

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.03.007

钙化性纳米微粒致大鼠肾结石模型的构建*

粟宏伟¹,王杰¹,朱永生²,邓青富²,裴利军²,王娟²

(1. 泸州医学院附属中医院泌尿外科,四川泸州 646000;2. 泸州医学院附属医院泌尿外科,四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 建立钙化性纳米微粒(CNPs)致大鼠肾结石模型。**方法** 利用临床手术所得肾结石标本分离和培养出 CNPs。SD 雄性大鼠 40 只分为 CNPs 诱石组(A 组,鼠尾静脉注射 CNPs)、CNPs+肾石通组(B 组,鼠尾静脉注射 CNPs+肾石通溶液灌胃+生理盐水腹腔注射)、CNPs+硝酸镓组(C 组,鼠尾静脉注射 CNPs+硝酸镓腹腔注射+生理盐水灌胃)、空白对照组(D 组,鼠尾静脉注射生理盐水+生理盐水灌胃和腹腔注射),每组 10 只。8 周后处死大鼠,镜下观察肾脏组织的病理改变及晶体分布并计数。**结果** A、B、C 组大鼠肾脏肾小管内产生钙盐结晶,Von kossa 染色阳性,主要分布在远曲小管和近曲小管,D 组大鼠肾脏组织内未见钙盐结晶,4 组间成石率差异有统计学意义($P<0.05$)。镜下观察 A、B、C 组肾组织明显可见肾小管上皮细胞变性,肾间质可见炎性细胞浸润灶(主要为淋巴细胞),D 组肾组织未见病理性改变。各组大鼠尿 Ca^{2+} 、尿肌酐水平实验结束前 1 d (T_2)高于注射 CNPs 后 4 周(T_1)($P<0.01$);与 D 组 T_2 尿 Ca^{2+} 和血肌酐水平相比,A、B、C 组均增高($P<0.05$),与 A 组 T_2 尿 Ca^{2+} 相比,B、C 组有降低趋势($P<0.05$);各组之间 T_2 血 Ca^{2+} 水平、 T_2 尿肌酐水平差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** CNPs 能损伤肾小管上皮细胞,促使肾小管内钙盐晶体的形成。

[关键词] 肾结石;钙质沉着症;晶体;钙化性纳米微粒;模型;肾石通;硝酸镓

[中图分类号] R692.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)03-0310-03

Establishment renal calculus rat model induced by calcifying nanoparticles*

Su Hongwei¹,Wang Jie¹,Zhu Yongsheng²,Deng Qingfu²,Pei Lijun²,Wang Juan²

(1. Department of Urology, the Affiliated T. C. M Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China;

2. Department of Urology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To establish renal calculus rat model induced by calcifying nanoparticles. **Methods** We extracted and cultivated calcifying nanoparticles from clinically diagnosed patients with nephrolithiasis. Forty adult male SD rats were divided into 4 groups ($n=10$ each): group A(given an intravenous injection of calcifying nanoparticles), group B(given an intravenous injection of calcifying nanoparticles and taken Shenshitong granules), group C(given an intravenous injection of calcifying nanoparticles and intraperitoneal injection of gallium nitrate), group D(as normal control). Eight weeks later, all rats were sacrificed. The kidneys were examined for pathology. **Results** Histopathological studies revealed calcifying nanoparticles induced renal tubular epithelial cells fatty degeneration and renal tubular crystallization, and caused renal interstitial infiltration with inflammatory cells. The formation of renal crystals in group A was more obvious than those in group B and C($P<0.05$). In group D, no crystals were formed and no pathological changes occurred. The levels of urinary calcium and urinary creatinine(of All group) at one day before the observation period (T_2) were higher than those at 4 weeks after injection(T_1)($P<0.01$). The levels of urinary calcium and serum creatinine in group A and B and C were significantly higher than those in group D at T_2 ($P<0.05$). The levels of urinary calcium in group B and C were lower than that in group A at T_2 ($P<0.05$). However, there were no apparent differences of the levels of serum calcium and urinary creatinine between groups at T_2 ($P>0.05$). **Conclusion** Calcifying nanoparticles could cause renal tubular epithelial cells injury, which leads to the formation of kidney stones.

[Key words] nephrolithiasis; calcinosis; lens, crystalline; calcifying nanoparticles; model; shenshitong; gallium nitrate

钙化性纳米微粒因为其独特的生物矿化特性,近年来已成为肾结石形成机制的研究热点之一。本研究应用无菌收集的结石标本分离和培养出钙化性纳米微粒(calcifying nanoparticles, CNPs),通过鼠尾静脉注射初步建立大鼠肾结石模型,并观察肾石通、硝酸镓对 CNPs 成石的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 3 月龄雄性 SD 大鼠 40 只(泸州医学院实验动物中心提供),体质量 150~200 g,分为 4 组,各组大鼠均先适应性饲养 1 周。分为 CNPs 诱石组(A 组)、CNPs+肾石通组(B 组)、CNPs+硝酸镓组(C 组)、空白对照组(D 组),每组 10 只,普通颗粒饲料饲养,饮用自来水。A 组:鼠尾静脉注射 CNPs 1

次(吸光度 2.00,0.4 mL);B 组在 A 组的基础上每天 2 次肾石通溶液灌胃(每次 100 mg/kg),同时生理盐水(NS)腹腔注射(3 次/周),直至处死;C 组在 A 组的基础上硝酸镓腹腔注射(每次 1 mg/kg,3 次/周),同时 NS 灌胃,直至处死;D 组鼠尾静脉注射 NS(0.4 mL),同时 NS 灌胃和腹腔注射作为空白对照,直至处死。

1.2 方法

1.2.1 CNPs 的分离和培养 术中无菌收集经皮肾镜取石术患者的结石标本,在 1 mol/L HCl 中浸泡 30 min,以去除矿物质,然后用磷酸盐缓冲液(PBS)中和、洗涤,用无菌研钵碾碎结石,加入 NS 10 mL 混匀,经 0.22 μ m 的滤纸加压过滤,4 $^{\circ}$ C 离

* 基金项目:四川省科技厅资助项目(14JC0105);四川省卫生厅资助项目(100288)。 作者简介:粟宏伟(1973—),副教授,硕士,主要从事泌尿系结石研究。

心 40 min(20 000×g),取管底滤过液备用。取 4 mL 含 10% (体积分数)热灭活 γ -FBS 的 1640 培养基加入细胞培养瓶中,然后将处理后的结石滤过液取 1 mL 加入培养瓶内,置于 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 和 95%O₂ 条件下培养 6~8 周,30 d 换液 1 次,整个操作中严格遵循无菌技术。以等量经 0.22 μ m 的滤纸过滤的 NS、含 10% (体积分数)热灭活 γ -FBS 的 1640 培养基在相同条件下培养作为阴性对照。待有白色沉淀出现时筛选出无污染的本体,用巴氏管吹打均匀后吸入离心管。离心机离心,转速 12 000 r/min,离心 20 min,弃上清液,再加入注射用无菌用水 2 mL 吹打混匀。重复上述步骤共计清洗 CNPs 3 次。倒置相差显微镜下形态学鉴定和 Von kossa 染色鉴定。紫外分光光度仪测定 CNPs 最大吸收波长,以此测定 CNPs 的相对生长浓度。

1.2.2 标本采集 分别于注射 CNPs 后 4 周(T₁)及实验结束前 1 d(T₂)用代谢笼收集大鼠 24 h 尿液。实验结束前麻醉大鼠,抽取下腔静脉血后处死取肾脏纵向剖开,10% (体积分数)中性甲醛溶液固定。

1.2.3 观察指标 固定后的肾脏组织做石蜡切片,Von kossa 染色后在普通光学显微镜下观察钙盐结晶在肾组织中的分布情况;苏木素-伊红(HE)染色后在普通光学显微镜下观察肾脏组织的病理改变,偏光显微镜下观察钙盐结晶在肾组织中的分布情况并按文献[1]结晶分级判定标准作统计。全自动生化仪测定血清肌酐、Ca²⁺ 及尿肌酐、尿 Ca²⁺ 水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件分析,计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同时间段的计量资料的组间分析运用重复测量的方差分析,相同时间段的组间比较用 One-way ANOVA 方差分析,两组之间的比较采用 SNK-*q* 检验,结晶形成情况组间比较用秩和检验 Kruskal-Wallis 检验,检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CNPs 的培养及鉴定结果 培养 6 周时,A、B、C 组培养液开始出现浑浊,8 周肉眼可见白色絮状沉淀,倒置相差显微镜下观察 CNPs 聚集成团,部分贴壁生长,漂浮生长的 CNP 团块做不规则布朗运动。Von kossa 染色可见 CNPs 团块呈棕褐色或黑褐色,见图 1。

2.2 T₁ 与 T₂ 各组大鼠尿 Ca²⁺、尿肌酐水平比较 T₂ 各组大鼠尿 Ca²⁺、尿肌酐水平明显高于 T₁,差异有统计学意义 ($P<0.01$),各组在 T₁ 和 T₂ 时间点上的尿 Ca²⁺、尿肌酐水平变化无统计学意义 ($P>0.05$),见表 1。

2.3 实验结束前各组大鼠血肌酐、血 Ca²⁺、尿 Ca²⁺、尿肌酐水平比较 与 D 组血肌酐水平相比,A、B、C 组均增高 ($P<0.05$),A、B、C 3 组间血肌酐水平差异无统计学意义 ($P>0.05$);与 D 组尿 Ca²⁺ 水平相比,A、B、C 组均增高 ($P<0.05$),与 A 组尿 Ca²⁺ 相比,B、C 组明显降低 ($P<0.05$),B 组与 C 组间尿 Ca²⁺ 水平差异无统计学意义 ($P>0.05$);各组之间血 Ca²⁺ 水平、尿肌酐水平差异无统计学意义 ($P>0.05$),见表 2。

2.4 各组大鼠肾脏标本钙盐结晶情况的比较 Von kossa 染色+核固红复染后在普通光学显微镜下观察,A、B、C 组大鼠肾组织内可见散在分布不规则的棕褐色或黑褐色钙盐结晶沉积,主要分布在远曲小管和近曲小管,晶体多呈零星散在分布,有的互相连接成片或成堆(图 2)。HE 染色后在偏光显微镜下观察,A、B、C 组大鼠肾脏切片在暗视野下可见高亮结晶,晶体形态不规则,或散在分布,或集成成堆。A、B、C 组的成石率与 D 组相比均升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$);A 组的成石率与 B、C 两组相比显著升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$);而 B 组和 C 组的成石率比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

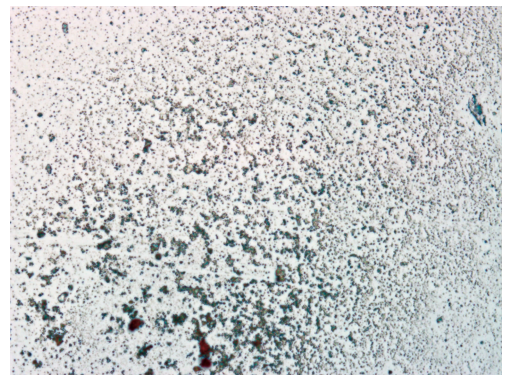


图 1 CNPs Von kossa 染色阳性结果(×400)

表 1 T₁ 与 T₂ 各组大鼠尿 Ca²⁺、尿肌酐水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	尿 Ca ²⁺ (mmol/L)		尿肌酐(μ mol/L)	
		T ₁	T ₂	T ₁	T ₂
A	10	0.22±0.15	0.38±0.12 ^a	1 803.28±1 710.33	4 909.40±1 784.63
B	10	0.14±0.48	0.28±0.06 ^a	1 520.18±953.80	8 325.62±6 206.56
C	10	0.19±0.08	0.29±0.08 ^a	1 175.26±904.23	3 844.72±2 277.55
D	10	0.19±0.17	0.21±0.05 ^a	2 527.28±1 248.31	5 164.12±3 913.13

^a: $P<0.01$,与 T₁ 比较。

表 2 T₂ 各组大鼠血肌酐、血 Ca²⁺、尿 Ca²⁺、尿肌酐水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	血肌酐(μ mol/L)	血 Ca ²⁺ (mmol/L)	尿 Ca ²⁺ (mmol/L)	尿肌酐(μ mol/L)
A	10	35.81±5.63 ^a	2.34±0.54	0.38±0.12 ^a	4 909.40±1 784.63
B	10	31.26±3.62 ^a	2.36±0.87	0.28±0.06 ^{ab}	8 325.62±6 206.56
C	10	30.29±4.91 ^a	2.35±0.93	0.29±0.08 ^{ab}	3 844.72±2 277.55
D	10	26.07±3.24	2.38±0.51	0.21±0.05	5 164.12±3 913.13

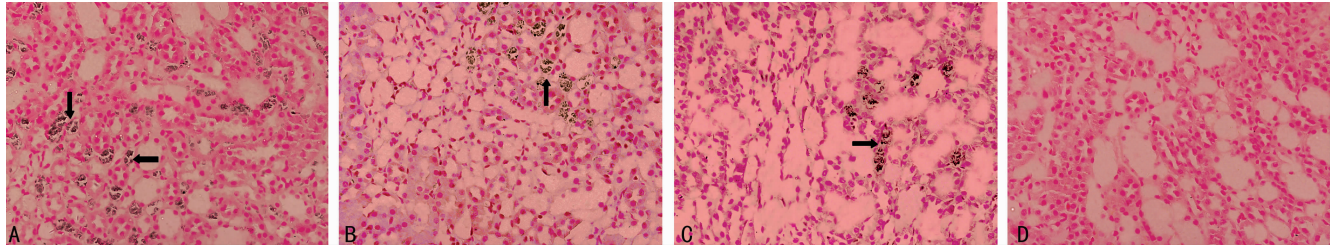
^a: $P<0.05$,与 D 组比较;^b: $P<0.05$,与 A 组比较。

表 3 各组大鼠肾脏钙盐结晶沉积情况的比较(n)

组别	n	钙盐结晶沉积情况				成石率 (%)
		+++	++	+	-	
A	10	0	2	4	4	60 ^a
B	10	0	1	2	7	30 ^{ab}
C	10	0	1	1	8	20 ^{ab}
D	10	0	0	0	10	0

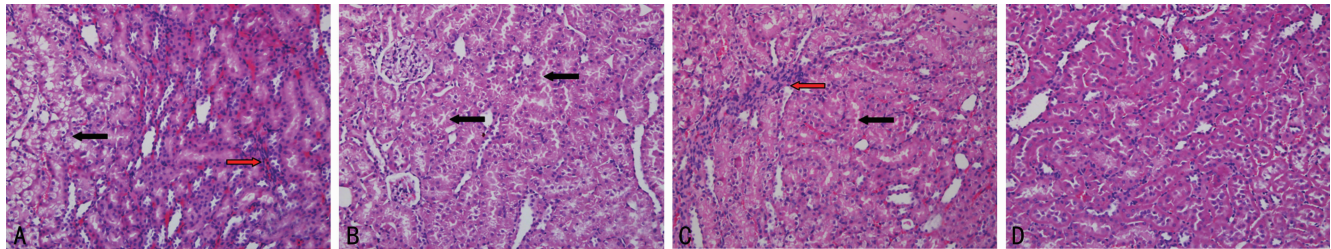
a: $P < 0.05$, 与 D 组比较; b: $P < 0.05$, 与 A 组比较。

2.5 各组大鼠肾脏标本病理变化的比较 肾脏组织 HE 染色



A: A 组; B: B 组; C: C 组; D: D 组。黑色箭头所示为 Von kossa 染色阳性的钙盐结晶。

图 2 各组肾脏组织 Von kossa 染色+核固红复染结果(×200)



A: A 组中黑色箭头所指为肾小管上皮细胞空泡样变性,红色箭头所指为肾间质炎性细胞浸润;B: B 组中黑色箭头所指为肾小管上皮细胞颗粒样变性;C: C 组中黑色箭头所指为肾小管上皮细胞颗粒样变性,红色箭头所指为肾间质炎性细胞浸润;D: D 组无病理学改变。

图 3 各组肾脏组织 HE 染色后的病理改变(×200)

3 讨论

1998 年芬兰科学家 Kajander 首次描述了一种未知的细胞培养污染物,并命名为纳米细菌(nanobacteria, NB),但它与一般细菌的特征不一样,至今尚未测出其完整的基因序列,故后来又被称为 CNPs^[1]。虽然还不能确定 CNPs 到底是一种纳米级的能自我复制的生命体还是一种矿化蛋白质复合体,但 CNPs 因其独特的生化矿化活性,近年来已成为病理性钙化相关疾病的研究焦点,在动脉粥样硬化^[2]、牙结石^[3]、前列腺炎^[4]等疾病中都发现有 CNPs 的参与。粟宏伟等^[5]在绝大多数肾结石患者的血清中成功培养出 CNPs,阳性率明显高于正常组,这说明 CNPs 与肾结石形成可能存在密切的关系。

Garcia 等^[6]通过将培养出来的 CNPs 直接经皮肾内注射,初步建立了 CNPs 致大鼠肾结石动物模型,但因经皮肾穿刺小鼠肾脏技术较困难且成功率低,故该方法未能被业界接受。本实验将由结石标本分离培养出的 CNPs 通过鼠尾静脉注射进大鼠体内,8 周后处死大鼠,肾脏组织 HE 染色后偏光显微镜下可见不规则高亮晶体,肾脏组织 Von kossa 染色后光镜下可见棕褐色或黑褐色不规则晶体,主要分布在近曲小管和远曲小管, D 组则无晶体,成功建立了 CNPs 致大鼠肾结石的动物模型。实验中发现: T₂ 各组大鼠血 Ca²⁺ 水平无明显差异,但 T₂ A 组大鼠尿 Ca²⁺ 水平明显高于 D 组,提示 CNPs 可能提高尿 Ca²⁺ 水平,这可能是 CNPs 导致肾结石形成的原因之一。

目前 CNPs 致肾结石的具体机制还不清楚,有研究提示肾

后在普通光学显微镜下观察: A 组大鼠肾脏中可见大量肾小管上皮细胞变性,主要为空泡样变性,肾小管上皮细胞高度水肿,并且肾间质可见炎性细胞浸润,主要为淋巴细胞浸润; B、C 组较 A 组相比,发生变性改变的肾小管上皮细胞减少,且主要为颗粒样变性,偶可见间质淋巴细胞浸润; B 组和 C 组肾脏的病理改变比较差异不明显; D 组肾小管上皮细胞排列整齐,结构清晰,偶可见颗粒样变性的肾小管上皮细胞,肾小球形状规则,无病理学改变。各组肾脏组织均未见肾小管上皮明显坏死、脱落,见图 3。

小管上皮细胞损伤机制可能在肾结石的形成过程中起重要作用。Yu 等^[7]已证实 CNPs 能对共同培养的 HK-2 细胞造成损伤,损伤程度随时间延长而加重。CNPs 损伤细胞后,细胞的晶体黏附性也明显增强。本研究结果显示: A 组肾脏组织镜下可见大量肾小管上皮细胞变性;肾间质可见炎性细胞浸润灶;近曲小管和远曲小管内可见钙盐晶体沉积。且 T₂ A 组大鼠血肌酐水平高于 D 组,这些证实了 CNPs 能损伤肾小管上皮细胞,促进肾小管内钙盐晶体的黏附、沉积,这可能是肾结石形成过程中的关键环节。

肾石通具有清热利湿、排石的功效,能减轻局部组织水肿,其治疗泌尿系结石的疗效确切可靠^[8]。本实验研究结果中,肾石通降低了大鼠尿钙浓度及成石率,且肾小管上皮细胞变性和肾间质淋巴细胞浸润程度相比于 A 组都有所减轻。提示肾石通的抗结石活性成分可能对 CNPs 致肾小管上皮细胞损伤过程有抵抗作用,并且有可能通过降低尿钙水平而削弱 CNPs 的自我矿化作用,影响晶体对肾小管上皮细胞的黏附作用。

Eby^[9]发现三价铈盐具有强大的抗炎、抗癌和抗高钙血症特点。他在临床中观察到 1 例发生肾绞痛的尿路结石患者,在应用硝酸铈后于第 2、3 日就有溶解的结石陆续排出。由此提出了硝酸铈可能治疗肾结石,但具体机制还有待进一步研究验证。本研究结果中的 C 组肾脏组织中钙盐结晶沉积较 A 组明显减少,血肌酐和尿 Ca²⁺ 水平明显降低,提示硝酸铈可能通过抗 CNPs 机制,有保护肾功能、抑制钙盐结(下转第 316 页)

综上,本研究认为伊马替尼能通过对 PDGFR 的活化抑制,有效地减轻尿毒症心脏病引起的心脏损害。对该类药物的研究将成为尿毒症心脏病的治疗的新思路。

参考文献

- [1] O'Shaughnessy MM, O'Regan JA, Lavin P. Prevention of sudden cardiac death in hemodialysis patients[J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2014, 14(3): 195-204.
- [2] Fan B, Ma L, Li Q, et al. Role of PDGFs/PDGFRs signaling pathway in myocardial fibrosis of DOCA/salt hypertensive rats[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 7(1): 16-27.
- [3] Ponten A, Folestad EB, Pietras K, et al. Platelet-derived growth factor D induces cardiac fibrosis and proliferation of vascular smooth muscle cells in heart specific transgenic mice[J]. Circ Res, 2005, 97(10): 1036-1045.
- [4] Cohen MH, Williams G, Johnson JR, et al. Approval summary for imatinib mesylate capsules in the treatment of chronic myelogenous Leukemia [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(5): 935-942.
- [5] Moawad EY. Predicting effectiveness of imatinib mesylate in tumors expressing platelet derived growth factors (PDGF-AA, PDGF-BB), stem cell factor ligand and their respective receptors (PDGFR- α , PDGFR- β , and c-kit) [J]. J Gastrointest Cancer, 2015, 46(3): 272-283.
- [6] Wang XR, Wang CD, Liu XM, et al. Effect of PDGF-Rb antagonist imatinib on endometrial injury repairing in mouse model[J]. Asian Pac J Trop Med, 2015, 8(7): 555-559.
- [7] Zhao G, Zhao H, Tu L, et al. Effects and mechanism of irbesartan on tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2010, 30(1): 48-54.

- [8] Semple D, Smith K, Bhandari S, et al. Uremic cardiomyopathy and insulin resistance: a critical role for AKT [J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(2): 207-215.
- [9] Leipner C, Grün K, Müller A, et al. Imatinib mesylate attenuates fibrosis in coxsackievirus b3-induced chronic myocarditis [J]. Cardiovasc Res, 2008, 79(1): 118-126.
- [10] Leask A. Potential therapeutic targets for cardiac fibrosis TGF β , angiotensin, endothelin, CCN2, and PDGF, partners in fibroblast activation [J]. Cir Res, 2010, 106(11): 1675-1680.
- [11] Ma LK, Li Q, He LF, et al. Imatinib attenuates myocardial fibrosis in association with inhibition of the PDGFR α activity [J]. Arq Bras Cardiol, 2012, 99(6): 1082-1091.
- [12] Okuda K, Weisberg E, Gilliland DG, et al. ARG tyrosine kinase activity is inhibited by STI571 [J]. Blood, 2001, 97(8): 2440-2448.
- [13] Chaudhary NI, Schnapp A, Park JE. Pharmacologic differentiation of inflammation and fibrosis in the rat bleomycin model [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2006, 173(7): 769-776.
- [14] Pope J, Walker KM, de Leon F, et al. Correlations between changes in cytokines and clinical outcomes for early phase (proof of concept) trials in active diffuse systemic sclerosis using data from an imatinib study [J]. Rheumatology (Oxford), 2014, 53(10): 1830-1834.
- [15] Jang SW, Ihm SH, Choo EH, et al. Imatinib mesylate attenuates myocardial remodeling through inhibition of platelet-derived growth factor and transforming growth factor activation in a rat model of hypertension [J]. Hypertension, 2014, 63(6): 1228-1234.

(收稿日期: 2015-08-18 修回日期: 2015-10-10)

(上接第 312 页)

晶沉积和肾结石形成的作用。

本研究成功建立了 CNPs 致大鼠肾结石动物模型,与目前普遍使用的大鼠肾结石模型改良造模方法相比^[10], CNPs 致肾结石动物模型的特点是造模时间偏长。肾小管晶体数量偏少;尿 Ca²⁺、肌酐水平都相对偏低,这虽然增加了造模的时间和成本,但这可能更接近人体肾结石形成的病理生理过程。因此, CNPs 致大鼠肾结石动物模型的建立,可为进一步研究肾结石形成机制及肾结石的防治提供新的思路。

参考文献

- [1] Kajander EO. Nanobacteria--propagating calcifying nanoparticles [J]. Lett Appl Microbiol, 2006, 42(6): 549-552.
- [2] Hunter LW, Charlesworth JE, Yu S, et al. Calcifying nanoparticles promote mineralization in vascular smooth muscle cells: implications for atherosclerosis [J]. World J Urol, 2006, 24(1): 51-54.
- [3] Zeng J, Yang F, Zhang W, et al. Association between dental pulp stones and calcifying nanoparticles [J]. Int J Nanomedicine, 2014, 9: 2689-2698.
- [4] Kim TH, Kim HR, Myung SC. Detection of nanobacteria in patients with chronic prostatitis and vaginitis by re-

verse transcriptase polymerase chain reaction [J]. Korean J Urol, 2011, 52(3): 194-199.

- [5] 粟宏伟,朱永生,邓青富,等. 上尿路结石患者血清、尿液、结石中纳米细菌的检测 [J]. 重庆医学, 2013, 42(31): 3754-3756.
- [6] Garcia CE, Olavi KE, Ciftcioglu N, et al. Nanobacteria. An experimental neo-lithogenesis model [J]. Arch Esp Urol, 2000, 53(4): 291-303.
- [7] Yu CF, Huang XB, Chen L, et al. Effect of nanobacteria on cell damage and crystal retention in renal tubular epithelial cells [J]. Beijing Da Xue Xue Bao, 2010, 42(4): 436-442.
- [8] 江文凇,杨志伟. 肾石通丸治疗泌尿系结石 200 例疗效观察 [J]. 临床医药实践, 2010(4): 219-221.
- [9] Eby GA. A hypothesis for anti-nanobacteria effects of gallium with observations from treating kidney disease [J]. Medical Hypotheses, 2008, 71(4): 584-590.
- [10] 李笑然,岳中瑾,裴薇,等. 4 种大鼠肾草酸钙结石模型比较 [J]. 现代泌尿外科杂志, 2013, 18(4): 329-331, 338.

(收稿日期: 2015-08-18 修回日期: 2015-10-26)