein expressions of HIF-1α, VEGF, and CXCR4 in Ad-SDF-1α+AMD3100 group were higher than those in AMD3100 group and lower than those in Ad-SDF-1α group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** SDF-1α overexpression can still promote MSCs migration under extreme hypoxia, and reverse the inhibitory effect of AMD3100 to some extent.

[Key words] Extreme hypoxia; Mesenchymal stem cells; Stromal cell-derived factor-1α; Migration

目前临床研究表明，组织坏死常伴有缺血缺氧环境形成，如缺血性股骨头坏死局部氧分压可降至1%~2%，甚至无氧，导致骨再生效果降低[1-3]。间充质干细胞（mesenchymal stem cells，MSCs）因有多向分化潜能，而在细胞移植方面备受关注。本课题组前期实验证实，静脉移植的MSCs可向股骨头坏死区迁移、存活及增殖[4]。但此种方法需要大量纯度高、活性强的MSCs，且需要多次移植，这些或与局部低氧、趋化因子表达不足有关。因此，提高MSCs归巢能力、增加局部MSCs数量逐渐成为研究的方向。基质细胞衍生因子-1α（stromal cell-derived factor-1α，SDF-1α）是趋化因子CXC亚家族的一员，主要通过与其受体4（CXC subfamily receptor 4，CXCR4）结合促进细胞迁移[5-8]。研究表明，低氧环境会导致缺氧诱导因子-1α（hypoxia inducible factor-1α，HIF-1α）分解受阻而发生富集，富集的HIF-1α进而激活下游SDF-1α蛋白，提高CXCR4的表达并促进细胞迁移[9-10]。Wang等[11]发现，SDF-1和血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）表达水平更高的M2型巨噬细胞比M1型巨噬细胞对骨髓源性细胞的募集作用更强，且能新生更多血管。之前，本课题组证实在常氧环境下，过表达SDF-1α可通过HIF-1α/VEGF/SDF-1α/CXCR4信号轴促进MSCs迁移[12]，但该研究主要在常氧下进行，目前临床在极度低氧条件下进行的研究尚不多见。因此，本研究旨在观察极度低氧条件下SDF-1α过表达对MSCs迁移的影响，为改善MSCs体内移植提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

MSCM培养基（Sciencell，美国，7501）；RNA提取试剂盒（OMEGA，美国，R693401）；逆转录试剂盒及实时荧光定量PCR试剂盒（TOYOBO，日本，QPK-201）；引物均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成；Lipofectamin TM 2000（Invitrogen，美国，2145903）；AMD3100（Sigma，德国，A5602）；Transwell小室（Corning，美国，35022254）；SDF-1α腺病毒（SDF-1α adenovirus，Ad-SDF-1α）由吉凯基因（上海）有限公司制作；HIF-1α单克隆抗体（abcam，美国，179483）；VEGF单克隆抗体（碧云天，中国，AF0312）；CXCR4单克隆抗体（NOVUS，美国，10074396）；CO_2培养箱（Thermo Fisher，美国，311）；实时荧光定量PCR仪器（BIORAD，美国，788BR06733）；荧光倒置显微镜（Leica，德国，D35578）；酶标仪（Molecular，美国，301-2431241）。

1.2 实验方法

1.2.1 MSCs培养及转染　普通级雄性日本大耳白兔两只，两周龄，体重（250±30）g，合格证号：420100000053 84，由武汉市万千佳兴生物科技有限公司提供[SCXK（鄂）2016-0011]，独笼饲养，自由饮水，温度控制在（25±1）℃，湿度控制在40%~70%，每日观察其生活及精神状态，定期打扫卫生，保持饲养环境清洁。所有动物实验均遵循实验动物护理和使用指南，所有动物实验均在武汉大学同仁医院进行，均经武汉大学同仁医院伦理委员会批准（伦理批号：SY2019-025）。

按课题组前期方法分离、培养MSCs[13]。将第三代

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

MSCs 计数后以 2×10^5/孔密度接种于 6 孔板，分为四组：①空白组，不进行干预；②AMD3100 组，加入 CXCR4 特异性抑制剂 AMD3100 并使其终浓度为 60 μmol/L；③Ad-SDF-1α 组，将 Ad-SDF-1α 溶于无血清培养基后以感染复数为 60 MOI 对 MSCs 进行转染，转染 6 h 后，将无血清培养基更换为 MSCM 培养基；④Ad-SDF-1α+AMD3100 组，将 Ad-SDF-1α 溶于无血清培养基后以感染复数为 60 MOI 对 MSCs 进行转染，同时加入 AMD3100。各组均在 37℃、5% CO_2、1% O_2 环境中培养 48 h，然后观察细胞状态，同时记录腺病毒转染效果。

1.2.2 Transwell 实验 将四组细胞采用 1×PBS 洗涤两遍并用无血清 L-DMEM 培养基稀释至浓度 1×10^5/ml，每组细胞取 200 μl 加入 Transwell 板的上室，用无血清培养基稀释 SDF-1α 蛋白，使其终浓度为 100 μg/L，取 500 μl 加入下室。在 37℃、5% CO_2、1% O_2 环境中孵育 12 h，擦去上室中未迁移的 MSCs，1×PBS 润洗两遍后多聚甲醛固定，0.1%结晶紫染色 10 min，1×PBS 洗去结晶紫，显微镜下观察并记录迁移的 MSCs，用 400 μl 33%冰醋酸溶解结晶紫，选择 565 nm 波长，酶标仪下检测光密度（optical density，*OD*）值。每组 3 个复孔。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 检测迁移信号轴 HIF-1α、VEGF、CXCR4 mRNA 表达 四组细胞培养完成后，1×PBS 洗涤两遍，根据 RNA 提取试剂盒说明书提取总 mRNA，各取 1 μg mRNA 进行逆转录获取 cDNA。引物设计，按照 NCBI GENE 查 HIF-1α、VEGF、CXCR4 及 GAPDH 基因序列，引物序列见表 1。PCR 体系各组分 SYBR MIX、上下游引物混合液及 cDNA 分别为 10、1、1 μl，加入 DEPC 水补至 20 μl，以 GAPDH 为内参。反应程序为 95℃预变性 60 s，95℃变性 15 s，72℃退火 15 s 及 60℃延伸 15 s，共 40 个循环，以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法得出 mRNA 表达量。

1.2.4 Western blot 检测迁移信号轴 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达 四组细胞培养完成后，1×PBS 洗涤两遍，加入 RIPA 蛋白裂解液，冰上裂解 30 min，蛋白浓度用 BCA 法定量，将蛋白与上样缓冲液以 4:1 比例混合，100℃煮 5 min，SDS-PAGE 电泳后 200 mA 恒流电转膜，用 5%脱脂奶粉封闭 1 h。分别加入 GAPDH 及 HIF-1α、VEGF、CXCR4 单克隆抗体，以 GAPDH 为内参，4℃摇床孵育过夜。TBST 洗膜后用二抗室温孵育 1 h，再次洗膜后加入显影剂，在 Biorad 化学发光系统显影。

表 1 引物序列

基因	正向引物	反向引物	大小(bp)
GAPDH	5'-TGGAATCCACTGGCGTCTTC-3'	5'-GGTTCACGCCCATCACAAAC-3'	20
HIF-1α	5'-CGACTTCCAGTTGCGTCCTTC-3'	5'-GGTGTTGGCGGCAGGTTCTTG-3'	20
VEGF	5'-GGCTGCTGCAATGATGAAAG-3'	5'-GTGCTGTAGGAAGCTCATCTC-3'	20
CXCR4	5'-TCGGTCCATGCCACTAACAGT-3'	5'-AGAGCAGGAATCCAGACACC-3'	20

注 HIF-1α：缺氧诱导因子-1α；VEGF：血管内皮生长因子；CXCR4：趋化因子 CXC 亚家族受体 4

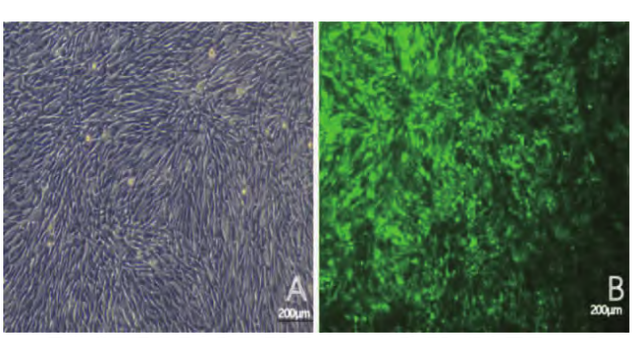
1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 对所得数据进行统计学分析，计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，比较采用 *t* 检验，多组计量资料比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MSCs 形态及 Ad-SDF-1α 转染效果观察

MSCs 贴壁后为梭形、多角形，呈克隆式生长，Ad-SDF-1α 转染后可观察到均一且明亮的绿色荧光。见图 1。



A：显微镜下观察间充质干细胞形态；B：基质细胞衍生因子-1α 腺病毒转染后荧光倒置显微镜下观察转染效果

图 1 间充质干细胞形态及基质细胞衍生因子-1α 腺病毒转染效果

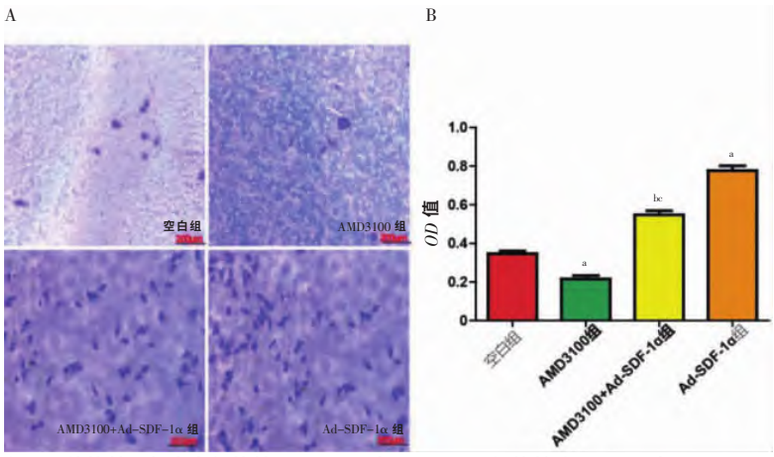
2.2 四组迁移情况比较

AMD3100 组 *OD* 值低于空白组，Ad-SDF-1α 组 *OD* 值高于空白组，Ad-SDF-1α+AMD3100 组 *OD* 值高于 AMD3100 组且低于 Ad-SDF-1α 组，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。见图 2。

2.3 四组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 mRNA 表达比较

AMD3100 组 VEGF、CXCR4 mRNA 的表达低于空白组，Ad-SDF-1α 组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 mRNA 表达均高于空白组，差异有统计学意义（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。Ad-SDF-1α+AMD3100 组 VEGF、CXCR4 mRNA 表达均高于 AMD3100 组，HIF-1α、VEGF、

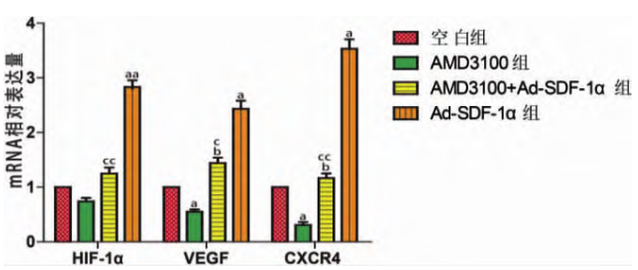
(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



A：四组结晶紫染色图；B：四组 *OD* 值比较。与空白组比较，$^{a}P < 0.05$；与 AMD3100 组比较，$^{b}P < 0.05$；与Ad-SDF-1α 组比较，$^{c}P < 0.05$。Ad-SDF-1α：基质细胞衍生因子-1α 腺病毒；*OD*：光密度

图 2　四组迁移情况比较（$n = 3$）

CXCR4 mRNA 表达均低于 Ad-SDF-1α 组，差异有统计学意义（$P < 0.05$ 或 $P < 0.01$）。见图 3。



与空白组比较，$^{a}P < 0.05$，$^{aa}P < 0.01$；与 AMD3100 组比较，$^{b}P < 0.05$；与 Ad-SDF-1α 组比较，$^{c}P < 0.05$，$^{cc}P < 0.01$。Ad-SDF-1α：基质细胞衍生因子-1α 腺病毒；HIF-1α：缺氧诱导因子-1α；VEGF：血管内皮生长因子；CXCR4：趋化因子 CXC 亚家族受体 4

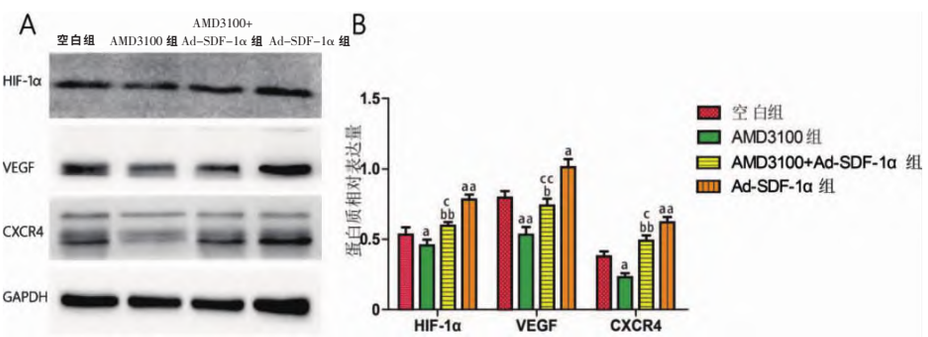
图 3　四组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 mRNA 表达比较（$n = 3$）

2.4 四组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达比较

AMD3100 组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达低于空白组，Ad-SDF-1α 组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达均高于空白组，差异有统计学意义，Ad-SDF-1α+AMD3100 组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达均高于 AMD3100 组且均低于 Ad-SDF-1α 组，差异有统计学意义（$P < 0.05$ 或 $P < 0.01$）。见图 4。

3 讨论

HIF-1α/VEGF/SDF-1α/CXCR4 轴对调节细胞迁移具有重要作用。HIF-1 是启动基因，由 HIF-1α 和 HIF-1β 两个亚基构成，其中 HIF-1α 是目前已知最重要的缺氧受体和缺氧诱导转录因子，HIF-1α 被激活后可以增加细胞在缺氧环境中生存能力，维持氧的内环境平衡，使机体适应缺氧，进而促进细胞黏附、迁移和血管生成[14-17]。当其被敲除或抑制后，细胞的迁移明显被抑制，SDF-1α 和 CXCR4 的 mRNA 和蛋白水平也显著降低[18]。研究发现，HIF-1α 并不是直接作用于细胞，当组织或器官缺氧时，HIF-1α 会与 HIF-1β 结合，并易位到细胞核中，与 VEGF 基因 5’侧翼区域的特定序列结合，激活 VEGF，促进血管形成[19-21]。VEGF 是一种约 40 kD 的二聚糖蛋白，作为一种高效的内皮细胞有丝分裂原，可刺激增殖、迁移和导管形成[22-23]。如 Hong 等[24]研究 VEGF 对肿瘤细胞的直接作用时发现，VEGF 除了可促进肿瘤细胞形成血管外，



A：四组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白条带图；B：四组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达比较。与空白组比较，$^{a}P < 0.05$，$^{aa}P < 0.01$；与 AMD3100 组比较，$^{b}P < 0.05$，$^{bb}P < 0.01$；与 Ad-SDF-1α 组比较，$^{c}P < 0.05$，$^{cc}P < 0.01$。Ad-SDF-1α：基质细胞衍生因子-1α 腺病毒；HIF-1α：缺氧诱导因子-1α；VEGF：血管内皮生长因子；CXCR4：趋化因子 CXC 亚家族受体 4

图 4　四组 HIF-1α、VEGF、CXCR4 蛋白表达比较（$n = 3$）

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

还可上调肿瘤细胞 SDF-1α 及 CXCR4 的表达，进而促进细胞转移。Lima 等[25]的研究也认为 VEGF 可招募 CXCR4 阳性细胞。VEGF 激活 SDF-1α 后，SDF-1α 可诱导 CXCR4 从细胞内部转移到细胞表面并与之结合，进而激活下游信号促进细胞迁移[26-27]。研究发现，SDF-1 及其受体 CXCR4 与 VEGF 的作用是相互的，在组织缺血缺氧区，SDF-1/CXCR4 可刺激 VEGF 的表达进而促进血管形成[28-29]。这些研究阐明了 SDF-1 对细胞迁移的重要性及基本作用原理。

MSCs 移植入体内时，决定治疗效果的关键在于 MSCs 向损伤或坏死区域定向归巢的数量及活性的维持[30]。目前，对低氧环境下 MSCs 分化能力的意见尚不统一。有研究认为低氧环境可抑制 MSCs 成骨活性，下调成骨因子表达[31-32]。也有研究发现，低氧利于 MSCs 成骨分化，随着缺氧时间进展，MSCs 中骨桥蛋白、骨钙素及碱性磷酸酶的表达增加，并上调 Col Ⅰ、Ⅲ表达，从而提高 MSCs 成骨效应[33-34]。因此增强低氧环境下 MSCs 归巢能力，提高归巢数量就显得很有必要。基于此目的，本研究将前期构建的 SDF-1α 腺病毒[35]转染入 MSCs，建立过表达 SDF-1α 细胞体系，并将MSCs 置于极度低氧环境培养以观察其迁移能力变化。Transwell 实验结果显示，Ad-SDF-1α 组 MSCs 迁移数目最多，AMD3100 组最少，Ad-SDF-1α 与 AMD3100 共同转染相对于 AMD3100 组有所提高，提示极度低氧条件下 SDF-1α 过表达可促进MSCs 迁移，并在一定程度上逆转 AMD3100 的抑制效应。另外，本研究在基因层面对迁移信号轴 HIF-1α、VEGF、CXCR4 进行了检测，结果显示 SDF-1α 过表达不仅可上调其受体 CXCR4 表达，同时可上调 HIF-1α、VEGF 表达，提示 SDF-1α 与 HIF-1α 及 VEGF 之间存在相互作用，共同促进 MSCs 的迁移，这与本课题组前期常氧下研究结果相符[12]。

综上所述，本研究提示，在极度低氧条件下 SDF-1α 过表达仍然具有促进 MSCs 迁移的能力，为优化 MSCs 体外移植提供参考。后续实验中，本课题组将通过体内实验及示踪技术，观察 SDF-1α 过表达后 MSCs 的治疗效果及其对循环中 MSCs 的影响。

[参考文献]

[1] Muinos-López E, Ripalda-Cemboráin P, López -Martínez T, *et al*. Hypoxia and Reactive Oxygen Species Homeostasis in Mesenchymal Progenitor Cells Define a Molecular Mechanism for Fracture Nonunion [J]. Stem Cells, 2016, 34(9): 2342-2353.

[2] Zhao H, Yeersheng R, Xia Y, *et al*. Hypoxia Enhanced Bone Regeneration Through the HIF-1α/β-Catenin Pathway in Femoral Head Osteonecrosis [J]. Am J Med Sci, 2021, 362(1): 78-91.

[3] Teh SW, Koh AE, Tong JB, *et al*. Hypoxia in Bone and Oxygen Releasing Biomaterials in Fracture Treatments Using Mesenchymal Stem Cell Therapy: A Review [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 634131.

[4] Li Z, Liao W, Zhao Q, *et al*. Angiogenesis and bone regeneration by allogeneic mesenchymal stem cell intravenous transplantation in rabbit model of avascular necrotic femoral head [J]. J Surg Res, 2013, 183(1): 193-203.

[5] Xiao LK, Peng L, Jian FZ, *et al*. Stromal Derived Factor-1/CXCR4 Axis Involved in Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Recruitment to Injured Liver [J]. Stem Cells Int, 2016, 2016: 8906945.

[6] Wang Y, Sun X, Lv J, *et al*. SDF-1 accelerates Cartilage Defect Repairing by Recruiting BMSCs and Promoting Chondrolgenic Differentiation [J]. Tissue Eng Part A, 2017, 23(19/20): 1160-1168.

[7] Jiang Q, Huang K, Lu F, *et al*. Modifying strategies for SDF-1/CXCR4 interaction during mesenchymal stem cell transplantation [J]. Gen Thorac Cardiovasc Surg, 2022, 70(1): 1-10.

[8] Ling L, Hou J, Liu D, *et al*. Important role of the SDF-1 / CXCR4 axis in the homing of systemically transplanted human amnion-derived mesenchymal stem cells (hAD-MSCs)to ovaries in rats with chemotherapy-induced premature ovarian insufficiency (POI) [J]. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 79.

[9] 陈惠军，杨廷桐.新生儿缺氧缺血性脑病血清中 miRNA-21 调控 HIF-1α 表达及临床意义[J].中国儿童保健杂志，2015，23(1)：32-34.

[10] Jang JW, Thuy PX, Lee JW, *et al*. CXCR4 promotes B cell viability by the cooperation of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 and hypoxia-inducible factor-1α under hypoxic conditions [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(4): 330.

[11] Wang Y, Chang T, Wu T, *et al*. M2 macrophages promote vasculogenesis during retinal neovascularization by regulating bone marrow-derived cells *via* SDF-1/VEGF [J]. Cell Tissue Res, 2020, 380(3): 469-486.

[12] 宁宇，刘想忠，许海甲，等.基质细胞衍生因子-1 对骨髓间充质干细胞迁移能力及其信号轴的影响[J].军事医学，2018，42(7)：522-527.

[13] Li ZH, Liao W, Cui XL, *et al*. Intravenous transplantation of allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells and its directional migration to the necrotic femoral head [J]. Int J Med Sci, 2011, 8(1): 74-83.

[14] Tirpe AA, Gulei D, Ciortea SM, *et al*. Hypoxia; Overview

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

on Hypoxia-Mediated Mechanisms with a Focus on the Role of HIF Genes [J]. Int J Mol Sci,2019,20(24):6140.

[15] Kim A,Ma JY. Rhaponticin decreases the metastatic and angiogenic abilities of cancer cells via suppression of the HIF-1α pathway [J]. Int J Oncol,2018,53(3):1160-1170.

[16] Ikeda H,Kakeya H. Targeting hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1)signaling with natural products toward cancer chemotherapy [J]. J Antibiot(Tokyo),2021,74(10):687-695.

[17] You L,Wu W,Wang X,*et al*. The role of hypoxia-inducible factor 1 in tumor immune evasion [J]. Med Res Rev,2021,41(3):1622-1643.

[18] Xue Y,Li Z,Wang Y,*et al*. Role of the HIF-1α / SDF-1 / CXCR4 signaling axis in accelerated fracture healing after craniocerebral injury [J]. Mol Med Rep,2020,22(4):2767-2774.

[19] Penn JS,Madan A,Caldwell RB,*et al*. Vascular endothelial growth factor in eye disease [J]. Prog Retin Eye Res,2008,27(4):331-371.

[20] Zhang D,Lv FL,Wang GH. Effects of HIF-1α on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2018,22(16):5071-5076.

[21] Huang YH,Kuo CH,Peng IC,*et al*. Recombinant thrombomodulin domain 1 rescues pathological angiogenesis by inhibition of HIF-1α-VEGF pathway [J]. Cell Mol Life Sci,2021,78(23):7681-7692.

[22] Wheeler KC,Jena MK,Pradhan BS,*et al*. VEGF may contribute to macrophage recruitment and M2 polarization in the decidua [J]. PLoS One,2018,13(1):e0191040.

[23] Lv Z,Guo M,Li C,*et al*. VEGF-like protein from Apostichopus japonicus promotes cell proliferation and migration [J]. Dev Comp Immunol,2019,92:230-237.

[24] 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 Lett,2006,236(1):39-45.

[25] Lima e Silva R,Shen J,Hackett SF,*et al*. The SDF-1 / CXCR4 ligand / receptor pair is an important contributor to several types of ocular neovascularization [J]. FASEB J,2007,21(12):3219-3230.

[26] Zhang X,Liu L,Wei X,*et al*. Impaired angiogenesis and mobilization of circulating angiogenic cells in HIF-1alpha heterozygous -null mice after burn wounding [J]. Wound Repair Regen,2010,18(2):193-201.

[27] Zhou Y,Cao HB,Li WJ,*et al*. The CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 chemokine axis: Oncogenic properties, molecular targeting, and synthetic and natural product CXCR4 inhibitors for cancer therapy [J]. Chin J Nat Med,2018,16(11):801-810.

[28] Villalvilla A,Moro M,Arruza L,*et al*. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in rat oxygen-induced retinopathy despite a retinal SDF-1 / CXCR4 and VEGF proangiogenic response [J]. Life Sci,2012,91(7/8):264-270.

[29] Ashley RL,Runyan CL,Maestas MM,*et al*. Inhibition of the C-X-C Motif Chemokine 12 (CXCL12)and Its Receptor CXCR4 Reduces Utero-Placental Expression of the VEGF System and Increases Utero-Placental Autophagy [J]. Front Vet Sci,2021,8:650687.

[30] **李云龙,黄炳哲,李正伟,等.骨髓间充质干细胞干预治疗骨质疏松症中的骨组织生物力学性能**[J].**北京生物医学工程**,2021,40(1):74-78,84.

[31] Potier E,Ferreira E,Andriamanalijaona R,*et al*. Hypoxia affects mesenchymal stromal cell osteogenic differentiation and angiogenic factor expression [J]. Bone,2007,40(4):1078-1087.

[32] Salim A,Nacamuli RP,Morgan EF,*et al*. Transient changes in oxygen tension inhibit osteogenic differentiation and Runx2 expression in osteoblast [J]. J Biol Chem,2004,279(38):40007-40016.

[33] Huang J,Deng F,Wang L,*et al*. Hypoxia induces osteogenesis-related activities and expression of core binding factorα1 in mesenchymal stem cells [J]. Tohoku J Exp Med,2011,224(1):7-12.

[34] Gu Q,Gu Y,Shi Q,*et al*. Hypoxia Promotes Osteogenesis of Human Placental-Derived Mesenchymal Stem Cells [J]. Tohoku J Exp Med,2016,239(4):287-296.

[35] **汪伟,宁宇,许海甲,等.重组腺病毒** CXCL12 **基因表达载体的构建及其转染间充质干细胞后对其** Runx2 **基因表达的影响**[J].**生物技术通讯**,2016,27(4):463-467.

(**收稿日期**:2022-01-22)

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net