

[文章编号] 1007-3949(2011)19-08-0675-05

• 实验研究 •

## 人外周血、脐血、脂肪组织来源的内皮祖细胞部分生物学特性比较

周秀娟<sup>1</sup>, 闫醒军<sup>2</sup>, 何延政<sup>3</sup>, 刘勇<sup>3</sup>, 施森<sup>3</sup>, 江隽<sup>3</sup>

(1. 雅安市人民医院普外科, 四川省雅安市 625000 2. 唐山市工人医院心脏血管外科, 河北省唐山市 063000  
3. 泸州医学院附属医院血管外科, 四川省泸州市 646000)

[关键词] 外周血; 脐血; 脂肪组织; 内皮祖细胞; 生物学特性

[摘要] 目的 研究人外周血、脐血和脂肪组织三种不同来源内皮祖细胞部分生物学特性异同, 探讨其可能不同的适应范围和方式及方法, 进而为提高内皮祖细胞的应用效率提供依据。方法 采用密度梯度离心法分离人外周血、脐血单个核细胞, 胰蛋白酶消化提取脂肪组织干细胞。所采集细胞诱导分化, 观察细胞形态, 对培养第 7 天的细胞进行鉴定。采用 MTT 法检测细胞增殖, Boyden 小室检测细胞迁移能力, 贴壁法检测细胞黏附功能以及血管生成试剂盒检测细胞体外成血管能力。结果 诱导分化细胞均证实为内皮祖细胞。脐血源性内皮祖细胞增殖、迁移、黏附、成血管能力最强 ( $P < 0.05$ )。脂肪组织来源内皮祖细胞增殖与成血管能力方面较外周血来源内皮祖细胞强 ( $P < 0.05$ )。结论 人脐血内皮祖细胞可能更适用于同种异体干细胞移植, 脂肪组织来源内皮祖细胞可能在自体干细胞移植治疗缺血性疾病方面有潜在应用前景。

[中图分类号] R6

[文献标识码] A

### Study on Some Biological Characteristics of Endothelial Progenitor Cells from Human Peripheral Blood, Umbilical Cord Blood and Adipose Tissue

ZHOU Xiu-Juan<sup>1</sup>, YAN Xing-Jun<sup>2</sup>, HE Yan-Zheng<sup>3</sup>, LIU Yong<sup>3</sup>, SHI Sen<sup>3</sup>, and JIANG Juan<sup>3</sup>

(1 Department of General Surgery, Yaan People's Hospital, Yaan, Sichuan 625000 China; 2 Department of Cardiovascular Surgery, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan, Hebei 063000 China; 3 Department of Vascular Surgery, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000 China)

[KEY WORDS] Peripheral Blood; Umbilical Cord Blood; Adipose Tissue; Endothelial Progenitor Cells; Biological Characteristics

[ABSTRACT] **Aim** To investigate some biological characteristics of similarities and differences of endothelial progenitor cells from human peripheral blood, umbilical cord blood and adipose tissue and provide the evidences for efficacious applications of endothelial progenitor cells on different adaptive scopes, ways and methods. **Methods** Mononuclear cells were isolated from umbilical cord blood and adult peripheral blood using a Ficoll Hypaque density gradient centrifugation. Adipose tissue-derived stem cells were isolated from the adipose tissue by trypsin digestion. The collected cells were cultured. The cell morphology was observed and the cultured cells were identified at the seventh day. The proliferation and migration of endothelial progenitor cells were measured by MTT and Boyden chamber assay. The adhesion function and vasculogenesis activity in vitro of endothelial progenitor cells were analyzed by adhesion assay and in vitro vasculogenesis kit. **Results** All differentiation cells were identified as endothelial progenitor cells. Endothelial progenitor cells from umbilical cord blood were revealed superior in proliferation, migration, adhesion and vasculogenesis activity ( $P < 0.05$ ). The proliferation and vasculogenesis activity of endothelial progenitor cells from adipose tissue were more powerful than those of endothelial progenitor cells from adult peripheral blood ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Endothelial progenitor cells from umbilical cord blood may be more suitable for allogeneic stem cell transplantation. Endothelial progenitor cells

[收稿日期] 2010-11-18

[作者简介] 周秀娟, 硕士, 医师, 研究方向为周围血管外科的基础与临床, Email为 han199@163.com。闫醒军, 硕士, 主治医师, 研究方向为周围血管外科的基础与临床, Email为 tsyxjts@163.com。通讯作者何延政, 博士, 主任医师, 研究方向为周围血管外科的基础与临床, Email为 heyazheng@163.com。

from adipose tissue may exhibit potential applications in autologous stem cell transplantation for ischemic disease

内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPC) 是一类能循环、增殖并分化为血管内皮细胞的前体细胞。1997年, Asahara等<sup>[1]</sup>证实 EPC 存在于成人外周血, 首次在血管新生领域引入了干细胞的概念。随后相继研究发现骨髓、脐血、脂肪组织中有 EPC 的存在。外周血采集方便, 自体移植无排斥反应; 脐血采集方便, 干细胞数量丰富; 脂肪组织体内含量丰富, 易于获取, 且可重复采集, 因此这类 EPC 在血管新生领域可能有潜在应用前景。但这些研究多侧重于获取难易或理论推测, 未进行系统的生物学特性的比较研究。本实验对人外周血、脐血、脂肪组织来源 EPC 部分生物学特性进行了比较研究, 进而为其可能不同的临床应用范围和方式及方法提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 标本的采集

实验标本采自 10 例正常足月剖宫产孕妇 (无妊高征、糖尿病), 均通过知情同意。术前通过静脉留置针采集外周血 20 mL, 术中胎儿娩出、胎盘剥离后采集脐血 20 mL 与腹部皮下脂肪组织约 10 g。

### 1.2 主要实验试剂

M 199 培养基和胰蛋白酶均购自 Sigma 公司。血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor VEGF) 购自 Peprotech 公司。碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor bFGF) 购自 Prinogene 公司。FITC 标记兔抗人 CD133 抗体购自北京博奥森生物技术有限公司。PC5 标记鼠抗人 CD34 单克隆抗体购自 Beckman Coulter 公司。FITC 标记荆豆凝集素 I (ulex europaeus agglutinin-I, UEA-I) 购自 Sigma 公司。Dil 标记的乙酰化低密度脂蛋白 (acetylated low-density lipoprotein, ac-LDL) 购自 Molecular Probe 公司。鼠尾胶原购自杭州生友生物技术有限公司。Boyden 小室购自江苏海门麒麟医用仪器厂。体外血管生成试剂盒购自 Chemicon 公司。

### 1.3 细胞的分离

外周血、脐血单个核细胞的分离: 外周血 20 mL 加等量 M 199 基础培养基稀释混匀; 脐血 20 mL, 用 M 199 基础培养基 6 倍稀释混匀。分别按 2:1 比例轻轻滴加到人淋巴细胞分离液上, 2 500 r/min 离心 25 min, 小心吸取中间白膜层单个核细胞, 加入 5 倍体积 PBS, 1 kr/min 离心 10 min, 洗涤 2 次, 得外周

血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PB-MNC)、脐血单个核细胞 (umbilical cord blood mononuclear cells, UCB-MNC)。

脂肪组织间充质干细胞的分离: 脂肪组织置培养皿剪小块, PBS 充分漂洗剪碎, 加入 0.25% 胰蛋白酶 30 mL, 37°C 恒温磁力搅拌消化 30 min, 用含 10% 胎牛血清的 M 199 基础培养基终止消化, 200 目不锈钢滤网过滤除去未消化组织, 1 500 r/min 离心 10 min, 弃上清, 加入 5 倍体积 PBS, 1 kr/min 离心 10 min, 弃上清, 得脂肪组织间充质干细胞 (adipose tissue-derived stem cells, ADSC)。

### 1.4 细胞的培养

M 199 培养基 (含 20% 胎牛血清、VEGF 20  $\mu$ g/L, bFGF 4  $\mu$ g/L, 青霉素 100 ku/L, 链霉素 100 ku/L) 重悬 PB-MNC、UCB-MNC、ADSC 并计数, 调整细胞密度以  $5 \times 10^8$  个/L 接种在鼠尾胶原包被的 24 孔培养板上 (其中两孔置有载玻片)。置于 5% CO<sub>2</sub>、37°C 饱和湿度恒温培养箱中培养 4 天换液, PBS 洗掉非贴壁细胞, 培养至第 7 天。观察细胞形态、增殖分化情况。

### 1.5 细胞的鉴定

取培养第 7 天爬片细胞 4% 多聚甲醛固定 20 min, 加入 FITC 标记兔抗人 CD133 抗体 (1:50 倍稀释)。放入湿盒 37°C 孵育 1 h, 荧光显微镜下观察。同时将爬片细胞在含 2.4 mg/L Dil 标记的 ac-LDL 的培养基中 37°C 孵育 1 h, 4% 多聚甲醛固定, 再与 FITC 标记的 UEA-I (10 mg/L) 37°C 孵育 1 h 封片。激光共聚焦显微镜下观察, 显示红色荧光的细胞为 ac-LDL 阳性, 显示绿色荧光的细胞为 UEA-I 阳性, 显示双染橙黄色阳性细胞被认为是正在分化的 EPC。

取部分培养第 7 天细胞 PBS 重悬, 调整细胞密度达  $5 \times 10^9$  个/L, 行流式细胞仪检测。将 100  $\mu$ L 细胞悬液与 PC5 标记的 CD34 单克隆抗体 10  $\mu$ L 在 4°C 孵育 30 min 后, 500  $\mu$ L PBS 悬浮细胞后上机检测。同时 PC5 标记的单克隆抗体作阴性对照。

### 1.6 内皮祖细胞的增殖、黏附、迁移、成血管能力检测

用培养基重悬培养第 7 天细胞, 调整密度为  $5 \times 10^8$  个/L, 取 100  $\mu$ L 接种于包被鼠尾胶原的 96 孔板, 以不加细胞的培养基为空白对照, 置 5% CO<sub>2</sub>、37°C 饱和湿度恒温培养箱中孵育 12 h, 每孔加入 1 g/L MTT 溶液 10  $\mu$ L, 继续孵育 4 h 后弃上清液, 加入二甲基亚砜 150  $\mu$ L/孔, 置微量震荡器上震荡

10 min, 在酶标仪上选择 490 nm 为测定波长, 测定吸光度值。取相同密度的细胞悬液 100  $\mu$ L 接种在包被有鼠尾胶原的 96 孔板, 在 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度条件下孵育 12 h, 吸除未黏附细胞和培养基, 在倒置相差显微镜下每孔随机选择 3 个视野计数贴壁细胞, 取平均值。取 200  $\mu$ L 培养基 (含 VEGF 50  $\mu$ g/L) 加入改良的 Boyden 小室的下室, 取相同密度的细胞悬液 200  $\mu$ L 注入上室, 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度条件下孵育 24 h 刮去滤膜上面的未移动细胞, 用甲醇固定, Giemsa 瑞氏染色, 随机选择 3 个视野 ( $\times$  200) 计数迁移到低层的细胞, 取平均值。将 ECM atrix 凝胶溶液和 10  $\times$  ECM atrix 缓冲稀释液置 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜冻融, 在冰上取 100  $\mu$ L 的 10XECM atrix 缓冲稀释液加入到 900  $\mu$ L 的 ECM atrix 凝胶溶液中, 缓慢混匀, 注意避免产生气泡。将上述溶液加入预冷的 96 孔板中, 每孔 50  $\mu$ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h 成胶。取相同密度细胞悬液 100  $\mu$ L 接种于 ECM atrix 胶上。置 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度条件下培养 12 h 倒置相差显微镜下观察小 (血) 管生成情况, 随机选择 3 个视野计数, 取平均值 (细胞拉长变形, 长度为宽度的 4

倍以上被认为形成小管)。

## 1.7 统计分析

生物学特性数据资料均换算为相同数目 EPC 比较 (原始数据 / 相应组细胞 CD34 阳性率), 用  $\bar{x} \pm s$  表示; 采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析和 *q* 检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 细胞的形态学观察

刚分离的单个核细胞, 小圆形, 悬浮于培养基中, 3~4 天后可见细胞拉长, 贴壁生长。5 天出现纺锤形贴壁细胞, 伴集落形成, 形成多个细胞簇。7 天细胞增多, 可见线样排列。脐血单个核细胞培养 7 天部分出现鹅卵石样改变。

刚分离的脂肪组织间充质干细胞呈小圆形, 形态不一。接种培养 24~48 h 后, 可见贴壁细胞。48 h 后贴壁细胞伸展, 5 天细胞逐渐增多, 细胞渐汇合形成细胞簇。7 天可见部分细胞首尾连接线样排列 (图 1)。

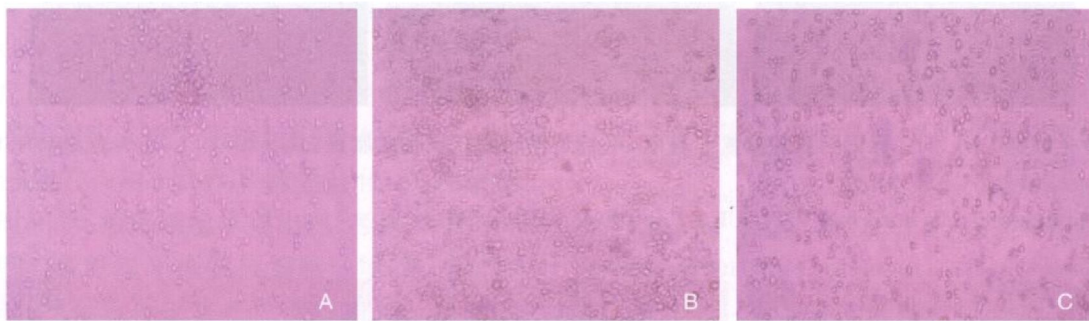


图 1 培养第 7 天细胞形态特征 ( $\times 100$ ) A 为 PB-MNC 培养 7 天形成细胞簇; B 为 UCB-MNC 培养 7 天出现鹅卵石样改变, C 为 ADSC 培养 7 天形成细胞簇。

Figure 1 The cell morphological characteristics were observed at the cultured seventh day ( $\times 100$ )

### 2.2 细胞的鉴定

外周血、脐血单个核细胞、脂肪组织间充质干细胞原代培养第 7 天爬片细胞荧光显微镜检测均可见绿色荧光, CD133 阳性染色 (图 2)。激光共聚焦显微镜检测细胞摄取 Dil-ac-LDL 与吸附 FITC-UEA-I 后, 均可见橙黄色双染阳性细胞, 证实其为正在分化的 EPC (图 3)。流式细胞仪检测细胞 CD34 阳性率, 分别为 44.9%  $\pm$  4.9%、72.7%  $\pm$  4.6% 和 48.7%  $\pm$  5.3%。脐血源性 EPC 高于外周血与脂肪组织源性 EPC ( $P < 0.01$ )。

### 2.3 内皮祖细胞的增殖、迁移、黏附和成血管能力检测

脐血 EPC 增殖能力较外周血、脂肪组织来源

EPC 强, 分别为 0.775  $\pm$  0.083 比 0.619  $\pm$  0.079 ( $P < 0.01$ ), 0.775  $\pm$  0.083 比 0.693  $\pm$  0.053 ( $P < 0.05$ )。且脂肪组织源性 EPC 增殖能力比外周血 EPC 强 0.693  $\pm$  0.053 比 0.619  $\pm$  0.079 ( $P < 0.05$ )。通过 Boyden 小室检测, 发现脐血 EPC 迁移能力比外周血、脂肪组织来源 EPC 强, 分别为 53.53  $\pm$  10.46 比 37.70  $\pm$  9.83 ( $P < 0.01$ )、53.53  $\pm$  10.46 比 34.04  $\pm$  12.72 ( $P < 0.01$ )。而外周血 EPC 与脂肪组织源性 EPC 迁移能力差异无统计学意义。脐血 EPC 黏附能力强于外周血 EPC 83.85  $\pm$  10.39 比 71.86  $\pm$  13.66 ( $P < 0.05$ ); 脂肪组织源性 EPC 为 69.39  $\pm$  13.63 与外周血 EPC 黏附能力差异无统计学意义。诱导分化细胞以相同密度接种于 ECM atrix



凝胶上, 12 h后细胞拉长, 成出芽式生长, 形成管状树枝样分叉结构(图 4)。计数小管生成情况, 发现脐血 EPC 成血管能力强于脂肪组织源性 EPC ( $93.09 \pm 12.04$ 比  $77.74 \pm 6.86$   $P < 0.01$ ), 同时脂肪组织源性 EPC 成血管能力也强于外周血 EPC ( $77.74 \pm 6.86$ 比  $63.84 \pm 7.13$   $P < 0.01$ ; 表 1)。

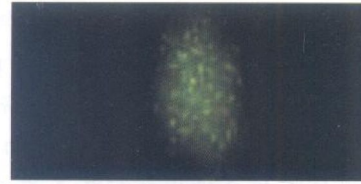


图 2 诱导分化细胞 CD133阳性 (×200)  
Figure 2 Induced differentiated cell(×200)

表 1. 人脐血、外周血和脂肪组织来源的内皮祖细胞部分生物学特性分析 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 1 The biological characteristics analysis of endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood peripheral blood and adipose tissue

分 组	增殖 (A = 490 nm)	黏附	迁移	成血管能力
UCB-EPC	$0.775 \pm 0.083$	$83.85 \pm 10.39$	$53.53 \pm 10.46$	$93.09 \pm 12.04$
PB-EPC	$0.619 \pm 0.079^b$	$71.86 \pm 13.66^a$	$37.70 \pm 9.83^b$	$63.84 \pm 7.13^b$
AT-EPC	$0.693 \pm 0.053^a$	$69.39 \pm 13.63^a$	$34.04 \pm 12.72^b$	$77.74 \pm 6.86^b$

a为  $P < 0.05$ , b为  $P < 0.01$ , 均与 UCB-EPC 比较。

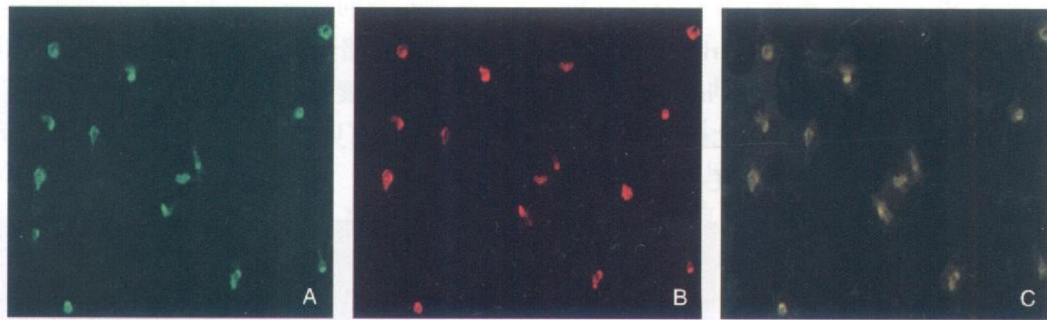


图 3. 诱导分化细胞吸附 FITC 标记荆豆凝集素 I、摄取 Dil 标记的乙酰化低密度脂蛋白 (×200) A 为吸附 FITC-UEA-I 阳性, B 为摄取 Dil-ac-LDL 阳性, C 为双染阳性。

Figure 3. The induced cells adsorbed FITC-UEA-I or Dil-ac-LDL (×200)

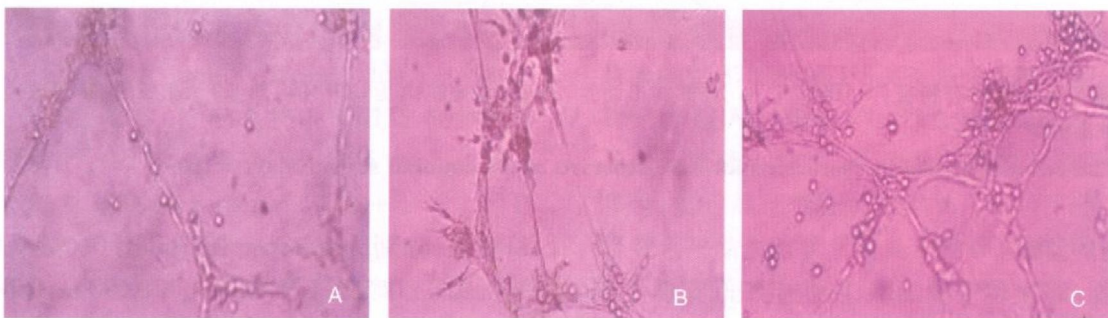


图 4. 不同源性内皮祖细胞体外成血管能力情况 (×200) A 为 PB-EPC 接种 12 h 成出芽生长, 首尾相连; B 为 UCB-EPC 接种 12 h 呈树枝状出芽生长, 连成网状; C 为 AT-EPC 接种 12 h 呈毛细管状结构。

Figure 4. Vasculogenesis activity in vitro of endothelial progenitor cells from non-homology (×200)

### 3 讨 论

随着生活方式的改变和人口老龄化进程的加速, 缺血性疾病成为严重影响人类生活质量的一类疾病。研究发现 EPC 在某些细胞因子的刺激下能迁移到缺血区域增殖分化成内皮细胞, 参与形成血管网, 为缺血性疾病的治疗提供了新思路。给周围

动脉硬化闭塞症患者输注自体外周血 EPC, 3 个月后其无痛行走距离与踝肱指数均增加, 提示自体外周血 EPC 移植治疗缺血性疾病的安全性和有效性<sup>[2]</sup>。脐血中含丰富的 EPC, 给鼠心肌缺血模型输注人脐血源性 EPC, 一个月后实验组左心室收缩功能显著提高, 且在心肌梗死区域发现移植细胞<sup>[3]</sup>。Finney 等<sup>[4]</sup>通过体内外实验表明脐血源性 EPC 成

血管能力强于骨髓源性 EPC。脂肪组织中存在容易获取的基质,其中的间充质干细胞同骨髓干细胞一样具有多向分化潜能。张端珍等<sup>[5]</sup>对脂肪干细胞体外分化为内皮细胞的可行性进行了探讨,证实脂肪干细胞经一定条件的诱导能分化成内皮细胞。移植脂肪组织间充质干细胞到鼠后肢缺血模型,发现这些细胞能促进缺血区域血管发生,对其成血管分化能力进行了肯定,使之应用于缺血性疾病的治疗得到认识<sup>[6,7]</sup>。

随着对 EPC 在缺血性疾病治疗的进一步研究,寻求一种合适来源的 EPC,充分利用其生物学特性,提高治疗效率,减轻不良反应,可为临床有效应用提供理论基础。本实验对人脐血、外周血密度梯度离心分离单个核细胞结合内皮祖细胞培养基(含 VEGF、bFGF)诱导分化,检测到诱导分化第 7 天细胞表达 CD34、CD133 相关标记且能够吸附凝集素、摄取低密度脂蛋白;诱导分化的细胞通过体外血管生成试剂盒形成血管网状结构。结合细胞形态观察及表面标记和特性证实其诱导分化的细胞为内皮祖细胞。流式细胞仪检测发现,脐血单个核细胞在生长因子诱导分化相同条件下内皮祖细胞数量高于外周血,提示脐血中 EPC 含量丰富,证实了其在干细胞移植治疗缺血性疾病可能有潜在应用前景。本实验还对手术获取的人皮下脂肪组织消化、离心,对其间充质干细胞在 VEGF、bFGF 诱导分化下,观察到细胞贴壁时间早,梭形细胞早期出现,考虑其中部分为内皮细胞与成纤维平滑肌样细胞。培养 7 天,梭形细胞增多,部分细胞首尾相连线样排列。通过表面标记检测其 CD34<sup>+</sup>/CD133<sup>+</sup>,且能够吸附凝集素、摄取低密度脂蛋白;在体外血管生成试剂盒中形成与脐血、外周血源性 EPC 相似的血管网状结构,具备 EPC 的特性。经流式细胞仪检测,其 CD34 阳性细胞率为 48.7% ± 5.3%,提示脂肪组织间充质干细胞能够诱导分化出丰富的 EPC,为采集脂肪组织源性 EPC 应用于缺血性疾病治疗的可行性提供了理论依据。

同时本实验通过对人外周血、脐血以及脂肪组织三种不同来源 EPC 部分生物学特性比较分析,表明脐血 EPC 在增殖、黏附、迁移及体外成血管能力方面均有明显优势。鉴于正常分娩产妇的胎盘与脐带都是 EPC 良好的来源,其数量丰富,冻存后细胞生物学特性受影响较小<sup>[8]</sup>;且脐血中干细胞处于较

幼稚阶段,其干细胞表面抗原标记较弱,对同种异基因移植配型要求降低。而外周血 EPC 移植虽无排斥反应,但易受病理状态(如糖尿病、高脂血症、高胆固醇血症等)影响<sup>[9]</sup>,而缺血性疾病患者多合并以上病理状态。因而我们认为在治疗缺血性疾病同种异体干细胞移植时,更宜于用脐血 EPC。同时本实验结果还提示脂肪组织来源 EPC 较外周血 EPC 具有更强的增殖、体外成血管能力。鉴于脂肪组织体内含量丰富,又可反复获取的特性,因而本实验认为脂肪组织来源 EPC 在自体干细胞移植治疗缺血性疾病可能较循环 EPC 更具优势。总之,随着对缺血性疾病干细胞治疗的进一步研究,相信会找到一种最佳源性 EPC 来满足临床治疗的需要,或是综合应用不同源性 EPC 来满足缺血性疾病的治疗,提高缺血性疾病患者的生活质量。

#### [参考文献]

- [1] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. Science 1997, 275 (5 302): 964-967.
- [2] Lenk K, Adams V, Lurz P, et al Therapeutical potential of blood-derived progenitor cells in patients with peripheral arterial occlusive disease and critical limb ischaemia [J]. Eur Heart J 2005, 26(18): 1 903-909.
- [3] Leor J, Guetta E, Feinberg MS, et al Human umbilical cord blood-derived CD133+ cells enhance function and repair of the infarcted myocardium [J]. Stem Cells 2006, 24(3): 772-780.
- [4] Finney MR, Fanning LR, Joseph ME, et al Umbilical cord blood-selected CD133(+) cells exhibit vasculogenic functionality in vitro and in vivo [J]. Cytotherapy 2010, 12(1): 67-78.
- [5] 张端珍, 盖鲁粤, 刘宏伟, 等. 脂肪干细胞体外分化为内皮细胞的可行性 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(34): 14-17.
- [6] Moon MH, Kim SY, Kim YJ, et al Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve postnatal neovascularization in a mouse model of hind limb ischemia [J]. Cell Physiol Biochem, 2006, 17(5-6): 279-290.
- [7] Sumi M, Sata M, Toya N, et al Transplantation of adipose stromal cells but not mature adipocytes augments ischemia-induced angiogenesis [J]. Life Sci 2007, 80(6): 559-565.
- [8] Vanneaux V, ElAyoubi F, Delnau C, et al In vitro and in vivo analysis of endothelial progenitor cells from cryopreserved umbilical cord blood are we ready for clinical application [J]. Cell Transplant 2010, 19(9): 1 143-155.
- [9] 朱军慧, 王兴祥, 陈君柱, 等. 高胆固醇对内皮祖细胞数量和功能的影响 [J]. 中华内科杂志, 2004, 43(4): 261-264.

(此文编辑 李小玲)