

外周血两种不同类型内皮祖细胞与颈动脉狭窄的关系

何国厚¹, 张红梅², 张晓东¹, 刘培³, 丁立¹

(湖北医药学院附属太和医院 1. 神经内科, 2. 呼吸内科, 3. 重症医学科, 湖北省十堰市 442000)

[关键词] 早期内皮祖细胞; 晚期内皮祖细胞; 颈动脉狭窄

[摘要] **目的** 探讨外周血中早期内皮祖细胞和晚期内皮祖细胞数量和功能变化与颈动脉狭窄程度之间的关系。**方法** 入组对象 60 例, 根据全脑血管造影术分成颈动脉狭窄组 40 例(其中轻度狭窄组 20 例, 中重度狭窄组 20 例), 对照组 20 例。在全脑血管造影术中抽取患者股动脉血, 采用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞, 分别培养至 7 天和 21 天鉴定为早期内皮祖细胞、晚期内皮祖细胞, 计数细胞集落数量并分别用 MTT 比色法、改良的 Boyden 小室法和 HFN 培养板测定早期内皮祖细胞、晚期内皮祖细胞的增值、迁移、黏附功能。**结果** 颈动脉狭窄组患者吸烟、高血压、甘油三酯、低密度脂蛋白明显高于对照组, 高密度脂蛋白低于对照组($P < 0.05$); 而年龄、性别、血糖、总胆固醇与对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。与对照组比较, 颈动脉狭窄组外周血早期内皮祖细胞、晚期内皮祖细胞数量及功能均下降($P < 0.05$), 晚期内皮祖细胞数量与功能改变与颈动脉狭窄程度呈负相关($P < 0.05$)。**结论** 颈动脉狭窄患者外周血晚期内皮祖细胞数量减少, 功能受损, 其数量与功能变化与颈动脉狭窄程度呈负相关。对于颈动脉狭窄患者, 检测晚期内皮祖细胞数量及功能可间接预测颈动脉狭窄严重程度。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Relationship Study Between Two Types of Endothelial Progenitor Cells in Peripheral Blood and the Cerebral Vascular Stenosis

HE Guo-Hou¹, ZHANG Hong-Mei², ZHANG Xiao-Dong¹, LIU Pei³, and DING Li¹

(1. Department of Neurology Medicine, 2. Department of Respiratory Medicine, 3. Department of Intensive Care Unit Medicine, Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China)

[KEY WORDS] Early Endothelial Progenitor Cell; Late Endothelial Progenitor Cell; Carotid Artery Stenosis

[ABSTRACT] **Aim** To discuss the relationship between the number and function of early and late endothelial progenitor cell (EPC) in peripheral blood and the carotid stenosis (CS). **Methods** 60 cases were included into the group of objects, and divided into group of 40 patients with carotid artery stenosis (mild stenosis in 20 cases, severe stenosis in 20 cases), normal control group of 20 cases. The blood was extracted from the patients' femoral artery in the procedure of cerebrovascular digital subtraction angiography, mononuclear cells were isolated from peripheral blood by density-gradient centrifugation and were cultured for 7 days and 21 days to be identified as early endothelial progenitor cells and late endothelial progenitor cells, colony counting the number of early EPC and late EPC. Proliferation and migration were determined by MTT assay and modified Boyden. The two types of EPCs adhesion assay were performed by replating those on fibronectin-coated dishes, then adherent cells were counted. **Results** Smoking, high blood pressure and triglycerides, low density lipoprotein in carotid stenosis groups were significantly higher than those in the control group, high-density lipoprotein cholesterol (HDL) was lower than those of the control group ($P < 0.05$); the difference of age, sex, blood sugar, total cholesterol compared with controls, was not statistically significant ($P > 0.05$). Compared with controls, the number and function of early EPC, late EPC in carotid stenosis group was decreased, the number and function changes of late EPC were negatively correlated with the degree of cerebral stenosis ($P < 0.05$). **Conclusions** Decreased late EPC colonies amount and functional impairment can be observed in patients with carotid artery stenosis. The number and function changes of late EPC were negatively correlated with the degree of cerebral vascular stenosis. Detection of late EPC number and function can be indirect prediction of carotid stenosis severity.

[收稿日期] 2012-05-24

[基金项目] 湖北省自然科学基金项目(2011CDB131)

[作者简介] 何国厚, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事脑血管疾病研究, E-mail 为 taiheguo07@sina.com。通讯作者张红梅, 硕士, 主要从事脑血管疾病研究, E-mail 为 houyu791614@sina.com。张晓东, 硕士, 教授, 主要从事脑血管疾病研究。

颈动脉狭窄(carotid stenosis, CS)和闭塞导致的血流动力学变化或因小栓子脱落均可引起脑缺血症状^[1],严重威胁着人们的生命与健康。近年来随着人口老龄化及人们生活水平的提高,其发病率逐渐增加,发病趋势逐渐年轻化。研究表明,随着颈动脉硬化程度和狭窄程度的增加,缺血性脑血管病发生率亦随之增加^[2]。因此及早发现和治理颈动脉狭窄可以降低缺血性脑血管病的发生率。

内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)是一类能增殖并分化为血管内皮细胞、但尚未形成血管的前体细胞,在血管新生及修复中发挥着重要作用^[3]。自发现之日起,EPC就得到了众多研究者的关注,但不同研究者获得的EPC并不完全相同。尽管分离手段和培养方法不同,EPC异质性仍提示这种细胞可能包含不同的亚群。2004年韩国科学家Hur等^[4]报道了成人外周血中存在两种不同生物学特征的EPC,并将这两种外周血EPC命名为外周血早期EPC(early EPC)和晚期EPC(late EPC)。早期EPC与晚期EPC的发现具有十分深远的意义。它们在起源、生长、表型和参与内皮修复功能等方面均存在差异。由于研究的开放性和前沿性,目前对这两种细胞并没有一个结论性的共识。本研究通过体外培养早期EPC、晚期EPC,探讨外周血早期EPC与晚期EPC的生物学差别,并以颈动脉狭窄患者为研究对象,探讨外周血早期EPC与晚期EPC与颈动脉狭窄的关系;探讨哪一类EPC可以作为评估颈动脉狭窄程度的血清学指标,并为今后缺血性脑血管病的细胞治疗筛选理想的种子细胞提供理论依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2010年8月至2010年12月我院神经内科住院患者60例,根据全脑血管造影术分成颈动脉狭窄组40例(其中轻度狭窄组20例,中重度狭窄组20例)和对照组20例(同期在神经内科住院、经全脑血管造影术排除脑动脉狭窄患者),两组研究对象、性别相匹配。所有病例经头颅CT及MRI检查无新发出血灶和梗死灶。狭窄程度计算方法采用北美有症状的颈动脉内膜切除试验法(North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial, NASCET)^[5]:狭窄(%) = $(a - c) / a \times 100\%$, a为狭窄远、近端正常血管直径, c为最狭窄部位直径。其中30%~50%为轻度狭窄,50%~70%为中度狭窄,大于70%为

重度狭窄。本研究轻度狭窄组血管狭窄率 $<50\%$,中重度狭窄组血管狭窄率 $\geq 50\%$ 。所有入选对象均符合:(1)无肝肾功能不全;(2)无慢性消耗性疾病及感染性疾病;(3)无恶性肿瘤;(4)无自身免疫性疾病;(5)无消化吸收障碍;(6)无心房颤动,无心肌梗死;(7)无经常服用降压药物及他汀类药物史,未进行正规脑血管病的一级预防治疗;(8)无糖尿病病史。

以上所有研究对象试验前均被详细告知试验实施具体过程,并遵循知情同意原则,签订知情同意书;研究程序遵循世界医学协会赫尔辛基公告(2000年),并经过当地伦理委员会批准。

1.2 试剂及仪器

EGM培养液购于Lonza公司,CD34-PE、VEGFR2-PCP/CY5.5、FITC-CD14均购自BioLegend公司,Dil标记乙酰化低密度脂蛋白(Dil-acetylated low density lipoprotein, Dil-acLDL)、FITC-UEA-I均购自美国Vector公司,人纤维连接蛋白(human fibronectin, HFN)购自Chemicon公司,人淋巴细胞分离液购自天津灏洋公司,二苯基四氮唑溴盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)购自华美生物工程公司,1:250胰蛋白酶购自上海生物工程技术有限公司。流式细胞仪为美国BD公司产品,激光扫描共聚焦荧光显微镜为Germa公司产品。

1.3 单个核细胞分离及培养

所有入选对象行全脑血管造影术,术中经鞘管从股动脉抽取动脉血30 mL,肝素抗凝,严格无菌操作,将30 mL血液在无菌操作下平均分装于50 mL无菌离心管中。将PBS液置于常温,以1(血液):1(PBS液)的比例稀释,将淋巴细胞分离液15 mL加入到50 mL无菌离心管中;试管倾斜45度,将稀释的血液在距分层液界面上1 cm处沿试管壁缓慢加至分层液上面,经密度梯度离心法获得单个核细胞;用培养液调整细胞密度为 2×10^9 cells/L,将单个核细胞悬液接种在人纤维连接蛋白包被的24孔细胞培养板,置于37℃、5% CO₂培养箱中培养。

1.4 早期、晚期内皮祖细胞的培养及鉴定

采取密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,将其接种在人纤维连接蛋白包被的6孔细胞培养板,接种密度为每孔 6×10^6 个细胞,加用内皮细胞生长培养基,分别培养至7天和21天。收集贴壁细胞,光镜下观察细胞形态,用流式细胞仪鉴定细胞表型CD34、CD14、KDR的表达,激光共聚焦鉴定细胞摄取氧化性低密度脂蛋白及结合荆豆凝集素能力。

1.5 早期、晚期内皮祖细胞集落计数

细胞培养至 21 天后,在 40 倍倒置显微镜下随机选 4 个视野进行细胞计数,取平均值。

1.6 细胞增殖能力检测

用 0.25% 胰蛋白酶消化原代培养的贴壁细胞,用培养液配成单细胞悬液,调整细胞悬液浓度,将细胞密度调至 3×10^8 cells/L。以每孔 10^4 个细胞接种到 96 孔板中,培养 48 h 后应用 MTT 法检测增殖能力。

1.7 细胞粘附能力检测

用 0.25% 胰蛋白酶消化、贴壁细胞,悬浮于 500 μ L 培养液,计数,然后将同等数目的 EPC 铺在包被有 HFN 培养板,在 37°C 培养 30 min,在 200 倍视野下计数贴壁细胞。

1.8 细胞迁移能力检测

如上贴壁细胞并计数。将 25 μ L 培养液和 50 μ g/L 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)加入改良的 Boyden 小室的下室,将 2×10^4 个 EPC 悬浮在 50 μ L 培养液,注入上室,培养 24 h,刮去滤膜上面的未移动细胞,用甲醇固定, Giemsa 染色,随机选择 3 个显微镜视野($\times 400$)计数迁移到低层的细胞。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,均数间比较采用 *t* 检验,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

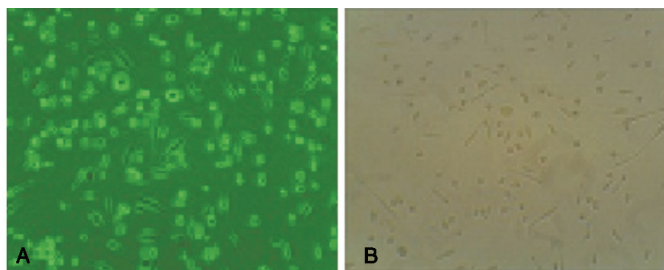


图 1. 光镜下 EPC 形态($\times 200$) A 为早期 EPC,培养 7 天,可见梭形细胞;B 为晚期 EPC,培养 21 天,可见椭圆形细胞。

Figure 1. Colony form of early EPC and late EPC under light microscopy($\times 200$)

2.3 激光共聚焦显微镜鉴定 EPC

从外周血分离获得的单个核细胞分别培养至 7 天及 21 天,通过激光共聚焦显微镜对 EPC 进行鉴定, Dil 标记的 ac-LDL 发出红色荧光, FITC 标记的 UEA-I 发出绿色荧光,这种双染色阳性细胞为正在分化的 EPC(图 2)。

2.4 流式细胞仪鉴定细胞表型

外周血早期 EPC 与晚期 EPC CD14 的阳性率分别为 $95\% \pm 13\%$ 、 $63\% \pm 15\%$,两者之间差异具有

2 结果

2.1 基本资料

颈动脉狭窄组吸烟、高血压、甘油三酯、低密度脂蛋白明显高于对照组,高密度脂蛋白明显低于对照组($P < 0.05$);颈动脉狭窄组年龄、性别、血糖、总胆固醇与对照组比较,差异无统计学意义(表 1)。

表 1. 各组临床资料比较

Table 1. Comparison of the characteristics in each group

项 目	对照组 (<i>n</i> = 20)	轻度狭窄组 (<i>n</i> = 20)	中重度狭窄组 (<i>n</i> = 20)
年龄(岁)	59.3 \pm 9.2	57.3 \pm 8.5	58.7 \pm 7.6
男性(例)	6(60%)	6(60%)	5(50%)
吸烟(例)	1(10%)	4(40%) ^a	5(50%) ^a
高血压(例)	2(20%)	8(80%) ^a	5(50%) ^{ab}
血糖(mmol/L)	6.03 \pm 1.57	6.32 \pm 1.24	5.87 \pm 1.03
甘油三酯(mmol/L)	1.68 \pm 0.54	2.23 \pm 0.63 ^a	2.14 \pm 0.71 ^a
总胆固醇(mmol/L)	4.63 \pm 1.35	4.78 \pm 1.46	4.89 \pm 1.27
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.20 \pm 0.84	2.97 \pm 0.94 ^a	2.94 \pm 0.78 ^a
高密度脂蛋白(mmol/L)	0.92 \pm 0.20	0.79 \pm 0.15 ^a	0.75 \pm 0.13 ^a

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与轻度狭窄组比较。

2.2 外周血早期、晚期 EPC 光镜下细胞形态

将分离的外周血单核细胞接种在人纤维连接蛋白包被的 24 孔板内,培养 7 天后可见梭形细胞,即早期 EPC(图 1A);培养至 21 天,椭圆形细胞生长旺盛,部分呈集落状,即晚期 EPC(图 1B)。

统计学意义($P < 0.05$);两种细胞均高表达 CD34、KDR,之间无显著差异($P > 0.05$)(图 3、表 2)

2.5 颈动脉不同狭窄程度外周血早期 EPC 数量及功能的变化

颈动脉狭窄组与对照组比较,早期 EPC 数量及功能均下降,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。中重度狭窄组早期 EPC 数量较轻度狭窄组下降,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。外周血早期 EPC 数量及功能变化与颈动脉狭窄程度相关不密切。其中 EPC

数量与颈动脉狭窄程度相关系数 $r = -0.418$, 增殖能力与颈动脉狭窄程度相关系数 $r = -0.299$, 迁移能力

与颈动脉狭窄程度相关系数 $r = -0.348$, 粘附能力与颈动脉狭窄程度相关系数 $r = -0.443$ (表3)。

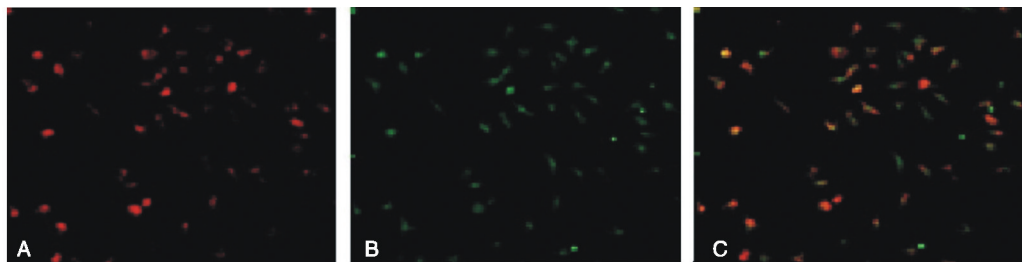


图2. 激光共聚焦技术鉴定 EPC ($\times 200$) A 为摄取 DiI 标记的 ac-LDL 发出红色荧光, B 为摄取 FITC 标记的 UEA-I 发出绿色荧光, C 为双染色阳性细胞发出黄色荧光。

Figure 2. Identification of EPC with laser scanning confocal microscope ($\times 200$)

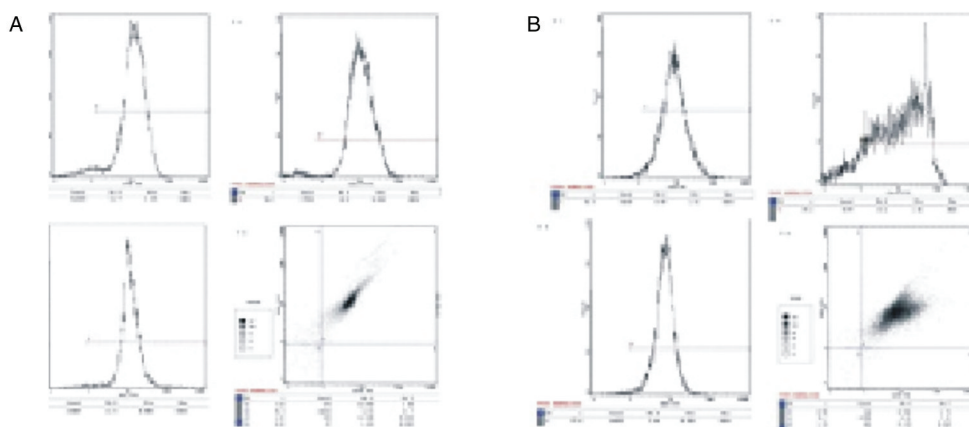


图3. EPC 流式细胞图 A 为早期 EPC, B 为晚期 EPC。

Figure 3. Flow cytometry graph of EPC

表2. 流式细胞仪鉴定早期 EPC 与晚期 EPC 细胞表型的比较

Table 2. Comparison of the cell phenotype between early EPC and late EPC

分组	CD14	CD34	KDR
早期 EPC 组	95% \pm 13%	91% \pm 25%	95% \pm 14%
晚期 EPC 组	63% \pm 15% ^a	95% \pm 33%	97% \pm 28%

a 为 $P < 0.05$, 与早期 EPC 组比较。

表3. 颈动脉不同狭窄程度早期 EPC 数量及功能变化

Table 3. The changes of number and function of early EPC of each group

项目	对照组 ($n = 20$)	轻度狭窄组 ($n = 20$)	中重度狭窄组 ($n = 20$)
细胞数量(个/HP)	43.00 \pm 4.64	43.10 \pm 5.53	32.10 \pm 4.31 ^{ab}
增殖能力(吸光度值)	0.24 \pm 0.05	0.17 \pm 0.03 ^a	0.17 \pm 0.04 ^a
迁移能力(个/HP)	14.63 \pm 0.81	9.24 \pm 0.91 ^a	9.42 \pm 1.23 ^a
粘附能力(个/HP)	28.69 \pm 1.55	19.15 \pm 1.70 ^a	19.28 \pm 1.37 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与轻度狭窄组比较。

2.6 颈动脉不同狭窄程度外周血晚期 EPC 数量及功能的变化

颈动脉狭窄组与对照组比较, 晚期 EPC 数量及功能

均下降, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。外周血晚期 EPC 数量和功能变化与颈动脉狭窄程度呈负相关, 相关密切。其中 EPC 数量与颈动脉狭窄程度相关系数 $r = -0.880$, 增殖能力与颈动脉狭窄程度相关系数 $r = -0.897$, 迁移能力与颈动脉狭窄程度相关系数 $r = -0.905$, 粘附能力与颈动脉狭窄程度相关系数 $r = -0.876$ (表4)。

表4. 颈动脉不同狭窄程度晚期 EPC 数量及功能变化

Table 4. The changes of number and function of late EPC of each group

项目	对照组 ($n = 20$)	轻度狭窄组 ($n = 20$)	中重度狭窄组 ($n = 20$)
细胞数量(个/HP)	46.00 \pm 5.64	34.30 \pm 4.90 ^a	25.38 \pm 6.33 ^{ab}
增殖能力(吸光度值)	0.45 \pm 0.03	0.36 \pm 0.04 ^a	0.29 \pm 0.02 ^{ab}
迁移能力(个/HP)	15.06 \pm 0.83	12.08 \pm 1.47 ^a	9.67 \pm 1.15 ^{ab}
粘附能力(个/HP)	29.74 \pm 1.55	25.23 \pm 3.40 ^a	20.19 \pm 1.11 ^{ab}

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与轻度狭窄组比较。

3 讨论

颈动脉狭窄的常见病因为动脉粥样硬化, 内皮单层细胞的激活和受损促使了动脉粥样硬化的发

展^[5]。研究发现,在动脉粥样硬化时,外周血中内皮祖细胞动员并很快参与到动脉粥样硬化部位进行内皮修复,甚至在持续血管损伤情况下可以减弱动脉粥样硬化的发展^[6]。可见 EPC 在动脉粥样硬化的血管修复中发挥了重要作用。

本实验中我们从同一标本来源的外周血分离单核细胞,在体外培养出早期 EPC 和晚期 EPC,对两者细胞表型进行了比较,发现在 CD14 的表达上早期 EPC 与晚期 EPC 存在差异,早期 EPC 高表达 CD14,而晚期 EPC 仅部分表达单核细胞标志 CD14,有一部分是来源于 CD14 阴性的细胞。有学者认为早期 EPC 主要来源于单核巨噬细胞系统,而晚期 EPC 不仅来源于单核巨噬细胞系统,可能一部分也来源于骨髓系统^[7]。我们对这两种细胞进行了增殖、迁移、黏附能力的测试,结果发现,两种细胞在以上功能上存在很大差异。早期 EPC 的增殖、迁移、黏附能力明显低于晚期 EPC,两者差异有统计学意义。说明早期 EPC 虽然在某些细胞表型上与晚期 EPC 存在相似之处,也表达内皮细胞标志,但是因为其增殖等能力较差,在临床上应用价值不大。但也有学者认为早期 EPC 虽然增殖能力弱,不能分化为成熟内皮细胞进行细胞替代修复血管或形成新生血管,但是具有很多内分泌和旁分泌功能,通过分泌多种细胞因子增加血管通透性,促进 EPC 的黏附及迁移^[8]。

EPC 的动员障碍、过度消耗和提前老化等因素均可影响其循环血中的数量和功能。本研究发现,早期 EPC 和晚期 EPC 的数量和功能下降,及晚期 EPC 与颈动脉狭窄程度的相关性变化,分析可能存在以下机制:(1)由于 EPC 参与内皮损伤后的修复过程,持续的内皮损伤和内皮功能障碍可导致 EPC 的过量消耗和衰竭^[9]。颈动脉狭窄的常见病因为动脉粥样硬化,在动脉粥样硬化的发展中,存在修复损伤内皮的 EPC 耗竭^[10]。动脉粥样硬化病变不仅尾随于动脉损伤之后,而且在动脉修复障碍出现时会进一步加重。所以脑血管狭窄程度越重,内皮损伤越重,内皮祖细胞出现过量消耗,内皮祖细胞数量就会进一步减少,这种数量的减少会进一步影响动脉的修复,形成恶性循环。(2)当颈动脉轻度狭窄时对组织供血影响小,但颈动脉狭窄程度严重时则会影响血流动力学,可能会出现组织、细胞缺血严重,活性氧簇产生过多或发生代谢障碍并超过内源性防御系统对其的消除能力,从而导致氧化应激,可直接影响 EPC 的动员或生存时间,氧化应激还被认为是细胞凋亡的促进因素,有研究表明 EPC 对诱导凋亡非常敏感^[11]。上述的氧化应激、细胞凋亡等因素导致 EPC 的过度老化,使颈动脉

狭窄情况下 EPC 的功能进一步下降。(3)脑血管病危险因素如吸烟、高血压、高血脂等,可能通过减少细胞因子如粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、VEGF 等对骨髓 EPC 的动员作用,间接减少外周血中 EPC 的数量,加速 EPC 的老化,从而使其功能减低^[12]。本研究中发现颈动脉狭窄组患者脑血管病危险因素明显高于对照组,提示这些危险因素的并存是 EPC 数量及功能减少的一个重要因素。

研究表明,虽然在颈动脉狭窄时,早期 EPC 和晚期 EPC 的数量及功能均下降,但研究中发现晚期 EPC 数量与功能变化与颈动脉狭窄程度呈负相关,提示晚期 EPC 与颈动脉狭窄程度密切相关,在某种程度上可以反映颈动脉狭窄的严重程度。

[参考文献]

- [1] 刘斌, 刘昊, 伊红丽, 等. 颈动脉颅外段狭窄及其程度与脑梗死病变部位的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(4): 507-508.
- [2] Josephson SA, Bryant SO, Mak HK, et al. Evaluation of carotid stenosis using CT angiography in the initial evaluation of stroke and TIA[J]. Neurology, 2004, 63(3): 457-460.
- [3] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. Science, 1997, 275(5302): 964-967.
- [4] Hur J, Yoon CH, Kim HS, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovascularization[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(2): 288-293.
- [5] 丁立, 李承晏, 何国厚, 等. 内皮祖细胞与颈动脉粥样硬化斑块性质的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(9): 756-760.
- [6] Xu Q. Stem cells and transplant arteriosclerosis[J]. Circ Res, 2008, 102(9): 1 011-024.
- [7] Gulati R, Jevremovic D, Peterson TE, et al. Diverse origin and function of cells with endothelial phenotype obtained from adult human blood[J]. Circ Res, 2003, 93(11): 1 023-025.
- [8] Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand[J]. Cell, 2002, 109(5): 625-637.
- [9] Maceneaney OJ, Kushner EJ, Westby CM, et al. Endothelial progenitor cell function, apoptosis, and telomere length in overweight/obese humans[J]. Obesity (Silver Spring), 2010, 18(9): 1 677-682.
- [10] 祁学文, 刘海峰, 马龙乐, 等. 冠状动脉严重狭窄的稳定型心绞痛患者侧支循环与内皮祖细胞的关系研究[J]. 中国医师杂志, 2011, 13(9): 1 177-180.
- [11] Stamm C, Westphal B, Kleine HD, et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration[J]. Lancet, 2003, 361(9351): 45-46.
- [12] Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk[J]. N Engl J Med, 2003, 348(7): 593-600.

(此文编辑 曾学清)