泌尿外科学专题 文章编号:0253-3626(2009)09-1166-05

兔自体骨髓间充质干细胞移植对冷缺血再灌注损伤肾脏细胞增殖与凋亡和肾功能的影响

方针强[1],叶 钢[1],刘永亮[1],周 韬[1],易善红[1],邹旭东[2]

(1.第三军医大学附属新桥医院泌尿外科、全军肾脏病中心,重庆 400037;2.贵州省习水县人民医院外一科,贵州 564300)

【摘 要】目的:建立兔肾脏冷缺血再灌注损伤(Ischemia-reperfusion injury, IRI)模型,观察经肾动脉灌注移植的自体骨髓间充质干细胞(BM-MSCs)对 IRI 肾脏细胞增殖与凋亡的影响,探讨其保护作用机制。方法:45 只兔随机均分为假手术组(Ⅰ组)、对照组(Ⅱ组)和移植组(Ⅲ组)(n=15)。分离移植组兔 BM-MSCs,建立肾脏 IRI 模型后,移植组于肾血流恢复后经肾动脉推注自体 BM-MSCs,对照组和假手术组同法推注等量生理盐水。分别于术后 3、7、14 d 3 组各随机取 5 只经耳缘静脉采血,检测血清肌酐(Crea)和尿素(Urea),观察肾功能情况;同时取肾组织进行增殖细胞核抗原(PCNA)、Bcl-2、Bax 免疫组化染色,TUNEL 法检测肾脏凋亡细胞,计算 Bcl-2、Bax 含量和肾小管上皮细胞增殖指数(Proliferating cell nuclear antigen index, PI)和凋亡指数(Apoptosis index, AI)。结果:IRI 后第 3 d 移植组和对照组兔 Crea 和 Urea 均达到最高水平[移植组:(297.9 ± 18.6) μmol/L,(19.2 ± 1.5) mmol/L;对照组:(326.6 ± 20.0) μmol/L,(22.6 ± 2.6) mmol/L],以后逐渐下降,到第 14 d,移植组 Crea 和 Urea 分别为(224.1 ± 19.2) μmol/L,(13.9 ± 1.6) mmol/L;对照组 Crea 和 Urea 分别为(278.6 ± 16.9) μmol/L,(17.4 ± 1.0) mmol/L,各时间点移植组 Crea 和 Urea 明显低于对照组(P<0.05)。各时间点移植组 Bcl-2 含量和肾小管上皮细胞 PI 高于对照组,Bax 含量和肾小管上皮细胞 AI 低于对照组,两组间差异有统计学意义(P<0.05)。结论:BM-MSCs 移植能促进肾脏 I/R 损伤后肾脏细胞增殖,抑制肾脏细胞凋亡,从而降低血清 Crea 和 Urea,在一定程度上促进 IRI 后肾功能的恢复。

【关键词】骨髓间充质干细胞;肾脏;缺血再灌注损伤;移植

【中国图书分类法分类号】R365;R692 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-06-11

Effects of autologous bone marrow mesenchymal stem cells on the renal cell proliferation and apoptosis and renal function in a rabbit of renal ischemia-reperfusion injury

FANG Zhen-qiang, et al

(*Renal Diseases Research Center, Departmentv of Urinary Surgery, Xinqiao Hospital, the Third Military Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To observe the protective effects of autologous bone marrow mesenchymal stem cells(BM-MSCs) on renal cell proliferation apoptosis during cold ischemia-reperfusion injury(IRI) in rabbit and to probe the mechanism of protective action on kidney. *Methods*: 45 rabbits were divided randomly into three groups (n=15): Sham operation group (group Ⅰ), control group of IRI (group Ⅱ and BM-MSCs transplantation group(group Ⅲ). After isolating the BM-MSCs of rabbits in group Ⅲ, to establish the rabbit models of renal IRI. Autologous BM-MSCs were infuded into rabbit in group Ⅲ, and the equivalent physiological saline in rabbit in group Ⅰ and Ⅱ. The detection was taken at the timepoints of 3, 7 and 14 days after renal ischemia-reperfusion respectively. The serum levels of Crea and Urea were detected to evaluate the renal function, and Bax, Bcl-2 and PCNA in kidney were dectected with immunohistochemical staining. The apoptosis of cells was detected with TUNEL method. *Results*: The serum levels of Crea and Urea in group Ⅲ at different timepoint were lower than those in group Ⅱ significantly(P<0.05). The expressions of Bcl-2 protein and PI of renal tubular epithelia cells in group Ⅲ at different timepoint were more than those in group Ⅱ significantly (P<0.05)and the expressions of Bax protein and AI of renal tubular epithelia cells in group Ⅲ less than those in group Ⅱ significantly (P<0.05). Conclusions: BM-MSCs can promote cell proliferation and suppress apoptosis in kindey through up-regulating the expression of Bcl-2 protein and down-regulating the expression of Bax protein after renal IRI, thereby, decrease the serum levels of Crea and Urea, and promote the renal functional repair.

【Key words】Bone marrow mesenchymal stem cells; Kidney; Ischemia-reperfusion injury; Transplantation

作者介绍:方针强(1978-),男,主治医师,博士,研究方向:肾脏缺血再灌注损伤的保护,肾移植排斥反应的防治。

通讯作者:叶 钢,男,教授,E-mail:gangye@126.com。

基金项目:重庆市科委自然科学基金计划资助项目(CSTC,2009BB5154)。

肾脏缺血再灌注(Ischemia-reperfusion injury, IRI)引起的急性肾功能衰竭是临床上常见的问题,因为其治疗措施有限,死亡率大约为 30%~50%[1]。IRI 过程中存在肾小管上皮细胞的坏死与凋亡,其功能的恢复依赖于肾小管上皮细胞的替代和再生[2]。近年来,骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)因其多系分化潜能而备受关注,并用于肾脏 IRI 的研究,结果显示 BM-MSCs 移植对 IRI 肾脏具有保护作用,但对于其保护作用机制尚存在争议。本研究旨在观察 BM-MSCs 对 IRI 肾脏细胞增殖与凋亡及凋亡调控基因 Bcl-2 和 Bax 表达的影响,探讨 BM-MSCs 对 IRI 肾脏的保护作用机制。

1 材料和方法

1.1 主要材料

TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒(Roche 公司),PCNA、Bax 和 Bcl-2 抗体(Santa Cruz 公司),Percoll 淋巴细胞分离液(Pharmacia 公司),DMEM 培养基和胎牛血清(Gibco 公司),DAB 显色试剂盒和 HRP 标记羊抗兔 IgG(武汉博士德)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物 健康新西兰大白兔(6~8 周龄,体重 1.5 ± 0.4 kg)45 只,由第三军医大学附属新桥医院实验动物中心提供。

1.2.2 兔肾脏冷缺血再灌注损伤模型的建立及分组 游离双肾及肾动静脉,显露腹主动脉及腔静脉;切除右肾,肾动静脉残端分别插入导管并固定;分别于肾动静脉上下方阻断腹主动脉和腔静脉,经右肾动脉导管注入 0~4℃生理盐水灌洗左肾至色泽苍白、右肾静脉导管引流液清亮;阻断左肾动静脉,开放腹主动脉和腔静脉;采用原位低温保存装置保存左肾,1 h 后左肾血流复灌。45 只兔随机均分为 3 组(n=15):假手术组(Ⅰ组):方法同上,切除右肾,经肾动脉导管注入 1.0 ml 生理盐水,其余血管均不阻断;对照组(Ⅱ组):左肾血流复灌后经肾动脉导管注入 1 ml 生理盐水;肾移植组(Ⅲ组):左肾血流复灌后经肾动脉导管注入培养的自体 1ml BM-MSCs 悬液(约 2×10^7 个细胞)。

1.2.3 兔 BM-MSCs 的取材、分离及培养 于兔后肢胫骨抽取骨髓血 3 ml,加入 PBS 中,制成细胞悬液,以 1.073 g/ml Percoll 分离液密度梯度离心分离,将获得的细胞接种于含 10%胎牛血清的 DMEM 培养瓶,置于 37℃,5% CO_2 培养箱中培养,48 h 后弃掉未贴壁的细胞,当贴壁细胞生长至 80%融合时进行传代培养,通过多次传代对细胞进行纯化。通过台盼蓝拒染实验测定细胞活力。离心收集第 3 代兔 BM-MSCs,调节细胞密度为 1×10^7 个/ml 备用。

1.2.4 标本采集及检测指标 分别于术后 3、7、14 d 3 组各随机取 5 只兔采血并处死兔,取肾脏标本,制作石蜡切片。经耳缘静脉采血,酶联法检测血清肌酐(Crea)和尿素(Urea),观察肾功能情况;同时取肾组织,严格按照说明书操作进行增殖细胞核抗原(PCNA)、Bcl-2、Bax 免疫组化染色,TUNEL 法检测肾脏凋亡细胞。计算 Bcl-2、Bax 含量:胞浆中有棕黄色颗粒者为 Bcl-2,Bax 阳性细胞,每组于肾皮-髓质交界区的肾脏皮质内区和肾脏髓质外区各随机取 5 个无重叠高倍镜视野(400 倍),用 IPP6.0 图像分析软件进行定量分析,测量棕黄色反应物信号的累积光密度(IOD)来分析 Bcl-2,Bax 的蛋白表达的水平;计算肾小管上皮细胞增殖指数(Proliferating cell nuclear antigen index, PI)和凋亡指数(Apoptosis index, AI):细胞核中有棕黄色颗粒者为凋亡阳性细胞或增殖阳性细胞,在 400 倍的光镜视野下,于各组肾皮-髓质交界区的肾脏皮质内区和肾脏髓质外区各随机选择 5 个无重叠视野,计数凋亡或增殖阳性细胞,以肾小管凋亡和增殖阳性细胞数占整个视野总肾小管细胞数的百分比的平均值作为肾小管上皮细胞 AI 或 PI。

1.3 统计学方法

所有统计计算由 SPSS 13.0 软件完成。所有数据以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。采用单因素方差分析进行两组及多组样本均数的比较,在均值间作两两成对比较为 SNK(Student-Neuman-Keul)法(各组方差齐时)或 Dunnett's C 法(各组方差不齐时)。$P\leq0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 BM-MSCs 的体外分离培养

BM-MSCs 分离接种后 3.5~4 h 可以见到小的圆形细胞贴壁。原代培养第 1 d 可见多数贴壁的圆形细胞中散在有少数多角形或梭形细胞,有数个突起类似成纤维细胞。第 3 d 时梭形细胞显著增多(图 1)。大约 11~14 d 细胞形成单层,融合率≥90%,呈现漩涡或同心圆状排列(图 2)。BM-MSCs 传代细胞其细胞贴壁时间和增殖速度均快于原代培养,约2 h 开始贴壁,培养约 9 d 即相互接触形成单层。每次传代培养的 BM-MSCs 对数增殖期约为 2~4 d,在1~4 代增殖能力较强,随着传代培养代数的逐渐增加,生长速度呈逐渐减缓的趋势。因此,我们使用增殖能力较强的第 3 代 BM-MSCs。上述实验细胞具有多系分化能力,结果另行发表,表明本实验获得的细胞为骨髓来源的干细胞[3]。

2.2 肾脏组织 Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达情况

正常兔肾组织(Ⅰ组)Bcl-2 和 Bax 蛋白表达量都很少,缺血再灌注后肾组织 Bcl-2 和 Bax 蛋白阳性表达细胞数明显增多,主要位于肾皮-髓质交界区的肾脏皮质内区和肾脏髓质外区的肾小管各段,

肾小球和肾间质内偶见阳性细胞。各组肾组织 Bcl-2 和 Bax 蛋白的 IOD(sum)结果见表 1 和表 2。

2.3　肾小管上皮细胞 PI 和 AI 的测定结果

对肾组织进行 PCNA 免疫组织化学染色和 TUNEL 法检测肾脏组织凋亡细胞，阳性细胞细胞核呈棕黄色或棕黑色。各组均可见数量不等的 PCNA 和 TUNEL 阳性细胞，主要位于肾皮-髓质交界区的肾脏皮质内区和肾脏髓质外区的肾小管各段，肾小球内偶见阳性细胞。各组不同时间点肾小管上皮细胞 PI 和 AI 比较结果见表 3 和表 4。

2.4　肾功能的测定

兔肾脏 IRI 后，血清肌酐和尿素均明显升高，在Ⅱ组缺血再灌注后第 3 d 肌酐高达（326.6±20.0）μmol/L，尿素高达(22.6±2.6) mmol/L；之后恢复缓慢，到第 7 d 分别为(320.4±14.9) μmol/L(肌酐)和(18.6±1.3) mmol/L(尿素)；到第 14 d 仍高达(278.6±16.9) μmol/L(肌酐)和(17.4±1.0) mmol/L(尿素)。而在Ⅲ组，虽然肌酐和尿素也升高，但其升高幅度要小于Ⅱ组，在监测的各时间点，其肌酐和尿素均低于Ⅱ组，差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 5。

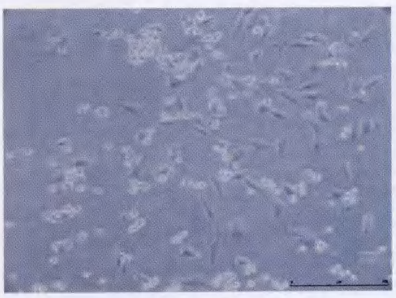


图 1　原代接种后第 3 d BM-MSCs 的生长(×200)



图 2　原代接种后第 11 d 兔 BM-MSCs 的生长(×100)

表 1　不同时间点各组肾组织 Bcl-2 蛋白含量(IOD(sum))($\bar{x}\pm s$)

组别	第 3 d	第 7 d	第 14 d
Ⅰ组	386.1 ± 69.9	400.8 ± 68.3	350.6 ± 87.9
Ⅱ组	10 543.7 ± 934.6$^{\triangle}$	15 229.3 ± 1 448.9$^{\triangle}$	9 234.0 ± 883.1$^{\triangle}$
Ⅲ组	30 488.6 ± 3 605.6$^{\triangle *}$	38 760.0 ± 3 513.3$^{\triangle *}$	26 503.9 ± 6 643.2$^{\triangle *}$

注：$^{\triangle}$与Ⅰ组比较，$P<0.05$；* 与Ⅱ组比较，$P<0.05$

表 2　不同时间点各组肾组织 Bax 蛋白含量(IOD(sum))($\bar{x}\pm s$)

组别	第 3 d	第 7 d	第 14 d
Ⅰ组	63.8 ± 31.8	54.4 ± 33.0	71.1 ± 33.7
Ⅱ组	36 896.4 ± 5 556.0$^{\triangle}$	41 978.2 ± 6 160.3$^{\triangle}$	27 180.7 ± 4 314.5$^{\triangle}$
Ⅲ组	14 981.2 ± 2 568.7$^{\triangle *}$	18 987.0 ± 4 772.6$^{\triangle *}$	10 527.1 ± 1 620.7$^{\triangle *}$

注：$^{\triangle}$与Ⅰ组比较，$P<0.05$；* 与Ⅱ组比较，$P<0.05$

表 3　不同时间点各组肾小管上皮细胞 PI($\bar{x}\pm s$,%)

组别	第 3 d	第 7 d	第 14 d
Ⅰ组	3.29 ± 0.68	2.87 ± 0.96	3.07 ± 1.29
Ⅱ组	7.29 ± 1.19$^{\triangle}$	9.89 ± 2.15$^{\triangle}$	8.37 ± 2.10$^{\triangle}$
Ⅲ组	17.20 ± 3.94$^{\triangle *}$	24.83 ± 5.88$^{\triangle *}$	21.50 ± 4.82$^{\triangle *}$

注：$^{\triangle}$与Ⅰ组比较，$P<0.05$；* 与Ⅱ组比较，$P<0.05$

表 4　不同时间点各组肾小管上皮细胞 AI($\bar{x}\pm s$,%)

组别	第 3 d	第 7 d	第 14 d
Ⅰ组	0.83 ± 0.38	0.85 ± 0.39	0.93 ± 0.34
Ⅱ组	22.82 ± 4.91$^{\triangle}$	29.82 ± 5.19$^{\triangle}$	26.50 ± 4.67$^{\triangle}$
Ⅲ组	15.78 ± 3.64$^{\triangle *}$	19.11 ± 3.41$^{\triangle *}$	16.18 ± 2.87$^{\triangle *}$

注：$^{\triangle}$与Ⅰ组比较，$P<0.05$；* 与Ⅱ组比较，$P<0.05$

表 5 不同时间点各组血清肌酐和尿素结果($\bar{x}\pm s$)

组别	肌酐(μ mol/L)			尿素(mmol/L)		
	第 3 d	第 7 d	第 14 d	第 3 d	第 7 d	第 14 d
Ⅰ组	104.2 ± 11.2*	103.2 ± 10.5*	106.3 ± 14.8*	6.8 ± 0.8*	6.7 ± 0.6*	7.4 ± 1.4*
Ⅱ组	326.6 ± 20.0	320.4 ± 14.9	278.6 ± 16.9	22.6 ± 2.6	18.6 ± 1.3	17.4 ± 1.0
Ⅲ组	297.9 ± 18.6*	275.5 ± 16.6*	224.1 ± 19.2*	19.2 ± 1.5*	16.3 ± 1.4*	13.9 ± 1.6*

注：* 与Ⅱ组比较，$P<0.05$

3 讨 论

肾脏 IRI 的恢复需要丢失肾小管上皮细胞的替代和再生[7]。到目前为止，大量的实验研究结果提示肾脏损伤的自体修复机制主要通过肾小管上皮细胞的去分化和增殖参与坏死凋亡的肾小管上皮细胞损伤修复[4-6]。随着对成体干细胞可塑性的认识，许多实验室已经报道了骨髓来源的干细胞能够向上皮细胞分化[7]。临床上也有报道骨髓来源的细胞分化成了肾小管上皮细胞[6]。

对 BM-MSCs 的可塑性研究中，国内外多家实验室都报道了其具有多系分化能力，能够分化成成骨细胞、脂肪细胞、造血细胞、内皮细胞、肝细胞、心肌细胞、骨骼肌细胞和神经细胞等 3 个胚层的组织细胞。Morigi[8]报道了在系阴性的骨髓来源的细胞中，HSCs 移植只有很小程度的改善肾组织损伤，而 BM-MSCs 能够明显改善肾功能，是参与肾小管修复和肾功能改善的主要细胞群体。全骨髓移植不能改善缺血模型中损伤的肾功能，这可能与全骨髓中 BM-MSCs 数量非常少有关，提示在保护改善肾功能时需要大量移植或动员 BM-MSCs。因此，目前为止的研究结果提示在严重的肾小管损伤性疾病中，BM-MSCs 移植是可能行之有效的治疗方法。我们在实验中也发现 BM-MSCs 移植组(Ⅲ组)肾组织损伤明显轻于缺血再灌注组(Ⅱ组)，肌酐和尿素低于缺血再灌注组(Ⅱ组)，差异有统计学意义($P<0.05$)，说明 BM-MSCs 移植能够减轻缺血再灌注引起的肾小管损伤，改善肾功能。

多家实验室利用动物缺血再灌注模型，均报道了 BM-MSCs 能够明显改善肾功能，但对 BM-MSCs 在改善肾功能的治疗机制说法不一。

早期几家实验室都报道了 BM-MSCs 在肾小管损伤模型中能够分化成肾小管上皮细胞和血管内皮细胞。在男性患者接受的女性供者的肾脏中，可以检测到 Y 染色体阳性的肾小管细胞，提示来自肾脏之外的细胞进入到肾小管，Y 染色体阳性的肾小管细胞的阳性率为 0.6%~6.8%[9]。Richard[10]报道结果显示：接受了雄性供体小鼠骨髓移植的雌性小鼠肾组织中发现带有上皮细胞标志的 Y 染色体阳性肾小管细胞，在肾小管的比例达 7.9%。同期，Lin 等[4]报道了有少量骨髓来源的细胞参与了肾小管上皮细胞的修复。这些实验结果都一致地提到了骨髓干细胞，尤其是 BM-MSCs 移植能够明显改善肾小管损伤和肾功能，机制为 BM-MSCs 分化成肾小管上皮细胞和血管内皮细胞直接参与肾小管损伤的修复，但对移植的骨髓干细胞直接参与修复肾小管上皮细胞的程度，不同实验室的结果并不一致。

另外有些研究者认为，BM-MSCs 移植能够明显改善肾小管损伤和肾功能，不是通过直接分化成肾小管上皮细胞和血管内皮细胞，而是依赖复杂调控的旁分泌机制改善和促进肾脏的内源性增殖修复。Florian Togel 等[11]报道，经过 BM-MSCs 移植治疗，损伤一周时，缺血再灌注模型大鼠的肾脏在炎症、脉管以及坏死的肾脏组织方面都得到改善。移植组大鼠的肾脏可以明显观察到增殖细胞增多，坏死组织减少，炎症细胞浸润程度减轻，这些结果在同样条件下以同源性成纤维细胞治疗的大鼠中是无法检测到的。在 BM-MSCs 移植后 24 h，能够检测到炎症因子 IL-1β、TNF-α、IFN-γ 和 iNOS 显著减少，而抗炎症因子 IL-10 和 bFGF、TGF-α 和 Bcl-2 表达上调。他们认为 BM-MSCs 不是通过分化为靶细胞(包括肾小管上皮细胞和血管内皮细胞)发挥效应，而是依赖于复杂调控的旁分泌，为后期肾脏的修复起着重要作用。BM-MSCs 移植通过减轻损伤肾脏炎症反应，改善和促进肾脏的内源性修复，是 BM-MSCs 对 IRI 肾脏保护作用的重要机制之一。这也可能是 BM-MSCs 移植而非造血干细胞移植治疗急性肾小管损伤有效的原因之一。同时 BM-MSCs 还能够分泌许多生长因子，参与促进内源性肾小管上皮细胞增殖修复[12]。

我们在实验中进行 Hoechst33342 标记的 BM-MSCs 移植(Ⅲ组)，荧光显微镜下观察心脏、肝脏、脾脏和肺脏组织内均未见 Hoechst33342 阳性细胞，

肾脏有 Hoechst33342 阳性细胞,主要分布在损伤严重的肾皮-髓质交界区的肾脏皮质内区和肾脏髓质外区,这说明经腹主动脉移植的 BM-MSCs 具有感应局部微环境并优先迁移到受损部位的能力,与文献报道一致[13](结果另行发表)。通过免疫组化染色发现,位于肾小管上皮组织的 Hoechst33342 阳性细胞还能表达肾小管上皮细胞比较特异的标志蛋白 CK18[14],说明移植的 BM-MSCs 有向肾小管上皮细胞转化的趋势或已经转化为肾小管上皮细胞,从而参与肾小管的修复。但 BM-MSCs 向肾小管上皮细胞转化直接参与肾小管的修复是否是唯一的机制呢? 我们检测的肾小管细胞增殖的结果显示:肾小管细胞增殖的数量明显大于 BM-MSCs 转化的肾小管上皮细胞数量。比较合理的解释就是:除了移植的外源性 BM-MSCs 向肾小管上皮细胞转化参与肾小管的修复,还有其他细胞参与肾小管的修复。BM-MSCs 移植(Ⅲ组)与缺血再灌注(Ⅱ组)比较,前者 Bax 蛋白表达和 TUNEL 检测的凋亡细胞数明显低于后者,Bcl-2 蛋白表达及 Bcl-2/Bax 比值明显高于后者,说明 BM-MSCs 移植能够通过影响Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达抑制细胞凋亡,促进细胞增殖,从而促进肾小管的内源性修复,包括:保护残存的肾小管细胞,使其免于凋亡;促进残存的肾小管细胞增殖;动员骨髓干细胞迁移入肾分化为肾小管细胞;促进肾内可能存在的干细胞增殖分化为肾小管细胞。

因此,我们认为 BM-MSCs 移植能够明显改善肾小管损伤和肾功能,其可能的机制包括:抑制肾小管上皮细胞的凋亡,促进肾小管上皮细胞的增殖参与内源性修复,移植的 BM-MSCs 转化为肾小管上皮细胞参与修复。对 BM-MSCs 移植的治疗机制不能单纯地理解为哪一种,而应该理解为是上述不同机制共同作用的结果。

尽管 BM-MSCs 移植对于肾脏 IRI 有治疗作用,但在应用过程中仍存在许多问题,包括移植的 BM-MSCs 数量有限,而且移植的 BM-MSCs 在体内损伤部位的内环境不利于其继续生存,增殖受到抑制,凋亡加快,甚至被机体参与炎症反应的中性粒细胞及巨噬细胞识别清除,从而到达损伤部位的 BM-MSCs 数量减少,发挥的治疗作用受到限制。因此,在不增加 BM-MSCs 的前提下提高其治疗作用具有重要的意义。因此,在下一步的研究中,那就需要采取措施促进 BM-MSCs 向损伤部位快速迁移,延长其存活时间,并促进其增殖分化,从而提高其治疗效果。

参 考 文 献

[1] Rabb H, O'Meara Y M, Maderna P, et al. Leukocytes, cell adhesion molecules and ischemic acute renal failure[J]. Kidney Int, 1997, 51(5): 1463-1468.

[2] Esson M L, Schrier R W. Diagnosisi and treatment of acute tubular necrosis[J]. Ann Intern Med, 2002, 137(9): 744-752.

[3] 刘永亮,叶 钢,方针强. 兔骨髓间充质干细胞培养与多向分化潜能鉴定的实验研究[J]. 重庆医学, 2008, 37(8): 842-843, 847

[4] Lin F, Cordes K, Li L, et al. Hematopoietic stem cells contribute to the regeneration of renal tubules after renal ischemia - reperfusion injury in mice[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(5): 1188-1199.

[5] Oliver J A, Maarouf O, Cheema F H, et al. The renal pap illa is a niche for adult kidney stem cells[J]. J Clin Invest, 2004, 114(6): 795-804.

[6] Kale S, Karihaloo A, Clark P R, et al. Bone marrow stem cells contribute to repair of the ischemically injured renal tubule[J]. J Clin Invest, 2003, 112(1): 42-49.

[7] Yokoo T, Ohashi T, Shen J S, et al. Human mesenchymal stem cells in rodentwhole - embryo culture are rep rogrammed to contribute to kidney tissues[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(9): 3296-3300.

[8] Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo[J]. Nat Med, 2000, 6(11): 1229-1234.

[9] Gupta S, Verfaillie C, Chmiel Ewski D, et al. A role for extrarenal cells in the regeneration following acute renal failure[J]. Kidney Int, 2002, 62(4): 1285-1290.

[10] Poulsom R, Forbes S J, Hodivala-Dilke K, et al. Bone marrow contributes to renal parenchymal turn over and regeneration[J]. J Pathol, 2001, 195: 229-235.

[11] Togel F, Hu Z, Weiss K, et al. Amelioration of acute renal failure by stem cell therapy-paracrine versus transdifferentiation into resident cells: administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2005, 289(1): F31-42.

[12] Marc E, De Broe. Tubular regeneration and the role of bone marrow cells: 'stem cell therapy'-a panacea [J]? Nephrol Dial Transplant, 2005, 20: 2318-2320.

[13] Chen J, Li Y, Wang L, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats [J]. Stroke, 2001, 32: 1005-1011.

[14] Skinnider B F, Folpe A L, Hennigar R A, et al. Distribution of cytokeratins and vimentin in adult renal neoplasms and normal renal tissue: potential utility of a cytokeratin antibody panel in the differential diagnosis of renal tumors [J]. Am J Surg Pathol, 2005, 29(6): 747-754.

(责任编辑:冉明会)