doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.30.001

·基础研究·

Exendin-4 通过 JNK 和 ERK 信号通路增强大鼠脂肪来源干细胞的增殖 *

周 浩 杨俊杰 辛 婷 胡舜英 易 军 周珊珊 韩天文 张 颖 陈韵岱△

（中国人民解放军总医院心血管内科 北京 100853）

摘要 目的：探讨 Exendin-4 对大鼠脂肪来源干细胞的（Adipose-derived stem cells，ADSCs）增殖作用及其机制。**方法：**体外分离培养 SD 大鼠腹股沟处脂肪组织，流式细胞学方法鉴定分离的 ADSCs，使用 Exendin-4（Ex-4，0-50 nm/L）对 P_4 代（第四代）ADSCs 进行干预，采用 MTT 检测 ADSCs 的增殖情况，Western blot 检测 MAPK 通路中 JNK 和 ERK 的磷酸化水平，使用相应的阻断剂来观测 JNK 和 ERK 通路对 ADSCs 增殖作用的影响。**结果：**分离培养的 ADSCs 高表达 CD29、CD90 和 CD105，低表达 CD31、CD34 和 CD45，符合间充质干细胞的表型。Ex-4 以浓度依赖方式促进 ADSCs 体外增殖，10 nm/L 为最适促增殖处理浓度。同时，Ex-4 可以提高细胞中 c-Jun 和 ERK 的磷酸化水平，而给予相应阻断剂后，磷酸化蛋白表达减弱，细胞增殖能力也明显减弱。**结论：**Ex-4 可以通过 JNK 和 ERK 通路增强大鼠脂肪来源干细胞的增殖。

关键词：脂肪干细胞；Exendin-4；增殖；JNK/ERK 信号通路

中图分类号：R541.4 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273（2014）30-5801-05

Exendin-4 Promotes Proliferation of Adipose-derived Stem Cells Via JNK and ERK Signaling Pathway*

ZHOU Hao, YANG Jun-jie, XIN Ting, HU Shun-ying, YI Jun, ZHOU Shan-Shan, HAN Tian-wen, ZHANG Ying, CHEN Yun-dai△

（Department of Cardiology, PLA General Hospital, Beijing 100853, China）

ABSTRACT Objective: To explore the effects and mechanism of Exendin-4（Ex-4）on the proliferation of adipose-derived stem cells (ADSCs). **Methods:** ADSCs used in this study were obtained from inguinal region in Sprague-Dawley rats and flow cytometry analysis was conducted to detect surface antigens of ADSCs. After cells were treated with Ex-4 with different concentrations (0-50 nm/L), the proliferation was measured with MTT test and the level of phospho-JNK and phospho-ERK were evaluated by Western blot. Next, inhibitor of JNK and ERK signaling pathways was applied to further establish the role of JNK and ERK in Ex-4-mediated cells proliferation. **Results:** ADSCs were positive for CD29, CD90 and CD105, but negative for CD31, CD34, and CD45, which was in line with the characteristics of mescenchymal stem cells. Ex-4 could increase the proliferation of ADSCs in vitro in a concentration dependent manner and 10 nm/L was the optimum concentration ($P<0.05$). Meanwhile, Ex-4 elevated the phosphorylation level of JNK and ERK. However, application of inhibitors of JNK and ERK signaling pathway not only reversed such effects of Ex-4 on JNK and ERK, but diminished the Ex-4-involved up-regulation of proliferation in ADSCs. **Conclusions:** Ex-4 increased proliferative capacity of ADSCs via JNK and ERK signaling pathway.

Key words: Adipose-derived stem cells; Exendin-4; Proliferation; JNK/ERK signaling pathway

Chinese Library Classification（CLC）: R541.4 Document code: A

Article ID: 1673-6273（2014）30-5801-05

前言

随着介入技术的逐渐提高，心肌梗死的救治也得到了相应的改善，但是心梗后缺血坏死组织由于无法再生修复，进而发生瘢痕替代和负性重构。脂肪来源干细胞（Adipose-derived stem cells, ADSCs）治疗心梗是近年的研究热点，通过诱导 ADSCs 分化为新生心肌，弥补梗死区域丢失的组织细胞，进而降低心室重塑的过程，维持正常的心功能[1,2]。而在干细胞移植和组织再生的过程中，需要为新组织的重建提供足够的细胞来源，另外，众多研究表明移植后的干细胞不能很好地存活和增殖[3]，因此，找到合适的药物和方法来促进干细胞的增殖对于提高移植治疗的效率至关重要。Exendin-4（Ex-4）是胰高血糖素样

* 基金项目：国家高技术研究发展计划（863 计划）（2011AA020101）；国家自然科学基金面上项目（81270186）

作者简介：周浩（1988-）男，硕士研究生，主要研究方向：心梗干细胞治疗，

电话：010-912936153，E-mail：Zhou30177@163.com

△通讯作者：陈韵岱，E-mail: cyundai@medmail.com.cn

（收稿日期：2014-02-15 接受日期：2014-03-12）

-1 的类似物，具有促进胰腺干细胞增殖分化[4]、保护心肌细胞免受缺氧凋亡[5]、降低心梗后缺血再灌注损伤[6]等细胞保护作用，但其对 ADSCs 的增殖作用未见报道。有研究表明，JNK [7]和 ERK[8]通路是 ADSCs 增殖的主要信号，而 Ex-4 能否通过 JNK 和 ERK 通路促进 ADSCs 增殖尚不明确。本研究在体外条件下，使用 Ex-4 处理 ADSCs，并观察其对 ADSCs 增殖能力的影响，并探究其促增殖作用是否通过 JNK/ERK 信号通路来介导。

1 材料和方法

1.1 试剂和仪器

70-80 g SD 大鼠（雌雄不限），购自解放军总医院动物室，胚牛血清（Hyclon）、低糖 -DMEM（Gibco）、PBS（自配），Exendin-4、DMSO、Ⅰ型胶原酶、胰蛋白酶、蛋白酶抑制剂、MTT 试剂、DAPI 染料、ERK 信号阻断剂 PD98059、JNK 信号阻断剂 SP600125 购自 Sigma 公司，荧光抗体 CD29、CD31、CD34、CD45、CD90 和 CD105 购自 Biolgend 公司，抗体 t-ERK、p-ERK (Thr202/204)、c-Jun、p-c-Jun (Ser63) 购自 Cell Signaling Technology，相应二抗购自 Santa Cruze，超敏发光液、RIPA 蛋白裂解液购于碧云天生物有限公司，Edu 试剂盒购自锐博生物公司。CO_2 培养箱 (Heraeus)，倒置相差显微镜 (OLYMPUS)，酶标仪 (Biotek)，流式细胞仪 (Biolgend)。

1.2 方法

1.2.1 ADSCs 分离、提取与培养 断颈处死大鼠，无菌条件下取尽双侧腹股沟处的白色脂肪组织，PBS 洗三遍后剪碎组织块至 < 1 mm^3，使用混合酶（0.1%Ⅰ型胶原酶和 0.05%胰蛋白酶）在 37 ℃下持续振荡消化 40-45 分钟，随即用新鲜培养基终止消化，200 目滤网过滤后 400 g 离心 10 min，弃上清，加入含有 10% FBS 的低糖 DMEM 培养基，以 1× 10^6 /mL 的细胞密度重悬细胞并接种到培养瓶中，24 h 后换液弃除未贴壁细胞，每 2-3 天观察并换液，当细胞生长至接近 90%融合时，使用 0.25%胰酶消化细胞，以 1:3 的比例接种到新的培养瓶中进行传代培养。本实验中使用的细胞为第 4 代细胞（P_4）。

1.2.2 ADSCs 鉴定 取第 4 代细胞，消化收集后 PBS 洗三遍，使用细胞表面标记物 CD29、CD31、CD34、CD45、CD90 和 CD105 抗体，按照说明书要求加入并避光孵育 30 min，随后行流式细胞学鉴定。

1.2.3 Ex-4 对 ADSCs 增殖作用及最适浓度测定 参考本课题组前期工作中已使用的 Ex-4 浓度 [9]，共分为 0、1 nmol/L、5 nmol/L、10 nmol/L、50 nmol/L 五个 Ex-4 处理浓度分组，在体外进行 MTT 实验，检测 ADSCs 的增殖情况。每隔 24 h 检查其 A490 处的 OD 值，连续观察 7 天后绘制不同浓度 Ex-4 下 ADSCs 的生长曲线。最后确定最佳的 Ex-4 促增殖浓度。

1.2.4 MTT 实验 ADSCs 以 3× 10^3 密度接种于 96 孔板中，待检测前每孔弃去培养基并给与 20μLMTT（5 mg/ml），37 ℃避光孵育 4 h 后弃去培养液，再加入 200 μL DMSO，震荡摇晃 10 min 后使用酶标仪检测 A490 处的 OD 值，实验重复三次。

1.2.5 Western blot 检测 JNK 和 ERK 的磷酸化水平 相应处理结束后，RIPA 裂解液提取细胞总蛋白，95 ℃加热 5 min，4 ℃条件下 12000 r/min 离心 10 min，BCA 法测蛋白浓度，取 15 μL 样本用 10%SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，PVDF 膜湿转 2 h 左右后 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h，一抗 4℃孵育过夜（1:1000），TBST 洗膜，HRP 标记的二抗（1:2500）室温反应 50 min，暗室曝光，并以 β-actin 作为内参，测定各样品的蛋白相对表达量。实验重复 3 次。进行通路阻断检测时，分别使用 PD98059（PD，10 μm/L）和 SP600125（SP，10 μm/L）提前干预 1 h 来封闭 ERK 和 JNK 信号，随后给于 Ex-4 处理 48 h。

1.2.6 Edu 标记增殖活跃细胞 按试剂说明书首先使用培养基按 1000∶1 比例配置 Edu 工作液，随后将 100 μm Edu 培养基加入 96 孔板中与细胞孵育 2 h，弃培养基后 PBS 洗 3 遍，4%多聚甲醛固定细胞 15 min，2 mg/mL 甘氨酸脱色 10 min，0.5% Triton-X100 透化 10 min，Apollo®避光染色 30 min，PBS 清洗后 DAPI 染核 5 min，随即在荧光显微镜下观察，计数 Edu 阳性细胞个数及细胞总数，每组细胞随即选三个视野，实验重复三次。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析，数据（相对表达量）用均数± 标准差表示，两组间比较用 t 检验，多组间比较用单因素方差分析，$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ADSCs 的形态及一般生长情况

第 4 代 ADSCs 接种于 10 cm 培养皿后 24 h，部分细胞贴壁，形态呈短棒状（图 1 A）；48 h 后数量稍有增多，细胞逐渐铺展变长，高倍镜下出现三角状、多角状、椭圆状、弧状等形态（图 1 B）；72 h 后细胞数量较前有明显增加，增殖速度显著提高，高倍镜下体积明显增大，出现类“S”状生长，细胞形态趋向一致（图 1 C）；96 h 后细胞继续保持增殖，表现为典型的长梭状漩涡样生长（图 1 D）；120 h 后数量进一步增多，排列更加紧密，并开始出现少量的漂浮死亡细胞（图 1 E）；144 h 后，致密生长的细胞间基本没有生长空间，高倍镜下细胞开始出现为扁圆、不规则等形态，提示大部分细胞增殖状态较差，生长趋于饱和（图 1 F）。

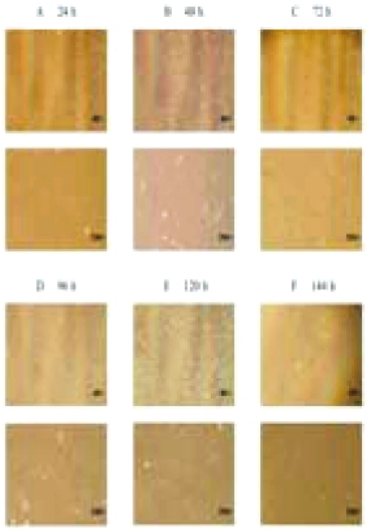

图 1 倒置显微镜 40× 和 200× 放大倍数下，观察不同时间点（24 h、48 h、72 h、96 h、120 h 和 144 h）后 ADSCs 的生长情况

Fig.1 The morphology of ADSCs were observed by the inverted microscope at 40× and 200× magnification by different time points (24 h, 48 h, 72 h, 96 h, 120 h and 144 h)

2.2 ADSCs 表面标记物的鉴定

流式细胞学结果显示，第 4 代 ADSCs 表面标记物中，内皮细胞标志：CD31 为阴性，造血细胞标志：CD34 和 CD45 也为阴性低表达；而间充质干细胞表面标记物 CD29、CD90 和 CD105 为阳性高表达（图 2）。提示分离的 ADSCs 没有被内皮系和造血系细胞污染，纯度较高，可以供下一步实验的使用。

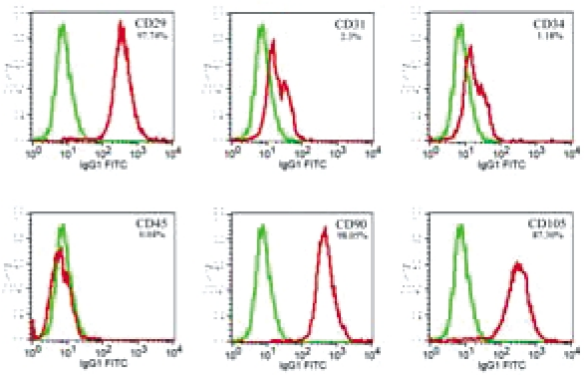

图 2 流式细胞学分析 ADSCs 表面标记物表达情况

Fig.2 Flow cytometry analysis was used to detect the surface marker of ADSCs

2.3 不同浓度 Ex-4 对 ADSCs 的增殖能力影响

分别使用 0、1 nmol/L、5 nmol/L、10 nmol/L、50 nmol/L 的 Ex-4 处理 ADSCs，使用 MTT 绘制不同浓度 Ex-4 作用下的 ADSCs 生长曲线（图 3）。结果提示，不同时间点上，同一浓度的 Ex-4 能够促进干细胞的生长，大约于第 2 天左右，ADSCs 开始进入对数生长期，第 5 天前后，增殖速度明显变缓；而同一时间点上 OD 值随 Ex-4 浓度增加而显著提高（P＜0.05）。其中，1 nmol/L Ex-4 处理浓度下，活细胞数量与正常组无显著差别。50 nmol/L 组的细胞增殖速度尽管于前 1-3 天时快于其他各组，但随后 4-7 天，细胞生长却明显下降。由此推断，10 nmol/L Ex-4 可能是提高 ADSCs 增殖能力的最佳处理浓度。同时 10 nmol/L Ex-4 作用 2 天后，细胞开始进入对数生长期，因此后续实验选用 10 nm/L Ex-4 处理 48 h 作为干预条件，进行增殖的信号机制探究。

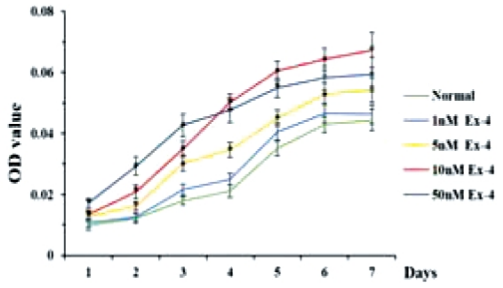

图 3 MTT 检测不同浓度 Ex-4 作用下 ADSCs 的生长曲线，*P<0.05 VS Nor，Nor：正常组

Fig.3 The growth curve of ADSCs at different concentrations of Ex-4 with MTT assay *P<0.05 VS Normal group

2.4 Ex-4 对 p-c-Jun 和 p-ERK 表达的影响

有研究报道，p-c-Jun 和 p-ERK 分别作为 MAPK/JNK 和 MAPK/ERK 通路的下游信号，对干细胞的增殖起着重要作用。而 Ex-4 已被证明是 MAPK/JNK 通路的上游刺激信号[10]。我们由此猜测 Ex-4 促增殖作用是否是通过调节 p-c-Jun 和 p-ERK 来完成。图 4A、B 中结果提示，10 nmol/L Ex-4 可以显著提高 p-c-Jun 和 p-ERK 表达，而 JNK 和 ERK 通路阻断剂可以抑制 Ex-4 作用。这与国外的报道结果相一致。

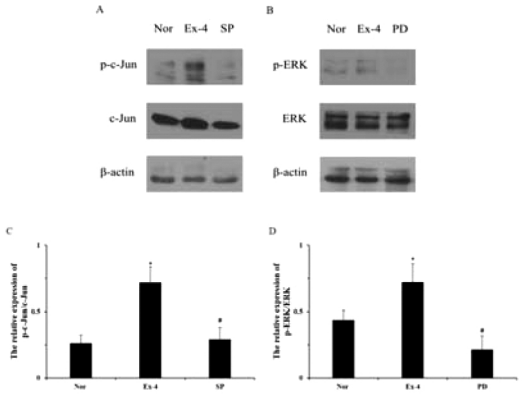

图 4 Western blot 检测 Ex-4 对 JNK 和 ERK 的作用。A: JNK 通路的下游底物 c-Jun 磷酸化水平；B:ERK 通路中 ERK 的磷酸化水平；C-D: 蛋白相对表达量。*P<0.05 VS Nor，#P<0.05 VS Ex-4，Nor：正常组；Ex-4：Ex-4 组，SP：SP600125；PD：PD98059

Fig.4 The effect of Ex-4 on JNK and ERK was evaluated by Western blot. A: the level of phospho-c-Jun that is the substrate of JNK pathway; B: the level of phospho-ERK of ERK pathway; C-D: the relative expression of proteins. *P<0.05 VS Nor, #P<0.05 VS Ex-4, Nor: Normal group; Ex-4: Ex-4 group, SP: SP600125; PD: PD98059

2.5 JNK 和 ERK 通路对 ADSCs 的增殖能力影响

上述 Western blot 结果提示 Ex-4 可以活化 JNK 和 ERK 通路，为了进一步证明 Ex-4 是否通过上述信号促进干细胞增殖，我们使用通路阻断剂预先封闭上述通路，后给于 Ex-4 处理，并使用 MTT 和 Edu 实验来检测此种情况下细胞的增殖能力。MTT 结果提示，抑制 JNK 和 ERK 通路后明显降低 Ex-4 对于干细胞的促增殖作用（P＜0.05）（图 5）。Edu 结果也提示，Ex-4 能够明显提高增殖活跃的细胞数量（P＜0.05），而封闭 JNK 和 ERK 信号后，Ex-4 的促进作用显著减弱，表现为增殖活跃的细胞数量明显下降（P＜0.05）（图 6）。提示 Ex-4 通过 JNK 和 ERK 通路来促进 ADSCs 增殖。

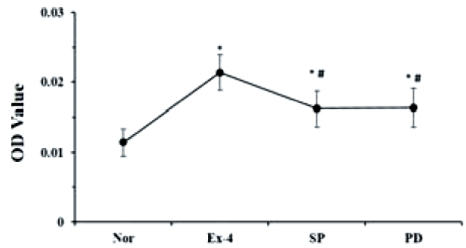

图 5 MTT 检测 JNK 和 ERK 通路对 ADSCs 增殖能力的影响 *P<0.05 VS Nor，#P<0.05 VS Ex-4，Nor：正常组；Ex-4：Ex-4 组，SP：SP600125；PD：PD98059

Fig.5 The influence of JNK and ERK pathways on the proliferation of ADSCS with MTT assay *P<0.05 VS Nor, #P<0.05 VS Ex-4, Nor: Normal group; Ex-4: Ex-4 group, SP: SP600125; PD: PD98059

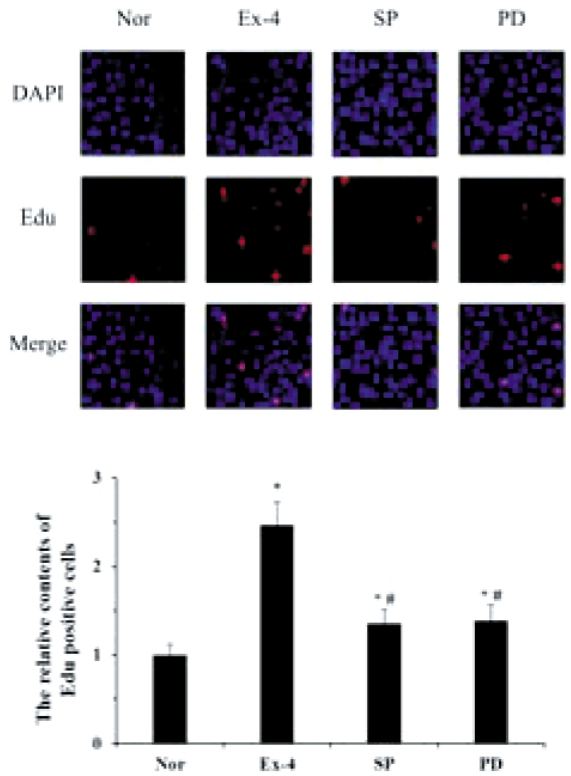

图 6 Edu 实验检测 JNK 和 ERK 通路对增殖活跃细胞影响 (100× 放大)

*P<0.05 VS Nor 组,*P<0.05 VS Nor,#P<0.05 VS Ex-4,Nor:正常组;Ex-4:Ex-4 组,SP:SP600125;PD:PD98059

Fig.6 The impact of JNK and ERK pathways on ADSCs with high abilities of proliferation using Edu assay at 100× magnification

*P<0.05 VS Nor, #P<0.05 VS Ex-4, Nor: Normal group; Ex-4: Ex-4 group, SP: SP600125; PD: PD98059

3 讨论

干细胞治疗心肌梗死具有广阔的应用前景，而 ADSCs 是一类具有骨髓间充质干细胞特性的种子细胞，由于其易培养、排斥反应低、能潜在向心肌自分化，同时其取材方式(抽脂手术)较骨髓间充质干细胞更加方便简单，因此成为近年的研究热点，有两个相关的临床 I 期试验正在进行中[11]。ADSCs 治疗心梗的主要机制是：a)定向分化心肌来弥补梗死区域中无功能的坏死细胞[12]；b)分泌生长因子增强原有心肌细胞的活性[13]；c)分化为微血管内皮进行血管重建改善局部血供等。众所周知，干细胞移植治疗心梗的前提是有丰富的细胞来源，尽管 ADSCs 具有一定的增殖能力，但是其移植后的细胞丢失率较高[14]，在治疗前需要有足够的细胞储备或是改善细胞的增殖能力，来保证细胞移植效率。Exendin-4 是胰高血糖素样肽 -1 受体激动剂，其主要生物学效应为血糖浓度依赖性降糖作用[15]，但近年来研究发现，Ex-4 具有心肌保护作用，能够对抗心梗后缺血再灌注损伤、降低梗死面积、提高射血分数[16]，同时 Ex-4 能够通过活化 PI3K/Akt 通路保护 ADSCs 细胞免受氧化应激凋亡[9]，但其对于 ADSCs 细胞的增殖作用未见报道。因此我们使用 Ex-4 与 ADSCs 进行共培养，观察 Ex-4 作用下 ADSCs 增殖能力的变化。结果显示，正常条件下，传代后 ADSCs 在 48 h 内贴壁伸展，这一时段细胞数量较少。72 h 后体积增大，出现典型的梭状形态。于培养后的第 5-6 天左右开始出现生长减弱、细胞凋亡现象。而给于 Ex-4 处理后，细胞增殖能力随 Ex-4 浓度增加而明显增强，48 h 左右进入对数生长期，10 nm/L Ex-4 为最适促增殖浓度。

丝裂原活化蛋白激酶 -MAPK（mitogen-activated protein kinases，MAPKs），是细胞内的一类丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶，将细胞外刺激信号转导至细胞及其核内，调节细胞增殖、分化和凋亡等生物学过程 [17]。JNK 和 ERK 是 MAPK 的亚族，JNK 信号通过磷酸化其底物 c-Jun 第 63、73 位丝氨酸，进而激活 c-Jun 并增加 AP-1 等特定基因的转录活性，促进细胞增殖和存活[18]，国外研究已证明 GLP-1 能够激活 MAPK/JNK 通路，减少脂肪干细胞在过氧化氢环境中的凋亡，而给于 GLP-1 受体阻断剂后可以降低该通路的活化和细胞存活[10]；不仅如此，活化后的 MAPK/JNK 通路能够刺激 ADSCs 在体外增殖[7, 19]，其下游机制可能与提高胞内周期蛋白 D1 表达和 Rb 磷酸化水平[20]，进而诱导 ADSCs 从 G_0/G_1 向 S 期转换有关。我们的实验也证实了 Ex-4 干预后，JNK 信号的下游执行蛋白 c-Jun 磷酸化显著提高，细胞数量也明显增多，而给于 MAPK/JNK 通路阻断剂 SP100625 后可以抑制 Ex-4 对于该通路的活化，并且 ADSCs 增殖能力也明显下降，提示 Ex-4 可以通过活化 MAPK/JNK 通路来提高 ADSCs 增殖。也有文献认为，抑制 ROS 介导的 c-JNK 活化可以刺激 ADSCs 的增殖[21]。我们认为，该实验之所以持反对意见是由于在 ROS 的实验条件下，c-JNK 可能涉及到细胞的炎症反应而非增殖效应。MAPK/ERK 通路是另一经典的促增殖信号，通过激活周期相关蛋白，从而提高多种细胞(树突细胞[22]、C2C12 肌原细胞[23]、神经干细胞[24]、前脂肪细胞[25])的增殖能力。近来研究证明，活化后的 ERK 通路能够扩大 TGF-β 的分泌，从而强化 ADSCs 的增殖能力[8, 26]。本研究结果支持上述实验结论，并证明 MAPK/ERK 信号通路参与 Ex-4 介导的 ADSCs 增殖。MAPK/ERK 促增殖的下游信号可能与磷酸化 mTOR/S6RP/eIF4E [8] 以及脱甲基化转录因子 Rex1、Nanog 和 Oct4[21]有关。最新研究表明，ERK 和 JNK 的激活还能够提高 ADSCs 旁分泌[27]，而 Ex-4 是否可以通过 ERK 和 JNK 信号，加强 ADSCs 分泌细胞因子的能力还需要进一步的实验研究。综上所述，我们提出了一种促进 ADSCs 体外增殖的方法，从而为 ADSCs 移植治疗心梗的细胞储备提供了足够保障，同时我们也证明了 Ex-4 对于干细胞的促生长作用是通过 ERK 和 JNK 信号完成。

参 考 文 献(References)

[1] Dimmeler S, Burchfield J, Zeiher AM. Cell-based therapy of myocardial infarction[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(2): 208-216

[2] Martin K, Huang CL, Caplice NM. Regenerative Approaches to Post-Myocardial Infarction Heart Failure[J]. Curr Pharm Des, 2014,20 (12): 1930-1940

[3] Haider H, Ashraf M. Strategies to promote donor cell survival: combining preconditioning approach with stem cell transplantation[J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 45(4): 554-566

[4] Li Y, Cao X, Li LX, et al. beta-Cell Pdx1 expression is essential for the glucoregulatory, proliferative, and cytoprotective actions of glucagon-l-

ike peptide-1[J]. Diabetes, 2005, 54(2): 482-491

[5] Chang G, Zhang D, Yu H, et al. Cardioprotective effects of exenatide against oxidative stress-induced injury[J]. Int J Mol Med, 2013, 32(5): 1011-1020

[6] Sonne DP, Engstrom T, Treiman M. Protective effects of GLP-1 analogues exendin-4 and GLP-1 (9-36) amide against ischemia-reperfusion injury in rat heart[J]. Regul Pept, 2008, 146(1-3): 243-249

[7] Baer PC, Schubert R, Bereiter-Hahn J, et al. Expression of a functional epidermal growth factor receptor on human adipose-derived mesenchymal stem cells and its signaling mechanism [J]. Eur J Cell Biol, 2009, 88(5): 273-283

[8] Lee J, Roh KB, Kim SC, et al. Soy peptide-induced stem cell proliferation: involvement of ERK and TGF-beta1 [J]. J Nutr Biochem, 2012, 23(10): 1341-1351

[9] 刘剑锋. Exendin-4 联合脂肪来源干细胞移植治疗急性心梗的作用及机制研究[D]. 中国人民解放军医学院, 2013
Liu Jian-feng. The Protective Function and Mechanism of Exendin-4 in conjunction with ADSCs for Myocardial Infarction [D]. Medical School of Chinese PLA, 2013

[10] Laviola L, Leonardini A, Melchiorre M, et al. Glucagon-like peptide-1 counteracts oxidative stress-dependent apoptosis of human cardiac progenitor cells by inhibiting the activation of the c-Jun N-terminal protein kinase signaling pathway [J]. Endocrinology, 2012, 153(12): 5770-5781

[11] Palpant NJ, Metzger JM. Aesthetic cardiology: adipose-derived stem cells for myocardial repair [J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2010, 5(2): 145-152

[12] Yamada Y, Yokoyama S, Wang XD, et al. Cardiac stem cells in brown adipose tissue express CD133 and induce bone marrow nonhematopoietic cells to differentiate into cardiomyocytes[J]. Stem Cells, 2007, 25(5): 1326-1333

[13] Tang YL, Zhao Q, Qin X, et al. Paracrine action enhances the effects of autologous mesenchymal stem cell transplantation on vascular regeneration in rat model of myocardial infarction [J]. Ann Thorac Surg, 2005, 80(1): 229-236; discussion 236-227

[14] Dow J, Simkhovich BZ, Kedes L, et al. Washout of transplanted cells from the heart: a potential new hurdle for cell transplantation therapy [J]. Cardiovasc Res, 2005, 67(2): 301-307

[15] Tahrani AA, Bailey CJ, Del Prato S, et al. Management of type 2 diabetes: new and future developments in treatment[J]. Lancet, 2011, 378(9786): 182-197

[16] Davidson MH. Cardiovascular effects of glucagonlike peptide-1 agonists[J]. Am J Cardiol, 2011, 108(3 Suppl): 33B-41B

[17] Cargnello M, Roux PP. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2011, 75(1): 50-83

[18] Go HS, Shin CY, Lee SH, et al. Increased proliferation and gliogenesis of cultured rat neural progenitor cells by lipopolysaccharide-stimulated astrocytes[J]. Neuroimmunomodulation, 2009, 16(6): 365-376

[19] Jeon ES, Song HY, Kim MR, et al. Sphingosylphosphorylcholine induces proliferation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells via activation of JNK [J]. J Lipid Res, 2006, 47(3): 653-664

[20] Kang YJ, Jeon ES, Song HY, et al. Role of c-Jun N-terminal kinase in the PDGF-induced proliferation and migration of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. J Cell Biochem, 2005, 95(6): 1135-1145

[21] Kim JH, Lee MR, Kim JH, et al. IFATS collection: Selenium induces improvement of stem cell behaviors in human adipose-tissue stromal cells via SAPK/JNK and stemness acting signals [J]. Stem Cells, 2008, 26(10): 2724-2734

[22] Hsu LW, Goto S, Nakano T, et al. The effect of exogenous histone H1 on rat adipose-derived stem cell proliferation, migration, and osteogenic differentiation in vitro [J]. J Cell Physiol, 2012, 227(10): 3417-3425

[23] Yang H, Li F, Kong X, et al. Chemerin regulates proliferation and differentiation of myoblast cells via ERK1/2 and mTOR signaling pathways[J]. Cytokine, 2012, 60(3): 646-652

[24] Zhang D, Guo M, Zhang W, et al. Adiponectin stimulates proliferation of adult hippocampal neural stem/progenitor cells through activation of p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK)/glycogen synthase kinase 3beta (GSK-3beta)/beta-catenin signaling cascade[J]. J Biol Chem, 2011, 286(52): 44913-44920

[25] Kim JH, Park SH, Nam SW, et al. Curcumin stimulates proliferation, stemness acting signals and migration of 3T3-L1 preadipocytes[J]. Int J Mol Med, 2011, 28(3): 429-435

[26] Song HY, Jeon ES, Jung JS, et al. Oncostatin M induces proliferation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2005, 37(11): 2357-2365

[27] Li Q, Li PH, Hou DJ, et al. EGF Enhances ADSCs Secretion via ERK and JNK Pathways[J]. Cell Biochem Biophys, 2014,69(1): 189-196