

## ОБЗОРЫ

## Роль миграционной оси SDF-1-CXCR4 в хоуминге клеток-предшественников и метастазировании злокачественных опухолей\*

А.С. Григорян  
Санкт-Петербургский Государственный университет

A.S. Grigorjan  
Saint-Petersburg State University

**The role of directed migration of SDF-1-CXCR4 while homing cells-precursors in malignant dissemination**

В обзоре представлены современные данные о молекулярных механизмах миграции и колонизации тканей и органов стволовыми клетками, клетками-предшественниками. В научной литературе большое внимание в данном направлении придается значению недавно описанных молекул – фактору стромальных клеток (SDF-1) и его рецептору (CXCR4).

**Ключевые слова:** миграция, хоуминг, SDF-1, CXCR4

The review deals with recent data on molecular mechanisms of migration and colonization of tissues and organs by stem cells, cells-precursors. In this direction the scientific literature emphasizes recently-described molecules – stromal derived factor-1 (SDF-1) and its receptor (CXCR4).

**Key words:** migration, homing, SDF-1, CXCR4.

### Введение

Адекватный ответ нормальных стволовых клеток, как эмбриональных, так и дефинитивных тканей, на морфогенетические факторы и хемоаттрактанты играет ключевую роль в развитии органов в онтогенезе, а также в процессах обновления тканей и их регенерации в случае повреждений. Помимо этого, хемоаттрактанты регулируют метастазирование опухолевых стволовых клеток, которые, как было недавно показано, образуются в результате блокирования дифференцировки стволовых клеток, а не дедифференцировки дефинитивных соматических клеток, как предполагалось ранее [1]. В последнее время появляется всё больше экспериментальных свидетельств того, что как нормальные, так и опухолевые стволовые клетки экспрессируют на своей мембране ассоциированный с гетеротримерными G-белками трансмембранный рецептор CXCR4, связывающийся со специфическим лигандом – молекулой SDF-1 (stromal derived factor), которая вырабатывается стромальными клетками многих тканей. Экспрессия как SDF-1, так и его рецептора повышается при гипоксии и механических травмах, что приводит к усиленной миграции клеток-предшественников в зоны повреждения. По этой причине растёт интерес исследователей к разработкам новых фармакологических подходов, направленных на модуляцию миграционной оси SDF-1-CXCR4. В будущем это может позволить стимулировать хоуминг нормальных CXCR4<sup>+</sup> стволовых клеток в повреждённые органы, а также предотвратить метастазирование CXCR4<sup>+</sup> опухолевых клеток.

### Stromal derived factor (SDF-1/CXCL12)

В настоящее время наиболее хорошо изученным фактором хоуминга стволовых и прогениторных клеток костного мозга является белок SDF-1/CXCL12, относящийся к хемокинам (обширная группа консервативных, мультифункциональных низкомолекулярных медиаторов, которые могут опосредовать иммунный ответ, выживание стволовых клеток, а также запускать хемотаксис и ангиогенез [2–5]) семейства CXCL. Этот фактор существует в организме в виде двух различных белков со сходными функциями, образующихся в результате альтернативного сплайсинга: SDF-1 $\alpha$  и SDF-1 $\beta$ , и в трёх формах: мембранной, связанной с экстрацеллюлярным матриксом и растворимой.

Впервые кДНК SDF-1 $\alpha$  была клонирована в 1988 году группой S.I. Nishikawa et al. [6], а в 1996 году C.C. Bleul et al. обнаружили, что SDF-1 является хемоаттрактантом для лейкоцитов, под его влиянием происходит перестройка их цитоскелета [7].

К настоящему времени клонировано 50 различных хемокинов и 20 хемокиновых рецепторов [8, 9]. Обычно один и тот же хемокин может связываться с несколькими разными рецепторами, но SDF-1 – исключение из этого правила. Он способен взаимодействовать только с CXCR4 (по CD-номенклатуре: CD184), что косвенно подчёркивает его уникальную биологическую роль [10]. Совсем недавно был описан новый рецептор SDF-1, названный RDC1, однако его возможная роль в регуляции миграции клеток ещё не подтверждена [1].

SDF-1 имеет ряд различных функций, в которые входят ингибирование апоптоза, стимуляция пролиферации,

\* По материалам Kucia M., Reza R., Miekus K., Wanzeck J. Trafficking of Normal Stem Cells and Metastasis of Cancer Stem Cells Involve Similar Mechanisms: Pivotal Role of the SDF-1 – CXCR4 Axis. Stem Cells 2005; 23: 879–94.

усиление адгезии, подвижности клеток, хемотаксиса и миграции. Он работает как во взрослом организме, так и на ранних этапах онтогенеза, участвуя в перемещении гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) из аорто-гонадо-мезонефрального компартмента зародыша в желточный мешок, а затем в эмбриональную печень и далее в костный мозг и селезёнку. При этом ГСК мигрируют по градиенту SDF-1 $\alpha$ , что усиливается в присутствии Steel factor (SLF) [11]. Таким образом, SDF-1 можно назвать одним из самых важных морфогенетических факторов и хемоаттрактантов для всех типов CXCR4<sup>+</sup> клеток в онтогенезе организма (рис. 1).

SDF-1 секретируется, главным образом, стромальными фибробластами костного мозга [12], но также обнаруживается в клетках различных тканей, таких как поперечнополосатая и сердечная мышечные, нервные клетки, спленциты и гепатоциты [13].

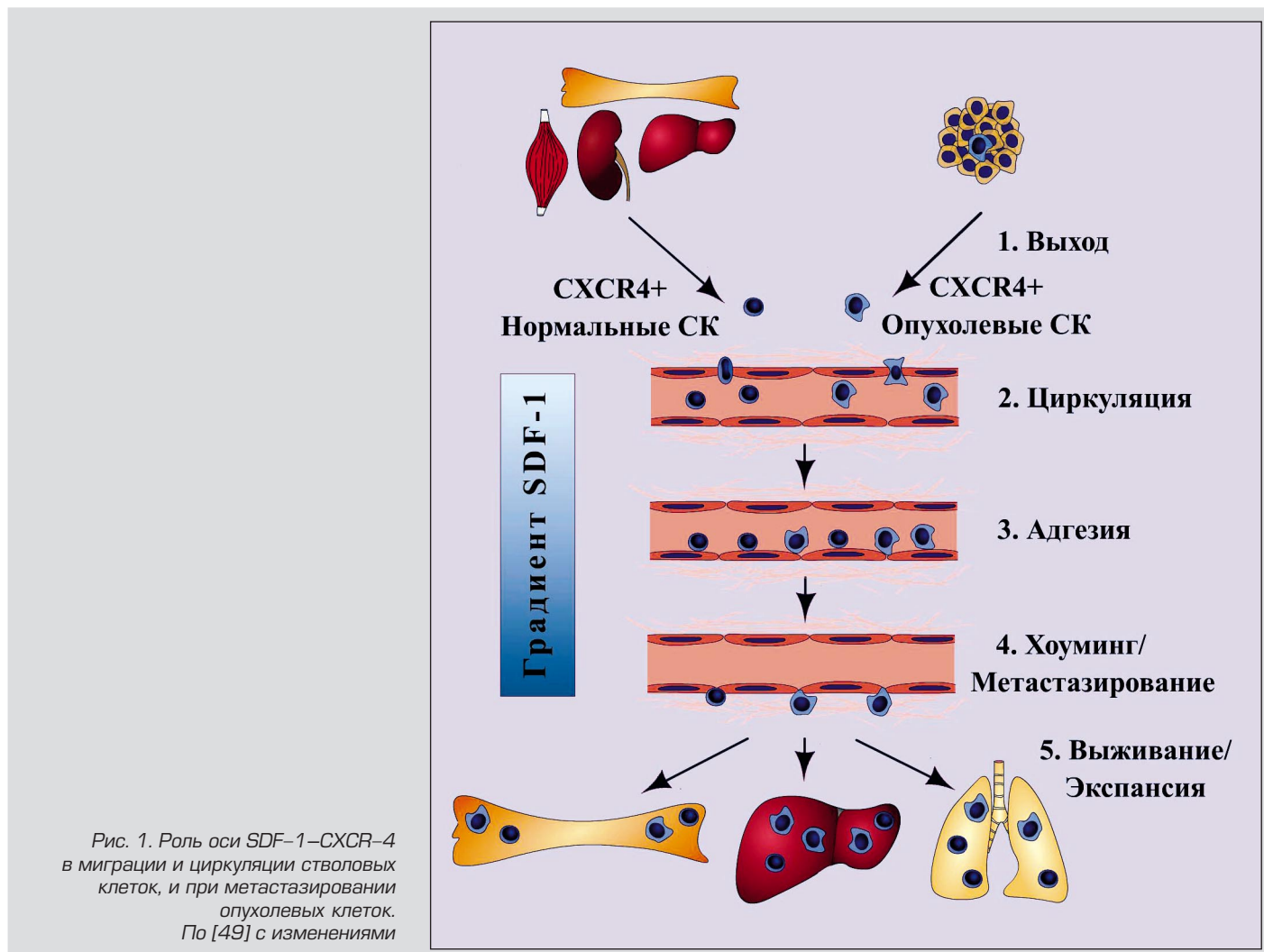
Количество мПНК SDF-1 резко возрастает в повреждённой сердечной мышечной ткани, почках и печени (в экспериментах были проверены воздействия на органы гипоксии и  $\gamma$ -излучения), в результате чего CXCR4<sup>+</sup> клетки периферической крови рекрутируются в область повреждения [14]. А.Т. Askari et al. (2003) показали, что после инфаркта миокарда уровень экспрессии SDF-1 клетками сердечной мышцы стремительно возрастает и снижается только к седьмым сутками. Проверив влияние трансплантации клеток, трансфицированных геном SDF-1, на хоуминг CD34<sup>+</sup> c-kit<sup>+</sup> стволовых

клеток костного мозга в зону повреждения, исследователи выяснили, что этого достаточно для мобилизации стволовых клеток (СК), однако их последующей дифференцировки в кардиомиоциты практически не происходило. Предполагается, что главную роль в дальнейшей дифференцировке клеток играют факторы семейства TGF $\beta$ . Тем не менее, сосредоточение клеток в зоне повреждения приводит к развитию новых сосудов и улучшению сердечной деятельности [15].

Хемотаксис по градиенту концентрации SDF-1 демонстрируют около 18% мононуклеарных клеток костного мозга и примерно 22% мононуклеаров селезёнки, которая также является «резервуаром» CXCR4<sup>+</sup> клеток-предшественников [14].

#### Рецептор SDF-1 – трансмембранный белок CXCR4

В 1996 году С.С. Bleul et al. [3] и Е. Oberlin et al. [16] независимо друг от друга обнаружили, что рецептором для SDF-1 является белок LESTR/fusin, или CXCR4 (по номенклатуре хемокиновых рецепторов), участвующий в слиянии Т-тропного вируса иммунодефицита человека с CD4<sup>+</sup> лимфоцитами хозяина. Несколькими годами позже, в 1999 году, А. Peled et al. [17] показали, что SDF-1 и его рецептор задействованы в репопуляции костного мозга SCID мышей, в то время как антитела к CXCR4 блокируют хоуминг трансплантированных клеток.



Молекула CXCR4 имеет семь трансмембранных доменов, каждый из которых играет свою роль в запуске каскада сигналов, и ассоциирована с G $\alpha$ i-белком, что позволяет ей передавать сигнал в ядро клетки [18].

CXCR4 – маркер многих стволовых/прогениторных клеток [12]. Экспрессия функционального CXCR4 обнаружена на миосателлитах поперечнополосатой мускулатуры [19, 20], примордиальных клетках гонад зародыша [21, 22], нейральных стволовых клетках [23], а также на предшественниках пигментных клеток сетчатки и на гепатоцитах [24, 25]. Известно, что ось SDF-1–CXCR4 регулирует миграцию и хоуминг пре-B-лимфоцитов (кроме того, CXCR4 является фактором роста пре-B-клеток) и T-лимфоцитов, а также эмбриональных стволовых клеток мыши [26]. CXCR4 экспрессируется на глиальных клетках и нейронах, а SDF-1 выступает важным фактором роста астроцитов, стимулируя их пролиферацию [27].

Совсем недавно была обнаружена экспрессия CXCR4 на мультипотентных мезенхимных стромальных клетках (ММСК) костного мозга. На мембранах клеток он присутствовал в очень незначительном количестве (им обладало от 1% до 3% клеток), тем не менее, он играл определенную роль в их миграции: при блокировании CXCR4 моноклональными антителами, процент мигрировавших клеток снизился примерно на 50%. Интересно, что при этом от 83% до 98% ММСК содержали рецептор в цитоплазме, причём в двух формах: в «обычной» (весом 66 КДа) и в N-гликозилированной (весом 130 КДа). Функционально активна N-гликозилированная форма, и при инактивации/расщеплении N-терминального пептида рецептор, оказавшийся на мембране, теряет свою активность [28].

Несмотря на то, что клетки повреждённых тканей секретуют в большом количестве SDF-1, привлекая прогениторные клетки, среда в зоне повреждения, богатая протеолитическими ферментами, такими, как сериновые протеазы, катепсин G, эластазы и матриксные металлопротеиназы, может нарушать нормальный хоуминг клеток, расщепляя N-терминальный пептид CXCR4. Предполагается, что нахождение способа стимуляции выхода внутриклеточного CXCR4 на мембрану клетки может стать ответом на вопрос, каким образом усилить хоуминг и миграцию МСК в костном мозге [28].

CXCR4 экспрессируют клетки ряда опухолей, таких как рабдомиосаркома, нейробластома, глиобластома, нефробластома, гепатобластома и ретинобластома. Хорошо развитая система кровоснабжения костного мозга и экспрессия клетками стромы SDF-1 и ряда других хемоаттрактантов делает костный мозг «мишенью» для метастазов опухолей, экспрессирующих на своей поверхности CXCR4 [29–34]. Все эти опухоли развиваются из малодифференцированных мышечных, нейральных, клеток почечного эпителия, пигментных клеток сетчатки и гепатоцитов – это позволяет предположить, что их метастазы мигрируют именно по градиенту SDF-1.

Гиперэкспрессия гена CXCR4 была обнаружена в более чем 75% опухолей различного происхождения, неполный список которых включает рак молочной железы, яичников, лёгких, кишечника, простаты, пищевода, почек, поджелудочной железы, меланому, некоторые формы лейкоза.

Клетки ряда опухолей секретуют молекулы, повышающие экспрессию CXCR4 и SDF-1. Например, клетки глиобластомы, экспрессируя в больших количествах VEGF (vascular endothelial growth factor), стимулируют не только ангиогенез, но и экспрессию CXCR4, что позволяет опухоли активно метастазировать. Медиана выживаемости пациентов с такой CXCR4<sup>high</sup> опухолью составляет менее одного года [35].

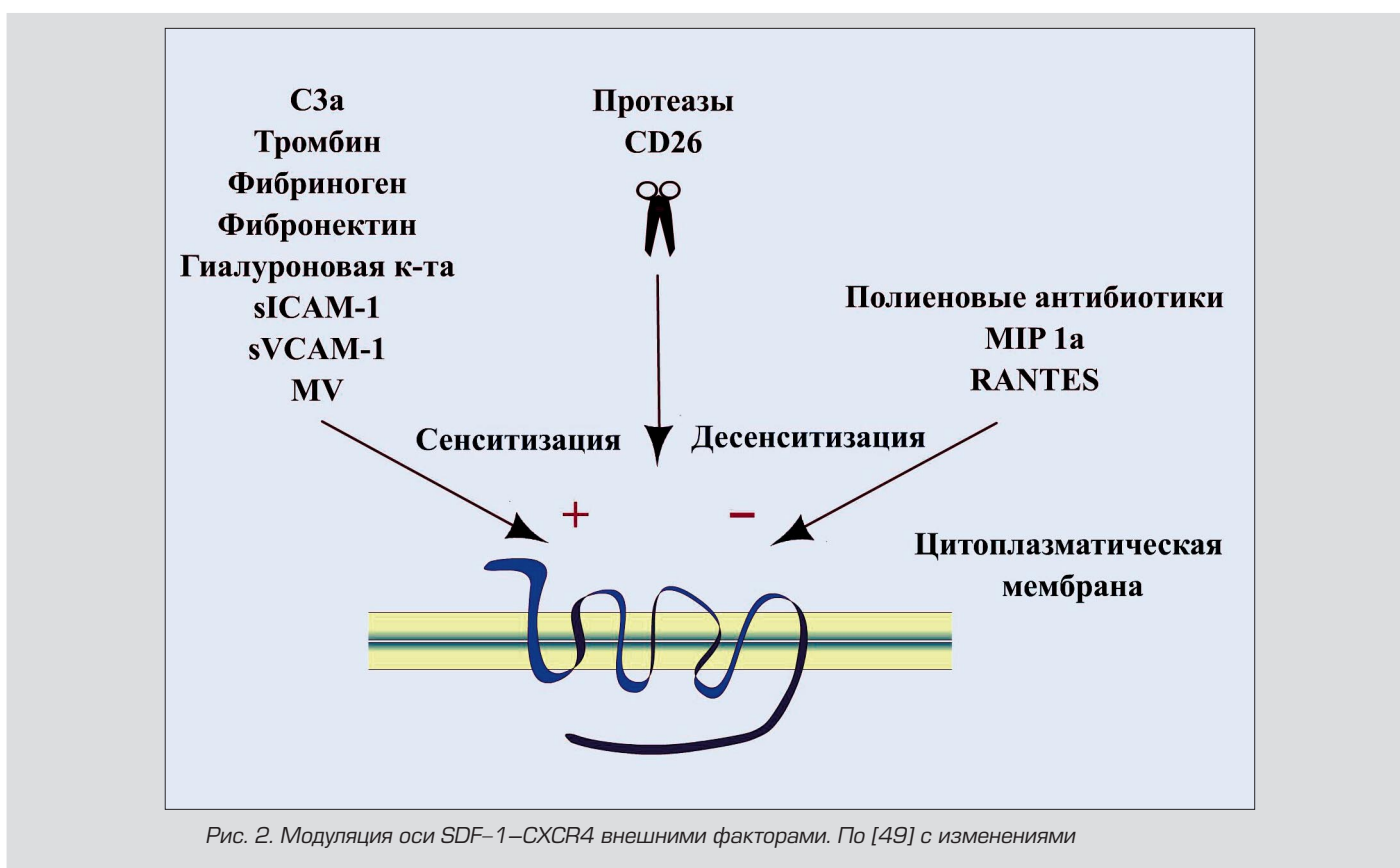
Экспериментальные животные, нокаутные по генам SDF-1 и CXCR4, погибают *in utero*, демонстрируя сильно сниженное количество гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге. Эти животные имеют множественные пороки развития сердечно-сосудистой системы и головного мозга [36, 37]. Такие последствия дефектов генов SDF-1 и CXCR4 предполагают ключевую роль миграционной оси SDF-1–CXCR4 в органогенезе и миграционных процессах самых различных клеток в норме и при патологии.

#### Регуляция миграционной оси SDF-1–CXCR4

Для лучшего понимания запуска SDF-1–CXCR4 сигналинга нужно отметить, что хемотаксис и хоуминг (по крайней мере, ГСК) зависит от содержания в мембранах клеток холестерина и включения в подвижные участки мембраны, обогащённые гликофинголипидами, сфингомиелином и холестерином (рафты) CXCR4 и малой ГТФазы Rac-1 [38]. Такая близкая локализация рецептора и ГТФазы облегчает активацию Rac-1 и запуск дальнейшей последовательности событий [39]. По этой причине CXCR4 может быть сенситизирован факторами лейкафереза/мобилизации, которые, повышая его ассоциацию с рафтами, позволяют ему более тонко реагировать на градиент SDF-1. Возможно, именно этим объясняется то, что ГСК при мобилизации из костного мозга демонстрируют более высокую степень энграфтмента, чем ГСК пуповинной крови [38]. Препараты, нарушающие формирование липидных рафтов мембраны (например, полиеновые антибиотики) могут препятствовать метастазированию CXCR4<sup>+</sup> опухолей, также как и агенты, нарушающие внутриклеточный синтез холестерина (напр., статины) (рис. 2).

В некоторых клетках CXCR4-сигналинг зависит от концентрации SDF-1 $\alpha$ . Так, в низких концентрациях (около 100 нг/мл) SDF-1 усиливает миграцию T-лимфоцитов, в высоких же не только снижает, но и служит для клеток репеллентом [40]. Такая же закономерность выявляется и для CD34<sup>+</sup> гемопоэтических клеток, способность которых к хоумингу в костный мозг NOD/SCID реципиентов в присутствии высоких концентраций SDF-1 (50 мкг/10<sup>6</sup> клеток) заметно снижается [41, 42]. Предварительная инкубация клеток с SDF-1 или антителами к CXCR4 (в исследованиях использовался клон 12G5) перед их трансплантацией реципиенту усиливает последующий ответ клеток на SDF-1 примерно вдвое, не влияя на пролиферацию и апоптоз. Это происходит благодаря тому, что предварительная инкубация с SDF-1 повышает уровень фосфорилирования сигнальных молекул, стимулирует реорганизацию актинового цитоскелета и увеличивает адгезию клеток через молекулы VLA-4 и VCAM [43–45]. Обработка гемопоэтических клеток SDF-1 в течение двух–трёх дней приводит к усилению активности металлопротеиназы, а также повышает выживаемость. При этом SDF-1 никак не влияет на прохождение клетками клеточного цикла [46]. Возможно, такая зависимость от концентрации лиганда проявляется в результате работы различных сигнальных механизмов, зависящих от разных концентраций SDF-1.

Функции SDF-1/CXCR4 осуществляются посредством вторичных мессенджеров, активируемых вслед за G $\alpha$ i-белком. Считается, что SDF-1, связавшись с CXCR4, вызывает его димеризацию, как это происходит, например, в случае рецепторов факторов роста [47]. После этого активированный комплекс CXCR4–SDF-1 быстро интернализуется (уходит в цитоплазму в составе мембранного пузырька) [48]. Интернализованный CXCR4 может затем вновь выйти на поверхность клетки и выполнять там свои функции. Установлено, что интернализацию комплекса SDF-1–CXCR4 можно ингибировать гепарином, ограничивающим количество доступного



SDF-1, и липополисахаридом бактерий, который напрямую ингибирует контакт SDF-1 с рецептором [49]. Также интернализация ингибируется при связи L-селектина на поверхности клетки с фукоиданом и сульфатидом, являющимися селектин-связывающими лигандами [50]. Эндцитоз CXCR4 может быть необходим не только для регуляции сигналинга, но и для хемотаксиса и запуска MEK-МАРК p42/44 киназного каскада [33, 34].

При взаимодействии SDF-1 с его рецептором в клетке на короткое время возрастает опосредованная работой малой ГТФазы Rho концентрация  $Ca^{2+}$ , необходимая для перестройки цитоскелета (увеличения количества F-актина в цитоплазме), формирования фокальных контактов и миграции.

Повышение концентрации  $Ca^{2+}$  в клетке активирует пролин-богатую киназу-2 (Puk-2), киназу фокальной адгезии (FAK), и ряд других значимых молекул, запуская сигнальные пути через МАРК p42/44-ELK-1 и PI-3K-AKT-NF-κB [52-55]. После связывания CXCR4 немедленно обнаруживается резкое повышение степени фосфорилирования компонентов фокальной адгезии, МАРК p42/44 и серин-треониновой киназы АКТ [56, 57].

CXCR4 сигналинг включает также активацию Ras (один из наиболее распространённых протоонкогенов) и нескольких киназ семейства Src, в том числе ZAP-70 – молекулу, активирующую T-клетки. Некоторые могут активироваться, возможно, посредством трансфосфорилирования, независимо от Gαi белка, после чего в процесс передачи сигнала могут вовлекаться транскрипционные факторы семейства STAT, которые далее тоже фосфорилируются киназами [58]. STAT-белки, привлекаемые в процессе сигналинга, строго тканеспецифичны [47].

Существуют весомые аргументы в пользу того, что в модуляцию CXCR4-индуцированного сигналинга включены

также протеин-тирозиновые фосфатазы SHIP1 и SHIP2, а также гемопозитическая мембран-ассоциированная фосфатаза CD45 (рис. 3).

Нельзя забывать о том, что большинство механизмов проведения сигнала в клетке многократно дублируется, и путь запуска хоуминга и миграции клеток через связывание SDF-1 с CXCR4 – не исключение. Показано, что при ингибировании CXCR4 хоуминг ГСК не нарушается благодаря компенсации выключения SDF-1-CXCR4 пути взаимодействием α4-интегрина с VCAM-1 (при проведении схожих экспериментов с лейкоцитами было выяснено, что их хоуминг при блокаде CXCR4 нарушается). При блокировании же обоих этих механизмов хоуминг клеток значительно снижался или практически отсутствовал. По-видимому, других значимых «обходных путей» SDF-1/CXCR4 клетка не имеет [59].

На взаимодействие SDF-1 с его рецептором влияет множество факторов, в том числе и цитокиновое микроокружение клетки. Установлено, что воздействие SCF (Stem Cell Factor) повышает экспрессию CXCR4 клетками стромы костного мозга и усиливает миграцию по крайней мере c-kit<sup>+</sup> клеток.

Такие факторы, как анафилотоксин C3a (фрагмент ток-сина, расщепляющий C3 компонент комплемента),  $_{des-Arg}$ C3a (продукт расщепления C3a карбоксипептидазой), фибронектин, фибриноген, тромбин, VCAM-1, гиалуроновая кислота и сфингозин-1-фосфат усиливают хемотаксис CXCR4<sup>+</sup> клеток по градиенту SDF-1 [49, 60, 61]. Из этого, опять же, следует, что ось SDF-1-CXCR4 в значительной степени регулируется соединениями, высвобождающимися при повреждении тканей ( $_{des-Arg}$ C3a, C3a анафилотоксин, фибронектин, гиалуроновая кислота), коагуляции крови (фибриноген, тромбин) и активации клеток (s-VCAM-1, s-ICAM-1). Воспаление тесно связано с прогрессией опухолей, что можно объяснить влиянием воспалительных молекул (C3a, фибриногена,

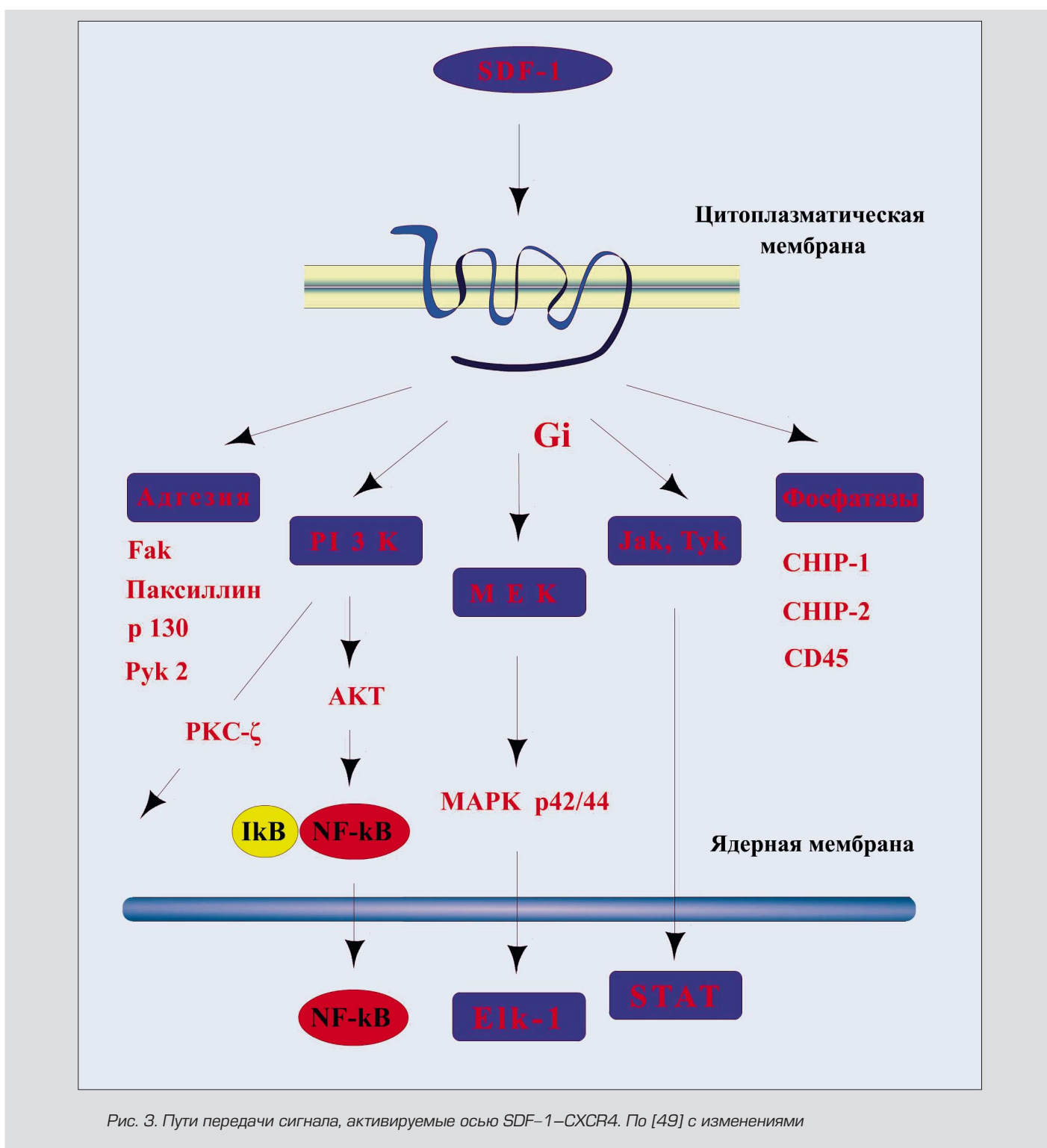


Рис. 3. Пути передачи сигнала, активируемые осью SDF-1–CXCR4. По [49] с изменениями

фибронектина, гиалуроновой кислоты) на усиление метастазирования CXCR4<sup>+</sup> опухолей.

Подводя итог, заметим, что в настоящее время о сигнальных путях в клетке можно с известной долей уверенности сказать, что «всё связано со всем»: функции белков разнообразны, и часто один и тот же белок в зависимости от своего местонахождения в клетке может играть совершенно противоположные роли. Однако тонкая регуляция клеточных процессов обеспечивает дифференциальный запуск различных сигнальных путей, и в разных клеточных линиях задействуются разные молекулы.

#### Терапевтические подходы к воздействию на миграционную ось SDF-1–CXCR4

В связи с развитием методов клеточной терапии и необходимостью управления миграцией трансплантированных клеток, развиваются и представления исследователей о роли факторов хоуминга как в здоровом организме, так и при патологии, в особенности при развитии опухолей. Помимо этого CXCR4 является корецептором для Т-тропного вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), взаимодействуя с белком вирусного капсида gp120 и облегчая проникновение вириона

в клетку хозяина, что также не может не привлекать повышенного внимания к этой молекуле.

Сегодня CXCR4 – потенциальная мишень борьбы с опухольями. Доказано, что рецептор играет важную роль на всех стадиях прогрессии опухоли: пролиферации клеток первичной опухоли, их метастазировании. Недавно компания Northwest Biotherapeutics (NWBТ) на трёх моделях различных злокачественных опухолей провела клинические испытания нового моноклонального антитела к CXCR4. Эти исследования были призваны проверить, как повлияет блокада рецептора на течение заболевания. Результаты подтвердили сильное влияние антител к CXCR4 на все стадии развития опухоли:

- Медиана выживаемости удвоилась; 95% животных, участвовавших в эксперименте, прожили более чем 110 дней, при этом средняя выживаемость в контрольной группе не превышала 45 дней.

- Количество метастазов в лёгких уменьшилось на 75%.

- Размер первичной опухоли молочной железы снизился на 60%.

«Редко бывает так, что один белок играет важную роль на всех трёх функциональных стадиях развития раковых клеток, не говоря уже о его участии в течении нескольких различных видов рака», утверждает профессор Алтон Бойнтон

(Alton Boynton) из Northwest Biotherapeutics, «CXCR4 предлагает исключительную терапевтическую возможность как для предотвращения роста первичной опухоли, так и её метастазирования. И, что самое важное, эффект антител к CXCR4 коррелирует с заметным увеличением продолжительности жизни. Зачастую препараты, замедляющие опухолевый рост, не увеличивают медиану выживаемости больных раком. Результаты доклинических испытаний моноклональных антител к CXCR4 позволяют нам начать первую фазу клинических испытаний» [62].

Гиперэкспрессия CXCR4 обнаруживается более чем в 75% опухолей различного типа. Более того, экспрессия CXCR4 коррелирует с низким уровнем выживаемости.

Компанией AnorMED Inc. был также разработан препарат AMD3100 – антагонист CXCR4. Этот агент предполагается использовать для мобилизации ГКС. При использовании AMD3100 совместно с Г-КСФ наблюдается синергетический эффект. В настоящее время препарат завершает вторую фазу клинических испытаний [63].

Таким образом, миграционная ось SDF-1–CXCR4 задействуется при множестве типов опухолей и агенты, влияющие как на лиганд, так и на рецептор, могут сыграть в будущем значительную роль в терапии злокачественных заболеваний.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Chute J.P. Stem Cell homing. *Current Opinion in Hematology* 2006; 13: 399–406.
2. Zlotnik A., Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000; 12: 121–7.
3. Rossi D., Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 2000; 18: 217–42.
4. Aiuti A., Webb I.J., Bleul C., et al. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34<sup>+</sup> hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34<sup>+</sup> progenitors to peripheral blood. *J. Exp. Med.* 1997; 185: 111–20.
5. Strieter R.M., Belperio J.A., Keane M.P. CXC chemokines in angiogenesis related to pulmonary fibrosis. *Chest* 2000; 122: 298S–301S.
6. Nishikawa S.I., Ogawa M., Nishikawa S. et al. B lymphopoiesis on stromal cell clone: stromal cell clones acting on different stages of B cell differentiation. *Europ. J. Immunol.* 1988; 18: 1767–71.
7. Bleul C.C., Farzan M., Choe H. et al. The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. *Nature* 1996; 382: 829–33.
8. Zlotnik A., Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000; 12: 121–7.
9. Horuk R. Chemokine receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2001; 12: 313–35.
10. Nagasawa T., Hirota S., Tachibana K. et al. Defects of B–cell lymphopoiesis and bone–marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature* 1996; 382: 635–8.
11. Christensen J.L., Wright D.E., Wagers A.J., Weissman I.L. Circulation and Chemotaxis of Fetal Hematopoietic Stem Cells. *Plos. Biol.* 2004; 2: 0368–77.
12. Kijowski J., Baj M., Majka M. et al. The SDF-1–CXCR4 axis stimulates VEGF secretion and activates integrins but does not affect proliferation and survival in lymphohematopoietic cells. *Stem Cells* 2001; 19: 453–66.
13. Ratajczak M.Z., Kucia M., Reza R. et al. Stem Cell plasticity revisited: CXCR4–positive cells expressing mRNA for arly muscle, liver and neural cells (hide out) in the bone marrow. *Leukemia* 2004; 18: 29–40.
14. Kucia M., Zhang Y.P., Wysoczynski M. et al. Cells enriched in markers of neural tissue–committed stem cells reside in the bone marrow and are mobilized into the peripheral blood following stroke. *Leukemia* 2006; 20(1): 18–28.
15. Askari A.T., Unzek S., Popovic Z.B. et al. Effect of stromal–cell–derived factor 1 on stem–cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *The Lancet* 2003; 362: 697–703.
16. Oberlin E., Amara A., Bachelier F. et al. The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T–cell–line–adapted HIV-1. *Nature* 1996; 382: 833–5.
17. Peled A., Petit I., Killet O. et al. Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4. *Science* 1999; 283: 845–8.
18. Hirayama F., Yamaguchi M., Yano M. et al. Spontaneous and rapid reexpression of functional CXCR4 by human steady–state peripheral blood CD34<sup>+</sup> cells. *J. Hematol.* 2003; 78: 48–55.
19. Ratajczak M.Z., Majka M., Kucia M. et al. Expression of functional CXCR4 by muscle satellite cells and secretion of SDF-1 by muscle–derived fibroblasts is associated with the presence of both muscle progenitors in bone marrow and hematopoietic stem/progenitor cells in muscles. *Stem Cells* 2003; 21: 363–71.
20. Pituch–Noworolska A., Majka M., Janowska–Wieczorek A. et al.

Circulating CXCR4–positive stem/progenitor cells compete for SDF-1–positive niches in bone marrow, muscle and neural tissues: an alternative hypothesis to stem cells plasticity. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2003; 41: 13–21.

21. Ara T., Nakamura Y., Egawa T. et al. Impaired colonization of the gonads by primordial germ cells in mice lacking a chemokine stromal cell–derived factor-1 (SDF-1). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 5319–23.

22. Doitsidou M., Reichman–Fried M., Stebler J. et al. Guidance of primordial germ cell migration by the chemokine SDF-1. *Cell* 2002; 111: 647–59.

23. Reiss K., Mentlein R., Sievers J., Hartmann D. Stromal cell–derived factor 1 is secreted by meningeal cells and acts as chemotactic factor on neuronal stem cells of the cerebellar external granular layer. *Neuroscience* 2002; 115: 295–305.

24. Crane I.J., Wallace C.A., McKillop–Smith S., Forrester J.V. CXCR4 receptor expression on human retinal pigment epithelial cells from blood–retina barrier leads to chemokine secretion and migration in response to stromal cell–derived factor 1a. *J. Immunol.* 2000; 165: 4372–8.

25. Hatch H., Zheng D., Jorgensen M.L., Petersen B.E. SDF-1a/CXCR4: a mechanism for hepatic oval cell activation and bone marrow stem cell recruitment to the injured liver of rats. *Cloning Stem Cells* 2002; 4: 339–51.

26. Aiuti A., Webb I.J., Bleul C. et al. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34<sup>+</sup> hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34<sup>+</sup> progenitors to peripheral blood. *J. Exp. Med.* 1997; 185: 111–20.

27. Bonavia R., Bajetto A., Barbero S. et al. Chemokines and their receptors in the CNS: expression of CXCL12/SDF-1 and CXCR4 and their role in astrocyte proliferation. *Toxicology Letters* 2003; 139: 181–9.

28. Wynn R.F., Hart C.A., Corradi–Perini C. et al. A small proportion of mesenchymal stem cells strongly express functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow. *Blood* 2004; 104(9): 2643–5.

29. Muller A., Homey B., Soto H. et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; 410: 50–6.

30. Cooper C.R., Chay C.H., Gendernalik J.D. et al. Stromal factors involved in prostate carcinoma metastasis to bone. *Cancer* 2003; 97: 739–47.

31. Ellis W.J., Pfitzenmaier J., Colli J. et al. Detection and isolation of prostate cancer cells from peripheral blood and bone marrow. *Urology* 2003; 61: 277–81.

32. Petersen B.E., Bowen W.C., Patrene K.D. et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168–70.

33. Libura J., Drukala J., Majka M. et al. CXCR4–SDF-1 signaling is active in rhabdomyosarcoma cells and regulates locomotion, chemotaxis and adhesion. *Blood* 2002; 100: 2597–606.

34. Geminder H., Sagi–Assif O., Goldberg L. et al. A possible role for CXCR4 and its ligand the CXC chemokine stromal cell–derived factor-1 in the development of bone marrow metastasis in neuroblastoma. *J. Immunol.* 2001; 167: 4747–57.

35. Hong X., Jiang F., Kalkanis S.N. et al. SDF-1 and CXCR4 are up–regulated by VEGF and contribute to glioma cell invasion. *Cancer Letters* 2005; 236(1): 1–7.

36. Zou Y., Kottmann A.H., Kuroda M. et al. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature* 1998; 393: 595–9.

37. Tachibana K., Hirota S., Lizasa H. et al. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature* 1998; 393: 524–5.

38. Wysoczynski M., Reza R., Ratajczak J. et al. Incorporation of CXCR4 into membrane lipid rafts primes homing–related responses of hematopoietic stem/progenitor cells to an SDF-1 gradient. *Blood* 2005; 105: 40–8.

39. Hecht I., Cahalon L., Hershkovitz R. et al. Heterologous desensitization of T cell functions by CCR5 and CXCR4 ligands: inhibition of cellular signaling, adhesion and chemotaxis. *Int. Immunol.* 2003; 15: 29–38.
40. Poznansky M.C., Olszak I.T., Foxall R. et al. Active movement of T cells away from a chemokine. *Nat. Med.* 2000; 6: 543–8.
41. Peled A., Petit I., Kollet O. et al. Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4. *Science* 1999; 283: 845–8.
42. Voermans C., Gerritsen W.R., von dem Borne A.E. et al. Increased migration of cord blood-derived CD34<sup>+</sup> cells, as compared to bone marrow and mobilized peripheral blood CD34<sup>+</sup> cells across uncoated or fibronectin coated filters. *Exp. Hematol.* 1999; 27: 1806–14.
43. Plett A., Frankovitz S.M., Wolber F. et al. Treatment of circulating CD34<sup>+</sup> cells with SDF-1 $\gamma$  or anti-CXCR4 antibody enhances migration and NOD/SCID repopulating potential. *Exp. Hematol.* 2002; 30: 1061–9.
44. Sanz-Rodríguez F., Hidalgo A., Teixido J. Chemokine stromal cell-derived factor-16 modulates VLA-4 integrin-mediated multiple myeloma cell adhesion to CS-1/fibronectin and VCAM-1. *Blood* 2001; 97: 346–51.
45. Hidalgo A., Sanz-Rodríguez F., Rodríguez-Fernández J.L. et al. Chemokine stromal cell-derived factor-16 modulates VLA-4 integrin-dependent adhesion to fibronectin and VCAM-1 on bone marrow hematopoietic progenitor cells. *Exp. Hematol.* 2001; 29: 345–55.
46. Lataillade J.J., Clay D., Dupuy C. et al. Chemokine SDF-1 enhances circulating CD34<sup>+</sup> cell proliferation in synergy with cytokines: possible role in progenitor survival. *Blood* 2000; 95: 756–68.
47. Vila-Coro A.J., Rodríguez-Frade J.M., De Ana A.M. et al. The chemokine SDF-16 triggers CXCR4 receptor dimerization and activates the JAK/STAT pathway. *FASEB J.* 1999; 13: 1699–710.
48. Cheng Z.J., Zhao J., Sun Y. et al. Beta-arrestin differentially regulates the chemokine receptor CXCR4-mediated signaling and receptor internalization, and this implicates multiple interaction sites between beta-arrestin and CXCR4. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 2479–85.
49. Kucia M., Reza R., Miekus K., Wanzeck J. Trafficking of Normal Stem Cells and Metastasis of Cancer Stem Cells Involve Similar Mechanisms: Pivotal Role of the SDF-1 – CXCR4 Axis. *Stem Cells* 2005; 23: 879–94.
50. Ding Z., Issekutz T.B., Downey G.P. et al. L-selectin stimulation enhances functional expression of surface CXCR4 in lymphocytes: implications for cellular activation during adhesion and migration. *Blood* 2003; 101: 4245–52.
51. Kijowski J., Baj-Krzyworzeka M., Majka M. et al. The SDF-1–CXCR4 axis stimulates VEGF secretion and activates integrins but does not affect proliferation and survival in lymphohematopoietic cells. *Stem Cells* 2001; 19: 453–66.
52. Ganju R.K., Brubaker S.A., Meyer J. et al. The 6-chemokine stromal cell-derived factor-16 binds to the transmembrane G-protein-coupled CXCR-4 receptor and activates multiple signal transduction pathways. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 23169–75.
53. Zhang X.F., Wang J.F., Matczak E. et al. Janus kinase 2 is involved in stromal cell-derived factor-1 alpha-induced tyrosine phosphorylation of focal adhesion proteins and migration of hematopoietic progenitor cells. *Blood* 2001; 97: 3342–8.
54. Tilton B., Ho L., Oberlin E. et al. Signal transduction by CXC chemokine receptor 4. Stromal cell-derived factor 1 stimulates prolonged protein kinase B and extracellular signal-regulated kinase 2 activation in T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 313–24.
55. Wang J.F., Park I.W., Groopman J.E. Stromal cell-derived factor-1 alpha stimulates tyrosine phosphorylation of multiple focal adhesion proteins and induces migration of hematopoietic progenitor cells: roles of phosphoinositide-3 kinase and protein kinase C. *Blood* 2000; 95: 2505–13.
56. Libura J., Drukala J., Majka M. et al. CXCR4–SDF-1 signaling is active in rhabdomyosarcoma cells and regulates locomotion, chemotaxis, and adhesion. *Blood* 2002; 100: 2597–606.
57. Majka M., Ratajczak J., Kowalska M.A. et al. Binding of stromal derived factor-1alpha (SDF-1alpha) to CXCR4 chemokine receptor in normal human megakaryoblasts but not in platelets induces phosphorylation of mitogen-activated protein kinase p42/44 (MAPK), ELK-1 transcription factor and serine/threonine kinase AKT. *Eur. J. Haematol.* 2000; 64: 164–72.
58. Kremer K.N., Humphreys T.D., Kumar A. et al. Distinct Role of ZAP-70 and Src Homology 2 Domain-Containing Leukocyte Protein of 76 kDa in the Prolonged Activation of Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase by the Stromal Cell-Derived Factor-1alpha/CXCL12 Chemokine. *J. Immunol.* 2003; 171: 360–7.
59. Bonig H., Pristley V.P., Papayannopoulou T. Hierarchy of molecular pathway usage in bone marrow homing and its shift by cytokines. Article in press.
60. Peled A., Kollet O., Ponomarev T. et al. The chemokine SDF-1 activates the integrins LFA-1, VLA-4, and VLA-5 on immature human CD34<sup>+</sup> cells: role in transendothelial/stromal migration and engraftment of NOD/SCID mice. *Blood* 2000; 95: 3289–96.
61. Reza R., Mastellos D., Majka M. et al. Functional receptor for C3a anaphylatoxin is expressed by normal hematopoietic stem/progenitor cells, and C3a enhances their homing-related responses to SDF-1. *Blood* 2003; 101: 3784–93.
62. [Northwest Biotherapeutics www.nwbio.com](http://www.nwbio.com)
63. [AnorMED Inc. http://www.anormed.com](http://www.anormed.com)