论著

文章编号:1000-5404(2007)21-2044-05

内皮祖细胞移植对延缓大鼠进展性局灶节段性肾小球硬化的实验研究

赵洪雯,余荣杰,刘 宏,彭侃夫,吴雄飞 (第三军医大学西南医院肾科,重庆 400038)

提 要:目的 骨髓来源的内皮祖细胞(endothelial progenitor cell,EPC)对阿霉素诱导的局灶节段性肾小球硬化模型进行干预,研究EPC的治疗作用。**方法** 雄性大鼠骨髓的单个核细胞贴壁法培养6 d,经鉴定为EPC。雌性SD大鼠分为正常对照组、阿霉素肾病组和EPC移植组。肾病组、EPC组单肾切除,术后1周和2周分别尾静脉注射阿霉素,对照组假手术并在相同时间注射生理盐水。EPC组于第二次注射后1周,5 Gy X线全身照射后静脉移植1×10^6的EPCs,对照组和肾病组仅行同等剂量的照射和生理盐水注射。在切肾前(0周)和切肾后的第4(即EPC移植后1周)、8、12、16周测大鼠体重、尿蛋白定量,眼球取血测血清肌酐(Scr)、白蛋白(ALB),原位杂交观察肾组织中Y染色体阳性细胞整合情况;观察肾脏超微结构和组织学变化,图像分析计算肾小球硬化指数、肾小球毛细血管管腔开放程度及毛细血管襻截面积。**结果** 第4周和16周,肾组织中均可见Y染色体的阳性表达,主要位于肾小球和肾小管上皮细胞。16周时肾病组肾小球轻度至中度系膜细胞增生,基质中度至重度增生并呈弥漫性分布,肾小球节段性或球性硬化;EPC组部分肾小球系膜细胞及系膜基质呈局灶性轻度增生,硬化的肾小球数量少,间质纤维组织较肾病组轻;电镜结果显示EPC组病变较肾病组轻微,足细胞修复出现早;图像分析显示,肾小球硬化指数肾病组显著高于EPC组,毛细血管腔开放程度与毛细血管襻截面积EPC组显著高于肾病组,但仍低于对照组。**结论** EPC移植可以减轻肾脏病理损害,具有延缓阿霉素诱导的肾小球硬化的作用。

关键词:内皮祖细胞;移植;阿霉素肾病;局灶节段性肾小球硬化

中图法分类号:R-33;R459.9;R692.605 **文献标识码**:A

Endothelial progenitor cells transplantation ameliorates the progression of progressive focal segmental glomerular sclerosis

ZHAO Hong-wen, YU Rong-jie, LIU Hong, PENG Kan-fu, WU Xiong-fei (Department of Kidney, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of endothelial progenitor cells (EPCs) in ameliorating rat progressive focal segmental glomerular sclerosis (FSGS) model induced by adriamycin. **Methods** Bone marrow mononuclear cells from male SD rats, after cultured by adherence method, were identified as EPCs. Female SD rats were divided into normal control group, adriamycin induced renal disease (ADR) group, EPCs transplantation group. ADR group and EPCs group underwent unilateral nephrectomy and received 5, 3 mg/kg of adriamycin *via* tail vein 1 week and 2 weeks after operation, while the control group underwent sham operation and received 0.9% sodium chloride solution of equal volume. The whole body irradiation by 5 Gy X ray was done 1 week after the 2nd injection of adriamycin, then immediately 1×10^6 EPCs were transplanted *via* tail vein. The rats in control group and ADR group were only injected with 0.9% sodium chloride solution after whole body irradiation. The body weight and urine protein were measured before operation (0 week) and 4 (1 week after EPCs transplantation), 8, 12 and 16 weeks after nephrectomy. Y chromatosome incorporation was detected with *in situ* hybridization at the 4th and 16th week. The histological and ultrastructural changes of kidney were evaluated at the 16th week. **Results** At the 4th and 16th weeks, Y chromatosome positive cells could be found incorporation in the area of glomerular and tubular epithelial cells. Since the 4th week, the weight of rats in both ADR group and EPC group became significantly less than that in control group and since the 8th week that in ADR group became less than that in EPC group ($P<0.05$). The proteinuria and Scr were more severe in ADR group than that in EPC group and control group. In ADR group, mesangial proliferation and the tubulointerstitial fibrosis were more remarkable than that in EPC group and control group. The

作者简介:赵洪雯(1970-),女,北京市昌平区人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事慢性肾脏病和肾移植方面的研究,电话:(023)68765335,E-mail:zhaohongwen0212@yahoo.com.cn

通讯作者:吴雄飞,电话:(023)68754188,E-mail:Wuxfei@126.com

收稿日期:2007-07-12;**修回日期**:2007-09-24

results of electron microscope showed that the lesions in podocytes and mesangial cells in ADR group were more severe than that of in EPC group at the 16th week. The image analysis showed that the index of glomerular sclerosis in ADR group and EPC group was significantly higher than that in control group, but was much better in EPC group than that in ADR group; The opening degree of glomerular capillary cavity in EPC group was significantly higher than that of in ADR group, and so did the capillary sectional area. **Conclusion** EPCs transplantation can ameliorate renal damages and may delay the progression of glomerular sclerosis and tubulointerstial fibrosis induced by adriamycin.

Key words: endothelial progenitor cell; transplantation; adriamycin; focal segmental glomerular sclerosis

阻止和延缓局灶节段性肾小球硬化(focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)的进程已成为当前肾脏疾病防治战略的关键问题，目前尚无根本治疗手段。内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是血管内皮的前体细胞，可参与出生后成熟机体的血管发生[1]。近年的实验证实，给予外源性 EPCs 可以促进冠心病心肌梗死、糖尿病肢体缺血性病变以及缺血性脑梗死时的新血管生成[2-5]，有些已经在小规模临床试验中得到证实。新近的研究结果显示，经肾动脉注射体外培养的骨髓来源的同种异体大鼠 EPCs 可以减轻抗体诱导的急性系膜增生性肾小球肾炎大鼠系膜细胞的增生，改善肾功能损害[6]。结合慢性肾病时，循环中的 EPCs 功能受损，本组在肾病进展过程中，给予体外培养的 EPCs，观察其对阿霉素诱导的进展性 FSGS 慢性化过程的影响。

1　材料与方法

1.1　主要试剂和器材

EGM-2 完全培养基(Cambrex 公司，美国)、人纤维连接蛋白(R&D 公司，美国)、密度为 1.077 的淋巴细胞分离液(天津灏洋生物制品科技有限责任公司，中国)、阿霉素(注射用盐酸多柔比星，10 mg 粉剂，浙江海正药业股份有限公司，批号：041001)。Y 染色体探针为本组合成(浓度为 195 ng/μl，地高辛标记)、原位杂交试剂盒(博士德公司)、兔抗 Von Willebrand Factor (vWF)多克隆抗体和羊抗血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2)多克隆抗体(英国 abcam 公司)、DiI 标记的乙酰低密度脂蛋白(DiI-acLDL)(Molecular probe 公司，美国)、荧光素标记的荆豆凝集素-1(Fluorescein Ulex Europaeus agglutinin-1, FITC-UEA-1)(Vector 公司，美国)。X-ray 发生机(2300C/D SN146，瓦里安公司，美国)、大鼠 IVC 笼具(TECNIPLAST 公司，意大利)、恒温培养箱(Bechman 公司，美国)。SPF 级 SD 雌雄性大鼠购自第三军医大学实验动物中心。

1.2　实验动物及分组

成年 SD 大鼠，体质量 140～160 g，分为 3 组，正常对照组(对照组)、阿霉素肾病组(肾病组)和 EPC 移植组(EPC 组)。阿霉素肾病模型按文献[7]方法制作：1% 戊巴比妥溶液腹腔注射麻醉后切除右肾，分别于术后 1 周和 2 周尾静脉注射 5 mg/kg和 3 mg/kg 阿霉素。对照组大鼠先行右肾假手术，后分别尾静脉注射生理盐水。切肾后第 3 周 3 组大鼠行 5 Gy X 线全身照射，EPC 组尾静脉移植 EPC 1×10^6 个(提前纤维连接蛋白包被培养板和培养瓶，用具诱导性的含人碱性成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、R^3-胰岛素生长因子、维生素 C 和人表皮生长因子的 EGM-2 完全培养基贴壁培养 6 d，免疫细胞化学染色观察贴壁细胞表达 vWF 和 VEGFR-2 阳性，且激光共聚焦显微镜观察 DiI-acLDL 和 FITC-UEA-1 免疫双荧光阳性，证实获得的第 6 天贴壁细胞为正在分化的 EPCs)，对照组和肾病组注射生理盐水。

1.3　检测指标

1.3.1　尿蛋白定量　　切肾前(0 周)、切肾后的第 4 周(即 EPC 移植后 1 周)、8 周、12 周、16 周时测体重，留尿测各组尿蛋白浓度。眼球取血测定血清白蛋白(ALB)和血肌酐(Scr)。

1.3.2　原位杂交检测外源性 EPC 在肾脏的掺入　　第 4 周部分大鼠和第 16 周，原位杂交观察 EPC 的掺入和整合情况。Y 染色体探针按文献[8]合成，引物序列为：正义引物 5′-ATACTGGCTCTGCTCCTACC-3′，反义引物 5′-CCCCTCTCCCACCTCCCACTTTAGC-3′，测序证实正确后地高辛标记。严格按原位杂交试剂盒操作程序进行。

1.3.3　电镜观察超微结构和光镜观察组织学变化　　16 周时处死大鼠取下左肾，分别固定后超薄切片电镜观察超微结构和 2 μm 石蜡切片作苏木精-伊红(HE)、过碘酸-雪夫反应(PAS)、Masson 染色，光镜下观察病理组织学改变。

1.3.4　肾脏组织病理图像分析　　采用高清晰度彩色图文病理分析系统软件进行病理图像分析。在 PAS 染色中，每组切片在 40 倍显微镜下，视野上、下、左、右、中各取 2 个肾小球(共 10 个)，采集肾小球系膜基质着色区，画定肾小球毛细血管襻区域，进行肾小球分析，分别得出 10 个肾小球系膜基质面积/肾小球毛细血管襻面积比(肾小球系膜基质相对面积)的平均值，为系膜基质的相对含量；同时测量每个肾小球中 5 个开放最大的毛细血管腔直径以观察毛细血管开放程度。根据 Raij 等[9]的方法人工观察并计算肾小球硬化指数：将切片中每个肾小球硬化程度分为 0～4 级，0 级：肾小球基本正常；1 级：肾小球硬化面积≤25%；2 级：肾小球硬化面积在 25%～50%；3 级：肾小球硬化面积在 50%～75%，4 级：肾小球硬化面积在 75%～100%。肾小球硬化指数(GI) = [(1N1 + 2N2 + 3N3 + 4N4)/每切片的肾小球总数] × 100%，式中 N1 代表 1 级损害肾小球个数、……N4 为 4 级损害肾小球个数。每标本观察 30 个肾小球。

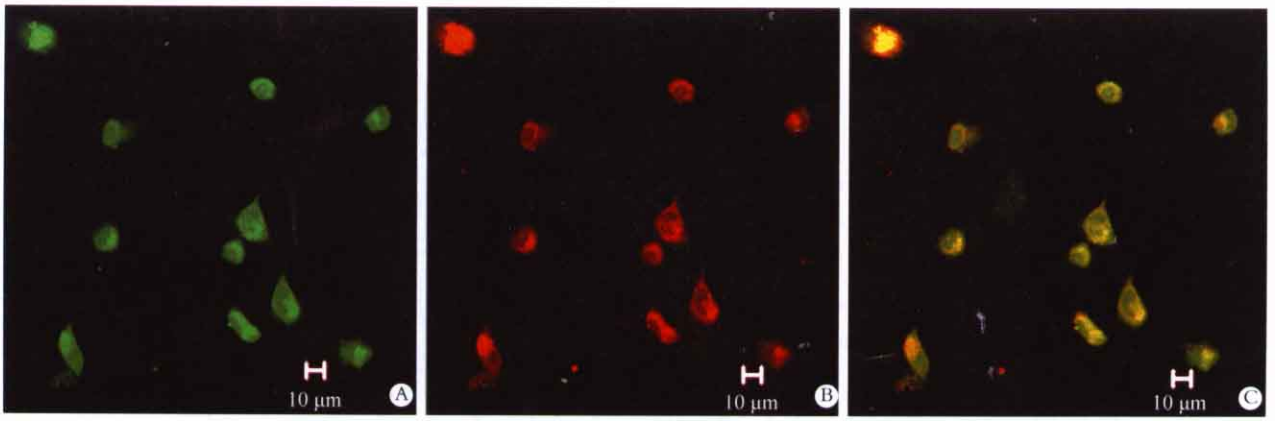
1.4 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，应用SPSS 11.0 软件进行，组间比较 t 检验。

2 结果

2.1 骨髓来源的EPCs获得与鉴定

骨髓来源的单个核细胞贴壁培养3 d时开始增殖，呈"集落"样生长为梭形细胞，其后细胞增殖速度加快，至第6天细胞数显著增加。免疫细胞化学分析显示，vWF和VEGFR-2染色阳性，同时激光共聚焦显微镜观察显示，DiI-acLDL和FITC-UEA-1免疫双荧光阳性(图1)，提示在含有FGF、VEGF、R3-胰岛素生长因子、维生素C和人表皮生长因子的EGM-2完全培养基中贴壁培养6 d的细胞为正在分化的EPCs。其他非内皮祖细胞在培养过程中悬浮换液时去除。EPCs纯度很高。

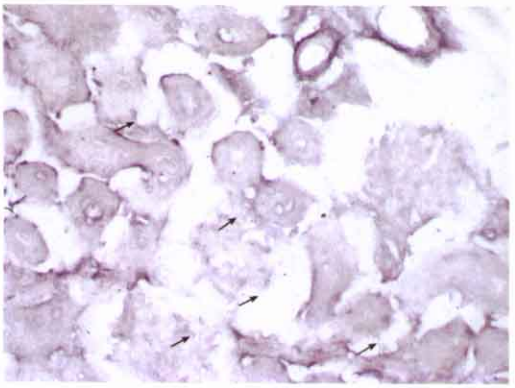


A：细胞与FITC-UEA-1结合显示绿色荧光；B：细胞内吞DiI-acLDL显示红色荧光；C：重叠后为橙黄色的免疫双荧光阳性

图1 培养第6天的贴壁细胞DiI-acLDL和FITC-UEA-1表达 (激光共聚焦显微镜×400)

2.2 EPC在肾脏内的掺入结果

在切肾后第4周(即EPCs移植后1周)受鼠肾脏组织中，4只均检测到Y染色体阳性细胞，位于肾小球和近曲小管细胞中(图2)，远曲小管未见阳性表达细胞；16周时6只仍均可检测到Y染色体阳性细胞，位于肾小球和近曲小管，但掺入数量较第4周时减少，仅有零星Y染色体阳性细胞。对照组和肾病组均未检测到Y染色体阳性细胞。



↑：肾小球和肾小管中均可见较多的Y染色体阳性细胞掺入

图2 EPC组移植1周原位杂交照片 (原位杂交×400)

2.3 大鼠一般情况

3组大鼠术后，切口在1周时愈合。对照组大鼠无死亡，肾病组大鼠在第8周、EPC组大鼠在第12周各有1只死亡。注射阿霉素后，肾病组和EPC组大鼠精神和食欲明显变差，毛色发黄，出现脱毛，在第2次注射阿霉素后，此症状有进一步加重。从第4周开始肾病组和EPC组大鼠的体质量明显低于对照组($P<0.05$)，并且此差异维持到实验结束时，在第4周时肾病组和EPC组之间体质量无显著性差异，但从第8周开始两组之间体质量也具显著性差异，肾病组显著低于EPC组($P<0.05$)。结果见表1。

表1 3组大鼠体质量的变化(g，$\bar{x} \pm s$)

组别	0周	4周	8周	12周	16周
对照组	133.2±7.9	205.3±7.1	228.0±11.5	286.3±18.6	322.8±14.4
肾病组	139.1±3.9[a]	164.7±8.4[a]	175.2±7.9[a]	187.7±8.2[a]	200.3±9.5[a]
EPC组	136.6±4.2[a]	170.0±7.7[a]	188.9±5.7[ab]	207.0±6.0[ab]	219.8±5.9[ab]

a：$P<0.05$，与对照组比较，b：$P<0.05$，与肾病组比较

2.4 尿蛋白定量的变化

对照组各时间点尿蛋白定量无变化。肾病组和EPC组尿蛋白逐渐增加，在4周和8周时达到高峰，自第12周开始又有下降趋势，各时间点与对照组比较均具显著性差异($P<0.05$)；EPC组尿蛋白浓度从第8周开始显著低于肾病组($P<0.05$)。见表2。

表2 3组大鼠尿蛋白浓度变化(mg/24 h，$\bar{x} \pm s$)

组别	0周	4周	8周	12周	16周
对照组	4.66±0.45	6.04±1.00	9.22±1.5	11.55±1.48	11.11±2.46
肾病组	4.70±0.47	63.41±6.43[a]	61.88±5.31[a]	57.31±3.78[a]	43.11±5.28[a]
EPC组	5.36±1.08	42.31±5.4[ab]	38.25±3.84[ab]	34.91±3.81[ab]	26.67±3.84[ab]

a：$P<0.05$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与肾病组比较

2.5 血清肌酐和白蛋白的变化

第4周开始肾病组和EPC组Scr开始升高，至16周时达到最高，各时间点均与对照组具显著性差异，而EPC组则自第8周开始较肾病组显著降低；ALB的情况与Scr结果相反，第4周开始肾病组和EPC组ALB较对照组降低，肾病组最低，EPC组低于对照组，但高于肾病组，均具显著性差异($P<0.05$)。见表3。

表 3　第 16 周时各组大鼠 Scr 和 ALB 情况（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	Scr（μmol/L）	ALB（g/L）
对照组	6	44.8 ± 4.5	41.4 ± 2.5
肾病组	6	92.6 ± 10.0[a]	27.3 ± 3.3[a]
EPC 组	6	72.3 ± 5.2[ab]	34.1 ± 2.4[ab]

a：$P<0.05$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与肾病组比较

2.6　肾脏光镜下组织学变化

16 周时对照组大鼠肾小球毛细血管襻开放好，未见肾小球硬化，肾小管上皮细胞排列整齐，间质中无成纤维细胞，偶见炎细胞。肾病组可见局灶节段性肾小球硬化，系膜区轻度增宽，基质中度至重度增生并呈弥漫性分布，部分肾小球球囊壁明显增厚，肾小球毛细血管丛与囊壁黏连，硬化区毛细血管腔狭小，肾小管基膜增厚，肾小管多灶状萎缩和片状扩张，管腔中可见蛋白管型，间质内有明显淋巴细胞浸润，并有轻度纤维化（图 3）。而同时间点的 EPC 组病理改变较肾病组明显减轻（图 4）。肾小球病理变化图像分析结果见表 4。

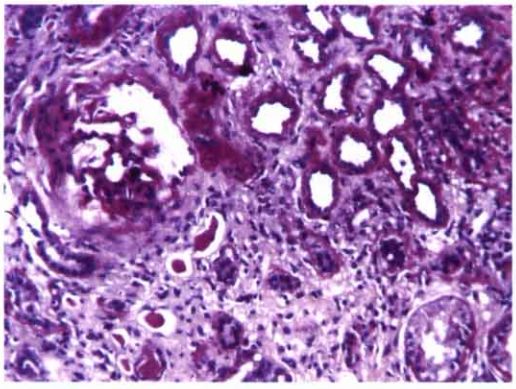


图 3　16 周时肾病组大鼠肾脏组织学变化　（PAS ×400）

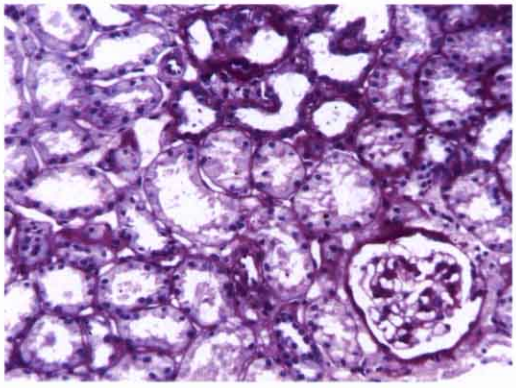


图 4　16 周时 EPC 组大鼠肾脏组织学变化　（PAS ×400）

表 4　肾小球病理变化图像分析结果（$n=6$，$\bar{x} \pm s$）

组别	肾小球硬化指数	肾小球毛细血管腔开放程度（μm）	毛细血管襻横截面积（μm^2）	系膜基质相对面积（%）
对照组	0	13.04 ± 0.89	15 004.56 ± 2 115.82	6.78 ± 2.01
肾病组	4.17 ± 0.56[a]	8.37 ± 1.05[a]	8 251.25 ± 958.23[a]	27.94 ± 4.25[a]
EPC 组	3.02 ± 0.34[ab]	11.20 ± 0.85[ab]	12 319.59 ± 1 784.24[ab]	16.45 ± 3.78[ab]

a：$P<0.05$，与对照组比较，b：$P<0.05$，与肾病组比较

2.7　电镜下超微结构变化

对照组超微结构无明显异常改变。肾病组：肾小球脏层上皮细胞足突广泛融合，系膜区增宽，基质中度增生，肾小球基底膜（GBM）中度或重度增厚，且不均匀（图 5），肾小管上皮细胞内可见髓鞘样结构，线粒体肿胀，有空泡变；EPC 组上皮细胞足突部分融合，且有修复现象（图 6），肾小管上皮细胞内的线粒体基本正常。

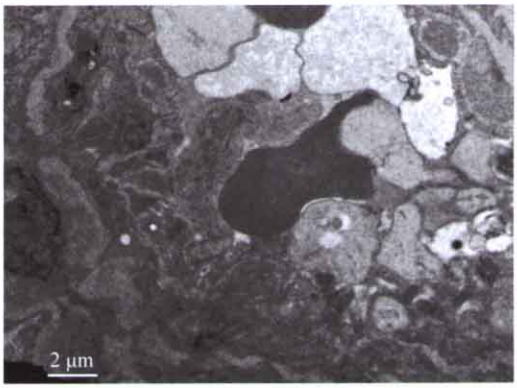


图 5　16 周时肾病组肾脏超微结构变化　（TEM）

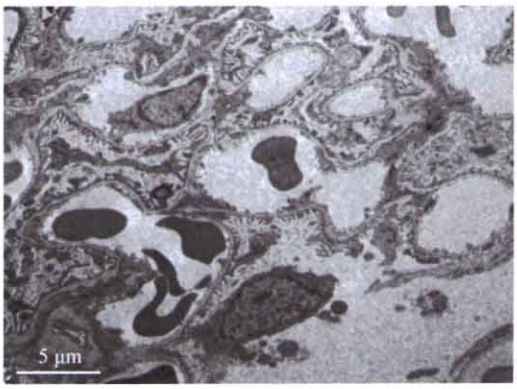


图 6　16 周时 EPC 组肾脏超微结构变化　（TEM）

3　讨论

3.1　大鼠阿霉素肾病模型

阿霉素所致的肾小球硬化大鼠为稳定的肾小球硬化模型，具有慢性进展性肾损害的特点，与人类进行性 FSGS 的表现非常类似[7,10]，在制作过程中，多采用切除一侧肾脏，两次尾静脉或腹腔注射阿霉素法，自切肾起计，12 ~ 16 周时模型制作成功。本组的研究结果也证实，单侧肾切除后分次注射阿霉素后，早期电镜可见上皮细胞足突广泛融合，肾小球毛细血管内皮细胞肿胀，基底膜断裂，部分小管上皮细胞坏死或脱落入管腔内，微绒毛脱失，基底膜裸露；小管上皮细胞肿胀，至晚期逐渐出现小管颗粒变性或萎缩，肾小球系膜基质沉积等；临床表现为尿蛋白增加，在第 4 周时达到最高，随后略有下降，但仍显著高于 0 周和正常对照组；肾小球毛细血管襻管腔开放减少，系膜基质增加，呈现出局灶节段性肾小球硬化的特征。血生化结果显示肾功能减退，血浆白蛋白降低。在本实验中，肾病组的肾小球硬化呈弥漫性，肾小球横截面积较对照组显著缩小，肾

小管萎缩,间质纤维化,与文献[7]相符,证实造模成功。

本实验 FSGS 模型制作过程中,拟在阿霉素的作用开始启动,但尚未达到晚期 FSGS 表现前,进行体外培养的 EPC 尾静脉注射移植,通过 EPC 特有的向损伤部位归巢的特性,使 EPC 定向归巢到受损的肾脏,从而对模型进行干预,观察 EPC 在 FSGS 进展中的作用,干预的插入点为 FSGS 进展早期,这在理论上是可行的。本实验正是模拟肾活检常常提示的 FSGS 进展过程中的临床情况。设想如果在 FSGS 晚期,已经存在肾小球硬化、肾小管间质纤维化,EPC 的作用可能已经非常有限了。

3.2 EPC 移植可以延缓进展性肾病的慢性化过程

EPC 是血管内皮的前体细胞,可以参与出生后成熟机体的血管发生。EPC 与肾脏疾病的研究近年逐渐增加,但主要集中在肾脏急性损伤中的作用研究,如经肾动脉注射体外培养的骨髓来源的同种异体大鼠 EPC 可以减轻抗体诱导的急性系膜增生性肾小球肾炎大鼠系膜细胞的增生,改善肾功能损害[6]。同期的研究还证实,慢性肾脏疾病时 EPC 的功能障碍,肾移植患者肾功能稳定时,其 EPC 的功能得到恢复[11]。而有研究显示,移植的 EPC 在移植后 12 周时仍保持生物活性[12],维持时间较长,这为 EPC 在慢性肾脏病的研究中提供了时间上的理论依据。因而本组将体外培养扩增的大鼠 EPC 经静脉移植给改良的阿霉素肾病大鼠,观察阿霉素肾病早期移植 EPC 是否能够延缓其慢性化过程,结果显示,从体重和尿蛋白定量,到肾功能和血白蛋白,EPC 组均较肾病组有显著改善;肾脏组织学也证实,早期给予 EPC 对肾小球硬化和肾小管间质纤维化均有延缓作用:肾病组肾小球的硬化呈弥漫性,而 EPC 组硬化指数显著低于肾病组,毛细血管襻开放和毛细血管襻横截面积较肾病组好,小管间质改变也较肾病组轻。原位杂交的结果证实了,EPCs 移植后整合入肾小球和肾小管细胞,直至移植后 12 周(切肾后 16 周),雌受者大鼠体内均可检测到雄性供者来源的 Y 染色体阳性细胞,但在肾小球内具体更新的细胞在本实验中未得到确认;同时 EPCs 掺入肾小管上皮细胞间,减少肾小管的损伤及其后的小管间质硬化和纤维化过程。另外我们认为,EPCs 需要尽早移植,尽早将更多的受损肾小球和肾小管细胞更新和修复,以减轻或延缓其后的损伤级联反应。

EPC 延缓阿霉素肾病进展的原因可能是多方面的,目前仍无定论。在本实验中仅观察到雄性供鼠的外源性 EPC 在雌性受鼠的肾小球和肾小管中均有整合,具体的动态的整合过程及其生物学性质尚不清楚。有学者将体外培养的雄性大鼠来源的 EPC,经肾动脉注射于抗体诱导的急性系膜增生性肾小球肾炎雌雄大鼠,发现系膜细胞增生显著抑制,系膜基质明显减少,进一步原位杂交显示,肾小球中掺入的细胞中有雄性特有的 Y 染色体存在,故认为 EPC 可以修复或更新系膜细胞和内皮细胞[6],本实验中观察到的肾小管中也有 EPC 整合,尚少见报道。阿霉素肾病超微结构显示,其早期损伤主要在足细胞、内皮细胞和近曲小管,而掺入整合的位置也在肾小球和肾小管的细胞,推测 EPC 参与更新和修复的主要靶细胞可能就是足细胞、内皮细胞和肾小管上皮细胞。

总之,EPCs 移植可以促进阿霉素诱导的 FSGS 的肾小球实质细胞和肾小管损伤的更新和修复,减轻肾小球和肾小管的损伤,延缓 FSGS 的进展,但干预最好在早期,从而获得远期病理改善的结果。

参考文献:

[1] Asahara T, Murohara T, Sulliven A, *et al*. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. Science, 1997, 275(5302): 964-967.

[2] Kim D I, Kim M J, Joh J H, *et al*. Angiogenesis facilitated by autologous whole bone marrow stem cell transplantation for Buerger's disease[J]. Stem Cells, 2006, 24(5): 1194-1200.

[3] 董 蔚, 盖鲁粤, 靳海杰, 等. 血管内皮祖细胞对缺血肢体血管生成的影响[J]. 中华心血管病杂志, 2004, 32(12): 1130-1134.

[4] Zhang Z G, Zhang L, Jiang Q, *et al*. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal cerebral ischemia in the adult mouse[J]. Circ Res, 2002, 90(3): 284-288.

[5] 崔 斌, 黄 岚, 周音频, 等. 大鼠脾源性内皮祖细胞移植在损伤血管内膜修复中的作用[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(15): 1553-1556.

[6] Uchimura H, Marumo T, Takase O, *et al*. Intrarenal injection of bone marrow-derived angiogenic cells reduces endothelial injury and mesangial cell activation in experimental glomerulonephritis[J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16(4): 997-1004.

[7] 王泰华, 钱家麒, 张介玉, 等. 阿霉素肾病肾硬化动物模型的实验改进[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 1997, 6(2): 191-193.

[8] 刘水冰, 田 琼. 小鼠性决定基因 SRY 探针的制备[J]. 华南国防医学杂志, 2005, 19(3): 12-13.

[9] Raij L, Azar S, Keane W. Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats[J]. Kidney Int, 1984, 26(2): 137-143.

[10] 张丽芬, 黄文政, 朱小棣, 等. 阿霉素肾病肾小球硬化动物模型的研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2005, 6(4): 195-199.

[11] de-Groot K, Bahlmann F H, Bahlmann E, *et al*. Kidney graft function determines endothelial progenitor cell number in renal transplant recipients[J]. Transplantation, 2005, 79(8): 941-945.

[12] DuttaRoy S. Transplantation of autologous endothelial cells and endothelial progenitor cells for angiogenesis[J]. Dan Med Bull, 2005, 52(4): 259.

(编辑 王 红)