



评述

雌激素对干细胞功能的调控及信号转导途径

孙海英^①, 王海峰^②, 胡诗宇^①^① 上海交通大学药学院, 上海 200240;^② 河南科技大学第一附属医院, 洛阳 471003

* 联系人, E-mail: hysun@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2009-01-19; 接受日期: 2009-06-22

国家自然科学基金青年基金(批准号: 30600332)资助项目

摘要 心血管损伤、神经退行性变及骨代谢紊乱等病理过程存在明显的性别二态性。雌激素在缺血心肌功能恢复过程中发挥重要作用, 其一方面调控骨髓间充质干细胞分泌生长激素及易化上皮前体细胞向缺血心肌部位迁移, 另一方面还可抑制心肌成纤维细胞生长从而有效地提高了缺血部位血管新生并限制了病理性心肌重构。在神经发育过程中, 雌激素能促进胚胎神经干细胞增殖及向特定类型神经元分化, 提示雌激素在利用神经干细胞移植治疗某些神经退行性疾病中可能发挥作用。此外, 雌激素通过调节成骨前体细胞及破骨细胞的活性来阻止骨质疏松的发生。可见, 雌激素通过调控多种干/前体细胞的功能为上述疾病防治提供了新的策略, 深入理解雌激素调控各种干/前体细胞功能的信号转导通路将为干细胞临床应用提供更坚实的理论依据。

关键词雌激素
干细胞
信号转导

女性(雌性)急性心肌损伤的预后通常要好于男性(雄性), 这种性别二态性与雌激素受体介导的信号传导通路及炎症免疫反应的调控有关^[1~5]。近年来关于雌激素调控干细胞功能从而改善缺血后心肌重构及功能修复的研究得到了广泛关注^[6~8]。研究证实, 雌激素可增强骨髓间充质干细胞(MSCs)分泌生长因子并减少致炎因子的生成, 提高内皮前体细胞(EPCs)增殖迁移至受损血管或缺血心肌部位, 及降低成纤维细胞的增殖^[9~11], 上述调控涉及雌激素介导的基因组及非转录效应(genomic and non-transcriptional effects)。除了发挥心血管调控作用外, 雌激素在神经系统发育及神经保护方面有重要作用, 其可诱导培养的胚胎神经干细胞向特定神经元表型分化并促进胚胎神经干细胞的增殖, 与纤连蛋白协同加速神经元的分化与成熟, 提高胚胎神经干细胞向多巴胺能神经元分化等。提示雌激素在干细胞治疗神经退行

性疾病, 如帕金森症中可能发挥积极作用, 雌激素对神经干细胞的调控同样涉及基因组及非转录信号通路^[12,13]。此外, 雌激素通过调控骨重建与骨转换之间的平衡来促进青春期骨成熟及维持成体骨密度, 通过调控成骨前体细胞及破骨细胞的活性来阻止骨质疏松的发生。总之, 利用雌激素来调节多种干/祖细胞的功能有望获得具有更高治疗价值的“超级干细胞”, 本文以雌激素对不同类型的干细胞调控为线索, 拟阐释其在心血管损伤, 神经发育及骨代谢紊乱等病理生理过程中发挥的作用及涉及的信号转导途径, 旨在为临床干细胞治疗提供新的策略和理论依据。

1 雌激素对心血管损伤修复的调控

MSCs 在心肌损伤修复过程中发挥重要作用, 研究证实干细胞提供的心肌保护作用并不是因它能分化为特定类型心肌细胞, 而是通过增加生长因子分

泌, 减少致炎细胞因子生成及降低凋亡信号通路激活的方式得以实现^[14]. 越来越多的证据表明, 雌激素是骨髓来源的干细胞介导的急性心肌损伤后修复的重要调节因子, 如脂多糖(LPS)及低氧条件下血管内皮生长因子(VEGF)的表达水平在雌性 MSCs 要明显高于雄性组, 但致炎细胞因子, 肿瘤坏死因子(TNF- α)及 IL-6 的表达却明显低于雄性 MSCs^[15,16]. 此外, 雌激素还可直接触发 MSCs 旁分泌更多的 VEGF, 雌激素预处理 MSCs 注入心脏后可明显改善急性缺血心脏的功能, 表现为缺血再灌注后左室发展压(LVDP), 心肌收缩功能及顺应性都明显优于雌激素未处理组, 进一步证实了旁分泌在干细胞提供的心肌保护作用中起重要作用^[17]. 心肌损伤后, 巨噬细胞及心肌细胞将会释放致炎细胞因子, 而干细胞则通过生成诸如 VEGF、肝细胞因子及胰岛素样生长因子, 与邻近心肌细胞相互作用来对抗炎症微环境的变化. 上述生长因子可促进血管新生, 降低炎症细胞因子的生成及抑制细胞凋亡. 近年来, 一些研究利用直接“修饰”干细胞的方法来优化疗效, 如将过表达 VEGF 的 MSCs 注入冠脉结扎后的心脏可明显减低缺血面积及改善功能恢复. 过表达抗凋亡 Bcl-2 基因的 MSCs 注入缺血心肌后可降低凋亡的发生, 与之相似的是, 干细胞增殖与存活相关基因 Akt1 过表达的 MSCs 也可明显改善损伤后心肌功能的恢复及降低炎症反应和凋亡的发生^[18~20]. 由此可见, 雌激素可通过调控 MSCs 旁分泌生长因子, 降低炎症反应及细胞凋亡等一系列生化过程来改善急性心肌损伤后功能的恢复.

为进一步探索干细胞移植至缺血心肌部位后发生的一系列分子事件, 及雌激素在 MSCs 参与的缺血心肌损伤修复中的作用, 利用低密度接种方法获得了相对纯化的具有快速自我更新能力的 rMSCs(rapidly self-renewing mesenchymal stem cells, RS), 并采用血清剥夺(serum deprivation, SD)的方式来模拟体内缺血环境. 研究发现, SD 12 h 后 rMSC 皱缩变圆, 染色质固缩, 出现凋亡各阶段形态特征, 但与高密度接种获得的成熟 MSCs 亚群(mMSCs)相比, RS 细胞亚群对 SD 环境表现出更强的耐受性. 添加 10 nmol/L 雌激素后流式检测细胞活性显著提高($P<0.01$), 细胞

存活率提高 2.75 倍, 凋亡率降低近 1/3, 并且 rMSC 在雌激素的保护作用下继续保持良好增殖, 表明雌激素可以有效地提高干细胞自我保护能力, 尤其是以低密度接种获得的 RS 细胞具有更强的自我调节机制. 上述研究为进一步阐明 MSCs 移植后细胞存活率低的分子机制以及获得具有高增殖、高分化能力的“超级干细胞”提供了新的思路和解决方案. 本实验室未来的工作将重点探讨雌激素抗 SD 致细胞凋亡的分子机制, 包括经典的基因组及膜受体介导的非转录效应. 此外, 组织细胞受到损伤刺激后可释放 ATP, 其与嘌呤能受体(P receptor) 结合可触发细胞凋亡等病理过程的发生^[21], 有研究提示 MSCs 同样存在 P 受体, 作为 P2X₇ 受体亚型拮抗剂的雌激素是否通过调控该受体的功能而影响干细胞介导的损伤后修复值得进一步探讨.

除了 MSCs 外, 骨髓及血液中包含的内皮前体细胞(EPCs)在损伤血管新生中同样发挥着重要的作用. 一项健康中年人群调查显示, 与男性相比女性呈现更高的 EPCs 克隆形成能力(150%)及更大的迁移活性(40%), 而且雌激素浓度高的女性显示更高水平的循环 EPCs, 雌激素介导的高水平 EPCs 是通过抑制 caspase-8 依赖的凋亡通路实现的^[22,23]. 急性心肌损伤后雌激素可以促进 EPCs 从骨髓迁移至损伤部位, 该作用与内皮一氧化氮合酶介导的基质金属蛋白酶(MMP-9)的激活有关, MMP-9 的上调导致可溶性 Kit 配体的释放, 从而易化了内皮前体细胞由静止期向增殖相的转化^[24]. 血管内皮细胞, 血管平滑肌细胞及心肌细胞均有 ER α 及 ER β 两种受体的表达, 雌激素与胞内受体结合后形成激素受体复合物, 进入细胞核启动特异性基因的转录. 研究表明, ER α ^{-/-}鼠雌激素诱导的 EPCs 迁移, 增殖及血管形成受到严重破坏, 但在 ER β ^{-/-}鼠这种影响却不显著. 此外, 与 ER α ^{-/-}或 ER β ^{-/-}鼠相比, 野生型鼠心肌损伤后雌激素处理引起的内源性 Sca-1⁺/Flk-1⁺EPCs 迁移及外源性 EPCs 归巢至缺血部位有显著差异, 而且 ER α ^{-/-}或 ER β ^{-/-}鼠在心肌损伤区域表现为更低的毛细血管密度及更差的左室功能, 进一步说明雌激素在 EPCs 介导的血管新生及损伤修复中的作用. 已有研究证实, EPCs 表达更高水平的 ER α , 而且雌激素的结合以 ER α 优先模式为主.

有趣的是, ER α 缺失可导致 EPCs 表达 VEGF 明显下调, 表明内皮前体细胞生长因子的分泌同样也与雌激素的调控有关. 上述结果提示, 尽管两类受体均参与雌激素介导的促进 EPCs 迁移、心肌细胞归巢及血管新生等心肌损伤修复过程, 但是 ER α 在调控上述过程中发挥着更重要的作用. 此外, 在自发性高血压鼠模型中, EPCs 的分化及黏附特性明显低于正常血压组, 雌激素处理后可显著提高 EPCs 数量, 来源于高血压鼠的 EPCs 显示了更低的端粒酶活性及更早的衰老, 而雌激素处理后可通过 PI3-K/Akt 通路延迟细胞衰老并增强端粒酶的活性^[25], 表明即使在某些特殊病理状态下雌激素也可发挥对 EPCs 的调控.

雌激素对 MSCs 及 EPCs 的调控可有效改善缺血心肌的血管新生及功能恢复, 而心肌损伤面积的缩小则与雌激素对心肌成纤维细胞(CFs)的调控有关. 研究证实, 低氧诱导的 CFs 增殖存在明显的性别差异, 女性更能耐受低氧诱导的 DNA 合成抑制, 包括 NF- κ B 表达的降低及 p53, Bcl-2 表达的增强. 此外, 血管紧张素 II 可通过上调血管紧张素 AT(1)受体基因及 β_1 整合素的表达来提高成纤维细胞的增殖及

型胶原的合成, 雌激素可抑制肾素-血管紧张素系统诱导的 AT(1)受体 mRNA 表达, 信号转导过程及胞外基质(ECM)重构, 从而有效抑制了成纤维细胞的增殖及胶原的合成^[26]. 上述调控涉及基因组及非转录组机制, 包括提高促有丝分裂激活蛋白激酶(MAPK) p42/p44 的活性, 提高转化生长因子(TGF- β_3)及纤连蛋白的稳定表达及降低 P38 的激活等途径^[27~29]. 此外, 选择性 ER α 及 ER β 激活剂(PPT 及 DPN)可增强 CFs 大电导钙激活(BK $_{Ca}$)钾电流及外向整流钾电流(I $_k$)的激活, 导致细胞处于超极化状态. 但上述两种激活剂长期处理却未引起 BK $_{Ca}$ 通道 α 亚单位转录水平的改变, 提示雌激素诱导的 BK $_{Ca}$ 通道的快速激活效应是通过非转录组途径实现的^[30].

总之, 目前的研究表明, 雌激素特异性干预有益于急性心肌损伤的修复, 雌激素通过基因组或非转录组途径在骨髓来源的干/祖细胞介导的心血管损伤修复中发挥重要调控作用. 雌激素对内皮功能的调控与 EPCs 表达的 ER 受体类型有关, 应用选择性 ER 调节剂也许会进一步改善损伤组织的功能修复. 此外, 具有内皮分化能力的循环前体细胞是异质细胞

群, 同样表达内皮系标记物的细胞在适宜的刺激下也可分化为内皮型细胞, 雌激素是否对这些细胞同样具有调控作用仍不清楚. 更深入地理解雌激素对骨髓来源的其他干/祖细胞的调控及雌激素治疗的临床研究, 将有助于识别新的信号通路并积极推进激素替代疗法的实际应用.

2 雌激素对神经发育的调控及神经保护作用

研究表明, 雌激素与神经元的生长分化及突触可塑性有关^[31], 雌激素受体 ER α 及 ER β 在脑发育的不同阶段(早期发育到成体)不同部位均有广泛表达. 如果雌激素同样能够调控神经干/前体细胞(neural stem/progenitor cells NS/PCs)的生长及分化将为利用干细胞进行神经损伤修复提供新的途径. Brannvall 等人^[32]发现, 雌激素可以抑制有丝分裂原表皮生长因子(EGF)触发的胚胎 NSCs 增殖(降低 13%, 与 cyclin-dependent kinase 抑制因子 p21^{clp1} 表达上调有关), 这种抑制作用在成体 NSCs 更显著. 与雌激素对 EGF 促 NSCs 增殖的抑制作用不同的是, 雌激素单独应用却可以刺激胚胎 NSCs 的增殖(较对照组增加 7%), 但对成体 NSCs 增殖的影响却不明显, ER 拮抗剂 ICI-182780 可以抑制上述效应. EGF 反应性 NSCs 同样表达 ER α 及 ER β , 并且在脑发育过程中呈现 ER β 表达逐渐增强而 ER α 表达逐渐下降的趋势, RT-PCR 分析存在两种 ER β 亚型(ER β_1 , ER β_2), ER β_1 受体亚型在 NSCs 的表达高于 ER β_2 , 表明雌激素对 NSCs 的调控可能主要通过 ER α 及 ER β_1 亚型高亲和力结合进而影响靶基因的表达. 上述结果表明, 雌激素对 NSCs 的调控与其他生长因子, 如 EGF 有关, 同时提示两种不同干细胞亚群对雌激素介导的有丝分裂反应性不同, 成体 NSCs 在 EGF 刺激下的增殖潜能远小于胚胎 NSCs, 雌激素对成体 NSCs 增殖调控作用的缺失可能与成体 NSCs 表达相对高水平的 ER β 有关. 上述实验结果来自于 20 天孕鼠的胚胎 NSCs, 那么雌激素对更早期的 NSCs 增殖活性是否具有相似的影响呢? 研究证实, 早期(embryonic, E15)的 NS/PCs 只对成纤维生长因子(FGF-2)刺激有反应而后期的 NS/PCs 对 FGF-2 及 EGF 均有响应. 与雌激素抑制 EGF 触发的 NSCs 增殖效应不同, 雌激素几乎不影响 FGF-2 对 NS/PCs 增殖的刺激作用, 但当 FGF-2 缺失时雌激素却可以显

著促进 NS/PCs 增殖(1.5 倍). 上述在两个不同神经发育阶段雌激素对 NSCs 增殖的调控表明, 在更早期的神经发育过程中雌激素对有丝分裂原诱导的 NS/PCs 增殖的调控作用有限, NSCs 的增殖依赖于有丝分裂原的存在. 但当促有丝分裂原的活性减弱时, 雌激素将积极参与调控 NSCs 的增殖.

雌激素不仅可以调控 NSCs 的增殖, 还可以促进 EGF 反应性胚胎 NSCs 向星形胶质细胞分化(β 微管蛋白阳性神经元数量增加), 诱导早期 FGF-2 反应性 NS/PCs 向少突胶质细胞分化, 但不影响 PDGF(促少突胶质前体细胞增殖的有丝分裂原)对少突胶质前体细胞增殖的刺激作用, 及 NT-3(神经营养因子)诱导的 NSCs 向少突胶质细胞分化效应^[33]. 上述结果表明, 雌激素促 NSCs 向少突胶质细胞分化的能力随着神经元发育成熟而逐渐丧失, 在神经系统发育早期如果多种增殖及分化相关因子存在并能正常发挥作用时, 雌激素对 NSCs 的影响将缺失, 但一旦上述因子的作用被削弱时, 雌激素将发挥积极作用来影响 NSCs 的增殖及分化, 尤其是对 NSCs 分化的调控可能在胚胎的早期发育阶段更有力. ER 拮抗剂 ICI-182780 同样可以抑制上述雌激素的促分化效应, 表明雌激素对胚胎早期神经发育的调控也是由 ER 通路介导. 目前已有证据表明, 鼠脑海马神经元可以合成雌激素, 但在胚胎早期发育阶段雌激素的合成部位还不明确, 如果 NSCs 自身可以合成雌激素, 自分泌机制在调控 NSCs 的增殖及分化中将发挥重要作用. 尽管雌激素决定 NSCs 分化命运的分子机制尚未彻底阐明, 但可以肯定地是, 雌激素通过调控 NSCs 的增殖及分化在鼠神经系统发育中发挥重要作用, 其与多种特异性的生长及分化因子之间相互作用共同决定着 NSCs 的命运.

另一方面, 流行病学研究发现, 帕金森氏症(Parkinson's Disease, PD)男性患者数量明显高于女性患者. 雌激素能刺激神经突起的生长及酪氨酸羟化酶(TH)的表达. 发育的中脑神经元表达雌激素受体及雌激素合成的芳香化酶, 提示雌激素可能在中脑多巴胺(DA)神经元的分化/成熟及存活过程中发挥重要作用. 研究证实, 雌激素可以显著提高人胚胎神经干细胞中 TH 阳性细胞的比例(10 倍), 但对 MAP2(微管相关蛋白)或 GABA(γ -氨基丁酸)阳性神经元影响

较小, 表明雌激素可以选择性调控 DA 神经元或前体细胞. 增殖的神经干细胞及有丝分裂后的 DA 能神经元均表达相似水平的 ER α 及 ER β , 并且 ER 拮抗剂 ICI-182780 可以明显降低 TH 阳性神经元的数量, 提示雌激素通过上述两类受体介导的信号传导通路选择性地促进人 NSCs 向 DA 能神经元分化并存活. 在体实验将人 NSCs 移植入鼠脑并同时使用雌激素处理, 发现与对照组相比雌激素可以显著提高 DA 能神经元的数量, 表明体内外雌激素均可以诱导人胚胎 NSCs 向 DA 能神经元分化并有利于其存活. 但需指出的是上述作用可能与雌激素的神经保护作用有关, 雌激素可以保护神经元抵抗诸如缺血、兴奋性神经递质 L-谷氨酸的神经毒性作用、病毒蛋白 gp120 及 β 淀粉肽等导致的损伤, 雌激素还可以阻止 MPTP 诱导的多巴胺消耗, 诱导与 DA 分化相关的神经营养因子及受体(如 BDNF, NT-3, TRKA-C, p75) 转录, 上调与凋亡相关基因 Bcl-2 的转录等. 总之, 雌激素通过上述诸多环节促进了 DA 能神经元的分化及存活, 为利用雌激素“修饰”NSCs 进行细胞移植来治疗 PD 提供了新的理论依据.

3 雌激素对骨代谢的调控

雌激素在骨转换及骨重建过程中发挥重要作用. 研究表明, OVX 模型鼠(施行卵巢切除术鼠)可出现骨矿物质密度低于正常及骨转换等骨质疏松症前期症状, 上述病理过程的发生与雌激素的缺失有关. 此外, OVX 鼠出现了骨内膜骨形成及破骨细胞增多, 骨髓基质及骨内膜表面成骨前体细胞增殖可促进骨形成, 而破骨细胞的增多则说明骨形成的提高与骨吸收有关. 另一方面, 卵巢切除后可引起巨噬细胞分泌 IL-12 及 IL-18, 进而激活 T 细胞及肿瘤坏死因子(TNF)生成导致骨质疏松. 此外 IL-7 及 IL-6 通过提高破骨细胞的活性并且下调成骨细胞特异性转录因子 RUNX2 表达, 降低骨沉积等也参与诱导骨质疏松的发生^[34-36]. 雌激素处理后可以调控与上述病理过程发生相关的信号通路来阻止骨质疏松的发生, 其抗骨质疏松的分子机制包括, ER α 信号通路介导的骨基质蛋白(BMP-2, BMP-4)表达的增强, 早期具有有限自我更新能力的成骨前体细胞转化为成骨及破骨细胞能力的减弱, 进而导致骨重构过程的减慢, 此

外通过 TGF- β 通路来抑制 T 细胞的增殖分化及 INF- γ 生成, 最终引起 TNF 生成减少使破骨细胞的活性减低. VEGF 的生成调控亦可发挥对破骨细胞的抑制作用^[37~38]. 同时雌激素还可以提高 MSCs 成骨基因 ALP(碱性磷酸酶), 胶原 I 及 TGF- β 1, BMP 及骨钙素的表达, 提高钙沉积. 可见, 雌激素通过多条途径影响成骨细胞及破骨细胞的活性, 维持骨生成与骨吸收之间的动态平衡来发挥对骨代谢的调控作用.

4 结语

如图 1 所示, 雌激素具有参与调控多种类型干/前体细胞的功能, 尤其是在心血管损伤中通过对 MSCs 及 EPCs 的调节积极促进了心肌重构及功能修复. 干细胞移植至缺血部位后存活率低一直是困扰干细胞临床应用的问题, 有研究利用体外血清剥夺/缺氧的方式来模拟体内缺血微环境, 结果诱导了线粒体通路介导的 MSCs 凋亡, 而且证实凋亡的发生主要源于血清剥夺导致的生长因子缺失而非低氧. 但与凋亡相关的其他信号通路, 如 NF- κ B, MAPK 及 PKC 等尚未阐明, 至于雌激素发挥抗缺血微环境触

发的 MSCs 凋亡的分子机制也不是很清楚. 基于已有的研究进展及本课题组的研究结果, 拟就血清剥夺诱导 MSCs 凋亡的分子机制进行深入的探索, 并对雌激素抗血清剥夺致 MSCs 凋亡的膜受体机制及基因组机制展开系统的研究. 近年来的研究证实, 雌激素对各种类型细胞的调控机制除了经典的基因组通路外, 由细胞膜受体介导的非转录组通路在一些快速调控反应过程中发挥着重要的作用. 如果 MSCs 移植早期雌激素可以通过膜受体通路激活一系列信号分子, 从而有效降低细胞凋亡并促进细胞存活, 那么对于改善细胞治疗的效果将是非常有益的. 尽管雌激素对多种干细胞调控的分子机制尚未完全阐明, 但就目前的研究成果, 我们有理由相信随着对雌激素调控干细胞研究的深入, 将更全面理解机体某些病理生理过程的发生机制, 发现新的与雌激素结合的膜及胞浆受体信号通路, 从而筛选出靶向特定组织及细胞受体亚型的特异性配体, 确定适宜的雌激素应用剂量及作用时间窗口, 找到雌激素发挥保护作用与毒性效应的最佳平衡点, 为利用干细胞治疗相关疾病开辟新的道路.

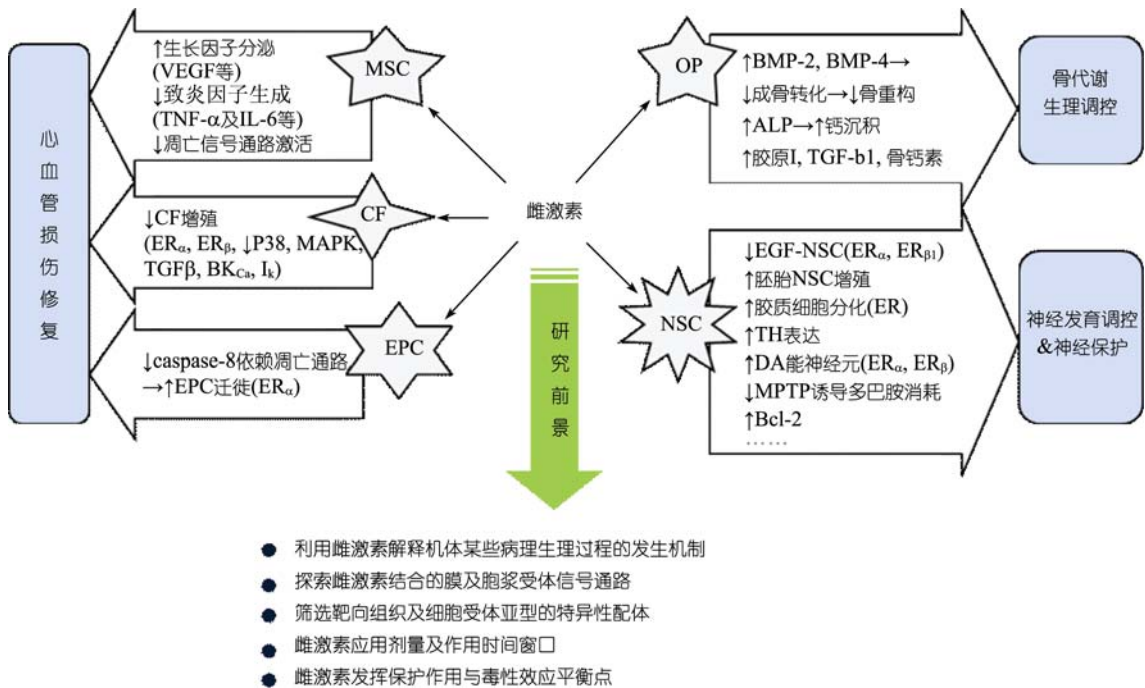


图 1 雌激素对几种干/前体细胞功能的调控及信号转导途径

参考文献

- 1 Wang M, Crisostomo P, Wairiuko G M, et al. Estrogen receptor-alpha mediates acute myocardial protection in females. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290: H2204—2209
- 2 Pelzer T, Jazbutyte V, Hu K, et al. The estrogen receptor-alpha agonist 16alpha-LE2 inhibits cardiac hypertrophy and improves hemodynamic function in estrogen-deficient spontaneously hypertensive rats. *Cardiovasc Res*, 2005, 67: 604—612
- 3 Booth E A, Obeid N R, Lucchesi B R. Activation of estrogen receptor-alpha protects the *in vivo* rabbit heart from ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289: H2039—2047
- 4 Crane-Godreau M A, Wire C R. Effects of estradiol on lipopolysaccharide and Pam3Cys stimulation of CCL20/macrophage inflammatory protein 3 alpha and tumor necrosis factor alpha production by uterine epithelial cells in culture. *Infect Immun*, 2005, 73: 4231—4237
- 5 McMurray R W, Ndebele K, Hardy K J, et al. 17-beta-estradiol suppresses IL-2 and IL-2 receptor. *Cytokine*, 2001, 14: 324—333
- 6 Crisostomo P R, Meldrum D R. Stem cell delivery to the heart: clarifying methodology and mechanisms. *Crit Care Med*, 2007, 35: 2654—2656
- 7 Mangi A A, Noiseux N, Kong D, et al. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. *Nat Med*, 2003, 9: 1195—1201
- 8 Erbs S, Linke A, Schachinger V, et al. Restoration of microvascular function in the infarct-related artery by intracoronary transplantation of bone marrow progenitor cells in patients with acute myocardial infarction: the doppler substudy of the reinfusion of enriched progenitor cells and infarct remodeling in acute myocardial infarction(REPAIR-AMI) trial. *Circulation*, 2007, 116: 366—374
- 9 Han H J, Heo J S, Lee Y J. Estradiol-17beta stimulates proliferation of mouse embryonic stem cells: involvement of MAPKs and CDKs as well as protooncogenes. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290: C1067—1075
- 10 Hong S H, Nah H Y, Lee Y J, et al. Expression of estrogen receptor-alpha and-beta, glucocorticoid receptor, and progesterone receptor genes in human embryonic stem cells and embryoid bodies. *Mol Cells*, 2004, 18: 320—325
- 11 Hamada H, Kim M K, Twakura A, et al. Estrogen receptors alpha and beta mediate contribution of bone marrow-derived endothelial progenitor cells to functional recovery after myocardial infarction. *Circulation*, 2006, 114: 2261—2270
- 12 Brannvall K, Korhonen L, Lindholm D. Estrogen-receptor-dependent regulation of neural stem cell proliferation and differentiation. *Mol Cell Neurosci*, 2002, 21: 512—520
- 13 Kishi Y, Takahashi J, Koyanagi M, et al. Estrogen promotes differentiation and survival of dopaminergic neurons derived from human neural stem cells. *J Neurosci Res*, 2005, 79: 279—286
- 14 Wang M, Tsai B M, Crisostomo P R, et al. Pretreatment with adult progenitor cells improves recovery and decrease native myocardial proinflammatory signaling after ischemia. *Shock*, 2006, 25(5): 454—459
- 15 Crisostomo P R, Wang Y, Markel T A, et al. Human mesenchymal stem cell stimulated by TNF-alpha, LPS, or hypoxia produce growth factors by an NF kappa B but not JNK-dependent mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294: C675—682
- 16 Crisostomo P R, Markel T A, Wang M, et al. In the adult mesenchymal stem cells population, source gender is a biologically relevant aspect of protective power. *Surgery*, 2007, 142: 215—221
- 17 Erwin G S, Crisostomo P R, Wang Y, et al. Estrogen-treated mesenchymal stem cells improve myocardial recovery after ischemia. *J Surg Res*, 2009, 152(2): 319—324
- 18 Matsumoto R, Omura T, Yoshiyama M, et al. Vascular endothelial growth factor-expressing mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of acute myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 1168
- 19 Li W, Ma N, Ong L L, et al. Bcl-2 engineered MSCs inhibited apoptosis and improved heart function. *Stem Cell*, 2007, 25: 2118
- 20 Mangi A A, Noiseux N, Kong D, et al. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted heart. *Nat Med*, 2003, 9: 1195
- 21 Chow S C, Kass G E, Orrenius S. Purines and their roles in apoptosis. *Neuropharmacology*, 1997, 36(9): 1149—1156
- 22 Hoetzer G L, Maceneaney O J, Irmiger H M, et al. Gender difference in circulating endothelial progenitor cell colony-forming capacity.

- ity and migratory activity in middle-aged adults. *Am J Cardiol*, 2007, 99: 46—48
- 23 Strehlow K, Werner N, Berweiler J, et al. Estrogen increase bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminish neointima formation. *Circulation*, 2003, 107: 3059—3065
- 24 Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem cell and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of Kit-ligand. *Cell*, 2002, 109: 625—637
- 25 Imanishi T, Kobayashi K, Hano T, et al. Effects of estrogen on differentiation and senescence in endothelial progenitor cells derived from bone marrow in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, 2005, 28: 763—772
- 26 Zhou L, Shao Y, Huang Y, et al. 17beta-estrodol inhibits angiotensin II-induced collagen synthesis of cultured rat cardiac fibroblast via modulating angiotensin II receptors. *Eur J Pharmacol*, 2007, 567: 186—192
- 27 Watanabe T, Akishita M, He H, et al. 17beta-estrodol inhibits cardiac fibroblast growth through both subtypes of estrogen receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311: 454—459
- 28 Stewart J A, Cashatt D O, Brock A C, et al. 17beta-estrodol modulation of angiotensin II-stimulated response in cardiac fibroblasts. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41: 97—107
- 29 Mercier I, Colombo F, Mader S, et al. Ovarian hormones induced TGF-beta(3) and fibronectin mRNAs but exhibit a disparate action on cardiac fibroblast proliferation. *Cardiovasc Res*, 2002, 53: 728—739
- 30 Wang Y J, Lin M W, Wu S N, et al. The activation by estrogen receptor agonists of the BK(Ca)-channel in human cardiac fibroblasts. *Biochem Pharmacol*, 2007, 73: 1347—1357
- 31 McEween B, Akama K, Alves S, et al. Tracking the estrogen receptor in neuron: implication for estrogen-induced synapse formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 7093—7100
- 32 Brannvall K, Korhonen L, Lindholm D. Estrogen-receptor-dependent regulation of neural stem cell proliferation and differentiation. *Mol Cell Neurosci*, 2002, 21: 512—520
- 33 Okada M, Murase K, Makino A, et al. Effects of estrogens on proliferation and differentiation of neural stem/progenitor cells. *Bio-med Res*, 2008, 29(3): 163—170
- 34 Cenci S, Toraldo G, Weitzmann M N, et al. Estrogen deficiency induces bone loss by increasing T cells proliferation and lifespan through IFN-gamma-induced class II transactivator. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 10405—10410
- 35 Jilka R L, Hangoc G, Girasole G, et al. Increases osteoclast development after estrogen loss:mediation by interleukin-6. *Science*, 1992, 257: 88—91
- 36 Ryan M R, Shepherd R, Leavey J K, et al. An IL-7 dependent rebound in thymic T cell output contributes to the bone loss induced by estrogen deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 16735—16740
- 37 Gao Y, Qian W P, Dark K, et al. Estrogen prevents bone loss through transforming growth factor beta signaling in T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 16618—16623
- 38 Kodama I, Niida S, Sanada M, et al. Estrogen regulate the production of VEGF for osteoclast formation and activity in op/op mice. *J Bone Miner Res*, 2004, 19: 200—206