

瑞舒伐他汀促进缺氧复氧间充质干细胞增殖的机制研究*

李 霜¹ 吴 昊² 张荣庆¹ 李聪叶¹ 张 铮¹ 曹 丰^{1△}

(1 第四军医大学西京医院心脏内科 陕西 西安 710032 2 第四军医大学军事预防医学系毒理学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的 探讨瑞舒伐他汀对缺氧复氧损伤后脂肪来源间充质干细胞增殖的影响及机制。方法 酶消化法分离小鼠的脂肪间充质干细胞 (AD-MSCs), 流式细胞术检测 CD90、CD44、CD34、CD45 等细胞标志物。建立缺氧 (H)6h/ 复氧 (R)42h 细胞模型, AD-MSCs 分为 3 组: ①对照组; ②缺氧/复氧组(H/R); ③H/R+瑞舒伐他汀干预组(浓度分别为 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} mol/L)。MTT 法测定各组细胞增殖, 免疫印迹法检测细胞内 Akt、Erk 及其磷酸化的表达水平。结果 流式细胞术结果显示脂肪间充质干细胞 CD44 及 CD90 阳性, CD34、CD45 阴性。MTT 实验显示在缺氧环境中 瑞舒伐他汀的干预可显著增加 AD-MSCs 的增殖($P<0.05$)。Western blot 检测 pAkt 及 pErk 的表达在瑞舒伐他汀干预组明显高于对照组和 H/R 组。($P<0.05$)。结论 瑞舒伐他汀可通过 Akt、Erk 信号途径促进 H/R 损伤后 AD-MSCs 的增殖。

关键词 瑞舒伐他汀; 间充质干细胞; 缺氧复氧损伤; Akt; Erk

中图分类号: Q95-3 R541.4 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2011)09-1667-03

Rosuvastatin Prevents Adipose-derived Mesenchymal Stem Cells from Hypoxia/Reoxygenation Injury through Activation of ERK and AKT*

LI Shuang¹, WU Hao², ZHANG Rong-qing¹, LI Cong-ye¹, ZHANG Zheng¹, CAO Feng¹

(1 Department of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shanxi 710032, China;

2 Department of Toxicology, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shanxi 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of Rosuvastatin on the proliferation of adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs) after hypoxia/reoxygenation (H/R) injury. **Methods:** AD-MSCs were isolated from Kunming mice and characterized by flowcytometry. AD-MSCs were divided into three groups: (1) control, (2) Hypoxia 6hrs+ Reoxygen 42hrs (H/R), (3) H/R+Rosuvastatin (10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} mol/L respectively). Cell proliferation was detected by MTT assays. The protein expressions of Akt, Akt, Erk and pErk were analyzed by Western blot assay. **Results:** The CD44 and CD90 of AD-MSCs were positive. Administration of Rosuvastatin increased proliferation of AD-MSCs after H/R injury ($P<0.05$). Western blot assay revealed that the levels of phosphorylated Akt and phosphorylated Erk were higher in Rosuvastatin group than that in H/R group. **Conclusion:** Rosuvastatin promoted the proliferation of AD-MSCs after H/R injury by AKT and ERK.

Key words: Rosuvastatin; Adipose-derived mesenchymal stem cells; Hypoxia/reoxygenation injury; Akt; Erk

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R541.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)09-1667-03

前言

缺血性心脏病是损害人类健康的重大疾病, 干细胞治疗通过心肌再生替代梗死的心肌组织, 逐渐成为很有前景的治疗方法。脂肪间充质干细胞 (Adipose-derived mesenchymal stem cells AD-MSCs) 来源充足、取材方便、且不涉及免疫排斥及伦理学问题, 成为细胞移植中较为理想的种子细胞^[1-2]。但目前细胞疗法的一个主要问题是植入细胞是否能够大量存活并有效定向分化。我们前期的研究表明, 供体成体干细胞在缺血环境下生存率很低^[3]。因此, 保护植入细胞免受急性心梗后不良环境的损害^[3, 4]是干细胞疗法成功应用的重要因素^[3]。

多个研究显示他汀类药物具有生物多效性, 除了降低胆固

醇水平之外, 还具有保护血管内皮、增加 NO 生物利用度、抗炎、抗氧化以及稳定动脉粥样硬化斑块等作用^[5-9]。他汀类药物对心肌微环境的调控是否也能对干细胞移植后存活起到有利作用目前尚不清楚。本实验旨在观察瑞舒伐他汀对缺氧复氧后间充质干细胞增殖方面的影响及其潜在机制, 为缺血性疾病的干细胞治疗提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物和试剂

成年昆明小鼠 (购自第四军医大学实验动物中心), 体重 15-20g。瑞舒伐他汀粉剂 (由鲁南贝特制药有限公司惠赠)。低糖 DMEM-F12 (美国 Gibco 公司)、胎牛血清 (美国 Hyclone 公

* 基金项目 国家自然科学基金 (30970845) 西京医院助推计划重大项目 (XJZT08Z04)

作者简介 李霜 (1985-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 分子影像及干细胞治疗, Email: louis0422@gmail.com

△通讯作者: 曹丰, 女, 博士生导师, 教授, 主要从事分子影像及干细胞治疗的研究。

电话: +86-029-84773464 Email: wind8828@gmail.com

(收稿日期: 2010-12-21 接受日期: 2011-01-15)

司); 型胶原酶、胰蛋白酶及乙二胺四乙酸(EDTA)(美国 Sigma 公司); 抗小鼠单克隆抗体 CD34、CD44、CD45、CD90(美国 BD Pharmingen 公司); 兔抗小鼠 Akt、pAkt、Erk、pErk 抗体(Cell Signaling Technology 美国 CST 公司); HRP 标记的兔抗羊 IgG 以及羊抗兔 IgG(中山金桥公司)。三气孵箱(HERACEE1150 德国 HERAEUS 公司); 流式细胞仪(美国 Becton-Dickinson 公司); 酶标仪(德国 Roche 公司); D37520 离心机(德国 Kendro 公司); HH-W21-600 恒温水浴箱(上海医用恒温设备厂); AEL-200 电子分析天平(长沙湘仪天平仪器厂); 凝胶成像系统(美国 BioSpectrum 公司)。

1.2 实验方法和步骤

1.2.1 AD-MSCs 的分离、培养和鉴定 成年昆明小鼠脱颈处死后, 75%的乙醇浸泡消毒约 5-6min 后移入超净台, 在无菌状态下分别于精囊腺及双肾周围分离脂肪组织。PBS 冲洗后, 剪成 1mm 大小的组织块, 加入 0.2%的 I 型胶原酶(与脂肪等体积), 在 37℃ 水浴消化 1h, 每 10min 振摇一次, 每次 1min。1000r/min 离心 10min, 用完全培养液(低糖 DMEM-F12、20% FBS、链霉素 100U/mL, 青霉素 100U/mL)重悬并接种到 25cm² 培养瓶中。于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度的孵箱中培养, 48h 后换液, 加入含 20%FBS 的 DMEM-F12 完全培养液继续培养, 待细胞融合超过培养瓶底 80%时, 采用胰酶消化传代。取生长良好的第三代细胞, 制成 1×10⁶/ml 单细胞悬液, 取清洁塑料试管, 分别加入荧光标记的抗小鼠单克隆抗体 CD34、CD44、CD45、CD90 (BD Pharmingen, 美国) 各 20μl, 每管加入细胞悬液 100μl, 混匀, 4℃ 孵育 30min, 加入 2ml PBS, 混匀, 离心, 1500r/min 5min, 弃上清, 每管加 200μl PBS, 混匀后, 流式细胞仪(Becton-Dickinson FACS AriaT, 美国)检测, Cell-Quest 软件分析。

1.2.2 H/R 损伤模型的建立及分组 取第 3 代 AD-MSCs 细胞, 置于三气孵箱中(含 940 ml/L N₂、50 ml/L CO₂ 及 10 ml/L O₂) (HERAEUS, 德国)于 37℃ 缺氧 6h, 复氧 42h。AD-MSC 根据是否进行 H/R 处理, 分为正常对照组(Control)、缺氧复氧组(H/R)。H/R 组又根据是否用瑞舒伐他汀干预分为: 瑞舒伐他汀干预组、无瑞舒伐他汀干预组。Control 组于实验前换用 20%FBS 的 DMEM-F12 培养液, 按正常条件培养。

1.2.3 MTT 法检测细胞增殖能力 将培养至第 3 代的贴壁 AD-MSC 接种于 96 孔培养板, 当细胞生长至铺满孔底的 70% 后, 分组加入 1×10⁻⁸mol/L、1×10⁻⁷mol/L、1×10⁻⁶mol/L 瑞舒伐他汀干预, 并进行 H/R 处理。复氧结束后, 每孔加入四甲基偶氮唑盐(MTT)溶液(5g/L)10μl, 37℃、5% CO₂、饱和湿度继续孵育 4h。小心吸去孔内培养液, 每孔加入 150μl 二甲基亚砷(DMSO)。酶联免疫检测仪振荡 5min 至结晶完全溶解, 490nm 波长测各孔吸光度(A 值)。

1.2.4 Western blot 检测 取按照实验分组细胞经过瑞舒伐他汀处理后, 弃去培养液, 以 PBS 洗 3 次, 用 120 μl 1× 荷载(加样)缓冲液裂解细胞, 冰上放置 5 min 后, 收集细胞裂解液, 煮沸 20 min, 进行 120 g/L 的 SDS-PAGE 电泳并转膜至硝酸纤维素(NC)膜上。滴加 50 g/L 脱脂奶粉封闭 1 h 后, 依次滴加 1:1000 兔抗小鼠 Akt 和 pAkt 抗体(CST, 美国)4℃ 孵育过夜。以 TBST 洗膜 3 次后, 分别滴加 1:5 000 HRP 标记羊抗兔 IgG 室

温孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次。经化学发光法曝光后观察结果。Western blot 的结果采用 vision works LS, version 6.7.1 软件进行灰度分析。

1.3 统计学处理

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS 12.0 软件进行数据统计分析, 组间差异采用 one-way ANOVA, 实验组与空白对照组比较采用 Dunnett-t 检验, 以 $p < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AD-MSCs 形态

细胞接种 24 h 后, 倒置显微镜下可见少数集落生长的贴壁细胞, 为大而扁平的单层细胞。5~7 d 后, 细胞逐渐融合成单层, 成簇分布。传代后细胞呈梭形, 核居中, 多数为 1 个核仁, 也可双核, 呈纺锤形。平均扩增时间约为 60 h。见图 1。经流式细胞仪检测, CD90、CD44 双阳性且 CD34、CD45 双阴性表达的细胞被认为是 AD-MSCs^[10]。

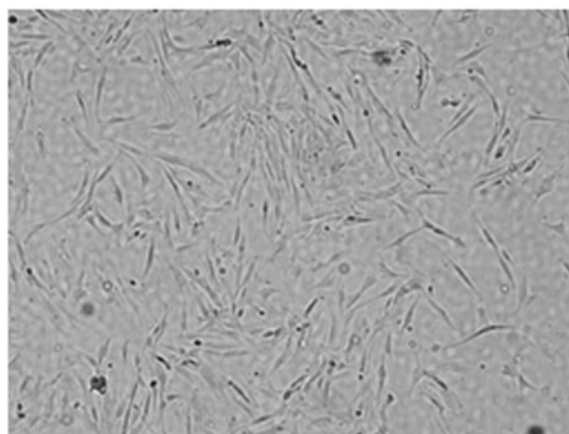


图 1 接种 7 天后, 原代脂肪源性间充质干细胞形态(×100)

Fig.1 Morphology of primary passage of AD-MSCs at 7 days after seeded. (×100)

2.2 瑞舒伐他汀促进 AD-MSCs 增殖

MTT 比色法检测结果显示: 与对照组相比, 10⁻⁸mol/L 瑞舒伐他汀在常氧和 H/R 时均可促进 AD-MSCs 增殖, (常氧 1.015 ± 0.05967 vs 0.7274 ± 0.04479 $p < 0.01$, H/R 0.5969 ± 0.03215 vs 0.4979 ± 0.02589 $p < 0.05$)。10⁻⁶mol/L 瑞舒伐他汀在常氧和 H/R 时均可抑制 AD-MSCs 增殖, (常氧 0.5586 ± 0.01998 vs 0.7274 ± 0.04479 $p < 0.01$, H/R 0.3861 ± 0.03921 vs 0.4979 ± 0.02589 $p < 0.05$)。结果见图 3。

2.3 瑞舒伐他汀增强 H/R 损伤后的 AD-MSCs 的 Akt 磷酸化表达

Western blot 法检测的结果显示, 与正常培养的对照组相比, 缺氧复氧组以及用 10⁻⁸mol/L 瑞舒伐他汀干预并缺氧复氧组 pAkt 蛋白的表达水平显著增高(0.7134 ± 0.03411, 1.145 ± 0.08309 vs 0.4386 ± 0.03723 $p < 0.05$), 与缺氧复氧组相比, 10⁻⁸mol/L 瑞舒伐他汀干预并缺氧复氧组 pAkt 蛋白的表达水平显著增高(1.145 ± 0.08309 vs 0.7134 ± 0.03411 $p < 0.05$) 差异有统计学意义。结果见图 3。

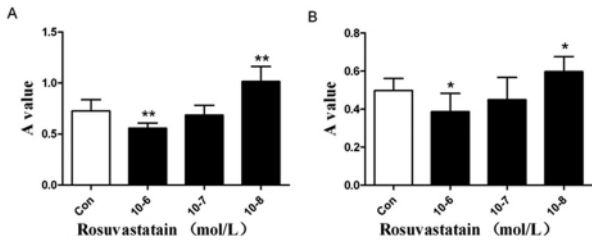


图2 不同浓度的瑞舒伐他汀对 AD-MSCs 增殖能力的影响 注 MTT 实验。A 为常氧组 B 为缺氧复氧组。Con 代表空白对照组 ;10⁻⁶、10⁻⁷、10⁻⁸ 代表瑞舒伐他汀浓度。n=6。* 表示与对照组相比 p<0.05 , ** 表示与对照组相比 p<0.01

Fig.2 The proliferation of AD-MSCs after Rosuvastatin administration :
Note: The proliferation of AD-MSCs was measured by MTT assay.
A :Normal condition B: Hypoxia/reoxygenation . n=6.* p<0.05 10⁻⁶mol/L and 10⁻⁸ mol/L Rosuvastatin group compared with control group;
**p<0.01 10⁻⁶mol/L and 10⁻⁸ mol/L Rosuvastatin group compared with control group

2.4 瑞舒伐他汀增强 H/R 损伤后的 AD-MSCs 的 Erk 磷酸化表达

Western blot 法检测的结果显示,与正常培养的对照组相比,缺氧复氧组以及用 10⁻⁸mol/L 瑞舒伐他汀干预并缺氧复氧组 pErk 蛋白的表达水平显著增高 (3.816± 0.1927 ,5.112± 0.2321 vs 0.3938 ± 0.05952 p<0.05),与缺氧复氧组相比,10⁻⁸mol/L 瑞舒伐他汀干预并缺氧复氧组 pErk 蛋白的表达水平显著增高(5.112± 0.2321 vs 3.816± 0.1927 p<0.05)。结果见图 4。

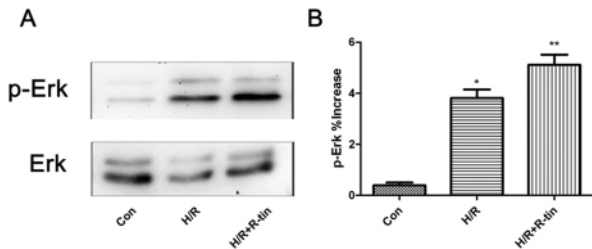


图4 pErk/Erk 蛋白表达的 Western blot 测定 :A、B 分别为 pErk/Erk 的 Western blot 结果及灰度值(半定量)。Con 代表正常培养的对照组 ;H/R 代表缺氧复氧组 ;H/R+R-tin 代表用 10⁻⁸mol/L 瑞舒伐他汀干预并缺氧复氧组。n=3。* 表示 H/R 组、H/R+R-tin 组与对照组相比 p<0.05 , ** 表示 H/R+R-tin 组与 H/R 组相比 p<0.05

Fig.4 pErk/Erk Expression Note:Western-blot assay was performed to measure the protein expression of pErk/Erk on AD-MSCs after H/R injury with or without Rosuvastatin. n=3.A Representative autoradiogram of pErk/Erk, B: Quantification of pErk/Erk expression.* p<0.05 H/R group compared with control group , ** p<0.01 H/R+R-tin group compared with control group

3 讨论

近年来,随着干细胞研究的深入以及细胞治疗的兴起,人们发现干细胞可体外分化为心肌细胞及内皮细胞,并能应用于心肌损伤后修复期,这使其成为缺血性心脏病的理想治疗方法之一,具有广阔的应用前景^[11-12]。但是,干细胞在心肌梗死后或心力衰竭等状态下移植后,能否在相对缺氧的移植区生存并增殖,仍是一个悬而未决的问题。

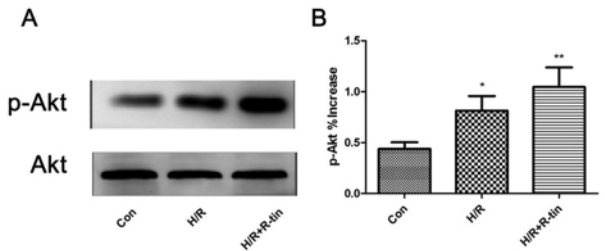


图3 pAkt/Akt 蛋白表达的 Western blot 测定 :A、B 分别为 pAkt/Akt 的 Western blot 结果及灰度值(半定量)。Con 代表正常培养的对照组 ;H/R 代表缺氧复氧组 ;H/R+R-tin 代表用 10⁻⁸mol/L 瑞舒伐他汀干预并缺氧复氧组。n=3。* 表示 H/R 组、H/R+R-tin 组与对照组相比 p<0.05 , ** 表示 H/R+R-tin 组与 H/R 组相比 p<0.05

Fig.3 pAkt/Akt Expression: Note:Western-blot assay was performed to measure the protein expression of Akt and pAkt on AD-MSCs after H/R injury with or without Rosuvastatin. n=3.A: Activation of pAkt/Akt were determined by Western blot analysis, B: Quantification of pAkt/Akt expression . * p<0.05 H/R group compared with control group , ** p<0.01 H/R+R-tin group compared with control group

研究证实他汀类药物除了降脂的功效,还有独立于降脂之外促进细胞增殖和分化的能力^[13-14]。瑞舒伐他汀是 20 世纪 80 年代末期合成并筛选所得的 1 个氨基嘧啶衍生物,是全合成单一映异构体化合物。瑞舒伐他汀是最新的他汀类降脂药,成为 " 超级他汀 "。

本实验在体外以缺氧复氧条件模拟 AD-MSCs 移植入缺血心肌面临的缺血微环境,发现瑞舒伐他汀促进缺氧复氧后 AD-MSCs 的增殖,提示临床干细胞移植过程中使用瑞舒伐他汀很可能产生有益的促进增殖作用,为干细胞治疗冠心病提供了体外实验支持。

本实验结果证实:在一定的浓度范围内(10⁻⁸mol/L),瑞舒伐他汀促进脂肪间充质干细胞增殖,这一作用与磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3-K)/AKT、MAPK/ERK 和信号途径的激活有关^[15-16]。之前文献报道他汀类药物促进内皮祖细胞增殖的作用是通过 PI3K/AKT 信号途径^[17]。Akt 基因居 PI3K/Akt 信号传导通路核心部位,编码一种 56KD 丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶 (与 PKA、PKC 高度同源而被命名为 PKB),生成的 Akt 蛋白在 PI3K 等作用下发生 2 个位点磷酸化而使其充分活化,从而介导细胞生长、增殖等,其既是细胞存活的信号介质又是细胞存活的必要因素,持续存在可以避免细胞损伤^[18]。磷酸化细胞外信号调节激酶(Erk)是真核细胞信号转导 Ras -Raf-MEK -MAPK 级联通路中 MAPK 的重要组成和活化形式。可磷酸化一系列转录因子,影响基因的转录和调控,参与调节细胞的生长、分化及凋亡等生物学行为^[19]。

本研究结果证实与常氧相比,缺氧可促进 Akt 及 Erk 磷酸化,在瑞舒伐他汀干预下,这一作用得到加强。说明缺氧虽可致细胞凋亡、增殖滞缓,但仍可促进 Akt 及 Erk 较强表达,提示 AD-MSCs 在缺氧环境下,可能通过提高 Akt 及 Erk 的保护性机制而参与细胞增殖、减轻细胞凋亡等^[20-21],但两者之间是否存在联系,尚待更进一步探索。

参考文献(References)

[1] Yamada Y, Wang XD, Yokoyama S, et al. Cardiac progenitor cells in brown adipose tissue repaired damaged myocardium [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 342 (2):662-670

(下转第 1682 页)

Liver Int, 2008, 28(4): 509-518

- [6] 彭方兴, 严律南. 肝癌动物模型的研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2000, 17(5): 475-476
Peng Fang-xing, Yan Lv-nan. The research progress of animal models of liver cancer[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2000, 17(5): 475-476
- [7] 徐静, 李旭. 肝癌动物模型的建立[J]. 实用肝脏病杂志, 2005, 8(2): 116-118
Xu Jing, Li Xu. The creation of animal models of liver cancer [J]. Journal of Clinical Hepatology, 2005, 8(2): 116-118
- [8] Keng VW, Tschida BR, Bell JB, Largaespada DA. Modeling hepatitis B virus X-induced hepatocellular carcinoma in mice with the sleeping beauty transposon system [J]. Hepatology, 2011, 53(3): 781-90
- [9] Nieto A, Dominguez-Bernal G, Orden JA, De La Fuente R, Madrid-Elena N, Carrion J. Mechanisms of resistance and susceptibility to experimental visceral leishmaniasis: BALB/c mouse versus Syrian hamster model [J]. Vet Res, 2011, 42(1): 39
- [10] Rajanahally S, Agno JE, Nalam RL, Weinstein MB, Loveland KL, Matzuk MM, Li Q. Genetic evidence that SMAD2 is not required for gonadal tumor development in inhibin-deficient mice[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2010, 8: 69

- [11] Ha HL, Yu DY. HBx-induced reactive oxygen species activates hepatocellular carcinogenesis via dysregulation of PTEN/Akt pathway [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(39): 4932-4937
- [12] Chung TW, Lee YC, Ko JH, Kim CH. Hepatitis B Virus X protein modulates the expression of PTEN by inhibiting the function of p53, a transcriptional activator in liver cells [J]. Cancer Res, 2003 63(13): 3453-3458
- [13] 杨继金, 朱永法, 左长京, 等. 大白鼠转移性肝癌模型的制作[J]. 中华放射学杂志, 1993, 27(2): 122-123
Yang Ji-jin, Zhu Yong-fa, Zuo Chang-jin, et al. The creation of rat models of metastatic liver cancer [J]. Chin J Radiol, 1993, 27(2): 122-123
- [14] Jimbo T, Akimoto M, Tohyo A. Systemic administration of asynthetic lipid A derivative, DT.5461 a. Reduces tumor blood flow through endogenous TNF production in hepatic cancer model of VX2 carcinoma in rabbits[J]. Anticancer Res, 1996, 16: 359-364
- [15] Kawata Y, Hirota S, Sako M. Treatment of metastatic liver tumors by intermittent repetitive injection of an angiogenesis inhibitor using an implantable port system in a rabbit model [J]. Kobe J Med Sci, 1997, 43: 83-98

(上接第 1669 页)

- [2] Madonna R, De Caterina R. Adipose tissue: a new source for cardiovascular repair [J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2010, 11(2): 71-80
- [3] Sheikh AY, Lin SA, Cao F, et al. Molecular imaging of bone marrow mononuclear cell homing and engraftment in ischemic myocardium [J]. Stem Cells, 2007, 25(10): 2677-84
- [4] Li RK, Mickle DA, Weisel RD, et al. Optimal time for cardiomyocyte transplantation to maximize myocardial function after left ventricular injury[J]. Ann Thorac Surg, 2001, 72: 1957-1963
- [5] Kwak B, Mulhaupt F, Myit S, et al. Statins as a newly recognized type of immunomodulator[J]. Nat Med 2000, 6: 1399-1402
- [6] Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway[J]. J Clin Invest, 2001, 108: 391-397
- [7] Crisby M, Nordin FG, Shah PK, et al. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization[J]. Circulation, 2001, 103: 926-933
- [8] Rosanio S, Ye Y, Atar S, et al. Enhanced cardioprotection against ischemia-reperfusion injury with combining sildenafil with low-dose atorvastatin[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2006, 20: 27-36
- [9] Tziakas DN, Chalikias GK, Parissis JT, et al. Serum profiles of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor in patients with acute coronary syndromes: The effects of short-term atorvastatin administration[J]. Int J Cardiol, 2004, 94: 269-277
- [10] Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies [J]. Tissue Eng, 2001, 7: 211-226
- [11] Cao F, Lin S, Xiao YX, et al. In vivo visualization of embryonic stem cell survival, proliferation, migration, and ablation after cardiac delivery[J]. Circulation, 2006, 113(7): 1005-14

- [12] Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration[J]. Circ Res, 2002, 91: 1092-1102
- [13] Shao H, Tan Y, Eton D et al. Statin and stromal cell-derived factor-1 additively promote angiogenesis by enhancement of progenitor cells incorporation into new vessels. Stem Cells, 2008, 26(5): 1376-84
- [14] Moiseeva OM, Karelkina EV. Effect of therapy with rosuvastatin on circulating endothelial progenitor cells in patients with chronic heart failure[J]. Kardiologiia, 2009, 49(5): 11-5
- [15] Choi SC, Kim SJ. Fibroblast growth factor-2 and -4 promote the proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells by the activation of the PI3K-Akt and ERK1/2 signaling pathways [J]. Stem Cells Dev 2008, 17(4): 725-36
- [16] Tsai KS, Kao SY. Type I collagen promotes proliferation and osteogenesis of human mesenchymal stem cells via activation of ERK and Akt pathways[J]. J Biomed Mater Res, 2010, 94(3): 673-82
- [17] Bayes GA, Roura S, Soler BC. Identification of cardiomyogenic lineage markers in untreated human bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Transplant Proc, 2005, 37(9): 4077-4079
- [18] Wang ZJ, Zhang FM. Lipopolysaccharides can protect mesenchymal stem cells (MSCs) from oxidative stress-induced apoptosis and enhance proliferation of MSCs via Toll-like receptor (TLR)-4 and PI3K/Akt[J]. Cell Biol Int, 2009, 33(6): 665-74
- [19] Isele NB, Lee HS, Landshamer S, et al. Bone marrow stromal cells mediate protection through stimulation of PI3-K/Akt and MAPK signaling in neurons[J]. Neurochem Int, 2006, 50(1): 243-250
- [20] Gao F, Hu XY, et al. Heat shock protein 90 protects rat mesenchymal stem cells against hypoxia and serum deprivation-induced apoptosis via the PI3K/Akt and ERK1/2 pathways [J]. J Zhejiang Univ Sci, 2010, 11(8): 608-17
- [21] Wang JA, Chen TL. Hypoxic preconditioning attenuates hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis in mesenchymal stem cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2008, 29(1): 74-82