DOI:10.16016/j.1000-5404.201509155

趋化因子12促进少突胶质前体细胞的增殖

李邦银,蒋 涛,阴 洪,余 森,任先军 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院骨科)

[摘要] **目的** 体外研究趋化因子12(CXCL12)对大鼠少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cells,OPCs)增殖的影响及其机制。**方法** 振荡分离和差速贴壁等方法获得OPCs,采用免疫细胞化学技术进行鉴定;CCK-8检测OPCs在不同浓度CXCL12(0、5、10、20 ng/mL)作用不同时间点(0、24、48、72 h)的增殖,Western blot检测OPCs在各浓度下72 h后下游CXCR4、CXCR7、MMP9蛋白表达;CXCR4 siRNA、CXCR7 siRNA分别干扰CXCR4、CXCR7蛋白表达后,检测在20 ng/mL CXCL12下OPCs在各时间点的增殖,Western blot检测该条件下CXCR4、CXCR7、MMP9蛋白表达;MMP9 siRNA干扰MMP9蛋白表达后,检测在20 ng/mL CXCL12下OPCs在各时间点的增殖。**结果** 在一定浓度范围内,CXCL12能够明显促进OPCs增殖,并且促进OPCs内CXCR4、CXCR7、MMP9蛋白表达。与0 ng/mL相比,20 ng/mL CXCL12作用72 h后,OPCs增殖及CXCR4、CXCR7、MMP9蛋白表达增加最明显($P<0.05$,$P<0.01$);CXCR4、CXCR7分别干扰后,OPCs增殖受到抑制,MMP9蛋白表达量也明显降低($P<0.05$,$P<0.01$);MMP9干扰后,OPCs增殖受到抑制($P<0.05$)。**结论** CXCL12对OPCs增殖有明显促进作用,与CXCR4、CXCR7、MMP9蛋白表达上调相关。

[关键词] CXCL12;OPCs;CXCR4;CXCR7;增殖;脊髓损伤

[中图法分类号] R322.8;R329.8;R394.2 [文献标志码] A

CXCL12 promotes proliferation in rat oligodendrocyte precursor cells

Li Bangyin, Jiang Tao, Yin Hong, Yu Miao, Ren Xianjun (Department of Orthopaedics, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of CXCL12 on the proliferation of rat oligodendrocyte precursor cells (OPCs) and explore the related mechanism. **Methods** OPCs were dissociated by shaking process and differential adhesion, and identified by immunocytochemical assay. The effect of different concentrations (0, 5, 10 and 20 ng/mL) of CXCL12 on the proliferation of OPCs at 0, 24, 48, and 72 h was assessed by CCK-8 assay, and the expression levels of downstream CXCR4, CXCR7 and MMP9 at 72 h were detected by Western blotting. CXCR4 siRNA and CXCR7 siRNA were used to inhibit CXCR4 and CXCR7 expression, respectively. Then, the effect of 20 ng/mL CXCL12 on the proliferation of OPCs was assessed by CCK-8 assay, and the expression levels of downstream CXCR4, CXCR7 and MMP9 at 72 h were detected by Western blotting. MMP9 siRNA was used to inhibit MMP9 expression, and the effect of 20 ng/mL CXCL12 on proliferation of OPCs was assessed by CCK-8 assay. **Results** Certain concentration range of CXCL12 significantly promoted the proliferation of OPCs, and enhanced the expression levels of CXCR4, CXCR7 and MMP9. Compared with 0 ng/mL CXCL12, 20 ng/mL CXCL12 treatment for 72 h significantly promoted the proliferation of OPCs and the expression levels of CXCR4, CXCR7 and MMP9 ($P<0.05$). After inhibiting CXCR4 and CXCR7 expression, the proliferation of OPCs was inhibited, and the MMP9 expression was also significantly reduced ($P<0.05$). After inhibiting MMP9 expression, the proliferation of OPCs was inhibited ($P<0.05$). **Conclusion** CXCL12 can significantly promote the proliferation of OPCs through promoting

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81471262)

[通信作者] 任先军,E-mail: ren_xianjun@sina.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151230.1139.006.html(2015-12-30)

CXCR4, CXCR7 and MMP9 expression, which provides an experimental foundation for OPCs transplantation therapy of spinal cord injury (SCI).

[**Key words**] CXCL12; OPCs; CXCR4; CXCR7; proliferation; spinal cord injury

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81471262). Corresponding author: Ren Xianjun, E-mail: ren_xianjun@sina.com

少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cells,OPCs)是少突胶质细胞系发育的起始细胞,是未成熟的少突胶质细胞,有较强的增殖分化能力,在一连串信号作用下在体内可增殖、迁移,最后分化为成熟的少突胶质细胞并形成髓鞘,在中枢神经系统发育和损伤修复过程中具有重要作用[1-4]。趋化因子12(CXCL12)又称前B细胞刺激因子或者基质细胞衍生因子1,归属于CXC亚家族,由基质细胞持续产生,通过与受体CXCR4、CXCR7结合,在炎症反应、各种肿瘤、造血系统方面发挥重要作用。研究表明,CXCL12除了传统的对B淋巴细胞和骨髓造血干细胞起归巢作用[5]外,还与OPCs增殖、迁移、分化等过程密切相关[6-10],最终参与中枢神经系统发育和损伤修复过程。目前,CXCL12对OPCs是否有促进增殖的作用还不完全清楚。有研究表明CXCL12只能促进OPCs迁移和分化成熟,不能促进OPCs的增殖[8],但缺乏相关机制的研究。本研究拟通过体外实验观察不同浓度的CXCL12对OPCs在增殖方面的影响,初步探讨其可能的调控机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与主要试剂

新生SD大鼠,鼠龄<48 h,雌雄不限,体质量10~20 g,由第三军医大学实验动物中心提供。DMEM、胎牛血清(Gibco公司),山羊抗小鼠ALexaFLuor® 488IgM、山羊抗兔ALexaFLuor® 488IgG、BCA Protein Assay Kit(Lifetech公司),兔抗大鼠髓磷脂碱性蛋白抗体、兔抗大鼠血小板源性生长因子受体α抗体(Santa Cruz公司),血小板源性生长因子-AA、碱性成纤维细胞生长因子、大鼠CXCL12重组蛋白(Peprotech公司),小鼠抗大鼠O4抗体(R&D公司),兔抗大鼠CXCR4 IgG抗体、兔抗大鼠CXCR7 IgG抗体(Abcam公司),CCK-8试剂盒(DOJINDO公司),CXCR4 siRNA、CXCR7 siRNA、siRNA对照(上海生博)。

1.2 方法

1.2.1 SD大鼠OPCs细胞分离、培养及鉴定 根据Armstrong[11]、Itoh[12]介绍的方法行OPCs原代培养。根据OPCs初期表面特异性表达血小板源性生长因子受体α(PDGFR-α),OPCs诱导中期叉头蛋白O4表达呈阳性,诱导晚期髓鞘碱性蛋白(myelin basic protein,MBP)表达呈阳性,采用免疫细胞化学技术鉴定OPCs并观察其分化成熟情况。

1.2.2 不同浓度CXCL12对OPCs增殖的影响 CCK-8检测OPCs经不同浓度CXCL12(0、5、10、20 ng/mL)处理0、24、48、72 h的增殖能力。将各组样本细胞加入96孔板,每组设3个复孔。各组培养基加入96孔板剩余孔,作为空白对照组。总共铺4张完全相同的板,分别于培养0、24、48、72 h后各取出1张板,斜贴培养板壁向相应孔中迅速加入10 μL CCK-8溶液,孵育2 h后取出培养板用酶标仪测定在450 nm处的光密度值[$D(450)$],各组细胞增殖率=[$D(450)$实验组−$D(450)$空白对照组]/$D(450)$空白对照组×100%。

1.2.3 不同浓度CXCL12对OPCs蛋白表达的影响 Western blot检测不同浓度CXCL12(0、5、10、20 ng/mL)作用72 h后(每组设3个复孔)OPCs的CXCR4、CXCR7、MMP9蛋白表达。将收集的细胞样本依次提取蛋白、上样、电泳、转膜,以含5%胎牛血清的TBST室温封闭1 h,一抗采用兔抗大鼠CXCR4 IgG抗体、兔抗大鼠CXCR7 IgG抗体、山羊抗大鼠MMP9 IgG抗体,于4 ℃孵育过夜,二抗37 ℃ 2 h,ECL显影。

1.2.4 siRNA分别干扰CXCR4、CXCR7后OPCs的增殖能力 利用经过Western blot筛选后能够有效干扰CXCR4、CXCR7蛋白表达的CXCR4 siRNA、CXCR7 siRNA和干扰对照siRNA进行实验,CXCL12浓度均为20 ng/mL。分为CXCL12、CXCL12+对照siRNA、CXCL12+CXCR4 siRNA、CXCL12+CXCR7 siRNA4组,采用CCK-8检测OPCs在不同时间点(0、24、48、72 h)的增殖能力。

1.2.5 siRNA分别干扰CXCR4和CXCR7后下游MMP9蛋白表达 分组和实验条件与1.2.4相同,采用Western blot检测MMP9蛋白培养后72 h后的表达。

1.2.6 siRNA干扰MMP9后OPCs的增殖变化 利用经过Western blot筛选后能够有效干扰MMP9蛋白表达的MMP9 siRNA和对照siRNA,分为CXCL12、CXCL12+对照siRNA、CXCL12+MMP9 siRNA 3组,CXCL12浓度均为20 ng/mL,采用CCK-8检测OPCs

在各时间点(0、24、48、72 h)的增殖能力。

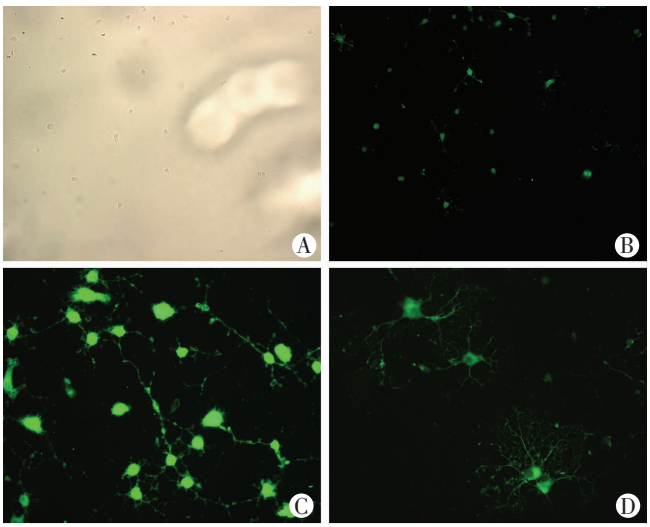
1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行 t 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SD 大鼠 OPCs 分离、培养、鉴定

获得大量 OPCs,细胞体较小,直径 6 ~ 10 μm,近似圆形,表现为折光性较强的小亮点,部分细胞体周围具有纤细的两极或三极细胞突起(图 1A)。免疫细胞化学检测结果显示:分离后 OPCs 能特异性表达 PDGFR-α(图 1B)。OPCs 经诱导分化为较成熟少突胶质细胞后,周围纤细突起较未诱导前稍增多,诱导中期 O4 表达呈阳性(图 1C),诱导晚期胞体网状纤细突起更加明显,呈"分枝"状或"蜘蛛网"状分布,BMP 表达呈阳性(图 1D),是成熟的髓鞘形成细胞的标志。



A:OPCs 白光(倒置显微镜);B:绿色为 OPCs 上 PDGFR-α 染色,蓝色为 DAPI 染核(荧光显微镜);C:绿色为 OPCs 诱导分化中期 O4 的染色,蓝色为 DAPI 染核(荧光显微镜);D:绿色为 OPCs 诱导分化晚期 MBP 的染色,蓝色为 DAPI 染核(荧光显微镜)

图 1 大鼠 OPCs 的分离、培养与鉴定 (激光共聚焦显微镜 ×200)

2.2 CCK-8 检测不同浓度 CXCL12 对 OPCs 增殖的影响

在 CXCL12 浓度相同时,随着培养时间在一定范围内增加,OPCs 增殖逐渐增加;在培养时间相同时,随着 CXCL12 在一定浓度范围内增加,OPCs 增殖逐渐增加。与 0 ng/mL CXCL12 相比,10 ng/mL CXCL12 处理 72 h 后,D(450)值明显增加($t=4.48$,$P<0.05$);20 ng/mL CXCL12 处理 48 h 和 72 h 后,D(450)值均明显增加($t=7.74$,$P<0.05$;$t=4.94$,$P<0.05$)。结果见表 1。

2.3 Western blot 检测不同浓度 CXCL12 对 OPCs 下游 CXCR4、CXCR7、MMP9 蛋白表达量的影响

随着 CXCL12 浓度增加,CXCR4、CXCR7、MMP9 蛋白表达逐渐增加。与 0、5 ng/mL CXCL12 相比,10、20 ng/mL CXCL12 时 CXCR4 蛋白相对表达均明显增加($t=9.59$,$P<0.05$;$t=11.67$,$P<0.01$);与 10 ng/mL CXCL12 相比,20 ng/mL CXCL12 时 CXCR4 蛋白增加趋势明显($t=6.10$,$P<0.05$)。与 0、5 ng/mL CXCL12 相比,20 ng/mL CXCL12 时 CXCR7 蛋白相对表达均明显增加($t=5.42$,$P<0.05$);与 10 ng/mL CXCL12 相比,20 ng/mL CXCL12 时 CXCR7 蛋白有增加趋势,但差异无统计学意义($t=2.36$,$P>0.05$)。与 0、5 ng/mL CXCL12 相比,10、20 ng/mL CXCL12 时 MMP9 蛋白相对表达均明显增加($t=9.22$,$P<0.05$;$t=11.80$,$P<0.01$);与 10 ng/mL CXCL12 相比,20 ng/mL CXCL12 时 MMP9 蛋白明显增加($t=19.75$,$P<0.01$)。结果见图 2。

2.4 CCK-8 检测 siRNA 分别干扰 CXCR4 和 CXCR7 后对 OPCs 细胞增殖的影响

CXCR4 和 CXCR7 分别阻断后各时间点 OPCs 增殖均降低。与 CXCL12 + 对照 siRNA 组相比,CXCL12 + CXCR4 siRNA 组和 CXCL12 + CXCR7 siRNA 组处理 48 h 和 72 h 后,D(450)值明显降低($t=-8.518$,$P<0.05$;$t=-5.338$,$P<0.05$;$t=-12.314$,$P<0.01$;$t=-9.595$,$P<0.05$)。结果见表 2。

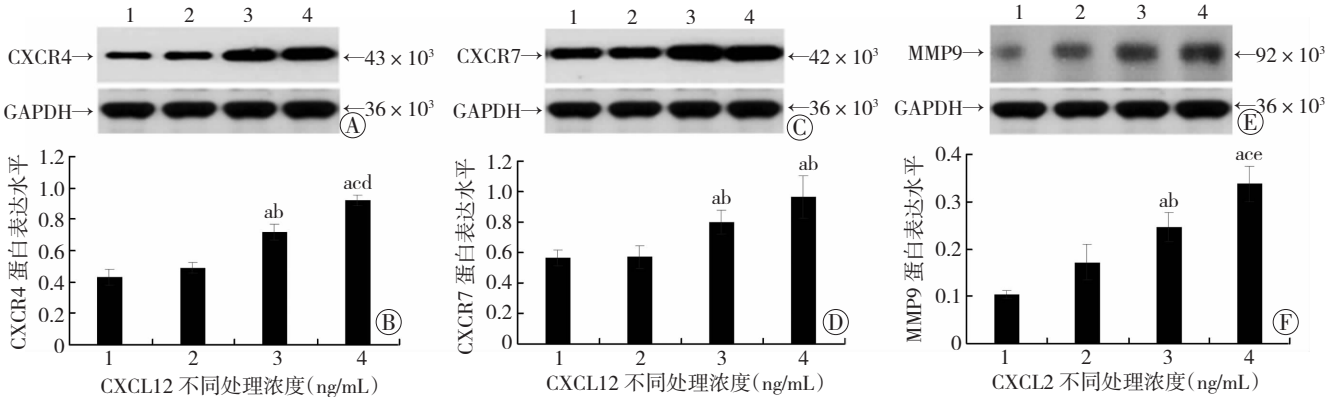
表 1 不同浓度 CXCL12 对 OPCs 增殖的影响 ($n=3$, $\bar{x} \pm s$)

CXCL12 浓度	培养 0 h	培养 24 h	培养 48 h	培养 72 h
0 ng/mL	0.197 ± 0.052	0.233 ± 0.060	0.378 ± 0.055	0.559 ± 0.067
5 ng/mL	0.200 ± 0.039	0.230 ± 0.053	0.419 ± 0.048	0.638 ± 0.063
10 ng/mL	0.229 ± 0.073	0.296 ± 0.056	0.533 ± 0.045	0.820 ± 0.035[a]
20 ng/mL	0.224 ± 0.081	0.363 ± 0.044	0.648 ± 0.078[a]	0.891 ± 0.058[a]

a:$P<0.05$,与 0 ng/mL CXCL12 比较

2.5　Western blot 检测 siRNA 分别干扰 CXCR4 和 CXCR7 后对下游蛋白表达的影响

CXCR4 siRNA 可阻断 CXCR4 蛋白表达,CXCR7 siRNA 可阻断 CXCR7 蛋白表达,CXCR4 siRNA、CXCR7 siRNA 均可阻断下游 MMP9 蛋白的表达。与 CXCL12 组相比,CXCL12 + 对照 siRNA 组 CXCR4、CXCR7 和 MMP9 蛋白的表达没有明显的变化($P > 0.05$);与 CXCL12 + 对照 siRNA 组相比,CXCL12 + CXCR4 siRNA 中 CXCR4 和 MMP9 蛋白的表达明显降低($t = -8.661$,$P < 0.05$;$t = -8.718$,$P < 0.05$),而 CXCR7 蛋白的表达没有明显的变化($P > 0.05$);与 CXCL12 + 对照 siRNA 组相比,CXCL12 + CXCR7 siRNA 中 CXCR7 和 MMP9 蛋白的表达明显降低($t = -11.047$,$P < 0.01$;$t = -7.604$,$P < 0.05$),而 CXCR4 蛋白的表达没有明显的变化($P > 0.05$)。结果见图 3。



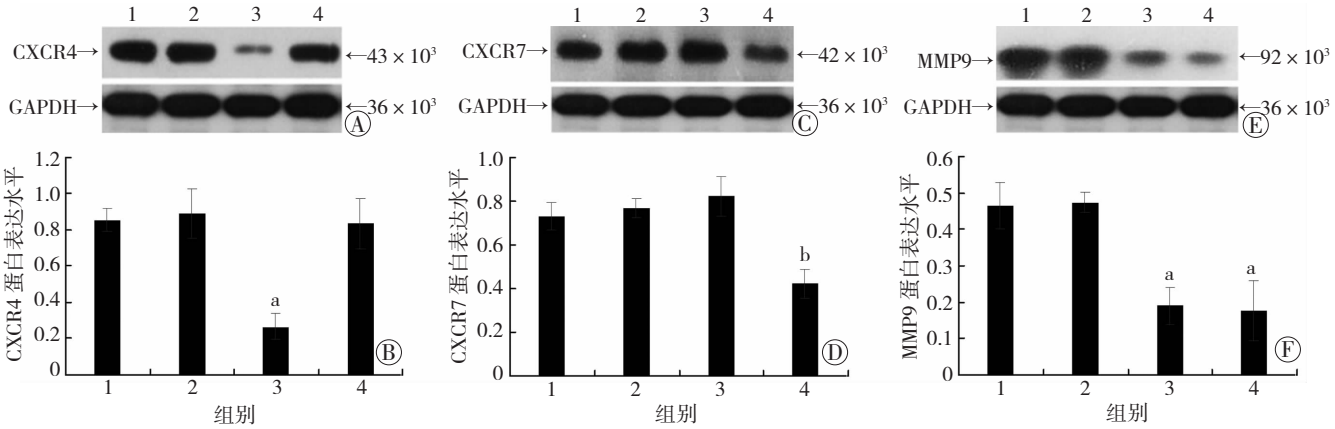
1:0 ng/mL CXCL12; 2: 5 ng/mL CXCL12; 3: 10 ng/mL CXCL12; 4: 20 ng/mL CXCL12　A、B: Western blot 检测 CXCR4 蛋白表达及半定量分析结果;C、D:Western blot 检测 CXCR7 蛋白表达及半定量分析结果;E、F:Western blot 检测 MMP9 蛋白表达及半定量分析结果　a: $P < 0.05$,与 0 ng/mL CXCL12 比较;b: $P < 0.05$, c: $P < 0.01$,与 5 ng/mL CXCL12 比较;d:$P < 0.05$,e: $P < 0.01$,与 10 ng/mL CXCL12 比较

图 2　Western blot 检测不同浓度 CXCL12 对 OPCs 下游信号通路蛋白表达的影响

表 2　CXCR4 和 CXCR7 分别干扰后 CXCL12 对 OPCs 增殖的影响($n = 3$, $\bar{x} \pm s$)

组别	培养 0 h	培养 24 h	培养 48 h	培养 72 h
CXCL12 组	0.274 ± 0.065	0.402 ± 0.058	0.752 ± 0.057	1.039 ± 0.108
CXCL12 + 对照 siRNA 组	0.265 ± 0.064	0.362 ± 0.063	0.712 ± 0.060	0.905 ± 0.056
CXCL12 + CXCR4 siRNA 组	0.264 ± 0.063	0.358 ± 0.038	0.504 ± 0.028[a]	0.752 ± 0.058[b]
CXCL12 + CXCR7 siRNA 组	0.253 ± 0.062	0.351 ± 0.070	0.517 ± 0.056[a]	0.807 ± 0.044[a]

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$,与 CXCL12 + 对照 siRNA 组比较



1: CXCL12 组; 2: CXCL12 + 对照 siRNA 组; 3: CXCL12 + CXCR4 siRNA 组; 4: CXCL12 + CXCR7 siRNA 组　A、B: Western blot 检测 CXCR4 蛋白表达及半定量分析结果;C、D:Western blot 检测 CXCR7 蛋白表达及半定量分析结果;E、F:Western blot 检测 MMP9 蛋白表达及半定量分析结果　a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$,与 CXCL12 + 对照 siRNA 组比较

图 3　Western blot 检测 CXCR4 和 CXCR7 分别干扰后 CXCL12 对 OPCs 下游信号通路蛋白表达的影响

表 3 MMP9 干扰后 CXCL12 对 OPCs 增殖的影响 ($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

组别	培养 0 h	培养 24 h	培养 48 h	培养 72 h
CXCL12 组	0.252 ± 0.061	0.358 ± 0.062	0.713 ± 0.036	0.927 ± 0.052
CXCL12 + 对照 siRNA 组	0.217 ± 0.034	0.299 ± 0.085	0.676 ± 0.071	0.841 ± 0.114
CXCL12 + MMP9 siRNA 组	0.209 ± 0.057	0.272 ± 0.031	0.430 ± 0.040[a]	0.668 ± 0.063[a]

a: $P<0.05$,与 CXCL12 + 对照 siRNA 组比较

2.6 CCK-8 检测 siRNA 干扰 MMP9 后对 OPCs 增殖的影响

MMP9 阻断后 OPCs 增殖明显降低。与 CXCL12 + 对照 siRNA 组相比,CXCL12 + MMP9 siRNA 组处理 48 h 和 72 h 后,$D(450)$值明显降低($t=-5.249$,$P<0.05$;$t=-5.024$,$P<0.05$,表 3)。

3 讨论

脊髓损伤是一种常见的中枢神经系统损伤,损伤后常出现神经、感觉、运动功能严重障碍。脊髓损伤不仅会直接造成神经元的丢失,而且还将导致少突胶质细胞大量的死亡进而引起神经轴突脱髓鞘改变[13-14]。脱髓鞘反应是一种慢性、渐进性病理变化过程,持续到脊髓损伤后相当一段时间,最终影响神经轴突的功能发挥[15],在脊髓损伤后自身修复过程中虽然局部可见少量 OPCs 增殖,但仅靠机体自身反应性增生的 OPCs 作用甚微,而外源性补充的 OPCs 经增殖、迁移、分化等一系列复杂过程后可改善残留神经轴突髓鞘化,促进损伤脊髓神经功能的恢复[1]。本研究发现,CXCL12 对 OPCs 具有明显的促增殖作用,并在一定范围内具有浓度依赖性,随着 CXCL12 浓度的增高,促增殖作用更加明显。这种促增殖作用与 OPCs 的 CXCR4、CXCR7、MMP9 蛋白上调相关。

本实验检测不同浓度 CXCL12 培养 72 h 后 CXCR4、CXCR7、MMP9 蛋白的变化,发现 CXCL12 具有促进 CXCR4、CXCR7、MMP9 蛋白表达的作用,并在一定范围内具有浓度依赖性。随着 CXCL12 浓度的增高,这种促进蛋白表达的作用更加明显。我们推测,CXCL12 可能通过影响受体 CXCR4、CXCR7 表达,影响下游 MMP9 蛋白的表达,最终影响 OPCs 的增殖。为了验证假设,我们用 CXCR4 siRNA、CXCR7 siRNA 对 CXCR4、CXCR7 分别进行干扰,发现下游 MMP9 蛋白的表达明显降低,对 OPCs 增殖作用也降低,说明干扰 CXCR4、CXCR7 抑制了下游 MMP9 蛋白的表达,进而抑制了 OPCs 的增殖。本实验进一步单独验证 MMP9 蛋白在细胞增殖过程中的作用,用 MMP9 siRNA 进行干扰,发现 CXCL12 对 OPCs 的增殖作用也受到了抑制。这表明 CXCL12 可分别通过促进 CXCR4、CXCR7 表达,进而促进下游的 MMP9 蛋白的表达,最终促进 OPCs 的增殖。

在正常生理条件下,CXCL12 起着介导神经元前体细胞向最终功能区域定向迁移后增殖分化的作用。CXCL12 基因缺失的小鼠因为中枢神经系统发育异常而不能存活[16];在病理条件下 CXCL12 更是与神经系统损伤、修复过程密切相关[17]。Lipfert 等[18] 发现 CXCL12 可以通过与 CXCR4 和 CXCR7 组成的功能性受体单元结合,激活下游的 ERK1/2 和 Akt 通路,从而促进初级小胶质细胞的增殖;Wu 等[19] 发现 CXCL12 也可通过激活下游的 Akt 通路促进人神经前体细胞增殖; Kadi 等[6] 应用小鼠少突胶质细胞前体样细胞系、Oli-neu 细胞和小鼠大脑皮质混合培养实验模型研究趋化因子对 OPCs 增殖、分化成熟和髓鞘形成的影响,发现 CXCL12 通过与细胞表面受体 CXCR4 结合,促进小鼠 A2B5 前体样细胞系的增殖和 MBP 的合成,最终促进 OPCs 增殖和髓鞘形成;早期研究发现 TNF-α 可促进 OPCs 增殖[8],但原因不明。在进一步的脱髓鞘疾病相关研究中发现,小胶质细胞受到激活产生 TNF-α,诱导产生的 TNF-α 与星形胶质细胞表面的 TNFR2 受体结合后刺激星形胶质细胞产生 CXCL12,CXCL12 再与 OPCs 表面的 CXCR4 结合,最终影响少突胶质前体细胞的增殖[20];Barkho 等[21] 研究发现,CXCL12 影响 MMP3、MMP9 的变化,从而影响神经前体细胞的增殖。类似的,CXCL12 通过提高 MMP9 表达在促进肿瘤细胞的增殖和侵袭、转移方面的研究较多,均表明 CXCL12 在促进细胞增殖、生长过程中具有重要作用。本实验结果也与以上研究结果相符:CXCL12 对 OPCs 增殖有明显促进作用,这种促进增殖的作用与 CXCR4、CXCR7、MMP9 蛋白表达上调相关,本研究只是对 CXCL12 促进少突胶质前体细胞增殖机制的粗略研究,在此基础上还可以进一步研究增殖的少突胶质前体细胞是否有可以修复脱髓鞘的脊髓,最终利于脊髓损伤的修复。

综上所述,CXCL12 对 OPCs 有明显的促进增殖的作用,但其调控机制是一个十分复杂的过程,仍有待进行深层次的探索。

参考文献:

[1] Wu B, Sun L, Li P, *et al*. Transplantation of oligodendrocyte

precursor cells improves myelination and promotes functional recovery after spinal cord injury[J]. Injury, 2012, 43(6): 794 – 801. DOI:10.1016/j.injury.2011.09.013

[2] Sharp J, Frame J, Siegenthaler M, *et al*. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants improve recovery after cervical spinal cord injury[J]. Stem Cells, 2010, 28(1): 152 – 163. DOI:10.1002/stem.245

[3] Keirstead H S, Nistor G, Bernal G, *et al*. Human embryonic stem cell-derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury[J]. J Neurosci, 2005, 25(19): 4694 – 4705. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0311-05.2005

[4] Yune T Y, Lee J Y, Jung G Y, *et al*. Minocycline alleviates death of oligodendrocytes by inhibiting pro-nerve growth factor production in microglia after spinal cord injury[J]. J Neurosci, 2007, 27(29): 7751 – 7761. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1661-07.2007

[5] Nagasawa T. A chemokine, SDF-1/PBSF, and its receptor, CXC chemokine receptor 4, as mediators of hematopoiesis[J]. Int J Hematol, 2000, 72(4): 408 – 411.

[6] Kadi L, Selvaraju R, de-Lys P, *et al*. Differential effects of chemokines on oligodendrocyte precursor proliferation and myelin formation *in vitro*[J]. J Neuroimmunol, 2006, 174(1/2): 133 – 146. DOI:10.1016/j.jneuroim.2006.01.011

[7] Patel J R, McCandless E E, Dorsey D, *et al*. CXCR4 promotes differentiation of oligodendrocyte progenitors and remyelination[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(24): 11062 – 11067. DOI:10.1073/pnas.1006301107

[8] Maysami S, Nguyen D, Zobel F, *et al*. Modulation of rat oligodendrocyte precursor cells by the chemokine CXCL12[J]. Neuroreport, 2006, 17(11): 1187 – 1190. DOI: 10.1097/01.wnr.0000227985.92551.9a

[9] Gottle P, Kremer D, Jander S, *et al*. Activation of CXCR7 receptor promotes oligodendroglial cell maturation[J]. Ann Neurol, 2010, 68(6): 915 – 924. DOI:10.1002/ana.22214

[10] Patel J R, Williams J L, Muccigrosso M M, *et al*. Astrocyte TNFR2 is required for CXCL12-mediated regulation of oligodendrocyte progenitor proliferation and differentiation within the adult CNS[J]. Acta Neuropathol, 2012, 124(6): 847 – 860. DOI:10.1007/s00401-012-1034-0

[11] Armstrong R C. Isolation and characterization of immature oligodendrocyte lineage cells[J]. Methods, 1998, 16(3): 282 – 292. DOI:10.1006/meth.1998.0685

[12] Itoh K. Culture of oligodendrocyte precursor cells (NG2(+)/O1(-)) and oligodendrocytes (NG2(-)/O1(+)) from embryonic rat cerebrum[J]. Brain Res Brain Res Protoc, 2002, 10(1): 23 – 30.

[13] McDonald J W, Belegu V. Demyelination and remyelination after spinal cord injury[J]. J Neurotrauma, 2006, 23(3/4): 345 – 359. DOI:10.1089/neu.2006.23.345

[14] Radtke C, Spies M, Sasaki M, *et al*. Demyelinating diseases and potential repair strategies[J]. Int J Dev Neurosci, 2007, 25(3): 149 – 153. DOI:10.1016/j.ijdevneu.2007.02.002

[15] Totoiu M O, Keirstead H S. Spinal cord injury is accompanied by chronic progressive demyelination[J]. J Comp Neurol, 2005, 486(4): 373 – 383. DOI:10.1002/cne.20517

[16] Lu M, Grove E A, Miller R J. Abnormal development of the hippocampal dentate gyrus in mice lacking the CXCR4 chemokine receptor[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(10): 7090 – 7095. DOI:10.1073/pnas.092013799

[17] Momcilovic M, Mostarica-Stojkovic M, Miljkovic D. CXCL12 in control of neuroinflammation[J]. Immunol Res, 2012, 52(1/2): 53 – 63. DOI: 10.1007/s12026-012-8282-x

[18] Lipfert J, Odemis V, Wagner D C, *et al*. CXCR4 and CXCR7 form a functional receptor unit for SDF-1/CXCL12 in primary rodent microglia[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2013, 39(6): 667 – 680. DOI:10.1111/nan.12015

[19] Wu Y, Peng H, Cui M, *et al*. CXCL12 increases human neural progenitor cell proliferation through Akt-1/FOXO3a signaling pathway[J]. J Neurochem, 2009, 109(4): 1157 – 1167. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2009.06043.x

[20] Arnett H A, Mason J, Marino M, *et al*. TNF alpha promotes proliferation of oligodendrocyte progenitors and remyelination[J]. Nat Neurosci, 2001, 4(11): 1116 – 1122. DOI:10.1038/nn738

[21] Barkho B Z, Munoz A E, Li X, *et al*. Endogenous matrix metalloproteinase (MMP)-3 and MMP-9 promote the differentiation and migration of adult neural progenitor cells in response to chemokines[J]. Stem Cells, 2008, 26(12): 3139 – 3149. DOI:10.1634/stemcells.2008-0519

(**收稿**:2015-09-29;**修回**:2015-10-25)

(编辑 龙 亮)