

· 基础研究 ·

TNF- α 预处理 MC3T3-E1 细胞后上调 N-cadherin 并影响骨髓血液生成

卢冰¹, 费小明^{1*}, 汤郁^{2*}, 陆萍¹, 李晓蕊¹

¹江苏大学附属医院血液科, ²风湿科, 江苏 镇江 212001

[摘要] 目的:研究肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)处理小鼠前成骨细胞株 MC3T3-E1 对其血液生成能力的影响及可能机制。方法:Western blot 方法检测 TNF- α 处理 MC3T3-E1 细胞后, N-cadherin、p-Erk1/2 和 p-Akt 的表达水平;将 TNF- α 预处理的 MC3T3-E1 细胞作为饲养层细胞,联合造血生长因子 SCF、TPO 和 Flt3-配体,体外扩增分选的小鼠 Sca-1(+) 细胞 7 d 后,检测粒-单系集落形成单位(CFU-GM)、红系形成单位(BFU-E)和前 B 淋系形成单位(CFU-pre-B)。并检测 Erk 抑制剂 FR180204 对 MC3T3-E1 细胞 N-cadherin 和 p-Erk 水平的影响。结果:MC3T3-E1 细胞经 TNF- α 预处理后, N-cadherin 和 p-Erk 的表达上调, p-Akt 没有明显变化。饲养层细胞联合造血生长因子体外扩增 Sca-1(+) 细胞 7 d, 与对照组比较, TNF- α 预处理组中的总 CFU、BFU-E 及 CFU-GM 数目下降($P < 0.05$), 但 CFU-pre-B 数目明显升高($P < 0.05$)。Erk 抑制剂 FR180204 处理 MC3T3-E1 细胞可下调 Erk 的同时上调 N-cadherin 水平。结论:TNF- α 可能通过影响骨髓微环境中造血支持细胞而间接影响血液生成和造血干细胞向各系列的分化;调节成骨细胞 Erk1/2 的磷酸化和 N-cadherin 的表达, 可能是 TNF- α 影响骨髓血液生成的机制之一。

[关键词] 系统性红斑狼疮;骨髓微环境;MC3T3-E1;TNF- α ;N-cadherin;p-Erk1/2

[中图分类号] R593.24

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)07-949-06

doi:10.7655/NYDXBNS20190701

TNF- α up-regulates N-cadherin and affects bone marrow hematopoiesis by pretreating MC3T3-E1 cells

Lu Bing¹, Fei Xiaoming^{1*}, Tang Yu^{2*}, Lu Ping¹, Li Xiaorui¹

¹Department of Hematology, ²Department of Rheumatology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China

[Abstract] **Objective:** In this study, TNF- α treated mouse preosteoblast cell line MC3T3-E1 was used to investigate the effect of TNF- α treated mouse preosteoblast cell line MC3T3-E1 on its hematopoiesis and its possible mechanism(s). **Methods:** MC3T3-E1 cells pretreated with TNF- α were used as feeder layer cells, combined with hematopoietic growth factor SCF, TPO and Flt3-ligand, and Sca-1(+) cells of mice were amplified and sorted in vitro for 7 days, and the granulocyte - single-line colony formation unit(CFU-GM), red line formation unit(BFU-E) and pre-b line formation unit(CFU-pre-B) were detected. The effect of Erk inhibitor FR180204 on the levels of N-cadherin and p-Erk in MC3T3-E1 cells was also examined. **Results:** After pretreatment with TNF- α , the expression of N-cadherin was up-regulated, p-Erk was down-regulated, and p-Akt had no effect. The feeding layer cells combined with hematopoietic growth factor were amplified into Sca-1(+) cells in vitro for 7 days, compared with the control group, the number of total CFU, BFU-E and CFU-GM in TNF- α pretreatment group decreased($P < 0.05$), but the number of CFU-pre-B increased significantly($P < 0.05$). Erk inhibitor FR180204 treated MC3T3-E1 cells, it showed down-regulated Erk and up-regulated N-cadherin levels. **Conclusion:** TNF- α may indirectly affect production of the blood and differentiation of hematopoietic stem cells into various lines by affecting hematopoietic supporting cells in bone marrow microenvironment. Regulation of the phosphorylation of Erk1/2 and the expression of N-cadherin in osteoblasts may be one of the mechanisms by which TNF- α affects bone marrow hematopoiesis

[Key words] systemic lupus erythematosus; bone marrow microenvironment; MC3T3-E1; TNF- α ; N-cadherin; p-Erk1/2

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(07):949-954]

[基金项目] 国家自然科学基金(81571582, 81202358); 高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才科研项目(LGY2017101); 江苏省卫生计生委科研课题(Z201512, H2018084)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: feixiaomingujs@aliyun.com; 1739833926@qq.com

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种累及多个系统的自身免疫性结缔组织病,血液学异常是SLE常见的临床表现之一,活动期SLE患者常伴有程度不等的单系或多系血细胞减少^[1-2]。SLE血液学异常涉及多种机制,骨髓造血异常是导致SLE血细胞减少的重要原因之一^[2-3]。

虽然所有的血液细胞均来源于造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC),骨髓微环境对血液生成同样有重要的调节作用。骨髓微环境中的细胞成分包括成骨细胞、破骨细胞、血管内皮细胞、间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)等。骨髓MSC是骨髓中除了造血干细胞之外的另一种干细胞,其除了可以向成骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞等分化,还有重要的造血调节功能^[4]。既往曾报道,SLE患者的骨髓MSC存在多种异常^[5-6]。此外,我们近期发现MRL/lpr狼疮小鼠骨髓MSC表面黏附分子N-cadherin的表达水平明显高于正常小鼠(结果未发表)。由于SLE患者体内常存在异常水平的炎症因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 和白细胞介素(interleukin, IL)-1等^[7],而我们既往也发现TNF- α 和IL-1可影响骨髓MSC的成骨分化、核因子(nuclear factor, NF)- κ B通路等^[8]。SLE疾病中增高的炎症因子,是否会影响骨髓微环境中的造血支持细胞调节血液生成的作用,目前尚不清楚。因此本研究用TNF- α 预处理小鼠前成骨细胞系MC3T3-E1,探讨炎症因子对其血液生成调节作用的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

16~20周龄雌性C57BL/6小鼠购于江苏大学实验动物中心,许可证号:SCXK(苏)2013-0011;小鼠前成骨细胞系MC3T3-E1购自上海细胞库;胎牛血清(FBS)、 α -MEM培养液和青-链霉素溶液均为美国Gibco公司产品;StemspanSFEM造血干细胞培养液、甲基纤维素半固体培养基MethoCult™ M3630、M3436、M3534以及造血支持因子干细胞生长因子(SCF)、血小板生成素(TPO)、Flt3-配体均为美国Stem Cell公司产品;TNF- α 购自美国Peprotech公司;N-cadherin、p-Erk1/2及GAPDH抗体均购自美国Cell Signaling Technology公司;抗-FITC和抗-Sca-1-FITC抗体均购自美国BD公司;Erk抑制剂(FR180204)为美国MCE公司产品;BCA蛋白浓度测定试剂盒为杭州碧云天公司产品;细胞增殖计数试剂盒(CCK8)为日本同仁公司产品;垂直电泳仪和

转膜装置(Bio-Rad公司,美国);酶标仪(Thermo公司,美国);磁珠阳性分选试剂盒(Melteni公司,德国);流式细胞仪(BD公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

MC3T3-E1细胞以含10% FBS的 α -MEM培养液培养,传代后取对数生长期细胞作为实验对象。接种MC3T3-E1细胞于6孔板中的起始细胞密度为 2.5×10^4 个/mL,待贴壁并融合至85%~95%后开始后续处理。用于处理MC3T3-E1细胞的TNF- α 溶液终浓度为20 ng/mL;对于需要多天处理的实验,则每天更换含相应终浓度TNF- α 的 α -MEM培养液。

1.2.2 Western blot法测定蛋白表达

收集MC3T3-E1细胞,冰上裂解细胞提取各组细胞总蛋白,10% SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白,转至PVDF膜,1.5%牛血清白蛋白室温摇床封闭1 h,一抗4 $^{\circ}$ C孵育过夜(GAPDH的一抗稀释比例为1:2 000, N-cadherin、p-Akt及p-Erk的一抗稀释比例均为1:1 000)。第2天洗膜后室温摇床孵育二抗1 h(GAPDH和N-cadherin的二抗为鼠抗,p-Akt和p-Erk的二抗为兔抗小鼠),洗膜后曝光,Image J分析各条带光密度。

1.2.3 CCK8法检测细胞增殖情况

取对数生长期的MC3T3-E1细胞,消化、离心后,弃去上清,用含有10% FBS的 α -MEM培养液重悬细胞,并进行细胞计数,调整细胞浓度为 1×10^5 个/mL,取50 μ L细胞悬液接种于96孔板中。24 h后细胞完全贴壁后,用Erk抑制剂不同终浓度处理,每组设置3个复孔,对照组加入50 μ L培养液,37 $^{\circ}$ C、含5% CO₂的细胞培养箱中培养至相应天数,在避光条件下,每孔加入10 μ L的CCK8检测试剂,充分混匀,培养箱中孵育1~4 h。待显色明显后取出96孔板,在酶标仪上测定波长450 nm处的吸光度。

1.2.4 Sca-1(+)细胞分选和鉴定

取C57BL/6小鼠双侧股骨,分离小鼠骨髓,裂解红细胞并计数总细胞数,按照每 1×10^7 个细胞加入90 μ L缓冲液和10 μ L抗-Sca-1-FITC抗体冰上孵育10 min,然后加入80 μ L缓冲液和20 μ L抗-FITC抗体磁珠冰上孵育15 min,最后加入50 μ L缓冲液进行磁珠阳性分选。抗体标记及分选按照Sca-1(+)细胞分选试剂盒说明书操作。用含2% FBS的PBS缓冲液调整磁珠富集后的小鼠Sca-1(+)细胞浓度为 1×10^7 个/mL,流式细胞仪检测Sca-1(+)细胞比例,每份标本检测 1×10^6 个细胞。

1.2.5 共培养体系

MC3T3-E1细胞与小鼠Sca-1(+)细胞的共培养方法参照既往文献^[8]。造血细胞体外扩增在6孔板中进行。选用经20 ng/mL TNF- α 预处理3 d的MC3T3-E1细胞作为饲养层细胞,将小鼠Sca-1(+)细胞按 1×10^5 个/孔加入,在3种造血生长因子50 ng/mL SCF、50 ng/mL TPO、50 ng/mL Flt3-配体刺激条件下体外扩增7 d;共培养体系培养液为StemspanSFEM干细胞培养液。

1.2.6 集落形成实验(CFU)

在小鼠Sca-1(+)细胞与MC3T3-E1饲养层共培养7 d后,收集所有细胞。分别用MethoCult™ M3630、SF M3436或GF M3534检测扩增后的小鼠造血细胞中前B细胞集落形成单位(CFU-pre-B)、红细胞爆式集落形成单位(BFU-E)和粒细胞-巨噬细胞集落形成单位(CFU-GM)数目。具体方法同既往文章^[9]。

1.3 统计学方法

使用GraphPad Prism 5.0软件进行统计学分析。所涉及资料用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)来表示。两组样本均数的比较采用配对t检验;多组之间的均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-t检验;两因素的组间比较采用析因设计方差分析。 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TNF- α 预处理对MC3T3-E1细胞N-cadherin表达的影响

用不同浓度(10、20、40 ng/mL)的TNF- α 连续处理MC3T3-E1细胞3 d,Western blot检测N-cadherin表达,结果显示N-cadherin的表达较对照组下调,并

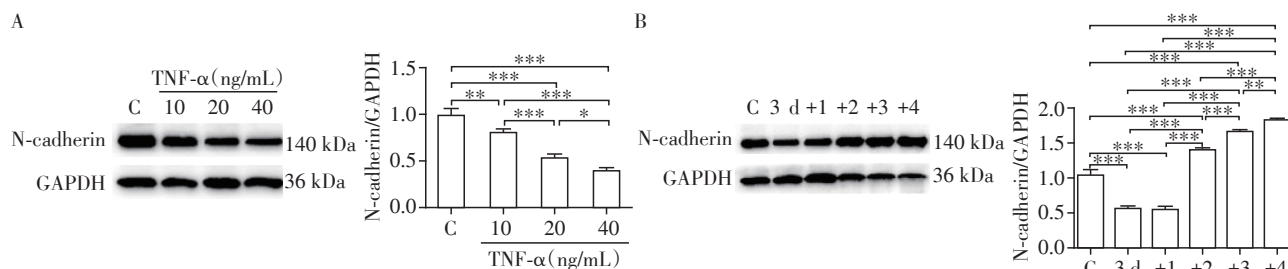
且随着TNF- α 浓度的升高,下调N-cadherin的作用更加明显。后续的实验均采用中间浓度20 ng/mL进行。TNF- α 处理3 d后,换成无TNF- α 条件继续培养1、2、3或4 d,MC3T3-E1细胞N-cadherin表达水平又较对照组逐渐上调(图1)。

2.2 TNF- α 处理对MC3T3-E1细胞p-Erk1/2和p-Akt水平的影响

Western blot检测结果显示,与对照组相比,20 ng/mL TNF- α 处理MC3T3-E1细胞后,p-Erk1/2表达在处理30 min起开始明显增加(图2, $P < 0.05$, $n=3$),在随后继续处理过程中,虽然p-Erk1/2水平有所下降,但仍高于对照。而去除TNF- α 继续培养7 d后,p-Erk1/2表达逐渐下降(图2)。但是,p-Akt水平均无明显变化(图2, $P > 0.05$, $n=3$)。

2.3 Erk抑制剂对MC3T3-E1细胞增殖和N-cadherin和p-Erk1/2表达的影响

首先,用不同浓度(0~80 $\mu\text{mol/L}$)的Erk抑制剂FR180204处理贴壁后的MC3T3-E1细胞1 d、2 d、3 d,CCK8检测结果显示,随着FR180204浓度的升高和作用时间的延长,其对MC3T3-E1细胞生长的抑制率增加。由于在第2天时,7.5 $\mu\text{mol/L}$ 和10.0 $\mu\text{mol/L}$ 两个浓度作用后MC3T3-E1细胞的相对增殖率分别为(62.50 \pm 1.00)%和(48.75 \pm 1.26)%,第3天时的相对增殖率分别为(51.50 \pm 1.92)%和(37.50 \pm 1.73)% (图3A),均较接近半抑制浓度(IC₅₀),因此,我们选定7.5 $\mu\text{mol/L}$ 和10.0 $\mu\text{mol/L}$ 两个浓度作为后续实验浓度处理MC3T3-E1细胞。结果表明,与对照组相比,经7.5 $\mu\text{mol/L}$ 和10.0 $\mu\text{mol/L}$ FR180204处理1 d后,p-Erk1/2表达水平均受到明显抑制,N-cadherin表达水平上调(图3B, $P < 0.01$, $n=3$);在抑制剂处理2 d和3 d后p-Erk1/2水平有所回升(图3B, $P < 0.05$,



A: MC3T3-E1细胞经TNF- α 处理后的N-cadherin蛋白表达水平及相对灰度值(C:对照组,两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$, $n=3$); B: TNF- α 20 ng/mL连续处理MC3T3-E1细胞3 d(泳道3 d),改为无TNF- α 培养1~4 d(泳道+1~+4),细胞N-cadherin的蛋白表达水平及灰度值(C:对照组;3 d:终浓度为20 ng/mL的TNF- α 处理3 d;+1,+2,+3,+4分别为20 ng/mL的TNF- α 连续处理3 d后,换成无TNF- α 条件继续培养1 d、2 d、3 d和4 d的结果。两组比较,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$, $n=3$)。

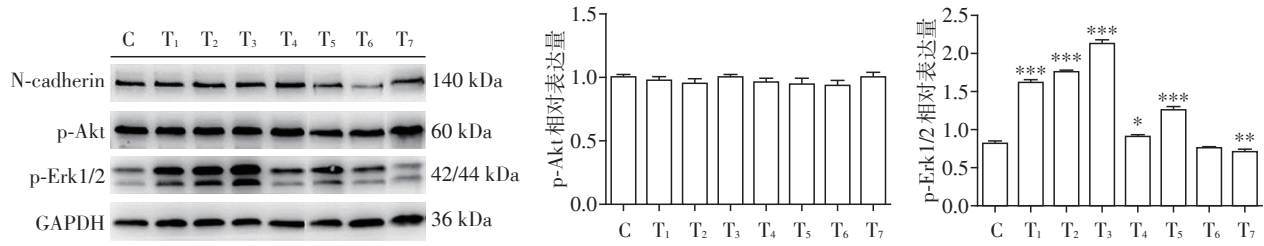
图1 不同浓度及时间TNF- α 处理MC3T3-E1细胞后Western blot检测N-cadherin的表达水平

Figure 1 Expression of N-cadherin in MC3T3-E1 cells treated with TNF- α for different concentrations and time was detected by Western blot

n=3)。FR180204处理3 d后换无抑制剂条件培养的第2和3天,N-cadherin的表达水平均仍高于对照组($P < 0.05, n=3$,图3C)。

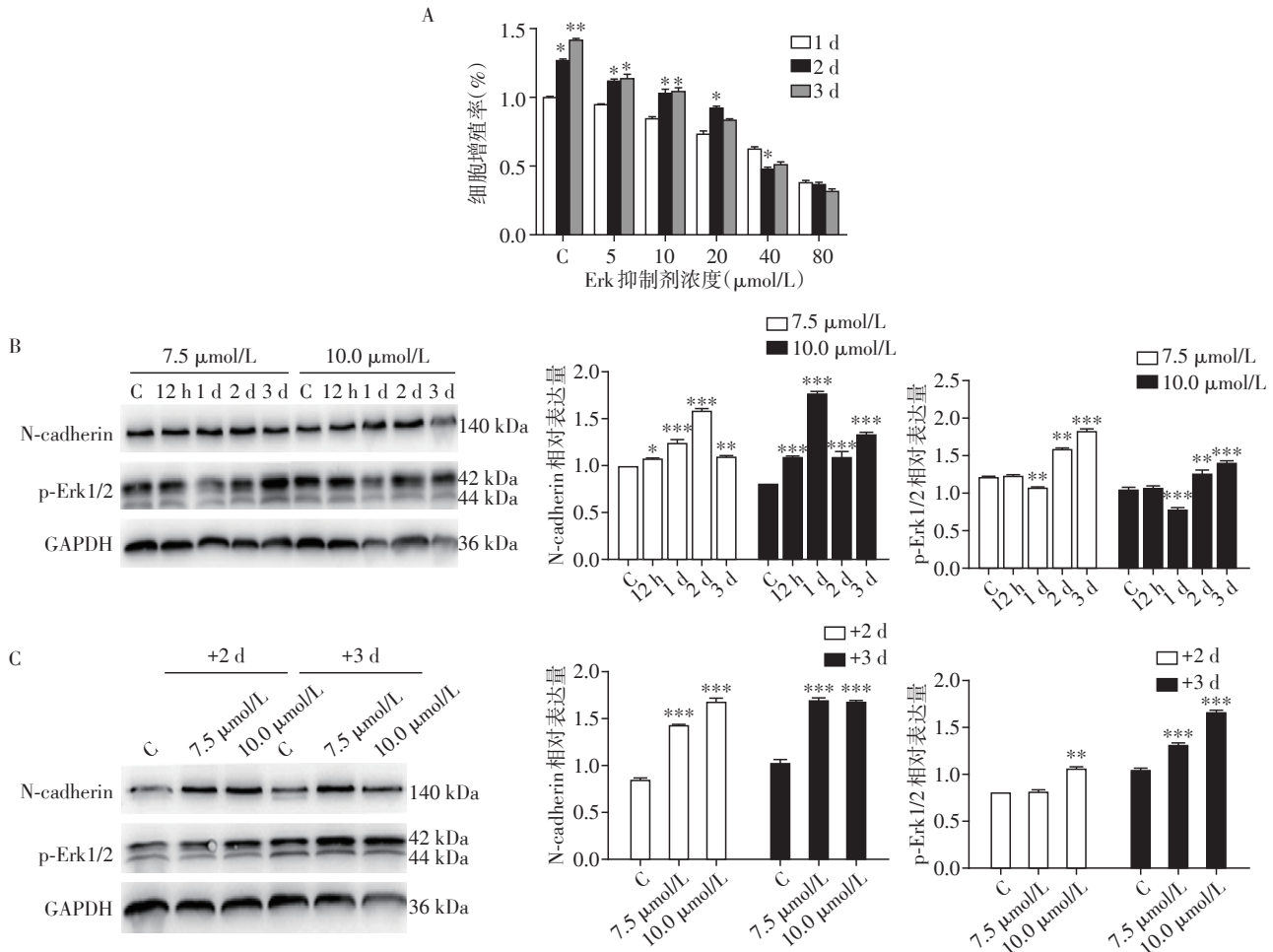
2.4 TNF- α 预处理的MC3T3-E1细胞影响小鼠Sca-1(+)细胞的体外增殖和分化

由于我们在前期实验中发现,MRL/lpr狼疮小



TNF- α 终浓度为20 ng/mL;C:对照组;T₁、T₂、T₃、T₄、T₅、T₆分别为TNF- α 处理30 min、1 h、3 h、12 h、1 d和2 d,T₇表示TNF- α 持续处理3 d后换成普通培养液继续培养7 d。与对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001, n=3$ 。

图2 TNF- α 处理过程中和停止处理后,Western blot检测MC3T3-E1细胞p-Erk1/2、p-Akt的水平
Figure 2 Levels of p-Erk1/2 and p-Akt in MC3T3-E1 cells during or after the treatment of TNF- α



A:0~80 $\mu\text{mol/L}$ 浓度抑制剂处理细胞不同时间的相对增殖率;与1 d比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001, n=4$;B:用浓度分别为7.5、10.0 $\mu\text{mol/L}$ 的Erk抑制剂处理MC3T3-E1细胞后,Western blot检测不同时间点N-cadherin、p-Erk1/2的相对表达量;C:先用浓度分别为7.5、10.0 $\mu\text{mol/L}$ 的Erk抑制剂处理MC3T3-E1细胞3 d后,再在不含抑制剂条件下培养2或3 d,Western blot检测N-cadherin、p-Erk1/2的相对表达量(C:对照组;Erk抑制剂的终浓度为7.5、10.0 $\mu\text{mol/L}$;12 h、1 d、2 d和3 d代表抑制剂处理细胞时间,+2 d、+3 d代表去除抑制剂后细胞培养时间,与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001, n=3$)。

图3 Erk抑制剂处理MC3T3-E1细胞后N-cadherin和p-Erk1/2的表达水平变化

Figure 3 Effects of Erk inhibitor on the expression N-cadherin and p-Erk1/2 in MC3T3-E1 cell line

鼠骨髓MSC表面黏附分子N-cadherin的表达水平明显高于正常小鼠(未发表结果),而TNF- α 预处理后恢复正常培养的MC3T3-E1细胞中N-cadherin表达水平上调,所以在本研究中,我们选用经TNF- α 预处理3 d的MC3T3-E1细胞,作为饲养层细胞与小鼠造血细胞共培养。小鼠骨髓细胞经免疫磁珠分选后,采用流式细胞术对经过免疫磁珠富集后的骨髓造血细胞进行Sca-1(+)细胞比例测定。流式细胞分析结果显示,经免疫磁珠纯化富集后的小鼠骨髓Sca-1(+)细胞比例达到92.7%,明显高于纯化富集前的Sca-1(+)比例(13.5%),认为该细胞为纯化的Sca-1(+)细胞,可用于共培养实验。加入TNF- α 预处理或未处理的MC3T3-E1细胞共培养体系中,在SCF、TPO和Flt3-配体的刺激下体外培养7 d后,比较不同处理的MC3T3-E1饲养细胞对小鼠Sca-1(+)细胞扩增效果。CFU结果显示,体外扩增小鼠纯化的Sca-1(+)骨髓细胞后,TNF- α 预处理组的CFU-pre-B数目较对照组明显升高,BFU-E及CFU-GM数目较对照组显著降低,总CFU数目低于对照组($P < 0.01, n=5$,图4)。

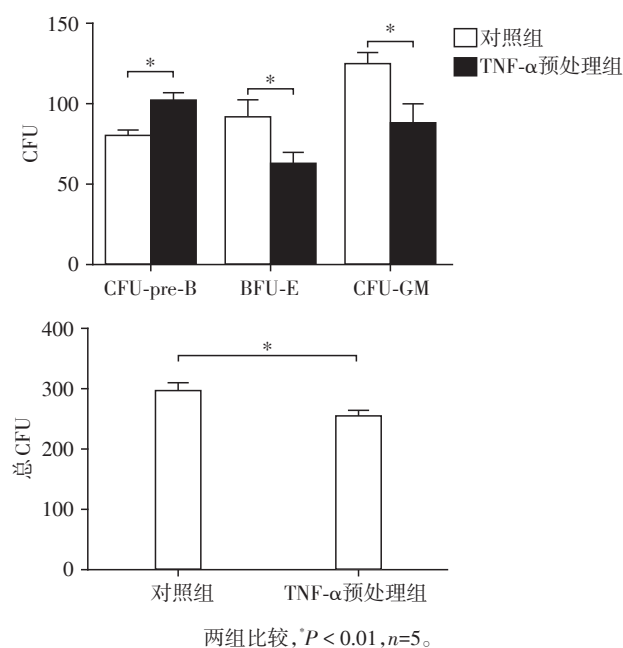


图4 小鼠Sca-1(+)细胞的集落形成单位(CFU)比较

Figure 4 Colony-forming units (CFU) of different lineage after *in vitro* expansion of purified Sca-1(+) bone marrow cells

3 讨论

很早就有研究报道,SLE患者骨髓微环境中的造血支持/调节细胞有多项异常,可涉及细胞生长、

分化、细胞因子分泌、细胞表面分子表达等多个方面^[3,5-6,10-11]。TNF- α 是一个炎症相关因子,其水平在SLE患者体内常增高。而有研究报道TNF- α 参与骨髓造血衰竭的病理生理过程,可以抑制造血干细胞增殖和分化,并能够直接诱导HSC的凋亡^[12-13]。除了直接影响HSC的功能,TNF- α 也可以影响骨髓微环境中的MSC、成骨细胞等,通过这些造血支持细胞来进一步损害骨髓造血功能^[8]。在我们的实验中发现,用TNF- α 预处理后的MC3T3-E1细胞,联合造血生长因子体外扩增小鼠Sca-1(+)细胞,其总CFU数要低于对照组,但在对不同成分CFU进一步分析发现,CFU-GM和BFU-E的数目下降,但CFU-pre-B的数目不降反升。提示TNF- α 作用骨髓微环境成骨细胞前体后,对HSC向粒-单核细胞和红细胞系列分化有抑制作用,但促进HSC向B淋巴系的分化。众所周知,SLE患者常常表现为B淋巴异常^[14],可伴有贫血和(或)粒细胞减少^[1-2],我们的结果提示TNF- α 影响了骨髓微环境,从而可能导致细胞分化异常。

细胞表面黏附分子N-cadherin在HSC和骨髓非造血细胞表面均有表达^[15],有研究报道其在维持HSC的干细胞性质和分化中有重要作用^[16-17]。但在SLE发病中,TNF- α 对骨髓微环境中造血支持细胞N-cadherin表达的影响,目前尚无报道。本研究结果显示TNF- α 处理MC3T3-E1后,N-cadherin表达较对照明显下调,这与Tsutsumimoto等^[18]报道的结果一致。本研究还发现,在停止TNF- α 处理后,MC3T3-E1细胞原本抑制的N-cadherin表达水平逐渐升高并高于对照水平。我们推测,TNF- α 对MC3T3-E1细胞N-cadherin表达的影响,可能是导致小鼠Sca-1(+)造血细胞体外扩增后CFU数目和构成变化的原因之一。

N-cadherin在MC3T3-E1细胞的过度表达除了影响其成骨分化,还可以抑制细胞增殖^[19-21]。而不同分化阶段的成骨细胞对骨髓中B淋巴细胞发育和分化的作用是不同的^[22],我们推测TNF- α 预处理MC3T3-E1细胞后,先影响细胞的分化,使其处于促进pre-B淋巴细胞的阶段,因而导致pre-B淋巴细胞CFU增多,但这一猜想还有待今后进一步研究。此外,N-cadherin可以抑制Wnt/ β -catenin通路和Erk的磷酸化^[19-20],在我们的研究中也观察到TNF- α 预处理后,N-cadherin表达上调,p-Erk水平下调。在Erk抑制剂处理MC3T3-E1后,N-cadherin水平上调。该结果提示,细胞N-cadherin的表达与Erk的磷酸化可以相互影响。另外,在小鼠的Erk基因敲除实验中

发现,骨髓微环境中造血支持细胞的Erk通路与血液生成调节密切相关^[23]。上述结果部分揭示异常水平TNF- α 对骨髓造血影响的机制。与TNF- α 对细胞p-Erk的影响不同,在我们的实验中并没有发现TNF- α 可以影响MC3T3-E1细胞的Akt通路。

综上所述,本研究发现炎症因子TNF- α 处理MC3T3-E1细胞后,可改变MC3T3-E1细胞调节骨髓血液生成的能力,促进HSC向B淋巴细胞分化,且改变N-cadherin和p-Erk水平。N-cadherin和p-Erk水平的变化可能参与了TNF- α 影响骨髓血液生成的机制。本研究提示在SLE疾病中,炎症因子如TNF- α 可能通过作用骨髓微环境中的成骨细胞,间接调节血液生成。

[参考文献]

- [1] Fayyaz A, Igoe A, Kurien BT, et al. Haematological manifestations of lupus[J]. *Lupus Sci Med*, 2015, 2(1): 1-18
- [2] 赵永杰, 刘阳, 李平, 等. 系统性红斑狼疮血象与骨髓象的改变[J]. *实用医技杂志*, 2006, 13(2): 319-320
- [3] Wanitpongpun C, Teawtrakul N, Mahakkanukrauh A, et al. Bone marrow abnormalities in systemic lupus erythematosus with peripheral cytopenia[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2012, 30(6): 825-829
- [4] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. *Science*, 1999, 284(5411): 143-147
- [5] 张华勇, 冯学兵, 孙凌云. 系统性红斑狼疮患者骨髓间质干细胞生物学特性及对造血支持的研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2006, 10(6): 331-334
- [6] Sun LY, Zhang HY, Feng XB, et al. Abnormality of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2007, 16(2): 121-128
- [7] McCarthy EM, Smith S, Lee RZ, et al. The association of cytokines with disease activity and damage scores in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2014, 53(9): 1586-1594
- [8] 杨姣, 夏雷, 雷芳, 等. 多次肿瘤坏死因子预处理骨髓间充质干细胞促进其成骨分化潜能[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2014, 34(3): 275-280
- [9] 费小明, 陆化, 吴雨洁, 等. 人骨髓间充质干细胞对脐血干细胞体外扩增支持作用的研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2004, 24(3): 235-238
- [10] Otsuka T, Nagasawa K, Harada M, et al. Bone marrow microenvironment of patients with systemic lupus erythematosus[J]. *J Rheumatol*, 1993, 20(6): 967-971
- [11] El-Badri NS, Hakki A, Ferrari A, et al. Autoimmune disease: Is it a disorder of the microenvironment?[J]. *Immunol Res*, 2008, 41(1): 79-86
- [12] Zeng Y, Katsanis E. The complex pathophysiology of acquired aplastic anaemia[J]. *Clin Exp Immunol*, 2015, 180(3): 361-370
- [13] Xiao Y, Li H, Zhang J, et al. TNF- α /Fas-RIP-1-induced cell death signaling separates murine hematopoietic stem cells/progenitors into 2 distinct populations[J]. *Blood*, 2011, 118(23): 6057-6067
- [14] Anolik JH. B cell biology: implications for treatment of systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2013, 22(4): 342-349
- [15] Wein F, Pietsch L, Saffrich R, et al. N-cadherin is expressed on human hematopoietic progenitor cells and mediates interaction with human mesenchymal stromal cells[J]. *Stem Cell Res*, 2010, 4(2): 129-139
- [16] Puch S, Armeanu S, Kibler C, et al. N-cadherin is developmentally regulated and functionally involved in early hematopoietic cell differentiation[J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(Pt 8): 1567-1577
- [17] Arai F, Hosokawa K, Toyama H, et al. Role of N-cadherin in the regulation of hematopoietic stem cells in the bone marrow niche[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1266: 72-77
- [18] Tsutsumimoto T, Kawasaki S, Ebara S, et al. TNF- α and IL-1 β suppress N-cadherin expression in MC3T3-E1 cells[J]. *J Bone Miner Res*, 1999, 14(10): 1751-1760
- [19] Hay E, Nouraud A, Marie PJ. N-cadherin negatively regulates osteoblast proliferation and survival by antagonizing Wnt, ERK and PI3K/Akt signaling[J]. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8284
- [20] Hay E, Laplantine E, Geoffroy V, et al. N-cadherin interacts with axin and LRP5 to negatively regulate Wnt/ β -catenin signaling, osteoblast function, and bone formation[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(4): 953-964
- [21] Revollo L, Kading J, Jeong SY, et al. N-cadherin restrains PTH activation of Lrp6/ β -catenin signaling and osteoanabolic action[J]. *J Bone Miner Res*, 2015, 30(2): 274-285
- [22] Wu JY, Scadden DT, Kronenberg HM. Role of the osteoblast lineage in the bone marrow hematopoietic niches[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(5): 759-764
- [23] Saulnier N, Guihard S, Holy X, et al. ERK1 regulates the hematopoietic stem cell niches[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30788

[收稿日期] 2018-09-30