

黄芪甲苷激活 TGF- β 1/Smad2 信号通路诱导骨髓间充质干细胞 向周细胞分化的作用研究*

(第四军医大学西京医院中医科 陕西 西安 710032)

中图分类号:R-33; R331.2; R285.5 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2018)08-1407-07

Astragaloside induces Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Differentiating into Pericytes through TGF- β 1/Smad2 Signaling Pathway*

(Department of Traditional Chinese Medicine, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81373845)

(收稿日期:2017-09-12 接受日期:2017-10-30)

differentiating into pericytes through the TGF- β 1/Smad2 signaling pathway.

Key words: Astragaloside; MSCs; Pericytes; TGF- β 1/Smad2 signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R331.2; R285.5 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2018)08-1407-07

前言

间充质干细胞参与组织损伤后血管的修复、肿瘤的发育以及瘢痕形成等病理性血管新生^[1-3]。心肌梗死后,间充质干细胞通过向心肌细胞分化、分泌细胞因子以及参与血管形成等途径,参与缺血组织的修复^[4,5]。干细胞分化为周细胞,是间充质干细胞促进血管形成的机制之一^[6-8]。周细胞与内皮细胞组成微血管的血管壁。周细胞对微血管结构的稳定、血流动力的条件和内皮细胞的增殖和分化,具有重要的调节作用^[9,10]。

中药黄芪及其复方,具有促血管新生的作用^[11-14]。既往研究表明,黄芪可通过提高 VEGF 表达,促进间充质干细胞向内皮细胞分化,增加梗死区微血管密度^[13]。周细胞做为微血管重要组成部分,与微血管新生息息相关。本课题运用黄芪的有效成分黄芪甲苷,探讨黄芪在体外是否具有诱导 MSCs 向周细胞分化的能力,为黄芪在治疗缺血性心脏病的应用提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD 大鼠乳鼠(5-7 天)由空军军医大学(第四军医大学)动物实验中心提供。

1.2 试剂

低糖培养基购自美国 Gibco 公司,胎牛血清购自美国 HyClone 公司。PBS、胰酶、RIPA 裂解液和蛋白酶抑制剂购自中国康为世纪公司,磷酸酶抑制剂购自美国 Abcam 公司。兔抗大鼠 α -SMA 抗体、兔抗大鼠 NG2 抗体购自美国 Cell Signaling 公司,兔抗大鼠 Smad2/3 抗体、兔抗大鼠 Phospho-Smad2 抗体购自美国 Abcam 公司,大鼠 β -actin 抗体和辣根过氧化物酶偶联羊抗大鼠 IgG 二抗购自康为世纪。ECL 发光液购自美国 Millipore 公司,硝酸纤维素膜购自美国 Sigma 公司。总 RNA 提取试剂、反转录试剂盒购自 TakaRa 公司。

1.3 药物和仪器

TGF- β 1 受体阻断剂 (SB431542)、TGF- β 1 购自美国 Abcam 公司。黄芪甲苷(质量分数 $\geq 98\%$),购自成都锦泰和医药化学技术有限公司。二甲基亚砜(DMSO)购自美国 Sigma 公司。主要仪器有超净工作台、CO₂ 细胞培养箱、荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)、台式高速离心机购自美国 Thermo 公司、Backman721 型紫外分光光度计购自美国 Backman 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 大鼠 BMSCs 的分离及培养 脱颈处死 SD 大鼠乳鼠,75%酒精浸泡 10 min。超净工作台分离大鼠股骨,在盛有 PBS 的培养皿中剔除肌肉和脂肪组织,用眼科剪剪去干垢端。将股骨放置在含 15%胎牛血清的低糖培养基中,用 1 mL 针管吸取培养基,反复冲洗骨髓,直到骨髓腔变白,待骨髓收集完毕后,将培养皿放入 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中培养。72 h 后首

次换液,待细胞长到培养皿 80%时,使用 0.25%胰酶消化细胞,按 1:3 传代培养。

1.4.2 实验分组及给药方法 取第 3-5 代细胞,以 1×10^5 个/mL 接种于培养瓶,待细胞铺满瓶底时,给予药物干预。实验分组情况:阴性对照组,大鼠 BMSCs 15%FBS 的培养基直接培养,不给予药物刺激,待细胞铺满后直接收集样品;阳性对照组,给予 TGF- β 1 5 ng/mL,加药刺激 3 天,收集样品;黄芪甲苷组,给予黄芪甲苷 4 μ g/mL,在加药干预 1 天、2 天、3 天、5 天、7 天后收集样品;阻断剂组,先加入 sb431542 10 μ mol/L 预处理 1h,再加入黄芪甲苷 4 μ g/mL 干预,第 1 天、2 天、3 天后收集样品。

1.4.3 免疫印迹 (Western blot) 实验 Western blot 法检测 α -SMA、NG2、Smad2/3 和 p-Smad2 等相关蛋白表达。加入 150 μ L 蛋白裂解液,冰上静置 5 min,刮下细胞。用 4℃ 离心机,12000 r/min 离心 10 min,BCA 试剂盒测定总蛋白含量。加入 37.5 μ L 5 $\times$ Loading buffer,100℃ 水浴锅变性 5 min。取样品 5 g 等量上样,120V 恒压电泳 90 min,100V 恒压转膜 60 min,5% 脱脂牛奶封闭 1 h。给予兔抗大鼠 α -SMA 一抗(1:1000)、兔抗大鼠 NG2 一抗(1:500)、兔抗大鼠一抗 Smad2/3(1:1000)和兔抗大鼠一抗 p-Smad2/3(1:1000),4℃ 孵育过夜。TBST 洗 3 次,每次 10 min。室温孵育羊抗大鼠 2 抗(1:1000)2 h,TBST 洗 3 次,每次 10 min。暗室中加 ECL 化学发光剂显影成像。

1.4.4 引物的设计和合成 由 NCBI 提供的基因序列,通过 Primer Premier 软件设计引物序列,上海生工生物技术公司合成。 α -SMA:上游引物:5'-TGTCGCTATGTCGCTCTGGAC-3',下游引物:5'-CTTCTGCATCCTGTGTCAGCAA-3';NG2 上游引物:5'-CCGGCTGGAAATCTCTGTAG-3',下游引物:5'-GGGC-CATAGACCTCTTCCTC-3'; β -actin 上游引物:5'-CCTTCCGT-GATGGAAGGCT-3',下游引物:5'-GCAGCAGATCATCGT-GATCT-3'。

1.4.5 RT-PCR 实验 RT-PCR 检测样品 α -SMA、NG2 mRNA 表达。采用 Trizol 法提取样品的总 RNA,核酸测定仪检测样品 A260/A280,测定值在 1.8~2.0 之间,符合实验要求。逆转录合成 cDNA,采用 TWO-step RT-PCR 法 (TaKaRa),扩增目的基因,以 β -actin 为内参。扩展条件为:第一步 95℃,30 s 预变性,第二步 95℃,5 s 变性,第三步,60℃,30 s 退火,延伸,第二步到第三步循环 39 次。

1.5 统计学处理

对实验室结果采用 t 检验分析, $p < 0.05$ 认为存在显著性差异。

2 结果

2.1 黄芪甲苷促进间充质干细胞向周细胞分化

Western blot(图 1)结果显示,大鼠 BMSCs 经黄芪甲苷诱导刺激后,NG2、 α -SMA 表达量,随着时间的增加而增高;

RT-PCR(图2、图3)结果与 Western blot 一致,其中第三天,NG2、 α -SMA 表达量均显著高于空白对照组和 TGF- β 1 组(阳

性对照组)($p<0.05$),提示黄芪甲苷具有促进大鼠 BMSCs 向周细胞分化的作用。

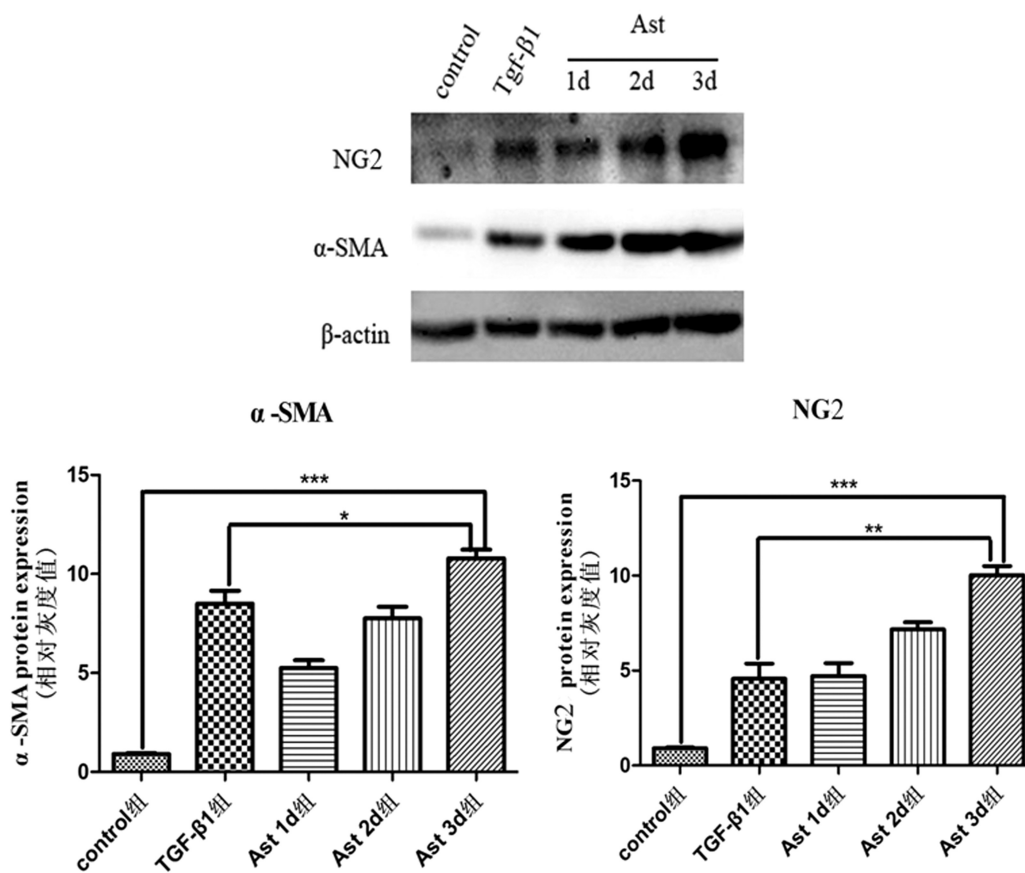


图1 免疫印迹法检测各组大鼠 BMSCs NG2、 α -SMA 的表达

Fig.1 Detection of the NG2, α -SMA expression in rat bone marrow mesenchymal stem cells by Western blot

注: α -SMA 蛋白表达量,Ast 3d 组与对照组相比,*** $p<0.001$;与阳性对照组相比,* $p<0.05$ 。NG2 蛋白表达量,Ast 3d 组与对照组相比,*** $p<0.001$;与阳性对照组相比,** $p<0.01$ 。

Note: The α -SMA protein expression of Ast 3d group, compared to the control group, *** $p<0.001$; compared to the positive group, * $p<0.05$.

The NG2 protein expression of Ast 3d group, compared to the control group, *** $p<0.001$; compared to the positive group, ** $p<0.01$.

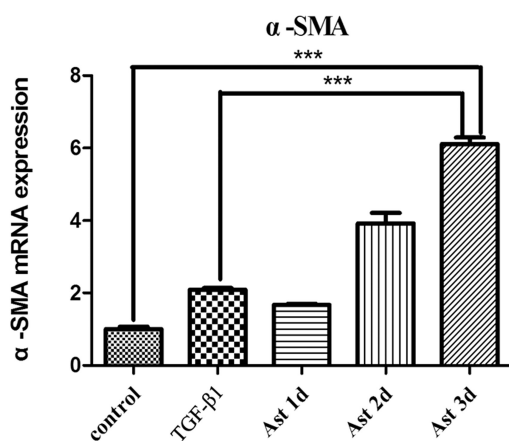


图2 RT-PCR 检测各组大鼠 BMSCs α -SMA 的表达

Fig.2 Detection of the α -SMA mRNA expression in rat bone marrow mesenchymal stem cells by RT-PCR

注: α -SMA mRNA 表达量,Ast 3d 组与对照组相比,*** $p<0.001$;与阳性对照组相比,*** $p<0.001$ 。

Note: The α -SMA mRNA expression of Ast 3d group, compared to the control group, *** $p<0.001$; compared to the positive group, *** $p<0.001$.

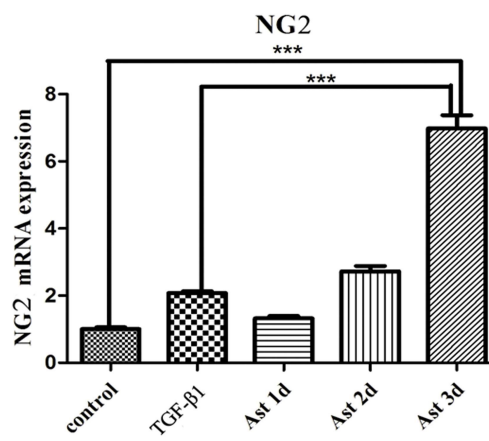


图3 RT-PCR 检测各组大鼠 BMSCs NG2 的表达

Fig.3 Detection of the NG2 mRNA expression in rat bone marrow mesenchymal stem cells by RT-PCR

注:NG2 mRNA 表达量,Ast 3d 组与对照组相比,*** $p<0.001$;与阳性对照组相比,*** $p<0.001$ 。

Note: The NG2 mRNA expression of Ast 3d group, compared to the control group, *** $p<0.001$; compared to the positive group, *** $p<0.001$.

2.2 黄芪甲苷对 TGF- β 1/Smad2 信号通路的影响

Western blot 结果显示(图 4),p-Smad2 蛋白表达量增加。第一天,p-Smad2 蛋白表达量开始增加,第 3 天达到高峰,随后逐渐下降。其中第三天,p-Smad2 蛋白表达量显著高于空白对照组($p<0.01$),该结果表明黄芪甲苷可激活 TGF- β 1/Smad2 信号通路,但与其促进大鼠 BMSCs 向周细胞分化的作用是否相关,还有待进一步研究。

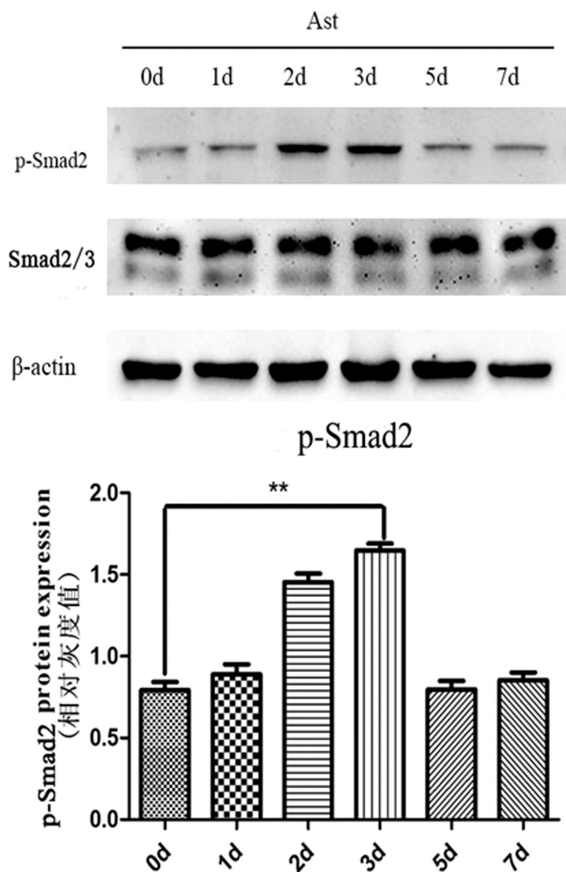


图 4 免疫印迹法检测黄芪甲苷对大鼠 BMSCs TGF- β 1/ Smad2 信号通路的影响

Fig.4 Detection of the influence of astragaloside on TGF- β 1/Smad2 signaling pathway of rat bone marrow mesenchymal stem cells

注:p-Smad2 蛋白表达量,Ast 3d 组与 0d 组相比,** $p<0.01$ 。

Note: The p-Smad2 protein expression of Ast 3d group, compared to the 0d group, ** $p<0.01$.

2.3 黄芪甲苷通过 TGF- β 1/Smad2 信号通路促进间充质干细胞向周细胞分化

Western blot 结果显示(图 5,图 6),sb431542 预处理后,黄芪甲苷对 TGF- β 1/Smad2 信号通路的作用受到抑制,前 3 天内 p-Smad2 蛋白的表达量均下调,其中第三天蛋白的表达量显著低于未经 sb431542 预处理的($p<0.001$);同时,黄芪甲苷促进 BMSCs 向周细胞分化的作用也受到抑制,NG2、 α -SMA 蛋白表达量明显下调,其中第三天两种蛋白的表达量均显著低于未经 sb431542 预处理的($p<0.001$)。RT-PCR 结果显示(图 7、图 8),sb431542 干预后,黄芪甲苷对 BMSCs 的刺激作用减弱,第三天 NG2、 α -SMA mRNA 表达量明显下调($p<0.001$)。以上结果表明,黄芪甲苷可能通过 TGF- β 1/Smad2 信号通路促进间充质

干细胞向周细胞分化。

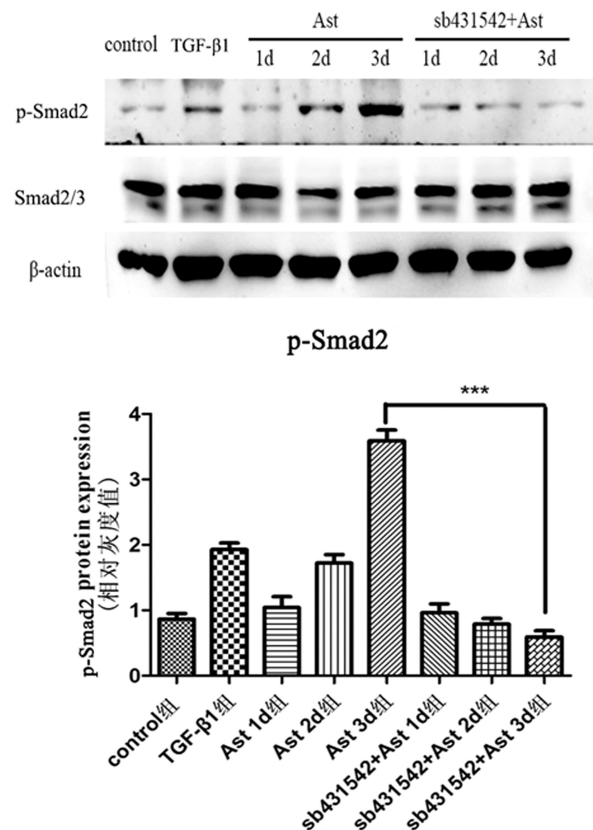


图 5 免疫印迹法检测 sb431542 预处理后,黄芪甲苷对大鼠 BMSCs TGF- β 1/Smad2 信号通路的影响

Fig.5 Detection of the influence of astragaloside on TGF- β 1/Smad2 signaling pathway of rat bone marrow mesenchymal stem cells after the administration of sb431542

注:p-Smad2 蛋白表达量,Ast 3d 组与 sb431542+Ast 3d 组相比,** $p<0.001$ 。

Note: The p-Smad2 protein expression of Ast 3d group, compared to the sb431542+Ast 3d group, *** $p<0.001$.

3 讨论

心梗发生后,血管的形成和重塑对于重建缺血区域血流灌注和减少细胞死亡十分重要^[3]。中药黄芪,在缺血性心脏病的治疗中应用广泛,对其机制的研究也多围绕内皮细胞和心肌细胞展开。既往研究表明,黄芪的有效提取物黄芪甲苷可以促进脐静脉细胞的增殖、迁移以及成管能力;刺激鸡胚尿囊膜上血管的生长,提高血管密度^[15,16];协同丹参酮 II a 促进间充质干细胞向心肌样细胞分化^[17,18]。周细胞是血管壁的支持细胞,血管新生的过程中,周细胞除了包绕内皮细胞形成完整的血管外,还可通过细胞间接触和分泌细胞因子抑制内皮细胞的增殖和迁徙,周细胞的缺失会导致微血管的崩解和内皮细胞的凋亡^[1,3,10]。周细胞对维持缺血部位血管的重塑和稳定具有重要作用,但中药黄芪在周细胞相关领域的研究较少,因此,本实验旨在研究黄芪对周细胞的影响,探索其在促进血管新生方面更全面的作用。

血管新生的过程中,干细胞常被作为周细胞的前体细胞招募。干细胞的来源十分丰富,骨髓、局部脂肪组织以及大动脉的

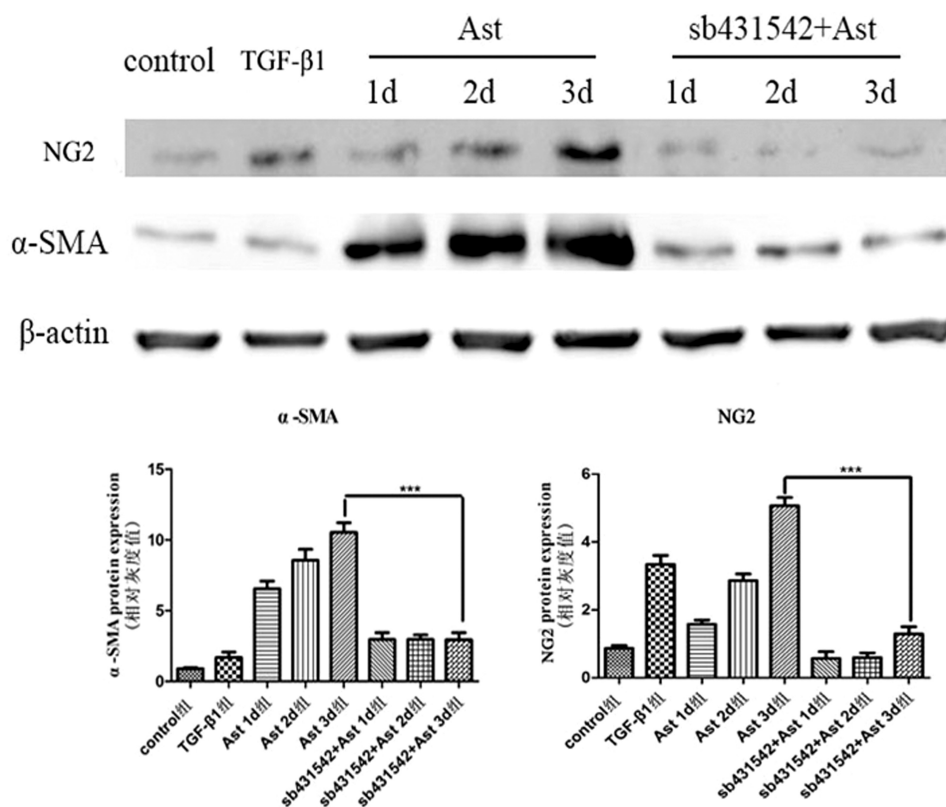


图 6 免疫印迹法检测 sb431542 预处理后, 黄芪甲苷对大鼠 BMSCs NG2、 α -SMA 表达的影响

Fig.6 Detection of the influence of astragaloside on the NG2, α -SMA expression in rat bone marrow mesenchymal stem cells after the administration of sb431542

注: α -SMA 蛋白表达量,Ast 3d 组与 sb431542+Ast 3d 组相比,*** $p<0.001$; NG2 蛋白表达量,Ast 3d 组与 sb431542+Ast 3d 组相比,*** $p<0.001$ 。
Note: The α -SMA protein expression of Ast 3d group, compared to the sb431542+Ast 3d group, *** $p<0.001$; the NG2 protein expression of Ast 3d group, compared to the sb431542+Ast 3d group, *** $p<0.001$.

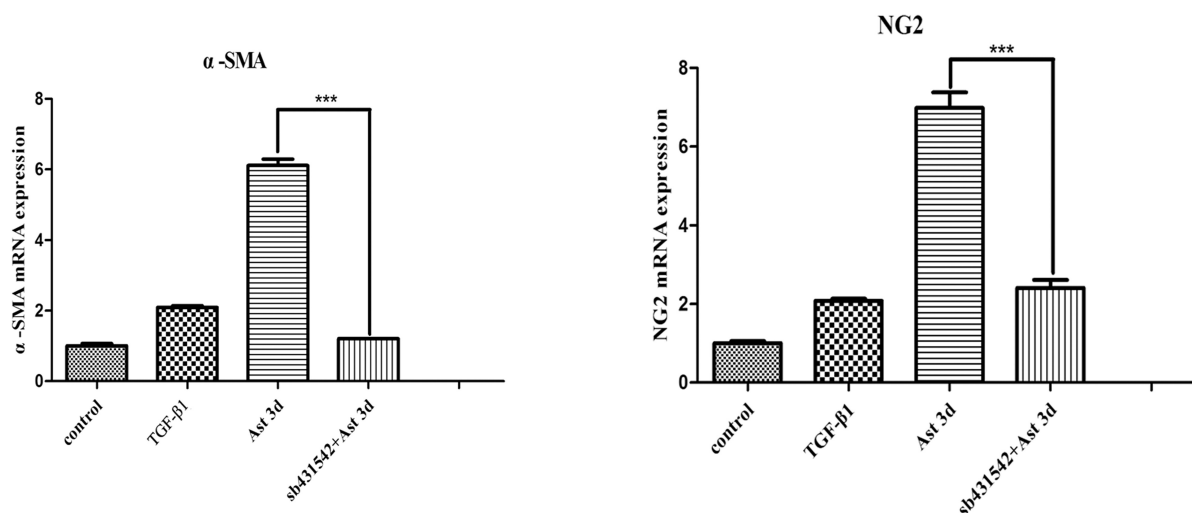


图 7 RT-PCR 检测 sb431542 预处理后, 黄芪甲苷对大鼠 BMSCs α -SMA 表达的影响

Fig.7 Detection of the influence of astragaloside on the α -SMA expression in rat bone marrow mesenchymal stem cells after the administration of sb431542

注: α -SMA mRNA 表达量,Ast 3d 组与 sb431542+Ast 3d 组相比,*** $p<0.001$ 。

Note: The α -SMA mRNA expression of Ast 3d group, compared to the sb431542+Ast 3d group, *** $p<0.001$.

图 8 RT-PCR 检测 sb431542 预处理后, 黄芪甲苷对大鼠 BMSCs NG2 表达的影响

Fig.8 Detection of the influence of astragaloside on the NG2 expression in rat bone marrow mesenchymal stem cells after the administration of sb431542 (*** $p<0.001$)

注:NG2 mRNA 表达量,Ast 3d 组与 sb431542+Ast 3d 组相比,*** $p<0.001$ 。

Note: The NG2 mRNA expression of Ast 3d group, compared to the sb431542+Ast 3d group, *** $p<0.001$.

动脉壁中都有干细胞^[8,25]。多种细胞因子参与血管的形成与重塑。内皮细胞分泌 PDGF- β , 募集周细胞前体细胞^[9,19]。TGF- β 1、activin A 等可促进干细胞向周细胞分化^[9,20-24,28]。本课题主要探索黄芪对干细胞向周细胞分化的影响, 并选择大鼠 BMSCs 作为周细胞前体细胞的替代物。由于 TGF- β 1 促进干细胞向周细胞分化的作用比较明确, 因此将 TGF- β 1 干预大鼠 BMSCs 作为实验的阳性对照组。用于周细胞鉴定的细胞表面标记物很多, 如 NG2、 α -SMA、CD13、desmin、CD14 等, 但特异性不高, 既往研究多采用两个或者三个以上联合标记^[9,26,27], 本实验选择 NG2、 α -SMA 作为确定干细胞向周细胞分化的判断标准。研究发现, 体外培养的大鼠 BMSCs 加入黄芪甲苷刺激后, 与阴性对照组和阳性对照组相比, NG2、 α -SMA 的蛋白以及 mRNA 均显著升高, 提示黄芪具有促进干细胞向周细胞分化的作用。

TGF- β 1 对于细胞生长, 分化, 迁移具有重要的作用。内皮细胞与干细胞共培养, 细胞间的相互接触, 可诱导干细胞向壁细胞分化, 运用 TGF- β 1 中和抗体和受体阻断剂 sb431542, 可阻止这一现象^[20,23]。类风湿关节炎病人的关节液, 机械牵张力等因素都可通过 TGF- β 1/Smad2 信号通路, 诱导干细胞向壁细胞分化^[29,31]。血管平滑肌细胞和周细胞统称为壁细胞^[10], 因此黄芪甲苷是否通过 TGF- β 1/Smad2 信号通路促进干细胞向周细胞分化, 是本研究另一个探索方向。Smad2 是信号通路的下游分子, 该通路激活时, Smad2 蛋白被磷酸化, 活化的 smad 蛋白, 与细胞核内的 DNA 结合, 发挥转录因子功能, 调节细胞的生命活动。检测 Smad2 磷酸化, 是判断 TGF- β 1/Smad2 信号通路是否激活的重要指标^[29,32]。实验研究表明, 加入黄芪甲苷刺激后, 大鼠 BMSCs 除了周细胞表面标记物 NG2、 α -SMA 蛋白及 mRNA 表达量升高外, Smad2 蛋白也发生磷酸化; 加入 TGF- β 1 受体阻断剂 sb431542, 不仅 Smad2 磷酸化受到抑制, 大鼠 BMSCs 向周细胞分化的过程也受阻, NG2、 α -SMA 蛋白及 mRNA 表达量均降低, 证明黄芪甲苷可以通过 TGF- β 1/Smad2 信号通路, 促进间充质干细胞向周细胞分化。

参考文献(References)

- [1] Rajantie I, Ilmonen M, Alminä A, et al. Adult bone marrow-derived cells recruited during angiogenesis comprise precursors for periendothelial vascular mural cells[J]. *Blood*, 2004, 104(7): 2084-2086
- [2] Asahara, T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization [J]. *Circ Res*, 1999, 85(3): 221-228
- [3] Özen I, Deierborg T, Miharada K, et al. Brain pericytes acquire a microglial phenotype after stroke[J]. *Acta Neuropathol*. 2014, 128(3): 381-396
- [4] 相杭, 曾强. 人脂肪间充质干细胞治疗心肌梗死的研究进展 [J]. 解放军医学报, 2016, 37(1): 91-95
Xiang Hang, Zeng Qiang. Advances in adipose-derived mesenchymal stem cell for treatment of myocardial infarction[J]. *Academic Journal of PLA Postgraduate Medical School*, 2016, 37(1): 91-95
- [5] Rahbarghazi R, Nassiri SM, Ahmadi SH, et al. Dynamic induction of pro-angiogenic milieu after transplantation of marrow-derived mesenchymal stem cells in experimental myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 173(3): 453-466
- [6] Blocki A, Wang Y, Koch M, et al. Not all MSCs can act as pericytes: functional in vitro assays to distinguish pericytes from other mesenchymal stem cells in angiogenesis[J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22(17): 2347-2355
- [7] Portalska KJ, Groen N, Krenning G, et al. The effect of donor variation and senescence on endothelial differentiation of human mesenchymal stromal cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19(21-22): 2318-2329
- [8] Kidd S, Spaeth E, Watson K, et al. Origins of the tumor microenvironment: quantitative assessment of adipose-derived and bone marrow-derived stroma[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30563
- [9] Song S, Ewald AJ, Stallcup W, et al. PDGFR β perivascular progenitor cells in tumours regulate pericyte differentiation and vascular survival[J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(9): 870-879
- [10] Gerhardt H, Betsholtz C. Endothelial-pericyte interactions in angiogenesis[J]. *Cell Tissue Res*, 2003, 314(1): 15-23
- [11] 衣慧, 王俊超, 司静文, 等. 芪丹通脉片对心肌梗死大鼠缺血心肌血管新生及 HIF-1 α 、VEGF 表达的影响 [J]. 中国中医急症, 2013(05): 689-692+695
Yi Hui, Wang Jun-chao, Si Jing-wen, et al. Effect of Qidantongmai Tablet on Angiogenesis and Expression of HIF-1 α and VEGF in Ischemic Myocardium of Rats with Myocardial Infarction [J]. *Journal of Emergency in Traditional Chinese Medicine*, 2013 (05): 689-692+695
- [12] 衣慧, 王宗仁, 李军昌, 等. Angiopoietin/Tie2 系统在血管新生与成熟过程中的表达及意义[J]. 心脏杂志, 2012(04): 535-538
Yi Hui, Wang Zong-ren, Li Jun-chang, et al. Expression and significance of angiopoietin /Tie2 system in angiogenesis and vascular maturation[J]. *Chinese Heart Journal*, 2012(04): 535-538
- [13] Li H, Wan H, Xia T, et al. Therapeutic angiogenesis in ischemic muscles after local injection of fragmented fibers with loaded traditional Chinese medicine[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(30): 13075-13087
- [14] Wang SG, Xu Y, Chen JD, et al. Astragaloside IV stimulates angiogenesis and increases nitric oxide accumulation via JAK2/STAT3 and ERK1/2 pathway [J]. *Molecules*, 2013, 18 (10): 12809-12819
- [15] 李苏. 黄芪甲苷通过促血管再生途径改善心肌梗死小鼠心脏功能的研究[D]. 南京医科大学, 2016: 71
Li Su. Astragaloside improves cardiac function via angiogenesis in mice after myocardial infarction [D]. *Nanjing University of Traditional Chinese Medicine*, 2016: 71
- [16] 李苏, 陈相建, 吴恒芳, 等. 黄芪甲苷对小鼠心肌梗死后左室功能的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2015(10): 1798-1799
Li Su, Chen Xiang-jian, Wu Heng-fang, et al. The function of astragalus in the left ventricular function after myocardial infarction in mice[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2015(10): 1798-1799
- [17] 孙敬和. 心肌样微环境下黄芪甲苷联合 5- 氮胞苷诱导 MSCs 分化为心肌样细胞[D]. 广州中医药大学, 2012: 59
Sun Jing-he. Specialty: the Differentiation of MSCs into Cardiomyocyte-like Cells Induced by Astragaloside IV Combined with 5-aza in a Cardiac-like Microenvironment in Vitro [D]. *Guangzhou University of Chinese Medicine*, 2012: 59
- [18] 洗绍祥, 杨忠奇, 秦佳佳, 等. 5- 氮胞苷诱导大鼠骨髓间充质干细

- 胞向心肌样细胞分化及黄芪甲苷的协同作用[J]. 中国组织工程研究, 2012(10): 1861-1865
- Xian Shao-xiang, Yang Zhong-qi, Qin Jia-jia, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells differentiation into cardiomyocyte-like cells induced by 5-azacytidine and astragaloside IV [J]. CJTER, 2012(10): 1861-1865
- [19] Abramsson A, Lindblom P, Betsholtz C. Endothelial and nonendothelial sources of PDGF-B regulate pericyte recruitment and influence vascular pattern formation in tumors[J]. J Clin Invest, 2003, 112(8): 1142-1151
- [20] Fang JS, Dai C, Kurjiaka DT, et al. Connexin45 regulates endothelial-induced mesenchymal cell differentiation toward a mural cell phenotype[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(2): 362-368
- [21] Hirschi KK, Rohovsky SA, D'Amore PA. PDGF, TGF-beta, and heterotypic cell-cell interactions mediate endothelial cell-induced recruitment of 10T1/2 cells and their differentiation to a smooth muscle fate[J]. J Cell Biol, 1998, 141(3): 805-814
- [22] Darland DC, D'Amore PA. TGF beta is required for the formation of capillary-like structures in three-dimensional cocultures of 10T1/2 and endothelial cells[J]. Angiogenesis, 2001, 4(1): 11-20
- [23] Merfeld-Clauss S, Lupov IP, Lu H, et al. Adipose stromal cells differentiate along a smooth muscle lineage pathway upon endothelial cell contact via induction of activin A [J]. Circ Res, 2014, 115(9): 800-809
- [24] Traktuev DO, Merfeld-Clauss S, Li J, et al. A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks[J]. Circ Res, 2008, 102(1): 77-85
- [25] Corselli M, Chen CW, Sun B. The tunica adventitia of human arteries and veins as a source of mesenchymal stem cells [J]. Stem Cells Dev, 2012, 21(8): 1299-1308
- [26] Morita S, Hourai A, Miyata S. Changes in pericytic expression of NG2 and PDGFRB and vascular permeability in the sensory circumventricular organs of adult mouse by osmotic stimulation[J]. Cell Biochem Funct, 2014, 32(1): 51-61
- [27] Boroujerdi A, Tigges U, Welser-Alves JV, et al. Isolation and culture of primary pericytes from mouse brain [J]. Methods Mol Biol. 2014, 1135: 383-392
- [28] Chen S, Lechleider RJ. Transforming growth factor-beta-induced differentiation of smooth muscle from a neural crest stem cell line[J]. Circ Res, 2004, 94(9): 1195-1202
- [29] Song HY, Kim MY, Kim KHong, et al. Synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis induces alpha-smooth muscle actin in human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells through a TGF-beta1-dependent mechanism [J]. Exp Mol Med, 2010, 42 (8): 565-573
- [30] Li R, Liang L, Dou Y, et al. Mechanical stretch inhibits mesenchymal stem cell adipogenic differentiation through TGFbeta1/Smad2 signaling[J]. J Biomech, 2015, 48(13): 3665-3671
- [31] Liu X, Song L, Liu J, et al. miR-18b inhibits TGF-beta1-induced differentiation of hair follicle stem cells into smooth muscle cells by targeting Smad2 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 438(3): 551-556
- [32] Pang L, Wei C, Duan J, et al. TGF-beta1/Smad signaling, MMP-14, and MSC markers in arterial injury: discovery of the molecular basis of restenosis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(6): 2915-2924

(上接第 1514 页)

- [24] Langsford D, Tang M, Cheikh Hassan HI, et al. The Association between Biomarker Profiles, Etiology of Chronic Kidney Disease, and Mortality[J]. Am J Nephrol, 2017, 45(3): 226-234
- [25] Ocak N, Dirican M, Ersoy A, et al. Adiponectin, leptin, nitric oxide, and C-reactive protein levels in kidney transplant recipients: comparison with the hemodialysis and chronic renal failure [J]. Ren Fail, 2016, 38(10): 1639-1646
- [26] Ding L, Shao X, Cao L, et al. Possible role of IL-6 and TIE2 gene polymorphisms in predicting the initial high transport status in patients with peritoneal dialysis: an observational study [J]. BMJ Open, 2016, 6(10): e012967
- [27] 赵军,李强,杨世峰,等.甲状腺激素水平对慢性肾衰竭患者维持性血液透析期间机体营养的影响[J].现代生物医学进展, 2016, 16 (21): 4150-4152, 4137
- Zhao Jun, Li Qiang, Yang Shi-feng, et al. Effect of Parathyroid Hormone on Nutrition of Patients with Chronic Renal Failure during Maintenance Hemodialysis [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2016, 16(21): 4150-4152, 4137
- [28] Villa-Bellosta R, Rodriguez-Orsorio L, Mas S, et al. A decrease in intact parathyroid hormone (iPTH) levels is associated with higher mortality in prevalent hemodialysis patients [J]. PLoS One, 2017, 12 (3): e0173831
- [29] Raikou VD, Kyriaki D. The relationship between concentrations of magnesium and oxidized low-density lipoprotein and Beta2-microglobulin in the serum of patients on the end-stage of renal disease[J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2016, 27(3): 546-552
- [30] Al-Moasseb Z, Aitken E. Natural History of Serum Calcium and Parathyroid Hormone Following Renal Transplantation[J]. Transplant Proc, 2016, 48(10): 3285-3291