

· 论 著 ·

## 大鼠骨髓内皮祖细胞移植对单侧输尿管梗阻大鼠肾脏损伤的修复

王代红,李芙蓉,程悦,侯卫坪,袁发焕  
(第三军医大学新桥医院肾内科,重庆 400037)

**摘要:**目的 探讨大鼠骨髓内皮祖细胞移植对单侧输尿管梗阻大鼠肾脏的修复作用。方法 应用密度梯度离心法分离骨髓单个核细胞,内皮祖细胞选择性培养液培养后移植到单侧输尿管梗阻大鼠。应用 PAS、HE、Masson 染色方法判断梗阻大鼠损伤和修复情况,应用免疫组织化学检测  $\alpha$ -SMA 和 HIF-1 $\alpha$  表达,应用 Western blot 检测 HIF 表达。结果 各组间肝功能、肾功能无显著性差异;与假手术组比,UUO 组肾脏病理积分显著增加,移植组肾脏病理积分显著低于 UUO 组( $P<0.05$ );UUO 组  $\alpha$ -SMA 在 14、21d 显著高于假手术组( $P<0.05$ ),移植组  $\alpha$ -SMA 在 14、21d 显著低于 UUO 组( $P<0.05$ );假手术组仅有少量 HIF 表达,且主要表达在胞质,UUO 组 HIF 表达随病程进展逐渐增加( $P<0.05$ ),移植组 HIF 表达显著低于 UUO 组( $P<0.05$ )。结论 EPCs 移植改善了 UUO 大鼠梗阻肾脏的损伤、纤维化和低氧状况。

**关键词:**单侧输尿管梗阻;内皮祖细胞;低氧

**中图分类号:**R365.693

**文献标识码:**A

**文章编号:**1671-8348(2009)24-3118-04

## Effect of endothelial progenitor cells on renal impairment of unilateral ureteral obstruction rats

WANG Dai-hong, LI Fu-rong, ZHANG Ying, et al.

(Department of Nephrology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**Abstract:** **Objective** To reaserch effect of endothelial progenitor cells on renal impairment of unilateral ureteral obstruction (UUO) rats. **Methods** Mononuclear cells(MNCs) in rat bone marrow were isolated by density gradient centrifugation and were cultured according to previously described techniques, then transplanted by direct renal artery injection. Histopathological changes in kidney slices and severity were judged by interstitial lesion scoring by HE, PAS, and Masson methods. The expression of  $\alpha$ -SMA and HIF-1 $\alpha$  was detected by immunohistochemistry method. The protein expression of HIF-1 $\alpha$  was assessed by Western blot method. **Results** Hepatic function and renal function did not vary among transplantation group and UUO group at the same time. The interstitial fibrosis and tubular injury in transplantation group was lighter than that in UUO group. Compared with sham group, expression of alpha-SMA was significantly higher in UUO group on 14, 21d( $P<0.05$ ), but that in transplantation group was lower than that in UUO group( $P<0.05$ ) respectively on 14, 21d. There was trace amount of expression of HIF in sham group. But in UUO group that was significantly increased ( $P<0.05$ ), and on 21d reached at peak. And expression in transplantation group was lower than that in UUO group respectively on 7, 14, 21d( $P<0.05$ ). **Conclusion** EPCs transplantation improve renal interstitial damage, fibrosis and hypoxia of UUO rats.

**Key words:** unilateral ureteral obstruction; endothelial progenitor cells; hypoxia

近年研究发现,肾小管间质病变程度是反映肾功能下降严重程度和判断预后最重要的指标<sup>[1]</sup>,肾间质纤维化(renal interstitial fibrosis, RIF)几乎是所有肾脏疾病进展到终末期肾功能衰竭的共同病理途径<sup>[2]</sup>。RIF 受低氧、高血压、蛋白尿等因素的调节。引起低氧的因素包括贫血、血管活性物质的紊乱、肾脏耗氧增加、纤维化后氧的弥散距离增加和肾小管周毛细血管的丢失<sup>[3-5]</sup>。因此通过改善缺氧对于延缓甚至逆转 CKD 的进展具有重要意义。本研究通过移植内皮祖细胞(EPCs),初步探讨 EPCs 对单侧输尿管梗阻 UUO 大鼠的损伤修复。

## 1 材料与方

**1.1 动物与试剂** 6 周龄 SD 雄性大鼠(由第三军医大学大坪医院实验动物中心提供),体质量 100~150g。M199 培养液(Hyclone 公司),胎牛血清(Gibico 公司),血管内皮生长因子(Biovision 公司),碱性成纤维细胞生长因子(Peprotech 公司),大鼠淋巴细胞分离液(天津灏洋生物制品公司),DAB 显色剂(北京中衫生物技术有限公司),兔抗大鼠  $\alpha$ -SMA 抗体、低氧诱导因子 1 $\alpha$ (HIF1 $\alpha$ )抗体(北京博奥森生物技术有限公司),通用型二步法(非生物素)检测试剂盒, BeyoECL Plus(碧云天生物技术研究所),彩色预染蛋白质相对分子质量标准(碧云天生物

技术研究所),兔抗大鼠  $\beta$ -actin 抗体(北京博奥森生物技术有限公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 大鼠骨髓 EPCs 的培养和鉴定** 大鼠骨髓来源的 EPCs 的分离培养参照文献<sup>[6]</sup>的方法,提前 1h 用纤维连接蛋白包被 100mL 培养瓶和 12 孔培养板中的盖玻片。2~4 周龄 SD 大鼠断头处死,应用密度梯度离心法获取骨髓单个核细胞。EPCs 选择性培养液培养。通过形态、荧光双染鉴定 EPCs 功能。

**1.2.2 动物饲养及分组、构建 UUO** SD 大鼠饲养于普通级动物室,饮用水为自来水,室温,光照与黑暗为 12h 交替。试验期间自由饮水、进食,适应性饲养 7d 后,随机分为 4 组:假手术对照组、移植对照组、UUO 组和移植组。UUO 组及移植组大鼠以 2% 戊巴比妥钠(40mg/Kg)腹腔注射麻醉后,双结扎左侧输尿管近肾盂段。UUO 组经左肾动脉注射 PBS。移植组注射 EPCs 悬液,局部压迫止血。然后逐层缝合。假手术组和假手术+EPCs 组以同样方法暴露肾脏后仅游离不结扎左侧输尿管,分别通过左肾动脉注射 PBS 或 EPCs 悬液 1mL。

**1.2.3 生化检查、肾脏病理检查** 采用 Olympus AU270 全自

动生化分析仪测定血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、尿素氮、肌酐值。肾脏组织固定于 4% 多聚甲醛 24h 后,脱水,透明,浸蜡,石蜡包埋,制成 3 $\mu$ m 切片,作 PAS 染色、Masson 染色(马松染色)、HE 染色。

**1.2.4 肾脏病理评分** 评分参照文献[7]方法,对小管间质损伤进行评分,每个标本随机选择不重复 10 个视野,包括皮质、髓质、皮髓交界处,包括 6 项具体项目:(1)肾小管扩张。(2)肾小管萎缩。(3)肾小管上皮细胞空泡形成。(4)肾小管上皮细胞坏死。(5)肾间质纤维化。(6)肾间质炎症细胞浸润,即肾间质局灶性炎细胞浸润为轻度损害;弥漫性散在的炎症细胞浸润为中度损害;弥漫性密集的炎症细胞浸润为重度损害。对每一个项目按照病理损害的程度分为 0 分:正常;1 分:轻度损害(病变小于 20%);2 分:中度损害(病变 20%~40%);3 分:重度损害(病变大于 40%)。

**1.2.5 免疫组化染色检测  $\alpha$ -SMA 和 HIF-1 $\alpha$  表达** 肾脏组织固定于 4% 多聚甲醛 24h 后,脱水,透明,浸蜡,石蜡包埋,制成 3 $\mu$ m 切片,作免疫组化染色。二甲苯脱蜡,梯度酒精水化;抗原修复液(0.01mol/L 枸橼酸盐缓冲液,pH6.0),微波炉高火加热至沸腾,低火维持 15min,自然冷却;0.5% Triton 37 $^{\circ}$ C 孵育 30min,0.01mol/L PBS 漂洗 3min $\times$ 3 次;0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 甲醇溶液室温孵育 25min 以阻断内源性过氧化物酶;5% 正常山羊血清室温封闭 20min,加一抗( $\alpha$ -SMA 1:200;HIF-1 $\alpha$  1:200),阴性对照以 0.01mol/L PBS 代替一抗,4 $^{\circ}$ C 过夜,依次加两步法免疫组化试剂盒试剂 1、试剂 2 室,DAB 显色,苏木素复染,封片后镜下观察。

**1.2.6 Western blot 检测 HIF-1 $\alpha$  表达** 取肾组织 100mg,加入 1mL RIPA,10 $\mu$ L PMSF,眼科剪将组织剪碎;电动匀浆,匀浆液转入 1.5mL EP 管离心,4 $^{\circ}$ C 20 000g,离心 30min,取 40 $\mu$ g 蛋白质 8% SDS-PAGE 电泳,然后转移至 PVDF 膜;用含 5% 脱脂牛奶 TBST 室温封闭 1h;加入 1:500 稀释的兔抗大鼠 HIF-1 $\alpha$ 、兔抗大鼠  $\beta$ -actin 抗体 4 $^{\circ}$ C 过夜;用 TBST 洗膜 20min $\times$ 3 后,分别加入含 5% 脱脂牛奶的羊抗兔 IgG/HRP 抗体(1:5 000 稀释)室温孵育 1h;TBST 洗膜 20min $\times$ 3 后,ECL 反应 2min,凝胶成像系统扫描分析条带光密度值。

**1.3 统计学方法** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,所有数据采用 SPSS 13.0 统计软件统计,采用单因素方差分析比较其差异, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 肾脏大体结构改变** 大鼠以 2% 戊巴比妥钠(80mg/kg)腹腔注射麻醉后,固定于手术台上,沿腹正中中线作一纵向切口,依次切开皮肤、肌层及腹膜,暴露双侧肾脏,观察肾脏病变情况。UUO 术后 7d,梗阻侧(左肾)肾脏体积明显较对侧(右肾)增大,颜色暗红,肾脏包膜增厚,出现肾盂积水,右肾外观无明显改变。随着梗阻时间延长,左侧肾脏显著增大,包膜增厚,实质逐渐变薄。与对应时间点的 UUO 组相比,移植组左肾肿大程度较轻,色泽较红润。

**2.2 各组大鼠左肾/体质量(mg/g)的比较** 比较各组左肾重/体质量发现,各时相点假手术组和假手术+EPCs 组无显著性差异,术后第 7 天,UUO 组及移植组左肾重/体质量值均较假手术组为高( $P < 0.05$ )。术后第 14~21 天,随着肾盂积水的加重,肾实质变薄,UUO 组及移植组左肾重/体质量值逐渐下降,但移植组高于同期 UUO 组 ( $P < 0.05$ ),见表 1。

**2.3 不同时相点 4 组大鼠血清 ALT 和 AST 水平的变化** 静脉血清 ALT、AST 在不同时间点 4 组大鼠间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

**表 1 四组大鼠不同时间点肾重/体质量变化(mg/g)( $\bar{x} \pm s$ )**

时间(d)	n	假手术组	假手术+EPCs 组	UUO 组	移植组
7	8	3.55 $\pm$ 0.31	3.67 $\pm$ 0.48	7.28 $\pm$ 0.34*	7.10 $\pm$ 0.36*
14	8	3.68 $\pm$ 0.45	3.84 $\pm$ 0.25	4.26 $\pm$ 0.35	5.64 $\pm$ 0.42*▲
21	8	3.76 $\pm$ 0.46	3.54 $\pm$ 0.37	3.30 $\pm$ 0.49	4.58 $\pm$ 0.52*▲

与假手术组相比,\*: $P < 0.05$ ;与 UUO 组相比,▲: $P < 0.05$ 。

**2.4 4 组大鼠不同时相点血清尿素氮和肌酐水平的变化** 各时相点假手术组和假手术+EPCs 组尿素氮无显著性差异,UUO 组和移植组大鼠在术后 7d 有一过性增加,与假手术组相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。其余时相点差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表 3)。各时相点假手术组和假手术+EPCs 组血肌酐水平差异无统计学意义,UUO 组和移植组大鼠在术后 7d,血肌酐水平有一过性增加,与假手术组相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。其余时相点差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 3。

**表 2 4 组大鼠不同时间点血清 ALT 的变化(IU/L)( $\bar{x} \pm s$ )**

对比项目	时间(d)	n	假手术组	假手术+EPCs 组	UUO 组	移植组
ALT	7	8	48.39 $\pm$ 9.05	51.81 $\pm$ 10.76	51.37 $\pm$ 10.91	51.51 $\pm$ 4.73
	14	8	52.94 $\pm$ 4.43	49.68 $\pm$ 12.18	50.07 $\pm$ 11.20	48.29 $\pm$ 9.78
	21	8	50.82 $\pm$ 7.25	50.74 $\pm$ 12.79	50.00 $\pm$ 9.86	54.45 $\pm$ 11.59
AST	7	8	101.99 $\pm$ 19.28	92.46 $\pm$ 16.33	107.23 $\pm$ 17.74	98.37 $\pm$ 18.84
	14	8	99.35 $\pm$ 17.39	93.76 $\pm$ 17.54	103.16 $\pm$ 17.04	99.30 $\pm$ 14.44
	21	8	90.62 $\pm$ 14.32	102.83 $\pm$ 15.06	108.07 $\pm$ 16.04	96.12 $\pm$ 16.72

**2.5 4 组大鼠不同时相点肾组织形态学变化和病理积分** 假手术组和假手术+EPCs 组肾组织形态学未发现明显异常。UUO 组梗阻肾脏随着时间的延长体积逐渐增大,肾盂内积液逐渐增加,肾实质逐渐变薄,肾包膜增厚。梗阻后第 7 天可见肾

小管扩张,小管上皮细胞空泡变性,间质水肿,间质内有炎性细胞浸润。术后第 14 天,皮质变薄,肾小管上皮细胞萎缩,管腔扩张更加明显,弥漫的炎性细胞浸润,纤维化形成。术后第 21 天,皮质明显变薄,肾小管上皮细胞变性、萎缩明显,仍可见明

表 3 4 组大鼠不同时间点血清尿素氮 (mmol/L) 和肌酐 ( $\mu\text{mol/L}$ ) 的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

对比项目	时间(d)	n	假手术组	假手术+EPCs 组	UUO 组	移植组
尿素氮	7	8	7.20±0.65	7.23±0.54	8.79±0.86*	8.63±1.09*
	14	8	7.46±0.80	7.13±1.03	8.11±1.10	7.67±1.16
	21	8	7.53±1.07	7.75±1.19	7.06±1.06	7.54±1.06
肌酐	7	8	25.86±6.07	24.54±1.83	39.20±10.15*	40.24±8.47*
	14	8	26.66±5.18	30.11±6.70	34.19±9.61	33.27±5.76
	21	8	29.28±6.14	29.43±5.50	31.08±9.98	30.39±7.38

与假手术组相比, \* :  $P < 0.05$ 。

显扩张的小管, 大量炎性细胞浸润, 纤维化更加明显, 肾小管基底膜明显增厚。

UUO 组与移植组大鼠不同时相点肾小管间质的病理积分变化。随时间延长, 两组大鼠肾小管间质损害逐渐加重。比较 UUO 组与移植组肾小管间质病变的病理积分结果显示: 术后第 7 天, 两组积分之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 术后 14d 和 21d 移植组大鼠肾小管间质病变的病理积分均低于 UUO 组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 4。

**2.6 不同时相点  $\alpha$ -SMA 表达的变化** 假手术组和假手术+EPCs 组 3 周内肾组织内除了大血管外未见明显的  $\alpha$ -SMA 表达, 两组间无显著性差异。UUO 组随疾病进展  $\alpha$ -SMA 表达逐渐增加, 小管和间质均可见阳性表达, 在术后 14d 和 21d 与假

手术组相比, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。UUO 组和移植组同时相点相比, 移植组  $\alpha$ -SMA 表达较弱, 第 21 天显著低于 UUO 组 ( $P < 0.05$ ), 见图 1、表 5。

表 4 UUO 组与 EPCs+UUO 组大鼠不同时相点肾小管间质的病理积分 ( $\bar{x} \pm s$ )

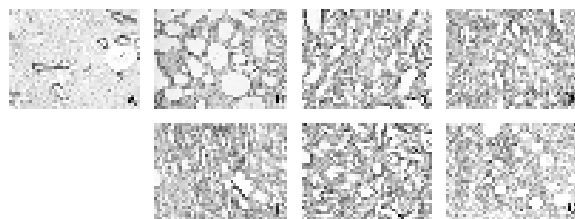
时间(d)	n	UUO 组	移植组
7	8	5.91±1.23	5.35±0.62
14	8	10.32±0.79	7.92±1.54*
21	8	13.14±1.81	9.67±1.30*

与 UUO 组比, \* :  $P < 0.05$ 。

表 5 免疫组化检测不同时相点大鼠肾脏  $\alpha$ -SMA 表达 (IOD) ( $\bar{x} \pm s$ )

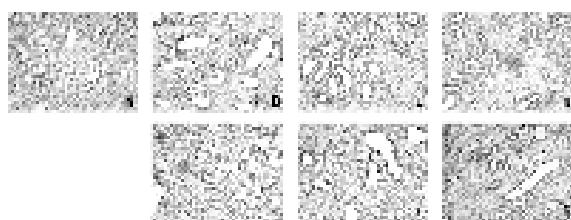
时间(d)	n	假手术组	假手术+EPCs 组	UUO 组	移植组
7	6	3 209.28±1 053.51	4 017.64±1 365.21	6 107.13±1 137.52	5 992.49±2 252.96
14	6	3 783.64±1 953.97	3 527.32±1 033.21	12 099.37±24 33.72*	9 532.95±2 107.63*▲
21	6	4 254.72±1 127.31	3 978.21±927.01	20 956.7±1 053.75*	15 974.35±2 106.59*▲

\* : 与假手术组比,  $P < 0.05$ ; ▲ : 与 UUO 组同时相点比,  $P < 0.05$ 。



A: 假手术组; B: UUO 组 7d; C: UUO 组 14d; D: UUO 组 21d; E: 移植组 7d; F: 移植组 14d; G: 移植组 21d ( $\times 400$ )。

图 1 不同时相点各组  $\alpha$ -SMA 表达

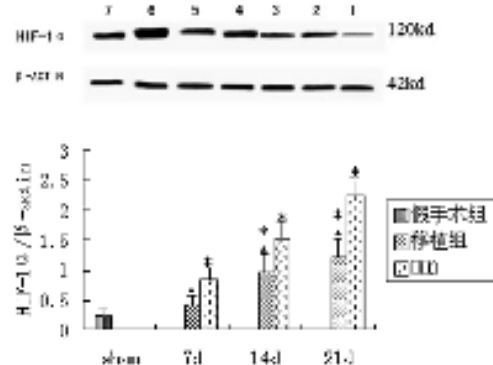


A: 假手术组; B: UUO 组 7d; C: UUO 组 14d; D: UUO 组 21d; E: 移植组 7d; F: 移植组 14d; G: 移植组 21d ( $\times 400$ )。

图 2 不同时相点各组 HIF-1 $\alpha$  表达

**2.7 不同时相点各组大鼠肾脏 HIF1 $\alpha$  的表达** 见图 2、3。结果显示, HIF1 $\alpha$  主要表达在肾小管, 正常对照仅有少量表达, 主

要集中在髓质小管胞质。与假手术组比, UUO 组第 7 天 HIF-1 $\alpha$  即表达显著增加 ( $P < 0.05$ ), 随疾病进展表达逐渐增强。移植组各时相点均低于 UUO 组 ( $P < 0.05$ ), 仅在 14d 和 21d 强于假手术组 ( $P < 0.05$ )。



1: 假手术组; 2、4、6: 分别为 UUO 组 7d、14d、21d; 3、5、7: 分别为移植组 7d、14d、21d。\* : 与假手术组比,  $P < 0.05$ ; ▲ : 与 UUO 组同时相点比,  $P < 0.05$ 。

图 3 Western blot 检测各组不同时相点 HIF1 $\alpha$  表达

**3 讨 论**

自体或异体 EPCs 体外扩增后通过静脉注射或局部注射给活体动物, 可成功归巢到缺血组织, 参与组织的修复<sup>[8-9]</sup>。这

些研究主要集中在心、脑和外周血管疾病。在肾脏, Chade 等<sup>[10]</sup>发现在实验性慢性肾血管疾病模型自体 EPCs 移植后, EPCs 改善了肾脏组织学和功能。有研究发现肾血管性高血压促进了 EPCs 动员, 在急性肾缺血后, EPCs 能聚集到损伤部位, 并通过分化为血管内皮和旁分泌作用参与损伤的修复<sup>[11]</sup>。由此可见, EPCs 能参与肾脏损伤后的修复, 在慢性肾脏病, EPCs 数量减少、功能缺陷<sup>[12]</sup>。故通过体外扩增 EPCs, 移植入 CKD 内能改善由于疾病状态下 EPCs 功能的缺陷和数量的不足, 从而促进损伤组织的修复。应用干细胞因子和/或粒细胞集落刺激因子虽方法简单, 但因动员的细胞不仅仅是 EPCs, 还有其他的细胞, 甚至包括成纤维细胞干细胞<sup>[13-14]</sup>, 因而可能导致纤维化的加重, 因此单纯的 EPCs 移植显示出独特的优势。

作者的研究发现, UUO 术后第 14 天和第 21 天, 移植组的间质病变病理积分均低于 UUO 组 ( $P < 0.05$ )。提示通过 EPCs 移植后, 能减轻 UUO 模型肾间质损伤。研究中作者还发现, 术后 7d, UUO 组和移植组肾重/体质量显著增加, 这与明显水肿和增生反应一致, 随后 UUO 组肾重/体质量下降, 而移植组虽有下降, 但高于 UUO 组, 这与 EPCs 移植后病理损伤减轻一致。UUO 组和移植组在术后 7d, 血清尿素氮、肌酐水平与假手术组比差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 但迅速恢复正常。分析原因是该模型为单侧输尿管结扎, 急性梗阻后对侧肾脏迅速代偿, 早期存在代偿不完全, 出现一过性的肌酐、尿素氮增加, 随着机体适应性反应, 完全代偿, 肾功能恢复正常, 这并不受 EPCs 移植的影响。

$\alpha$ -SMA 被认为是肌成纤维细胞的标志, 显示了成纤维细胞的活化和上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transformation, EMT), 这些细胞能分泌大量的胶原和纤维连接蛋白, 参与间质纤维化<sup>[15]</sup>。作者的研究发现 UUO 组  $\alpha$ -SMA 在第 7 天已经开始增加, 在第 14、21 天显著高于对照组, 定位显示在小管细胞和间质均有表达。移植组表达仍强于假手术组, 但显著低于 UUO 组。结果提示 EPCs 移植减轻了 EMT 和间质成纤维细胞的活化, 因而能改善间质纤维化。

低氧诱导因子 (hypoxic inducible factor 1, HIF) 是机体低氧适应性反应的转录调控因子, 在低氧条件下稳定表达, 而在常氧条件下迅速泛素化降解, 一定程度上反应了低氧的存在。作者的研究发现, UUO 模型随病程进展, HIF 表达增加, 在第 21 天表达最强。EPCs 移植后, HIF 的表达有下降, 但仍显著高于假手术组。结果提示在 UUO 模型确实存在低氧, 随病程进展, 低氧逐渐加重。EPCs 移植后改善了低氧, HIF 表达下降, 为进一步探讨 EPCs 移植参与间质血管修复提供了依据——EPCs 可能参与肾脏微循环的重建, 改善间质低氧, 从而修复了 UUO 模型肾脏间质的损伤。

#### 参考文献:

- [1] Samuel N, Heyman L, Mogher Khamaisi, et al. Hypoxia response and the progression of chronic kidney disease [J]. *Am J Nephrol*, 2008, 28: 998.
- [2] Moore MA, Hattori K, Heissig B, et al. Mobilization of endothelial and hematopoietic stem and progenitor cells by adenovector-mediated elevation of serum levels of SDF-1, VEGF, and angiopoietin-1 [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 938: 36.
- [3] Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end-stage renal failure [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17: 17.
- [4] Eckardt KU, Bernhardt WM, Weidemann A, et al. Role of hypoxia in the pathogenesis of renal disease [J]. *Kidney Int Suppl*, 2005, 99: S46.
- [5] Manotham K, Ongvilawan B, Urusopone P, et al. Intra-renal hypoxia in CKD patients, a BOLD MRI study [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17: 164A.
- [6] 崔斌, 黄岚, 耿召华, 等. 人循环内皮祖细胞的分离培养和诱导分化 [J]. *重庆医学*, 2006, 35(5): 420.
- [7] Tanaka T, Matsumoto M, Inagi R, et al. Induction of protective genes by cobalt ameliorates tubulointerstitial injury in the progressive Thy1 [J]. *Nephritis Kidney Int*, 2005, 68(6): 2714.
- [8] Hamada H, Kim MK, Iwakura A, et al. Estrogen receptors alpha and beta mediate contribution of bone marrow-derived endothelial progenitor cells to functional recovery after myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2006, 114(21): 2261.
- [9] He T, Smith LA, Harrington S, et al. Transplantation of circulating endothelial progenitor cells restores endothelial function of denuded rabbit carotid arteries [J]. *Stroke*, 2004, 35(10): 2378.
- [10] Chade AR, Zhu X, Lavi R, et al. Endothelial progenitor cells restore renal function in chronic experimental renovascular disease [J]. *Circulation*, 2009, 119(4): 547.
- [11] Becherucci F, Mazzinghi B, Ronconi E, et al. The role of endothelial progenitor cells in acute kidney injury [J]. *Blood Purif*, 2009, 27(3): 261.
- [12] Maruyama S, Taguchi A, Iwashima S, et al. Low circulating CD34(+) cell count is associated with poor prognosis in chronic hemodialysis patients [J]. *Kidney Int*, 2008, 74: 1603.
- [13] Li J, Deane JA, Campanale NV, et al. The contribution of bone marrow-derived cells to the development of renal interstitial fibrosis [J]. *Stem Cells*, 2007, 25: 697.
- [14] Broekema M, Harmsen MC, van Luyn MJ, et al. Bone marrow-derived myofibroblasts contribute to the renal interstitial myofibroblast population and produce procollagen I after ischemia/reperfusion in rats [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18: 165.
- [15] Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(1): 1.