

## 晚期糖基化终末产物对间充质干细胞的影响及作用机制

管璐璐 徐积兄

南昌大学第一附属医院内分泌代谢科,江西省内分泌代谢病临床医学研究中心,国家代谢性疾病临床医学研究中心江西分中心,南昌 330006

通信作者:徐积兄,Email:Jixiong.Xu@ncu.edu.cn

**【摘要】** 干细胞是一种未分化的、自我再生的多能细胞,具有分化成任何细胞类型或组织的潜能,在再生医学的细胞治疗中有巨大潜力。其中间充质干细胞具有干细胞所有的共性,并且易于获得,具有稳定的生物学特征,是临床上应用最多的干细胞。间充质干细胞可来源于骨髓、脂肪组织、脐带等。但是,在应用这种细胞治疗的同时,也出现了一系列的挑战如干细胞的移植率低、存活率低等一些列问题需要克服。有研究发现干细胞的存活和增殖受到晚期糖基化终末产物与其受体结合后激活的氧化应激、释放的炎症因子所形成的微环境的影响。本文结合相关研究文献,就晚期糖基化终末产物激活的 p38 蛋白激酶、丝裂原活化蛋白激酶通路对间充质干细胞活力以及增殖的影响及相关机制进行综述。

**【关键词】** 间充质干细胞;增殖;凋亡;晚期糖基化终末产物;晚期糖基化终末产物受体

**基金项目:**国家自然科学基金(81760618)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20210911-09028

### The impact of advanced glycation end-products on mesenchymal stem cells and related mechanism

Guan Lulu, Xu Jixiong. Department of Endocrine and Metabolism, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Jiangxi Clinical Research Center for Endocrine and Metabolic Disease, Jiangxi Branch of National Clinical Research Center for Metabolic Disease, Nanchang 330006, China

Corresponding author: Xu Jixiong, Email: Jixiong.Xu@ncu.edu.cn

**【Abstract】** Stem cells are undifferentiated, self-regenerating, pluripotential cells which have the potential to differentiate into any cell type or tissue. There is great potential for cell therapy in regenerative medicine. Mesenchymal stem cells have all the characteristics of stem cells and are easy to obtain and have stable biological characteristics. It is the most widely used stem cell in clinical practice. Mesenchymal stem cells can be derived from bone marrow, adipose tissue, umbilical cord, etc. However, at the same time there are a number of challenges, lower transplant rate, and lower survival rate. One study has found that the survival and proliferation of stem cells is influenced by microenvironment that advanced glycation end-products combined with the receptor of advanced glycation end-products activating oxidative stress and inflammatory factors. In this article, the effect of advanced glycation end-products on stem cells of survival and proliferation are analyzed.

**【Keywords】** Mesenchymal stem cell; Proliferation; Apoptosis; Advanced glycation end-products; Receptor of advanced glycation end-products

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81760618)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20210911-09028

干细胞被认为是生物系统的组织单位,负责器官和组织损伤后的再生和修复,是一种具有克隆潜能的未分化细胞,具有很强的自我更新能力,并且可以分化成多个细胞系<sup>[1]</sup>。因此,干细胞在细胞治疗中具有巨大的潜力,它可以被直接注射到体内受损

的组织或器官中。比如,间充质干细胞、神经干细胞已用于临床实验来治疗脑梗死患者,并且取得了比较好的效果<sup>[2-3]</sup>。这说明干细胞治疗在人类患者中是安全可行的。造血干细胞有分化成各种血细胞(如白细胞、红细胞、血小板)的潜能,造血干细胞移

植可以解决造血系统功能不正常引起的问题,包括白血病和贫血等疾病<sup>[4]</sup>。

1 型糖尿病的护理对于患者及家属来说是一项负担,以低血糖为主的短期并发症和一些长期并发症是非常常见的临床问题。目前对于 1 型糖尿病的治疗一般是采用外源性胰岛素来改善患者体内高血糖的状态,延缓糖尿病带来的一些并发症。然而从胰岛素首次被应用的一个世纪以来,1 型糖尿病的治疗模式并没有改变,并且这种治疗模式并不能恢复患者自身血糖的生理调节,最理想的糖尿病治疗应该是恢复患者自身的胰岛素生产和胰岛素分泌调节<sup>[5]</sup>。有报道证明胰腺和胰岛的移植对糖尿病患者有确切的疗效,但在临床上关于器官移植仍有巨大的挑战如胰腺供体的短缺、需要长期免疫抑制的风险、以及巨额的费用等。因此,诱导干细胞分化为胰岛素分泌细胞以恢复内源性胰岛素分泌成为糖尿病相关干细胞研究的热点。其中研究最多的是来源于骨髓、脐带血的间充质干细胞<sup>[5-6]</sup>。从证明动物间充质干细胞完整的胰岛共移植后比单独移植胰岛能更好地改善胰岛功能到施用于临床上证实间充质干细胞可以保护新发 1 型糖尿病患者的  $\beta$  细胞功能,这些都支持间充质干细胞在治疗糖尿病的再生作用,但同样也检测出移植后的间充质干细胞活性不足<sup>[5, 7]</sup>。

目前包括间充质干细胞在内的干细胞治疗面临的主要挑战是其生存能力和增殖能力,因为大多数的间充质干细胞在移植后几个小时就消失了<sup>[8]</sup>。这表明,间充质干细胞的生存、增殖或凋亡可能受到所在受损组织形成的微环境的影响,然而确保细胞治疗成功的首要任务是移植的干细胞在受损组织环境中的存活和增殖能力。有研究发现,间充质干细胞的移植率低、存活率低可能是因为所处的不利环境,包括氧化应激、炎症因子、晚期糖基化终末产物 (Advanced glycation end-products, AGEs) 及其受体 (RAGE) 结合后对其的存活、增殖所产生的影响<sup>[9]</sup>。

AGEs 的形成是由蛋白质的氨基与还原糖的羰基之间的反应介导的,是非酶反应产生的翻译后修饰,导致了蛋白质结构的不可逆改变<sup>[10]</sup>。AGEs 可在高糖条件、体内氧化失衡、衰老的情况下大量形

成。AGEs 最终导致蛋白质聚集,临床上许多疾病的发生发展都与其有密切的关系如阿尔兹海默症、帕金森症等神经退行性疾病,糖尿病、高血压等慢性疾病的相关并发症等。有大量的实验研究表明 AGEs 对移植后的间充质干细胞的生存与增殖有所影响,不同来源的间充质干细胞在被 AGEs 处理后结果均显示出 AGEs 显著抑制了间充质干细胞的增殖<sup>[11-13]</sup>。

## 1 AGEs 抑制间充质干细胞增殖和或增加凋亡的潜在机制

1.1 AGEs 激活内外凋亡途径 细胞凋亡主要通过两种途径执行,通过含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (caspases) 活化后引起的级联反应 (caspases cascade) 将细胞拖向死亡的外在凋亡途径和内在凋亡途径<sup>[14]</sup>。Caspases 与凋亡关系最为密切,均能激活其他 caspases,诱导 caspases 级联,执行凋亡过程。过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 在外源性和内源性凋亡通路中均可阻断 caspases 级联反应<sup>[15]</sup>。AGEs 下调 PPAR $\gamma$  蛋白的表达,导致释放 caspases 释放增加,导致细胞凋亡。还有报道称 AGEs 加剧了细胞色素 C 的释放,导致 caspase-8 和 caspase-3 的活化<sup>[16]</sup>。腺苷酸蛋白活化激酶 (MAPKs) 是一个参与凋亡信号转导的丝氨酸/苏氨酸激酶家族,AGEs 与 RAGE 相互作用后氧化应激导致丝裂原蛋白激活激酶 (MAPKs) 通路被激活<sup>[17]</sup>。此外有研究表明,AGEs 与 RAGE 相互作用会导致线粒体功能障碍和线粒体动力学改变<sup>[18]</sup>。

1.2 AGEs 降低细胞自噬 自噬在细胞存活和凋亡调控之间起着关键作用,有研究发现 AGEs 可以诱导干细胞凋亡,而增强细胞自噬可以改善 AGEs 处理后的干细胞凋亡。吡格列酮是一种 PPAR $\gamma$  激动剂,有证据表明吡格列酮可以通过调节蛋白激酶 (AMPK)/雷帕霉素靶体 (mTOR) 通路促进自噬,减弱 AGEs 诱导的细胞凋亡<sup>[13]</sup>。此外,有研究表明低浓度 ( $\leq 100$  mg/L) 的 AGEs 可通过促进自噬增强骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 的增殖活性,促进其成骨分化,加入自噬抑制剂后,结果得到逆转;高浓度的 AGEs ( $\geq 200$  mg/L) 可通过抑制自噬而降低 BMSCs 的增殖活性,抑制其成骨分化,加入自噬促进剂后结

果得到逆转<sup>[19]</sup>。

**1.3 AGEs 对细胞外基质的影响** 细胞黏附是指从多细胞生物体中分离出来的细胞附着于细胞外基质,它是一种复杂的细胞行为,其过程涉及到广泛的分子相互作用。细胞外基质是细胞黏附和增殖的支架,它为细胞提供着位点和结构支持,调节细胞的存活、增殖和分化<sup>[20]</sup>。有研究显示将内皮细胞和神经干细胞共同移植后能增加干细胞的存活,在电镜下可观察到内皮细胞提供的一种细胞外基质结构与神经干细胞紧密联系<sup>[21]</sup>。这表明细胞外基质对干细胞的存活具有重要作用。在细胞和基质黏附的过程中,大多数细胞表面有特定的整联蛋白,可以识别并结合细胞外基质蛋白的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)序列<sup>[22]</sup>。有实验表明,血液中的内皮祖细胞与 AGEs 修饰的胶原相互作用后导致细胞黏附减少,凋亡易感性增加<sup>[23]</sup>。这可能是因为 AGEs 阻断了细胞表面整合蛋白所识别的 RGD 结构域。

综上所述,在 AGEs 环境中对间充质干细胞的活力以及增殖有不利影响,解决这个问题有助于保留间充质干细胞的活力及其原本的增殖能力,从而提高间充质干细胞在临床上的治疗效率。AGEs 通过不同的途径导致各种干细胞的增殖减少或凋亡增加,目前临床上已研究出相应的治疗措施可以阻断这些途径,包括清除、分解或抑制 AGEs 及其前体。乙二醛酶系统是 AGE-RAGE 信号的上游调控因子,其限速酶是乙二醛酶-1(Glo1)在生理活动中,以谷胱甘肽(GSH)作为辅助因子降解 AGEs 的主要前体<sup>[24]</sup>。有研究报道<sup>[25]</sup>,一些抗氧化剂如甘氨酸能增加 GSH 合成和 Glo1 的活性,从而可以减少 AGEs 的生成以及 AGEs 与 RAGE 结合后带来的不利影响。可溶性 RAGE(sRAGE)作为一个诱饵受体,有助于清除和调节循环配体 AGEs,可以防止进一步的促炎级联<sup>[26]</sup>。且有研究表明,sRAGE 可以延长干细胞的存活时间<sup>[27]</sup>。当 AGE 与各种干细胞共培养时导致的一些效应如增加活性氧簇(ROS)的产生、抑制干细胞的增殖、诱导干细胞凋亡等,这些效应在 siRNA 阻断 RAGE 蛋白表达时减弱。目前研制出的一些分子物质如 RAGE 抑制剂,还有一些抗氧化剂和 ROS 清除剂可以降低氧化应激。

## 2 展望

间充质干细胞是一种有潜力的治疗糖尿病的方法,目前就 AGEs 对糖尿病等多种疾病的影响有大量研究,但是在治疗疾病的过程中 AGEs 对间充质干细胞的存活及增殖的影响的相关报道不是很多,且其中的相关机制也不是很清楚。本文通过一些潜在的机制解释了 AGEs 对间充质干细胞体外存活、增殖的影响,比如 AGE-RAGE 轴激活后引发的一系列反应对干细胞的影响,但具体的机制并不十分清楚。解决 AGEs 对间充质干细胞的负面影响在临床上利用干细胞治疗疾病中十分重要,还有更多的机制和解决方法有待研究,并且需要可靠的科学证据来验证。不过,意识到 AGEs 对间充质干细胞的不利影响并研究其可能的潜在机制,有助于未来能更好地利用间充质干细胞治疗包括糖尿病在内的多种疾病。这在减少糖尿病负担的同时,有可能降低短期和长期并发症的风险是很有吸引力的。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] Weissman IL. Stem cells are units of natural selection for tissue formation, for germline development, and in cancer development [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(29): 8922-8928. DOI:10.1073/pnas.1505464112.
- [2] Rahmani A, Saleki K, Javanmehr N, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle-based therapies protect against coupled degeneration of the central nervous and vascular systems in stroke [J]. *Ageing Res Rev*, 2020, 62: 101106. DOI:10.1016/j.arr.2020.101106.
- [3] Webb RL, Kaiser EE, Scoville SL, et al. Human neural stem cell extracellular vesicles improve tissue and functional recovery in the murine thromboembolic stroke model [J]. *Transl Stroke Res*, 2018, 9(5): 530-539. DOI:10.1007/s12975-017-0599-2.
- [4] Zakrzewski W, Dobrzyński M, Szymonowicz M, et al. Stem cells: past, present, and future [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 68. DOI:10.1186/s13287-019-1165-5.
- [5] Chen S, Du K, Zou C. Current progress in stem cell therapy for type 1 diabetes mellitus [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 275. DOI:10.1186/s13287-020-01793-6.
- [6] Griffin TP, Martin WP, Islam N, et al. The promise of mesenchymal stem cell therapy for diabetic kidney disease [J]. *Curr Diab*

- Rep, 2016, 16(5):42. DOI:10.1007/s11892-016-0734-6.
- [7] Pixley JS. Mesenchymal stem cells to treat type 1 diabetes[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(4):1653-15. DOI:10.1016/j.bbadis.2018.10.033.
- [8] Yamanaka S. Pluripotent stem cell-based cell therapy-promise and challenges[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 27(4):523-531. DOI:10.1016/j.stem.2020.09.014.
- [9] Evens L, Beliën H, Deluyker D, et al. The impact of advanced glycation end-products (AGEs) on proliferation and apoptosis of primary stem cells: a systematic review[J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020:8886612. DOI:10.1155/2020/8886612.
- [10] Chen JH, Lin X, Bu C, et al. Role of advanced glycation end products in mobility and considerations in possible dietary and nutritional intervention strategies[J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2018, 15:72. DOI:10.1186/s12986-018-0306-7.
- [11] Fang H, Yang K, Tang P, et al. Glycosylation end products mediate damage and apoptosis of periodontal ligament stem cells induced by the JNK-mitochondrial pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(13):12850-12868. DOI:10.18632/aging.103304.
- [12] Sun Y, Zhu Y, Liu X, et al. Morroniside attenuates high glucose-induced BMSC dysfunction by regulating the Glo1/AGE/RAGE axis[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(8):e12866. DOI:10.1111/cpr.12866.
- [13] Xu L, Xu K, Wu Z, et al. Pioglitazone attenuates advanced glycation end products-induced apoptosis and calcification by modulating autophagy in tendon-derived stem cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(3):2240-2251. DOI:10.1111/jcmm.14901.
- [14] Denton D, Kumar S. Autophagy-dependent cell death[J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(4):605-616. DOI:10.1038/s41418-018-0252-y.
- [15] Cavalcante GC, Schaan AP, Cabral GF, et al. A cell's fate: an overview of the molecular biology and genetics of apoptosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(17):4133. DOI:10.3390/ijms20174133.
- [16] Waghela BN, Vaidya FU, Ranjan K, et al. AGE-RAGE? synergy influences programmed cell death signaling to promote cancer[J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(2):585-598. DOI:10.1007/s11010-020-03928-y.
- [17] Ott C, Jacobs K, Haucke E, et al. Role of advanced glycation end products in cellular signaling[J]. *Redox Biol*, 2014, 2:411-429. DOI:10.1016/j.redox.2013.12.016.
- [18] Mao YX, Cai WJ, Sun XY, et al. RAGE-dependent mitochondria pathway: a novel target of silibinin against apoptosis of osteoblastic cells induced by advanced glycation end products[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6):674. DOI:10.1038/s41419-018-0718-3.
- [19] 罗丹, 胡赞, 唐宇, 等. 晚期糖基化终末产物对成骨细胞自噬能力的影响[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2021, 46(4):361-367. DOI:10.11817/j.issn.1672-7347.2021.190401.
- [20] Gresham RCH, Bahney CS, Leach JK. Growth factor delivery using extracellular matrix-mimicking substrates for musculoskeletal tissue engineering and repair[J]. *Bioact Mater*, 2020, 6(7):1945-1956. DOI:10.1016/j.bioactmat.2020.12.012.
- [21] Wilems T, Vardhan S, Wu S, et al. The influence of microenvironment and extracellular matrix molecules in driving neural stem cell fate within biomaterials[J]. *Brain Res Bull*, 2019, 148:25-33. DOI:10.1016/j.brainresbull.2019.03.004.
- [22] McMillen P, Holley SA. Integration of cell-cell and cell-ECM adhesion in vertebrate morphogenesis[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2015, 36:48-53. DOI:10.1016/j.ceb.2015.07.002.
- [23] Blackburn NJR, Vulesevic B, McNeill B, et al. Methylglyoxal-derived advanced glycation end products contribute to negative cardiac remodeling and dysfunction post-myocardial infarction[J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(5):57. DOI:10.1007/s00395-017-0646-x.
- [24] Rabbani N, Xue M, Thornalley PJ. Methylglyoxal-induced dicarbonyl stress in aging and disease: first steps towards glyoxalase 1-based treatments[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(19):1677-1696. DOI:10.1042/CS20160025.
- [25] Wang Z, Zhang J, Chen L, et al. Glycine suppresses AGE/RAGE signaling pathway and subsequent oxidative stress by restoring Glo1 function in the aorta of diabetic rats and in HUVECs[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019:4628962. DOI:10.1155/2019/4628962.
- [26] Guarneri F, Custurone P, Papaiani V, et al. Involvement of RAGE and Oxidative Stress in Inflammatory and Infectious Skin Diseases[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(1):82. DOI:10.3390/antiox10010082.
- [27] Oh S, Son M, Choi J, et al. sRAGE prolonged stem cell survival and suppressed RAGE-related inflammatory cell and T lymphocyte accumulations in an Alzheimer's disease model[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1):807-813. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.11.035.