论著

文章编号:1000-5404(2014)07-0664-05

17β-雌二醇通过上调 CXCR4 表达促进骨髓间充质干细胞的趋化迁移

孙欣慰,杨铧琦,徐惠成 (400038 重庆,第三军医大学西南医院妇产科)

[摘要] **目的** 研究17β-雌二醇(17β-estradiol,17β-E2)对体外骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells,BMSCs)趋化因子受体CXCR4表达的影响及CXCR4表达变化对BMSCs趋化迁移的调控情况。**方法** 全骨髓法+贴壁法分离、培养BMSCs,不同浓度(10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L)的17β-雌二醇诱导经雌激素受体拮抗剂ICI 182780处理和未经处理的BMSCs后于不同时相点(24、48 h),用RT-PCR法和Western blot法分别检测细胞趋化因子受体CXCR4的表达情况,利用Transwell小室体外迁移体系观察10^{-7} mol/L 17β-雌二醇诱导前后的BMSCs对于不同浓度基质细胞衍生因子SDF-1的定向迁移情况,及采用AMD3100阻断SDF-1特异性受体CXCR4后对雌激素诱导前后BMSCs定向迁移的影响。**结果** BMSCs在不同浓度17β-雌二醇诱导24、48 h后,其CXCR4 mRNA的表达均有不同程度的升高,其中以24 h时10^{-7} mol/L组升高最为明显($P<0.05$)。CXCR4蛋白表达在24 h各浓度组以升高为主,24 h时5×10^{-7} mol/L组升高最为明显,48 h各浓度组以降低为主。雌激素受体拮抗剂ICI 182780能够明显抑制17β-雌二醇对CXCR4表达的影响($P<0.05$)。BMSCs对SDF-1的定向迁移有明显的浓度依赖性,且相同条件下17β-雌二醇诱导后的BMSCs迁移细胞数显著高于未经诱导的BMSCs,而CXCR4阻断剂AMD3100可明显抑制17β-雌二醇干预前后BMSCs的趋化迁移($P<0.05$)。**结论** 17β-雌二醇在一定的诱导时间内可提高BMSCs CXCR4的表达,进而增强SDF-1对BMSCs的体外趋化作用。

[关键词] 雌激素;骨髓间充质干细胞;SDF-1/CXCR4;迁移

[中图法分类号] R329-33; R329.28; R977.12 [文献标志码] A

17β-estradiol promotes chemotaxis migration of bone mesenchymal stem cells by up-regulating CXCR4

Sun Xinwei, Yang Huaqi, Xu Huicheng (Department of Gynecology and Obstetrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of 17β-estradiol on the expression of CXC chemokine receptor 4 (CXCR4) and its expression on regulating directional migration in bone mesenchymal stem cells (BMSCs) *in vitro*. **Methods** Rat BMSCs were isolated and cultured by using whole bone marrow adherence method. After the BMSCs were treated in presence or absence of estrogen receptor antagonist ICI 182780, the cells were induced with various concentrations of 17β-estradiol (10^{-10}, 10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 5×10^{-7}, 10^{-6} mol/L) for 24 or 48 h. Real-time PCR and Western blotting were used to detect the expression of CXCR4 at mRNA and protein levels in 17β-estradiol-treated and untreated BMSCs. Transwell chamber test was used to observe the migration of BMSCs before and after being treated with 10^{-7} mol/L of 17β-estradiol, which induced by different concentrations of stromal-derived factor-1 (SDF-1). Then the effect of CXCR4 antagonist AMD3100 on the directional migration of 17β-estradiol-treated and untreated BMSCs was investigated. **Results** Treated with various concentration of 17β-estradiol for 24 and 48 h, the mRNA expression of CXCR4 was increased, and the peak amount appeared when the concentration was 10^{-7} mol/L for 24 hours' treatment ($P<0.05$). The CXCR4 protein was increased in the cells induced by 17β-estradiol for 24 h, in which the peak was with the concentration of 5×10^{-7} mol/L. But in the BMSCs treated by 17β-estradiol for 48 h, CXCR4 protein expression was reduced in most concentrations. The estrogen receptor antagonist ICI 182780 inhibited the effect of 17β-estradiol on the expression of CXCR4 ($P<0.05$). The BMSCs migration induced by SDF-1 depended on the concentration of SDF-1, and in the same conditions, the amount of migrated cells was significantly larger

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81170533)

[通信作者] 徐惠成,E-mail: 541289314@qq.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140124.1023.010.html(2014-01-24)

in the 17β-estradiol-treated cells than the cells untreated. The CXCR4 blocker AMD3100 inhibited the directional migration of BMSCs before and after 17β-estradiol inducement ($P<0.05$). **Conclusion** 17β-estradiol promotes the expression levels of CXCR4 in BMSCs within a certain time period, and enhances the directional migration of BMSCs induced by SDF-1.

[**Key words**] estrogen; bone mesenchymal stem cells; stromal-derived factor-1/ CXC chemokine receptor 4; migration

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China(81170533). Corresponding author: Xu Huicheng, E-mail: 541289314@qq.com

骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)是一类具有多向分化潜能的干细胞,有易于分离、培养和扩增的特点,因此被认为是组织工程重要的种子细胞。干细胞进行移植后在体内向靶组织的定向迁移情况,直接关系着干细胞移植的治疗效果,因而一直是组织工程领域备受关注的问题。作为趋化因子家族的成员,基质细胞衍生因子SDF-1及其受体CXCR4在干细胞迁移归巢、增殖等过程中都发挥重要作用[1-2]。有研究表明,雌激素可以上调靶细胞CXCR4的表达[3-4],从而可促进细胞的迁移[5]。本实验拟就不同浓度雌激素诱导BMSCs后CXCR4表达的情况进行研究,并在此基础上利用Transwell小室体外迁移体系观察雌激素诱导前后的BMSCs向不同浓度SDF-1趋化、迁移的情况,从而为雌激素用于干细胞移植的相关治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康SD大鼠购于第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心,3周龄,体质量约100 g,雌性,清洁级。

1.2 主要试剂

DMEM-F12,胰蛋白酶,青、链霉素(HyClone公司),胎牛血清(FBS,Gibco公司),FITC anti-rat CD44,FITC anti-rat CD45,FITC anti-rat CD31,PE anti-rat CD29,PE anti-rat CD166(eBioscience公司),17-β雌二醇,CXCR4受体拮抗剂AMD3100(Sigma公司),大鼠SDF-1,ER拮抗剂ICI182780(R&D公司),兔抗大鼠CXCR4抗体(Abcam公司),Transwell(美国millipore公司),Trizol,DNA Marker 2000,*Taq*酶(北京天根),CXCR4和β-actin内参由上海生工合成。

1.3 引物

根据GenBank上所查基因的mRNA序列,采用GeneTool设计引物,CXCR4上游序列:5′-GCGCAAGGCCCTCAAGACTAC-3′,下游序列:5′-GGCGTAGAGGATGGGGTTCAG-3′;β-actin上游序列:5′-ACCCCGTGCTGCTGACCGAG-3′,下游序列:5′-TCCCG-GCCAGCCAGGTCCA-3′。

1.4 实验方法

1.4.1 大鼠BMSCs的分离、培养与鉴定 取3周龄SD大鼠颈椎脱臼法处死,75%酒精浸泡5 min。无菌条件下取双侧胫骨、股骨,仔细剔除表面肌肉,PBS冲洗2~3遍。剪去干骺端,暴露骨髓腔,注射器抽取含10% FBS的DMEM-F12反复冲洗骨髓腔,收集全部冲洗液,1 500 r/min离心5 min,弃去上清液,加入适量含10% FBS的DMEM-F12充分吹打成单细胞悬液,接种至含10% FBS的DMEM-F12培养基中,于5% CO_2、37 ℃、饱和湿度的培养箱中培养。24 h后首次换液,以后每2~3天换液1次。当观察到细胞铺满瓶底80%时,按1∶3进行传代。当细胞传至第3代时,0.25%胰蛋白酶消化、收集细胞于EP管内,PBS洗涤3次,弃去部分上清,EP管内仅余100 μL液体,按说明书加入FITC标记的兔抗大鼠CD44、CD45抗体和PE标记的兔抗大鼠CD31、CD29、CD166抗体,避光室温孵育30 min,PBS洗涤3次,上流式细胞仪测定细胞表面CD44、CD45、CD31、CD29、CD166的表达情况。

1.4.2 RT-PCR法测定BMSCs CXCR4的表达 以10^6/孔的细胞量接种第2代BMSCs至6孔细胞培养板,10% FBS的DMEM-F12培养至细胞铺满60%~70%时弃去培养基,进行雌激素干预实验。实验设置2个实验组,每个实验组包括6个E2干预孔和6个对应的ER拮抗孔,每组分别以未经处理的BMSCs作为阴性对照,E2干预组各孔分别加入不同浓度(10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L)的17-β雌二醇,ER拮抗组各孔细胞先用10^{-8} mol/L雌激素受体拮抗剂ICI182780封闭1 h,再按照E2干预组方法向各孔加入上述6个浓度的17-β雌二醇和10^{-6} mol/L ICI182780。2个实验组的药物干预时间分别为24 h和48 h。药物干预完成后弃去培养基并用PBS洗涤。收集BMSCs于1.5 mL EP管中,加入1 mL Trizol,按照Trizol说明书提取总RNA,RT-PCR制备cDNA,反应总体积20 μL,RNA模板量2 μg。PCR反应:取cDNA 2.0 μL,反应体积20.0 μL,向0.2 mL PCR管内加入CXCR4引物0.5 μL或β-actin引物0.5 μL,H_2O 7.0 μL,2×Mix *Taq* 10 μL,扩增条件:94 ℃ 5 min→(94 ℃ 30 s→57 ℃ 30 s→72 ℃ 30 s)×30次循环→72 ℃ 10 min。实时荧光定量:应用SYBR Green Ⅰ荧光染料技术行实时定量PCR反应,获取各标本的标准曲线,计算机分析Ct值。

1.4.3 Western blot法测定BMSCs CXCR4的表达 按上述方法用17-β雌二醇和ICI182780处理BMSCs,设置阴性对照。收集各组BMSCs,加入裂解液后匀浆,离心,取上清液测定蛋白水平。加上样液于10%聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离。转移蛋白至硝酸纤维素膜上,5%脱脂奶粉封闭2 h,TBST洗膜3次,加入兔抗大鼠CXCR4一抗孵育,4 ℃摇床过夜。TBST洗膜3次,加入抗兔IgG,摇床摇2 h。TBST洗膜3次,DAB显色法显示结果。Quantity One v4.4软件测定印迹条带的灰度值。蛋白质表达强度=目的蛋白灰度值/相应β-actin灰度值。

1.4.4 微孔隔离穿越实验 设置2个实验组,第1组BMSCs未经17-β雌二醇诱导,第2组BMSCs在含10^{-7}mol/L 17-β雌二醇的10% FBS培养基中培养24 h。每组设5个孔。无菌条件下Transwell小室于无血清培养基中浸洗30 min。收集第2代BMSCs,无血清培养基洗涤2次,无血清培养基调整细胞密度为1×10^5/mL,每组1~4孔板下室分别加入含0、100、200、300 ng/mL SDF-1的无血清培养基各500 μL,上室加入细胞悬液各200 μL,即2×10^4/孔。5孔板下室加入含200 ng/mL SDF-1的无血清培养基各500 μL,取上述细胞悬液各200 μL,与100 ng/mL CXCR4受体阻断剂AMD3100孵育30 min,加入5孔上室。24孔细胞培养板置入5% CO_2,37 ℃饱和湿度培养箱内培养24 h。用酒精棉球擦去Transwell小室上表面的细胞,10%甲醛固定15 min,PBS洗涤2遍,伊红染色30 s,PBS淋洗3遍。显微镜下随机取5个视野(光镜×100),计数染色细胞。

1.5 统计学分析

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 13.0统计软件,行单因素方差分析。

2 结果

2.1 BMSCs的分离培养

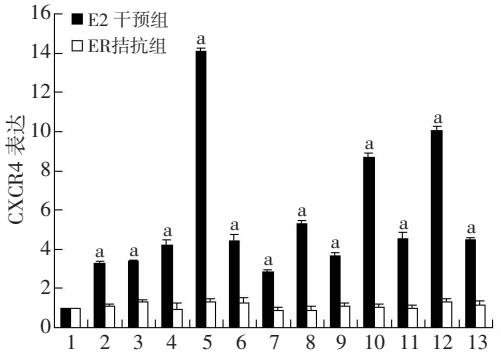
分离24 h首次换液后于光镜下可见大量类圆形折光性较强的有核细胞悬浮在培养液中,部分BMSCs已贴壁,呈长梭形、三角形或多角形。待细胞铺满瓶底80%左右时,进行1∶3传代,细胞传至第3代时形态类似纤维样细胞,漩涡状或鱼群状生长,形态较均一,多为长梭形,增殖速度快。

2.2 BMSCs的表型鉴定

流式细胞仪法测BMSCs的表型,高表达CD44、CD29,低表达造血干细胞标志物CD45,血管内皮细胞标志物CD31,肿瘤干细胞标志CD166。表达率分别为:CD44 72.45%、CD29 99.58%、CD45 1.49%、CD31 4.13%和CD166 14.96%,符合骨髓间充质干细胞的表型特征。

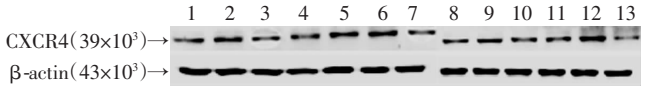
2.3 17β-E2对BMSCs CXCR4表达的影响

在E2干预组,以不同浓度的17β-E2(10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6}mol/L)分别诱导BMSCs 24、48 h后,各浓度对应的CXCR4 mRNA表达与阴性对照相比,均有不同程度增高(图1),诱导24 h时,各浓度对应CXCR4蛋白表达均较阴性对照升高,48 h各浓度对应蛋白表达以降低为主,即除峰值(5×10^{-7} mol/L)高于阴性对照外,其余浓度均低于阴性对照(图2、3)。诱导24 h时,各浓度对应CXCR4 mRNA表达在10^{-7}mol/L 17β-E2诱导后增高最为明显,CXCR4蛋白在5×10^{-7}mol/L 17β-E2诱导后达到最高;诱导48 h时,各浓度对应CXCR4 mRNA与蛋白表达的峰值趋于吻合,均在5×10^{-7} mol/L 17β-E2诱导后表达最高(图4)。在峰值的比较上,24 h各浓度对应mRNA表达峰值(10^{-7}mol/L)高于48 h各浓度对应表达峰值(5×10^{-7} mol/L),24 h各浓度对应蛋白表达峰值(5×10^{-7} mol/L)和第二峰值(10^{-7} mol/L)均高于48 h各浓度对应蛋白表达峰值(5×10^{-7} mol/L),此结果也作为后续迁移实验中处理细胞的17β雌二醇浓度选择的依据。在ER拮抗组,雌激素受体拮抗剂ICI 182780(浓度为10^{-8} mol/L时)能够明显抑制17β-E2对BMSCs CXCR4 mRNA和蛋白表达的调高作用($P<0.05$)。



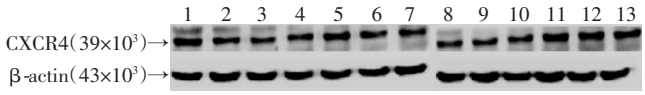
1:阴性对照;2~7:17β-E2 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L 24 h;8~13:17β-E2 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L 48 h;a:$P<0.05$,与E2拮抗组比较

图1 荧光定量PCR检测17β-E2对BMSCs CXCR4 mRNA表达的影响



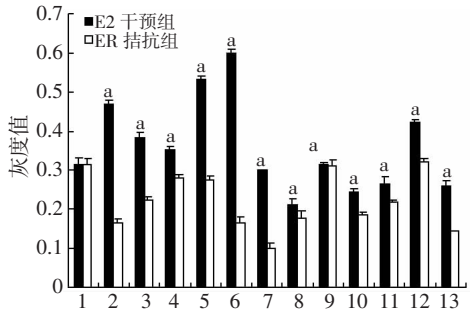
1:阴性对照;2~7:17β-E2 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L 24 h;8~13:17β-E2 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L 48 h

图2 Western blot检测E2干预组CXCR4蛋白的表达



1:阴性对照;2~7:17β-E2 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L 24 h;8~13:17β-E2 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L 48 h

图3 Western blot检测ER拮抗组CXCR4蛋白的表达



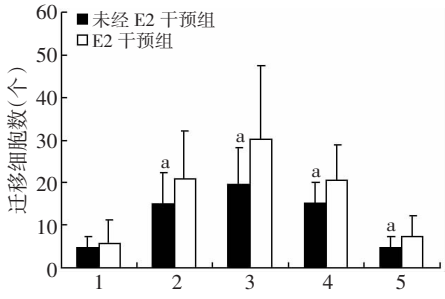
1:阴性对照;2~7:17β-E2 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L 24 h;8~13:17β-E2 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8}、10^{-7}、5×10^{-7}、10^{-6} mol/L 48 h;a:$P<0.05$,与E2拮抗组比较

图4 17β-E2对BMSCs CXCR4蛋白表达的影响

2.4 17β-E2对BMSCs迁移的影响

经10^{-7}mol/L 17β-E2干预的BMSCs在100、200、300 ng/mL的SDF-1条件下细胞迁移数显著高于未经17β-E2干预的相应条件下细胞迁移数($P<0.05$)。在200 ng/mL SDF-1条件下,未经E2干预与经过干预的BMSCs迁移能力均达到最高,更高浓度(300 ng/mL)的SDF-1不再增加细胞迁移数,且干预前后的细胞迁移数循SDF-1浓度梯度的变化趋势大致相同。200 ng/mL SDF-1 + AMD3100条件下,未经干预组细胞迁移数与阴性对照比较无统计学差异($P>0.05$);经过干预组细胞迁移数与对应阴性对照比较有统计学差异($P<0.05$)。上述数据

提示 BMSCs 对 SDF-1 的定向迁移具有浓度依赖性。在相同的 SDF-1 条件下,除阴性对照外,经 17β-E2 诱导的各 SDF-1 浓度对应细胞迁移数均要显著高于未经诱导的对应细胞迁移数。见图 5。



1:阴性对照;2:100 ng/mL SDF-1;3:200 ng/mL SDF-1;4:300 ng/mL SDF-1;5:200 ng/mL SDF-1 + AMD3100;a:$P<0.05$,与 E2 干预组比较

图 5 微孔隔离穿越实验检测未干预组与 E2 干预组细胞迁移数

3 讨论

既往研究已证实,表皮生长因子[6](epidermal growth factor,EGF)、基质细胞衍生因子(stroma cells-derived factor-1,SDF-1)、单核细胞趋化蛋白[7](monocyte chemotactic protein-1,MCP-1)等细胞因子均可在体内外影响骨髓间充质干细胞的迁移,其中 SDF-1 及其受体 CXCR4 的作用尤为重要。SDF-1/CXCR4 作为 CXC 趋化因子亚家族的成员之一,通过 SDF-1 与其受体 CXCR4 结合,不仅参与了骨髓间充质干细胞迁移与归巢行为的调节,也与造血干细胞、肿瘤细胞的迁移、炎症反应、HIV 的感染相关[8]。

雌激素是甾体类激素,与乳腺癌[9]、子宫内膜异位症[10]、绝经后妇女压力性尿失禁[11]、骨质疏松[12]等雌激素相关疾病的发生、发展有关。临床针对上述疾病与雌激素的相关性所采取的治疗措施也趋于成熟,但目前将雌激素作为辅助治疗手段应用于干细胞移植的相关研究还较少。

有研究发现,适当浓度的雌激素可以上调细胞 SDF-1/CXCR4 的表达[13]。本研究用不同浓度的 17β-E2 分别干预第 2 代 BMSCs[14] 24、48 h 后发现,诱导 48 h 时各浓度对应 CXCR4 mRNA 和蛋白表达处于峰值时的干预浓度相同,即 5×10^{-7} mol/L;而在诱导 24 h 时各浓度对应 CXCR4 mRNA 和蛋白处于峰值时的干预浓度存在出入,即 CXCR4 mRNA 的峰值干预浓度为 10^{-7} mol/L,CXCR4 蛋白的峰值干预浓度为 5×10^{-7} mol/L。出现这种分歧的原因可能是 CXCR4 mRNA 和蛋白的表达过程本身存在时空差异性,随着表达过程的进行,这种差异逐渐消减,因而 48 h 时 CXCR4 mRNA 和蛋白达到峰值的干预浓度趋于吻合,即均在浓度 5×10^{-7} mol/L 干预组出现峰值。24 h 时各浓度 E2 干预后 CXCR4 mRNA 和蛋白较阴性对照均有不同程度的升高。而在 48 h 时各浓度对应 mRNA 和蛋白表达较 24 h 各对应浓度的表达反而有所降低。究其原因,可能是采用雌激素对 BMSCs 进行单次刺激时,雌激素有一定的作用时间。文献报道,雌激素对 SDF-1/CXCR4 轴的调高作用在其作用 24 h 后逐渐减弱至消失[15],因而雌二醇干预 24 h 后 CXCR4 表达不再继续增高,反而因为自身 SDF-1 水平的降低使 CXCR4 相应降低,这可能与雌激素的药理作用、半衰期以及参与该调控过程的相关通路作用有关。

此外,本研究利用 Transwell 小室迁移体系观察 E2 干预前后 BMSCs 对 SDF-1 定向迁移的情况。在 E2 干预浓度的选择上,本实验采用 CXCR4 蛋白达到第二高值时的 E2 干预浓度 10^{-7} mol/L,而未采用峰值干预浓度 5×10^{-7} mol/L,其原因是虽然 5×10^{-7} mol/L 17β-E2 可诱导获得更高表达的 CXCR4 蛋白,理论上可以增加趋化的细胞数,但因其高于生理浓度 10^{-7} mol/L 数倍,在临床应用中可能涉及到安全性的问题,因而我们选择 10^{-7} mol/L 作为干预浓度。SDF-1 浓度为 200 ng/L 时,未经 E2 干预的 BMSCs 的细胞迁移数达到最大,这种诱导趋化作用可以被 CXCR4 受体阻断剂 AMD3100 阻断,提示 SDF-1 在 BMSCs 的定向迁移过程中起重要作用,且这种作用具有一定的剂量依赖性。经过 E2 干预的 BMSCs 在各浓度 SDF-1 条件下的细胞迁移数均明显大于未经干预的 BMSCs,说明 17-βE2 能够通过调高 BMSCs CXCR4 的表达促进其对 SDF-1 的定向迁移。未经 E2 干预的 BMSCs 经 AMD3100 阻断后细胞迁移数与阴性对照无明显差异,而经阻断的 BMSCs 的迁移细胞数高于阴性对照,提示 E2 可能通过除 SDF-1/CXCR4 轴外的其他机制促进 BMSCs 的迁移,但 SDF-1/CXCR4 轴在诱导定向迁移的过程中起主要作用。观察发现,BMSCs 在 Transwell 小室上的迁移并不是完全均匀的。靠近 Transwell 膜边缘的迁移细胞密度要高于膜中心位置,这也是造成不同视野中的迁移细胞数差异较大的原因。推测出现这种现象的原因可能是 Transwell 的构造使得膜周边与中心在细胞迁移的过程中具有不同的物理微环境,膜周边更有利于迁移细胞通过。

综上所述,本实验对雌激素通过调节 SDF-1/CXCR4 功能从而影响 BMSCs 定向迁移的过程进行研究探讨,为未来雌激素作为辅助措施应用于骨髓间充质干细胞移植治疗奠定了理论基础。同时为提高干细胞向靶组织的归巢率,增强干细胞治疗的效果,改善干细胞移植的预后提供了新的思路。本实验也具有一定的局限性。干细胞植入体内后,其归巢情况受组织内微环境中多种因素共同影响,本实验仅就 SDF-1/CXCR4 轴这一主要机制进行了探讨,并提示了进一步研究的可能性。而干细胞进入体内后具体的归巢和参与

组织修复情况和雌激素对此的影响,都有待在后续实验中进一步研究。

参考文献:

[1] Li Q, Zhang A, Tao C, *et al*. The role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 axis in biological behaviors of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells *in vitro*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 441(3): 675-680.

[2] Lau T T, Wang D A. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1): homing factor for engineered regenerative medicine[J]. Expert Opin Biol Ther, 2011, 11(2): 189-197.

[3] Chen Y, Jin X, Zeng Z, *et al*. Estrogen-replacement therapy promotes angiogenesis after acute myocardial infarction by enhancing SDF-1 and estrogen receptor expression[J]. Microvasc Res, 2009, 77(2): 71-77.

[4] Huang C, Gu H, Wang Y, *et al*. Estrogen-induced SDF-1 production is mediated by estrogen receptor-α in female hearts after acute ischemia and reperfusion[J]. Surgery, 2011, 150(2): 197-203.

[5] Yu X, Chen D, Zhang Y, *et al*. Overexpression of CXCR4 in mesenchymal stem cells promotes migration, neuroprotection and angiogenesis in a rat model of stroke[J]. J Neurol Sci, 2012, 316(1/2): 141-149.

[6] Wilson A J, Gibson P R. Role of epidermal growth factor receptor in basal and stimulated colonic epithelial cell migration *in vitro*[J]. Exp Cell Res, 1999, 250(1): 187-196.

[7] Wang L, Li Y, Chen J, *et al*. Ischemic cerebral tissue and MCP-1 enhance rat bone marrow stromal cell migration in interface culture[J]. Exp Hematol, 2002, 30(7): 831-836.

[8] Ghadge S K, Muhlstedt S, Ozcelik C, *et al*. SDF-1α as a therapeutic stem cell homing factor in myocardial infarction[J]. Pharmacol Ther, 2011, 129(1): 97-108.

[9] Okoh V, Deoraj A, Roy D. Estrogen-induced reactive oxygen species-mediated signalings contribute to breast cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1815(1): 115-133.

[10] Noel J C, Chapron C, Bucella D, *et al*. Estrogen and progesterone receptors in smooth muscle component of deep infiltrating endometriosis[J]. Fertil Steril, 2010, 93(6): 1774-1777.

[11] Virkud A. Management of stress urinary incontinence[J]. Best BPract Res Clin Obstet Gynaecol, 2011, 25(2): 205-216.

[12] 薛昊罡, 冷冰, 马恩元, 等. 雌激素水平与绝经女性并发骨质疏松症的相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(26): 4106-4108.

[13] Tsutsumi A, Okada H, Nakamoto T, *et al*. Estrogen induces stromal cell-derived factor 1 (SDF-1/CXCL12) production in human endometrial stromal cells: a possible role of endometrial epithelial cell growth[J]. Fertil Steril, 2011, 95(1): 444-447.

[14] 王瑾, 黄梁浒, 王庆华, 等. 长期培养对基质细胞衍生因子1/CXCR4介导间充质干细胞迁移的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(1): 61-64.

[15] Levin E R. Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen[J]. Mol Endocrinol, 2005, 19(8): 1951-1959.

(收稿:2013-11-18;修回:2013-12-16)

(编辑 吴培红)

(上接663页)

经消化道、性接触传播。假鼻疽伯克霍尔德菌在感染宿主后可长期处于静止期,而在多年后当宿主患有糖尿病、肾衰竭、肝硬化等使宿主免疫功能降低的疾病时,该病即可暴发,死亡率高达30%~50%[5],被称为宿主体内"定时炸弹"。

假鼻疽伯克霍尔德菌可感染和播散到人体多个器官,主要感染肺部,也感染皮肤或皮下组织、骨骼等组织[6]。肺类鼻疽的急性期主要表现为化脓性感染、急性肺炎或急性败血症伴高热。慢性期与肺结核症状相似。上述临床表现与其他细菌引起的肺炎临床症状很难区别,导致误诊、漏诊可能性增大。

本例患者为老年男性,在发生不全性肠梗阻后出现高热,伴咳嗽,咳少量黄白色粘痰,活动后气促,影像学检查提示肺部占位性病变、双肺多发小片状及结节影,血培养确诊为假鼻疽伯克霍尔德菌感染,与文献[7]报道一致。但有趣的是重庆地区尚无假鼻疽伯克霍尔德菌疫区报道,同时患者否认曾在疫区逗留,使得我们无法寻找传染源和传播途径。但根据病史情况可以推测:首先,患者为老年人,在发病前已经感染了假鼻疽伯克霍尔德菌,当患有不全性肠梗阻时,可能诱发假鼻疽伯克霍尔德菌的大量繁殖。其次,该患者生活在农村,卫生水平较差,与牲畜、土壤接触机会较多,也是感染该细菌的重要原因[8];第三,近20年来,川渝地区大多数农村青壮年去广东、福建乃至东南亚地区打工,他们生活的地区可能是疫区,他们被感染后可能无任何症状,但当他们返回家乡后,有可能经粪-口等途径传染给免疫力较弱的老年人。

目前尚无针对该病的疫苗,并且假鼻疽伯克霍尔德菌对多种抗生素天然耐药,仅对头孢他啶、复方新诺明和亚胺培南敏感,故常规经验治疗往往效果不佳。此外,在临床上肺上叶前段并非肺脓肿的好发部位,且痰液无臭味,不是典型肺脓肿的临床表现,在这种情况下临床医师需考虑患者存在其他病原菌感染的可能。

参考文献:

[1] Winstanley P. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. Research, education and capacity development in resource-poor settings—a festschrift for Professor M. E. Molyneux OBE. Preface[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2009, 103(Suppl 1): S1.

[2] 蒋忠军, 宋阳, 陆振豸. 我国类鼻疽研究的历史与现状[J]. 中国热带医学, 2012, 2(2): 176-180.

[3] Currie B J, Mayo M, Anstey N M, *et al*. A cluster of melioidosis cases from an endemic region is clonal and is linked to the water supply using molecular typing of Burkholderia pseudomallei isolates[J]. Am J Trop Med Hyg, 2001, 65(3): 177-179.

[4] Peacock S J. Melioidosis[J]. Curr Opin Infect Dis, 2006, 19(5): 421-428.

[5] Chaowagul W, White N J, Dance D A, *et al*. Melioidosis: a major cause of community-acquired septicemia in northeastern Thailand[J]. J Infect Dis, 1989, 159(5): 890-899.

[6] Dance D A, Davis T M, Wattanagoon Y, *et al*. Acute suppurative parotitis caused by Pseudomonas pseudomallei in children[J]. J Infect Dis, 1989, 159(4): 654-660.

[7] 戴喜明. 类鼻疽伯克霍尔德菌重症肺炎并发脓毒血症1例[J]. 临床急诊杂志, 2012, 13(3): 218-219.

[8] 何远学, 贾杰. 类鼻疽伯克霍尔德菌败血症25例临床分析[J]. 中国现代医学杂志, 2008, 18(7): 956-958.

(收稿:2013-12-13;修回:2014-01-13)

(编辑 邓强庭)