

晚期糖基化终产物通过氧化应激引起人骨髓间充质干细胞凋亡

刘 钊, 边云飞, 肖传实

(山西医科大学第二医院心内科, 山西省太原市 030001)

[关键词] 晚期糖基化终产物; 人骨髓间充质干细胞; 氧化应激; 细胞凋亡

[摘要] 目的 观察不同剂量晚期糖基化牛血清白蛋白(AGE-BSA)对体外分离培养的人骨髓间充质干细胞增殖、凋亡及氧化应激的影响,为临床上提高干细胞移植治疗糖尿病心脏病后供体干细胞的存活率提供新的依据。方法 采用全骨髓法从人的骨髓标本中分离培养骨髓间充质干细胞,以含 10% FCS 的 L-DMEM 培养细胞,0.25% 的胰酶消化后按 1:2 比例传代接种培养,对第 3 代细胞应用流式细胞仪检测细胞表面标志 CD44、CD105 和 CD34。在骨髓间充质干细胞中加入不同浓度的 AGE-BSA,作用 24 h 后加入 CCK-8 溶液,37℃5% CO₂ 培养箱培养 1 h,用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度值。采用 Annexin V/PI 双染法进行染色,避光作用 20 min 后,将细胞置于流式细胞仪上检测细胞凋亡率。同时对细胞内活性氧水平进行测定,并且测定细胞内的丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性。结果 传代后的骨髓间充质干细胞呈鱼群样或漩涡状排列,细胞为长梭形,贴壁紧密,形态较为一致。细胞表面标志 CD105(间充质干细胞相对特异性标志)及 CD44(黏附分子,基质细胞表达)呈阳性表达,阳性率分别为 98.9%、97.8%;CD34(造血干细胞/祖细胞及内皮细胞阳性)呈阴性表达,表达百分率为 0.8%。与对照组相比,20、50、100 和 200 mg/L AGE-BSA 均不同程度地抑制骨髓间充质干细胞的增殖,促进其凋亡,随着作用浓度的增加,细胞内活性氧含量、丙二醛含量明显增加,而细胞匀浆中超氧化物歧化酶的活性却受到了抑制,具有剂量依赖效应。结论 晚期糖基化终产物通过促进骨髓间充质干细胞内活性氧生成、减少抗氧化酶生成,增强氧化应激,破坏细胞内环境稳定性,从而抑制骨髓间充质干细胞增殖,促进细胞凋亡。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Advanced Glycation End Products Promotes Apoptosis of Human Mesenchymal Stem Cells Through Oxidative Stress

LIU Zhao, BIAN Yun-Fei, and XIAO Chuan-Shi

(The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China)

[KEY WORDS] Advanced Glycation End Products; Mesenchymal Stem Cells; Oxidative Stress; Apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of advanced glycation end products (AGE-BSA) on oxidative stress and apoptosis in human bone marrow derived Mesenchymal stem cells (hMSC), providing new evidences for a higher survival of donor MSC in the heart of diabetes cardiomyopathy after clinical stem cell transplantation. **Methods** The adult hMSC were isolated from adult bone marrow and cultured in L-DMEM with 10% FCS, were suspended by trypsin and passaged for subsequent passages. At the third passage, hMSC were identified as the immunophenotype of cell surface CD44, CD105, CD34 on flow cytometry. Then, hMSC were cultured in the absence or presence of AGE-BSA for 24 hours.

CCK8 were used to evaluate the proliferation capability, reactivated oxygen species (ROS) were analyzed using the ROS assay kit, the content of malondialdehyde (MDA), the activity of superoxide dismutase (SOD) were measured; the cell apoptosis was detected by Annexin V/PI flow cytometry. **Results** The hMSC exhibited adherent long spindle-shaped cells. The immunophenotype of hMSC showed that both stromal cell-associated markers (CD44) and the stem cell-associated marker (CD105) were positive, which were 97.8% and 98.9%, while blood cell, endothelial cell-associated marker (CD34) was negative, which was only 0.8%. Compared with the control group, co-culturing with 20, 50, 100, 200 mg/L AGE-BSA increased ROS production, the content of MDA in cells and the rate of apoptosis. Simultaneously, AGE-

[收稿日期] 2011-01-24

[作者简介] 刘钊, 硕士研究生, E-mail 为 liuz3362619@163.com。边云飞, 博士, 硕士研究生导师, 主要研究方向为心血管疾病基础与临床, E-mail 为 huiyuyang@yahoo.com.cn。通讯作者肖传实, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为心血管疾病基础与临床, E-mail 为 yhy0603@sohu.com。

BSA decreased antioxidase and proliferation of the cells. Both of them were in a dose dependent manner. **Conclusion** AGE increases the production of ROS in hMSC, while weakens the production of antioxidases, it increases the oxidative stress, breaks the homeostasis of cells, accordingly, AGE inhibits the proliferation of hMSC and increases the apoptosis of these cells.

随着糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 发病率的逐年增高, 糖尿病心肌病已成为老年 DM 患者死亡的又一主要原因。骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC) 移植治疗冠心病心肌梗死、糖尿病心肌病等疾病已成为近年研究热点^[1,2]。然而, 体内的各种病理微环境削弱了移植后 MSC 的存活能力, 从而影响最终治疗效果, 为干细胞治疗带来了新的难题^[3,4]。晚期糖基化终产物 (advanced glycation end products, AGE) 广泛存在于糖尿病患者体内, 参与多种慢性并发症的发生。AGE 不但与肽链或蛋白交联对细胞、组织形成不可逆损伤, 而且可与细胞表面 AGE 受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 相结合, 通过其受体介导氧化应激促进细胞损伤^[5]。已有研究证实 AGE 引起的氧化应激与糖尿病心肌病密切相关^[6]。本文通过观察不同浓度 AGE-BSA 作用后人 MSC 增殖、凋亡以及氧化应激指标的变化, 进一步探讨其机制, 以证实糖尿病病理微环境对 MSC 生存的抑制作用, 从而为今后减少移植后供体干细胞的损伤、提高干细胞移植治疗心肌疾病的疗效提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料

成人骨髓标本来源于 5 例年龄为 18 ~ 60 岁的健康志愿者的捐赠 (均无糖尿病、高血压等疾病)。标本的采集获取符合伦理学标准。无菌条件下骨髓穿刺抽取 5 mL 骨髓液, 20 kU/L 肝素抗凝, 所有标本取后立即分离。晚期糖基化终产物牛血清白蛋白 (AGE-BSA) 购自美国 Biovision 公司; 牛血清白蛋白 (BSA) 购自美国 Amresco 公司; L-DMEM 培养基购自 GIBCO 公司; 胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司; wst-8 检测试剂盒 (cell counting kit-8) 购自南京凯基生物科技发展有限公司; 膜联蛋白 V (Annexin V) / 碘化丙啶 (propidium iodide, PI) (Annexin V/PI) 双染色试剂盒购自北京四正柏生物技术有限公司; 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 检测试剂盒购自北京普利莱基因技术有限公司; 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒购自南京建成生物工程研究所; PBS 缓冲液购自博士德生物工

程有限公司。

1.2 人骨髓间充质干细胞分离、培养及形态学观察
将骨髓按 1500 r/min 离心 5 min, 弃上清, 10% FCS 的 L-DMEM 培养基悬浮细胞, 计数, 将细胞密度调至 2×10^9 /L, 接种于 25 cm² 培养瓶中。置于 37°C、5% CO₂ 条件下培养。72 h 后半量换液, 6 天后全量换液, 尽量弃去未贴壁的细胞 (包括血细胞、成纤维细胞等), 此时细胞尚混有少量未贴壁的细胞, 每隔 2 ~ 3 天换液, 逐渐弃净未贴壁细胞。原代细胞长至 80% ~ 90% 汇合时, 将培养瓶中原培养基用吸管吸出, 加入少量 PBS 洗 1 ~ 2 次, 以洗净死细胞和残留的培养基。加入 0.25% 的胰酶消化。37°C 孵育大约 2 ~ 3 min, 当显微镜下 80% ~ 90% 的细胞回缩成圆形, 振荡后脱离瓶底时, 加入含小牛血清的 L-DMEM 培养基终止消化。用吸管反复吹打瓶底, 使所有细胞完全脱离瓶底, 按 1:2 比例传代接种培养。倒置相差显微镜下观察 MSC 形态。

1.3 人骨髓间充质干细胞的鉴定

0.25% 胰酶消化收集第 3 代成人 MSC, 使每例样本细胞数为 3×10^5 个, 以 PBS 缓冲液制备单细胞悬液, 分别与 FITC 标记的 CD34 和 PE 标记的 CD44 及 CD105 常温下避光孵育 30 min; PBS 洗涤 2 次后, 再加入 500 μ L PBS 重悬细胞, 用于 FACS 分析。

1.4 实验干预与分组

取 3 ~ 4 代培养的 hMSC, 随机分组进行实验。正常对照组: 细胞不加干预措施正常培养; BSA 对照组: 培养液中加入终浓度为 100 mg/L 的 BSA 培养 24 h; AGE-BSA 组: 培养液中分别加入终浓度为 20、50、100 和 200 mg/L 的 AGE-BSA 培养 24 h。

1.5 CCK-8 试剂盒评估细胞增殖能力

取生长状态良好的 hMSC, 0.25% 胰酶消化, 计数后调整细胞浓度至 2×10^6 个/L, 按每孔 100 μ L (2×10^7 /L) 接种于 96 孔培养板, 每组设 5 个复孔和空白对照。按照实验分组加入不同的干预, 干预前先用无血清 DMEM 培养基培养 24 h, 使细胞达到同步化, 每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液, 37°C 5% CO₂ 培养箱培养 1 h, 酶标仪在 450 nm 处测定吸光度 (OD) 值。细胞存活率 = 加药组 OD 值 / 对照组 OD 值 \times 100%, 抑制率 = 1 - 存活率。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡率

采用 Annexin V/PI 双染法, 将贴壁细胞用

0.25% 胰酶消化,吹打成单细胞悬液,收集到离心管内,1000 r/min 离心 5 min 后,弃去上清液,用 PBS 洗涤两次,用 10 μ L Annexin V 和 5 μ L PI 进行染色,避光作用 20 min 后,将细胞置于激发光为 488 nm 波长的流式细胞仪检测,上机测定时获取 1×10^5 个以上细胞,重复两次。

1.7 细胞内活性氧水平测定

以 DCFH2DA 作为荧光探针对细胞内 ROS 进行荧光标记,在荧光显微镜下观察细胞内 ROS 产生,并用流式细胞仪检测每组细胞内的平均荧光强度。设置未加 DCFH2DA 的阴性对照组和加阳性药物 H_2O_2 的阳性对照组。在处理好的 hMSC 中加入 DCFH2DA 荧光探针(用无血清培养基以 1:1000 稀释),在 37 $^{\circ}C$ 含 5% CO_2 的培养箱中孵育 30 min,弃去培养液,PBS 冲洗后在荧光显微镜下观察细胞内荧光强度。PBS 洗 2 次,用胰酶消化,加血清终止反应,PBS 洗 2 次后用流式细胞仪检测细胞内 ROS。其中阳性对照组加 100 μ mol/L 的 H_2O_2 (试剂盒提供),常温下孵育 1 h 后再加入荧光探针。

1.8 细胞内丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性测定

实验终止时,收集各组细胞,经超声破碎细胞后离心取上清液,按照 MDA 和 SOD 试剂盒说明书进行测定。

1.9 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组资料行单因素方差分析,干预组与对照组之间比较采用 Dunnett-t 检验,各干预组之间比较采用 SNK-q 检验。检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 人骨髓间充质干细胞的形态学观察

接种 6 天后可见散在生长、分布不均、纺锤形、成纤维细胞样的单个贴壁细胞即为 hMSC,大约第 8 ~ 12 天时可见单个细胞形成的多个细胞克隆,约 13

~20 天时,细胞汇流达 80%,呈鱼群样或漩涡状排列,细胞长梭形,贴壁紧密,形态较为一致,核呈椭圆形,可见 1~2 个核仁。此时以 1:2 比例进行传代培养,传代细胞刚接种时为圆形,较大,24 h 内完全贴壁,伸展成梭形,开始迅速增殖,7 天即铺满培养瓶底,传代细胞保持原代细胞的形态特征。随代数增

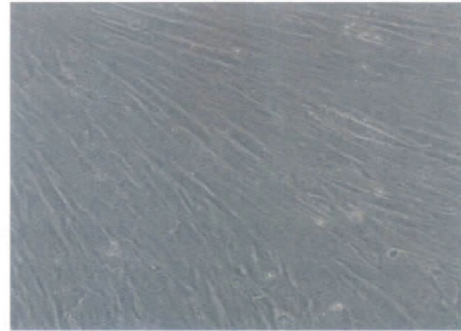


图 1. 第 3 代人骨髓间充质干细胞 ($\times 200$)

Figure 1. Morphological characteristics of human mesenchymal stem cells in the third passage

加,细胞得到纯化,梭形细胞达 95% 以上(图 1)。

2.2 人骨髓间充质干细胞的表面标志

对第 3 代 hMSC 的表面标志进行测定,发现 CD105(间充质干细胞相对特异性标志)及 CD44(黏附分子,基质细胞表达)呈阳性表达,阳性率分别为 98.9% 和 97.8%;CD34(造血干细胞/祖细胞及内皮细胞阳性)呈阴性表达,表达百分率为 0.8% (图 2)。说明本实验培养的细胞具备 MSC 的表面标记特点,且细胞纯度较高。

2.3 AGE 对人骨髓间充质干细胞增殖的影响

与正常对照组相比,BSA 对照组细胞 OD_{450} 值差异无显著性。而不同浓度的 AGE-BSA 作用后,细胞 OD_{450} 值发生改变,且随 AGE-BSA 浓度增加, OD_{450} 值显著降低 ($P < 0.05$),同时细胞存活率降低 ($P < 0.05$),增殖抑制率增大 ($P < 0.05$;表 1)。

表 1. AGE 对人骨髓间充质干细胞增殖的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 1. The inhibition of the proliferation of hMSC by AGE in different groups

分组	OD 值	细胞存活率	细胞抑制率
正常对照组	0.677 \pm 0.045		
BSA 对照组	0.661 \pm 0.037	97.73% \pm 1.00%	2.27% \pm 1.00%
20 mg/L AGE-BSA 组	0.621 \pm 0.034 ^a	91.80% \pm 1.61% ^a	8.20% \pm 1.61% ^a
50 mg/L AGE-BSA 组	0.566 \pm 0.033 ^b	83.63% \pm 1.55% ^b	16.37% \pm 1.54% ^b
100 mg/L AGE-BSA 组	0.497 \pm 0.013 ^c	73.60% \pm 3.03% ^c	26.40% \pm 3.03% ^c
200 mg/L AGE-BSA 组	0.447 \pm 0.026 ^d	66.16% \pm 2.11% ^d	33.84% \pm 2.11% ^d

a 为 $P < 0.05$,与正常对照组和 BSA 对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与 20 mg/L AGE-BSA 组比较;c 为 $P < 0.05$,与 50 mg/L AGE-BSA 组比较;d 为 $P < 0.05$,与 100 mg/L AGE-BSA 组比较。

2.4 AGE 对人骨髓间充质干细胞凋亡的影响

正常对照组细胞集中在 B3 区,在 B4 区和 B2 区内无分布或分布甚少,凋亡率极低 ($2.33\% \pm 0.80\%$); BSA 对照组细胞凋亡率 ($4.13\% \pm 0.70\%$) 与正常对照组相比差异无显著性 ($P >$

0.05); AGE-BSA 组随药物浓度 ($20、50、100、200$ mg/L) 的增加,细胞凋亡率也明显增加 (分别为 $9.50\% \pm 0.92\%、13.73\% \pm 1.07\%、18.50\% \pm 0.82\%$ 和 $24.77\% \pm 1.11\%$), 差异有显著性 ($P <$

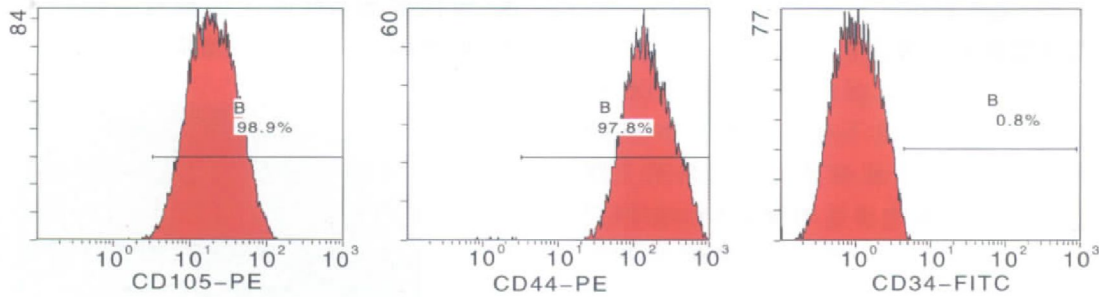


图 2. 流式细胞术测定人骨髓间充质干细胞的表面标志

Figure 2. Identifying the immunophenotype of cell surface in hMSC by flow cytometry

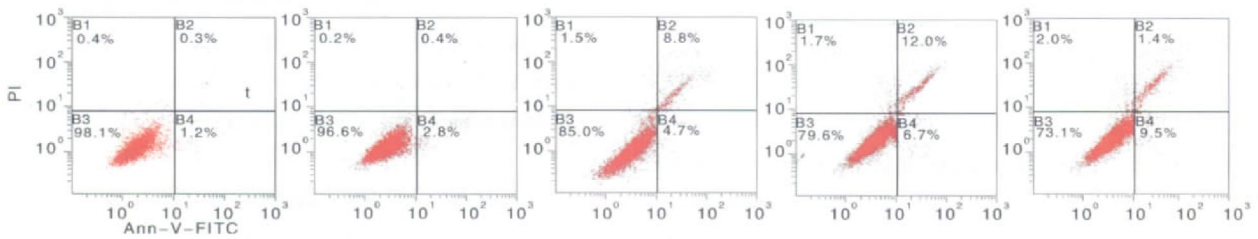


图 3. 流式细胞仪检测骨髓间充质干细胞凋亡

从左到右依次为正常对照组、BSA 对照组和 20、50、100 及 200 mg/L AGE-BSA 组。

Figure 3. Apoptotic rates of hMSC detected by flow cytometry

2.5 AGE 对细胞内活性氧产生的影响

随着 AGE 作用浓度 ($0、20、50、100$ 和 200 mg/L) 的增加,细胞内活性氧强度亦逐渐增加,差异有统计学意义 ($P < 0.01$; 表 2 和图 4)。

表 2. 活性氧平均荧光强度的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2. Comparison of ROS in different groups

分 组	ROS
阴性对照组	5.62 ± 2.19^a
阳性对照组	121.45 ± 3.06^a
正常对照组	19.30 ± 3.01
BSA 对照组	21.53 ± 2.86
20 mg/L AGE-BSA 组	54.20 ± 2.09^a
50 mg/L AGE-BSA 组	84.63 ± 2.86^b
100 mg/L AGE-BSA 组	95.60 ± 3.02^c
200 mg/L AGE-BSA 组	101.65 ± 3.89^d

a 为 $P < 0.05$, 与正常对照组和 BSA 对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 20 mg/L AGE-BSA 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 50 mg/L AGE-BSA 组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 100 mg/L AGE-BSA 组比较。

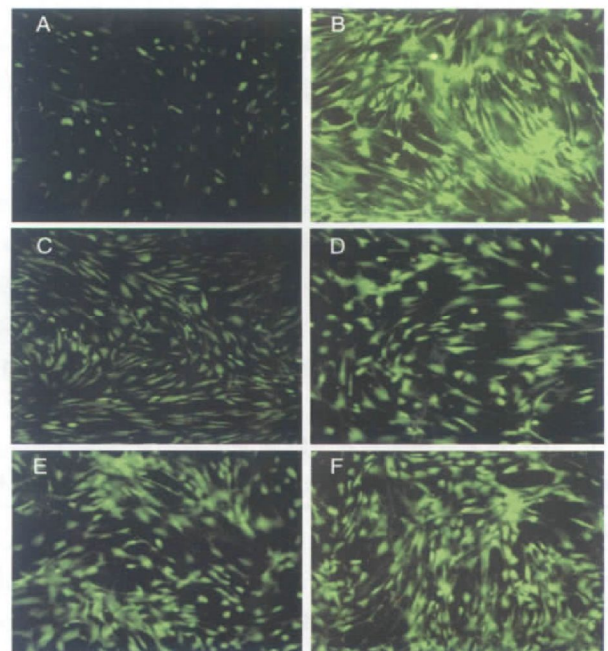


图 4. 荧光显微镜观察各组细胞内活性氧的荧光强度

A 为正常对照组、B 为阳性对照组, C ~ F 分别为 20、50、100 及 200 mg/L AGE-BSA 组。

Figure 4. ROS fluorescence intensity under fluorescent microscopy in different groups

2.6 AGE 对骨髓间充质干细胞超氧化物歧化酶活性及丙二醛含量的影响

与正常对照组相比,BSA 对照组细胞匀浆中 SOD 的活性和 MDA 含量差异无统计学意义,而不同浓度 AGE-BSA 作用后,细胞匀浆中 SOD 活性随药物浓度的增高而降低,MDA 含量则随药物浓度增高而增高,差异有统计学意义($P < 0.05$;表 3)。

表 3. 超氧化物歧化酶活性及丙二醛含量($\bar{x} \pm s, n=6$)

分 组	SOD(kU/L)	MDA [$\mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{g})$]
正常对照组	36.51 \pm 1.05	5.60 \pm 0.23
BSA 对照组	35.85 \pm 1.01	6.06 \pm 0.14
20 mg/L AGE-BSA 组	30.76 \pm 0.79 ^a	7.83 \pm 0.17 ^a
50 mg/L AGE-BSA 组	28.16 \pm 1.05 ^b	10.47 \pm 0.26 ^b
100 mg/L AGE-BSA 组	25.82 \pm 0.86 ^c	13.59 \pm 0.32 ^c
200 mg/L AGE-BSA 组	23.17 \pm 1.04 ^d	15.82 \pm 0.19 ^d

a 为 $P < 0.05$,与正常对照组和 BSA 对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与 20 mg/L AGE-BSA 组比较;c 为 $P < 0.05$,与 50 mg/L AGE-BSA 组比较;d 为 $P < 0.05$,与 100 mg/L AGE-BSA 组比较。

3 讨 论

MSC 是一种从骨髓中分离获得的成体干细胞,具有易于获取、分离方便、多向分化潜能和无免疫反应等特点,在细胞移植和基因治疗方面具有良好的应用前景。近年来,基础研究发现,MSC 可以在心肌微环境中分化为心肌细胞和血管内皮细胞^[7]。同时它们可以释放促进血管生成和抗凋亡的因子,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、肝细胞生长因子(hepatic growth factor, HGF)和胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF-1)等,从而激活内源性的修复机制^[8]。在缺血性心脏病和扩张型心肌病的大鼠模型中也发现,MSC 移植能够抑制心肌纤维化、降低基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP-2 和 MMP-9)的表达。因此,骨髓干细胞移植治疗心血管疾病已成为当今研究热点^[9,10]。

MSC 移植在改善糖尿病心肌病心脏功能和血管新生方面具有巨大潜力。然而,治疗效果却被移植后细胞的低存活率大大限制。因此,移植后细胞的存活成了细胞治疗成败的关键。我们需要寻找到那些将会抑制糖尿病心肌病微环境中供体细胞存活的因素,以及他们是如何引起细胞凋亡的,从而解决

困扰我们的问题。移植到糖尿病心肌病患者体内后,MSC 面对着一个引起细胞损伤和凋亡的多因素复杂微环境,其中,氧化应激是一个重要影响因素。

AGE 是蛋白质、脂质或核酸等大分子在没有酶参与的条件自发地与葡萄糖或其他还原单糖反应所生成的稳定的共价化合物。在糖尿病患者体内,慢性高血糖加速了糖和蛋白质之间的反应,导致 AGE 的形成,并且与许多大分子化合物形成不可逆的交联。这些 AGE 以极快的速度在组织间积聚,参与多种慢性并发症的发生。在糖尿病患者中,AGE 不但可以硬化胶原蛋白骨干结构,而且可以与不同细胞表面的 AGE 受体(RAGE)结合,刺激成纤维生长因子释放,促进胶原蛋白的沉积,增加炎症反应,引起氧化应激,最终导致组织纤维化^[11,12]。

Kume 等^[13]研究认为,体外制备的 AGE 与 MSC 共同培养的过程中会对细胞增殖和凋亡状况产生一定程度的影响,其作用是通过 RAGE 介导的。表明 AGE 作为糖尿病患者体内的病理微环境有可能通过 RAGE 对 MSC 产生影响。

本研究选取不同浓度的晚期糖基化终产物牛血清白蛋白(AGE-BSA)作为细胞生存的病理微环境,并以 100 mg/L 牛血清白蛋白作用组为对照,利用全骨髓法体外分离培养 hMSC,不断传代纯化后,对贴壁的 MSC 用流式细胞术鉴定其细胞表型,并且观察 MSC 在药物作用 24 h 后的增殖、凋亡状况及细胞内 ROS 产生量、SOD 活性和 MDA 含量的变化。研究发现,与正常对照组相比,20、50、100 和 200 mg/L AGE-BSA 均不同程度地抑制 MSC 的增殖,且随着浓度的增加,抑制作用更加明显;同时,20、50、100 和 200 mg/L AGE-BSA 具有促进 MSC 凋亡的作用,随着药物作用浓度的增加,凋亡率明显增大,两者均呈剂量依赖性变化。随着 AGE 作用浓度的增加,细胞内活性氧含量及 MDA 含量明显增加,而细胞匀浆中抗氧化酶 SOD 的活性却受到了抑制,同样具有剂量依赖效应。

综上所述,AGE 可以通过促进 MSC 内活性氧生成、减少抗氧化酶生成,增强氧化应激,抑制细胞增殖,促进细胞凋亡。糖尿病病理微环境对 MSC 生存的抑制作用是通过氧化应激诱导细胞凋亡产生的。这为今后减少移植后供体干细胞的损伤、提高干细胞移植治疗心肌疾病的疗效提供了新的依据。

[参考文献]

- [1] Zhang N, Li JH, Wang JA, et al. The effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on diabetic car-

- diomyopathy [J]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2008, 36 (12) : 1 115-119.
- [2] Miyahara Y, Nagaya N, Kataoka M, et al. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction [J]. *Nat Med*, 2006, 12 (4) : 459-465.
- [3] Wang JS, Shum-Tim D, Chedrawy E, et al. The coronary delivery of marrow stromal cells for myocardial regeneration: pathophysiologic and therapeutic implications [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001, 122 (4) : 699-705.
- [4] Saito T, Kuang JQ, Lin CC, et al. Transcoronary implantation of bone marrow stromal cells ameliorates cardiac function after myocardial infarction [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, 126 (1) : 114-123.
- [5] Yamagishi S. Advanced glycation end products and receptor-oxidative stress system in diabetic vascular complications [J]. *Ther Apher Dial*, 2009, 13 (6) : 534-539.
- [6] Ma H, Li SY, Xu P, et al. Advanced glycation end product (AGE) accumulation and AGE receptor (RAGE) up-regulation contribute to the onset of diabetic cardiomyopathy [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13 (8B) : 1 751-764.
- [7] Chen SL, Fang WW, Ye F, et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction [J]. *Am J Cardiol*, 2004, 94 (1) : 92-95.
- [8] Tang YL, Zhao Q, Zhang YC, et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium [J]. *Regul Pept*, 2004, 117 (1) : 3-10.
- [9] 黎健. 干细胞移植治疗心肌梗死 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, 13 (1) : 1-4.
- [10] 武晓静, 黄岚. 骨髓成体干细胞在心血管疾病细胞替代治疗中的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, 13 (4) : 649-652.
- [11] Cooper ME. Importance of advanced glycation end products in diabetes-associated cardiovascular and renal disease [J]. *Am J Hypertens*, 2004, 17 (12 Pt 2) : 31S-38S.
- [12] 郑超, 文格波. 晚期糖化终产物在糖尿病血管并发症中的致病机制 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2000, 8 (3) : 270-272.
- [13] Kume S, Kato S, Yamagishi S, et al. Advanced glycation end-products attenuate human mesenchymal stem cells and prevent cognate differentiation into adipose tissue, cartilage, and bone [J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20 (9) : 1 647-658.
- (此文编辑 许雪梅)