

[文章编号] 1007-3949(2011)19-09-0735-06

• 实验研究 •

# bFGF 和 PDGF-BB 对内皮祖细胞分化的内皮样细胞和平滑肌样细胞增殖和迁移的影响

郭素芬<sup>1</sup>, 杨向红<sup>2</sup>

(1. 牡丹江医学院病理教研室, 黑龙江省牡丹江市 157011; 2. 中国医科大学附属盛京医院  
实验病理研究室病理科, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 内皮祖细胞; 内皮样细胞; 平滑肌样细胞; 细胞增殖; 细胞迁移

[摘要] 目的 探讨内皮祖细胞分化的内皮样和平滑肌样细胞在碱性成纤维生长因子和血小板源生长因子 BB 作用下的增殖和迁移能力。方法 将分离、培养及纯化的内皮祖细胞培养 5 天后进行分组: 对照组、碱性成纤维生长因子组和血小板源生长因子 BB 组。对照组使用 20% 胎牛血清的 DMEM 培养基; 碱性成纤维生长因子组和血小板源生长因子 BB 组在 20% 胎牛血清的 DMEM 培养基中分别添加碱性成纤维生长因子 (30  $\mu\text{g/L}$ ) 和血小板源生长因子 BB (40  $\mu\text{g/L}$ )。免疫荧光染色鉴定内皮祖细胞以及检测内皮祖细胞内皮方向分化标记物 CD31 和 vWF, 及平滑肌方向分化标记物  $\alpha\text{-SMA}$  和 Calponin。将分化的内皮样细胞和平滑肌样细胞用 MTT 法和 Transwell 小室分别检测其增殖活性和迁移能力。结果 与对照组比较, 内皮祖细胞经碱性成纤维生长因子或血小板源生长因子 BB 诱导后呈现较强的内皮细胞 (CD31, vWF) 或平滑肌细胞 ( $\alpha\text{-SMA}$ , Calponin) 的荧光染色, 被诱导细胞分别称为内皮样细胞和平滑肌样细胞; 碱性成纤维生长因子促进内皮样细胞和血小板源生长因子 BB 促进平滑肌样细胞增殖的作用在一定范围内具有时间 (0 ~ 48 h) 和浓度 (碱性成纤维生长因子: 0 ~ 16  $\mu\text{g/L}$ ; 血小板源生长因子 BB: 0 ~ 18  $\mu\text{g/L}$ ) 依赖效应。结论 碱性成纤维生长因子和血小板源生长因子 BB 分别可以促进内皮祖细胞分化成内皮样细胞和平滑肌样细胞, 并且在碱性成纤维生长因子和血小板源生长因子 BB 作用下具有明显的增殖和迁移能力。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## The Effect of Basic Fibroblast Growth Factor and Platelet-Derived Growth Factor-BB on the Proliferation and Migration of Endothelial Progenitor Cells-Derived Endothelial-Like Cells and Smooth Muscle-Like Cells

GUO Su-Fen<sup>1</sup>, and YANG Xiang-Hong<sup>2</sup>

(1. Department of Pathology, Mudanjiang Medical University, Mudanjiang, Heilongjiang 157011; 2. Department of Pathology, China Medical University Affiliated Shengjing Hospital, Shenyang, Liaoning 110001, China)

[KEY WORDS] Endothelial Progenitor Cell; Endothelial-Like Cells; Smooth Muscle-Like Cells; Cell Proliferation; Cell Migration

[ABSTRACT] Aim To study the effect of basic fibroblast growth factor (bFGF) and platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB) on the proliferation and migration of endothelial progenitor cells (EPC)-derived endothelial-like cells and smooth muscle-like cells. Methods EPC isolated and cultured for 5 days were stained by immunofluorescence and observed with laser confocal microscopy, the cells of which both AC133 and vWF are positive are the differentiating EPC. After 5 days of EPC culture, the medium was replaced by either control medium (DMEM, supplemented with 20% fetal bovine serum) or control medium containing rat bFGF (30  $\mu\text{g/L}$ ) or PDGF-BB (40  $\mu\text{g/L}$ ). The cultures were incubated up to 14<sup>th</sup> day. Then, endothelial cell marker (CD31 and vWF) of bFGF-induced cells (FIC) and non-induced cells (NIC) or smooth muscle cell marker ( $\alpha\text{-SMA}$  and calponin) of PDGF-BB-induced cells (PIC) and non-induced cells (NIC) were measured by confocal microscopy. The proliferation and migration of the endothelial-like cells and smooth

[收稿日期] 2010-12-17

[作者简介] 郭素芬, 博士, 副教授, 研究方向为干细胞与新血管形成, E-mail 为 goldenpot@163.com。杨向红, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的基础研究, E-mail 为 xhyang4933@vip.sina.com。

muscle-like cells-derived EPC were detected by MTT assays and Transwell. **Results** Compared with control group, EPCs induced by bFGF (named as endothelial-like cells) or EPC induced by PDGF-BB (named as smooth muscle-like cells) showed respectively more significant endothelial mark (CD31, vWF) or smooth muscle mark ( $\alpha$ -SMA, calponin); In the period of 0 ~ 48 h, bFGF and PDGF-BB respectively promoted endothelial-like cells and smooth muscle-like cells proliferation at the corresponding concentration and there were time-dependent and dose-dependent manner. **Conclusion** bFGF and PDGF-BB may promote EPC to differentiate into endothelial-like cells and smooth muscle-like cells, and these endothelial-like cells and smooth muscle-like cells have the obvious ability of proliferation and migration.

自从 Isner 等<sup>[1]</sup> 提出治疗性血管新生的概念以来,治疗性血管新生的发展为临床治疗缺血性疾病提供了新的思路。目前人们就治疗性血管新生进行了广泛的研究,但是许多研究还只是注重新生血管形成的多少而忽略了新形成血管的成熟性和稳定性。一个成熟、功能血管网的形成需要内皮细胞和平滑肌细胞的相互作用<sup>[2-4]</sup>,因为内皮细胞只能启动血管形成过程,但不能完善新形成的血管,如果要想使新生血管成熟,则必须要有平滑肌/周细胞的参与<sup>[5-9]</sup>。因此,如果能分离出分化为内皮细胞又能分化为平滑肌细胞的内皮祖细胞将对这种功能血管网的形成具有重要意义。为此,本实验从大鼠骨髓中分离内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPC) 并将 EPC 分别经碱性成纤维生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 和血小板源生长因子 BB (platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB) 诱导培养,以观察 EPC 是否能分化成具有内皮标记和平滑肌标记的细胞,同时观察这种被诱导分化的带有内皮标记和平滑肌标记的细胞的增殖和迁移能力,以了解这种细胞能否成为新血管形成的种子细胞。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

4 ~ 6 周龄 Wistar 大鼠由中国医科大学动物部提供。胎牛血清 (FCS, 天津 TBD 公司), DMEM (美国 Sigma 公司); 大鼠淋巴细胞分离液 (密度 1.083) (天津 TBD 公司); 血管内皮生长因子 (VEGF)、bFGF、胰岛素样生长因子 (IGF) (美国, Peprotech 公司); PDGF-BB (Sigma 公司); 羊抗大鼠 AC133 抗体、兔抗大鼠 CD31 抗体、兔抗大鼠 vWF 抗体及小鼠抗大鼠  $\alpha$ -SMA 抗体和 Calponin 抗体和相应荧光二抗 (美国 Santa Cruz 公司); 二苯基四氮唑溴盐 (MTT); Transwell 小室 (美国 Corning)。

1.2 内皮祖细胞的分离、培养、纯化与鉴定

从大鼠股骨和胫骨吸取骨髓,用大鼠淋巴细胞分离液分离骨髓单个核细胞,将单个核细胞用

DMEM 培养基 (含有 20% 的胎牛血清, Hepes 20 mmol/L, 20  $\mu$ g/L VEGF, 1  $\mu$ g/L FGF 和 2  $\mu$ g/L IGF) 在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 24 h, 然后吸出非黏附的细胞群转移到铺有明胶包被的玻片的培养板中继续培养 5 ~ 7 天。取出玻片, 以 4% 的多聚甲醛固定 30 min, 滴加 5% BSA 室温放置 20 min, 在玻片上滴加 AC133 + vWF 一抗进行双标染色, 4℃ 过夜, PBS 冲洗, 加入 FITC 和 TRITC 分别标记的二抗, 37℃ 孵育 1 h, PBS 冲洗, 以甘油、载玻片封片, 免疫荧光检测。

1.3 内皮祖细胞的诱导培养及标记物变化的检测

EPC 被培养 5 天后, 进行分组: 对照组、bFGF 组和 PDGF-BB 组。对照组仅给 20% 胎牛血清的 DMEM 培养基, bFGF 组和 PDGF-BB 组在 20% 胎牛血清的 DMEM 培养基中分别添加 bFGF (30  $\mu$ g/L) 和 PDGF-BB (40  $\mu$ g/L)。培养期间每 2 ~ 3 天换液并补充相应生长因子。待 EPC 被诱导 8 天后, 通过免疫荧光法检测 bFGF 组细胞内皮标记物 (CD31, vWF) 及 PDGF-BB 组细胞平滑肌标记物 ( $\alpha$ -SMA, Calponin), 对照组细胞分别检测 vWF 和  $\alpha$ -SMA 的表达。

1.4 MTT 法检测被诱导细胞增殖活性

0. 125% 胰蛋白酶消化内皮样和平滑肌样细胞, 以 200  $\mu$ L/孔 ( $5 \times 10^3$  个/孔) 的细胞悬液接种于 96 孔板中, 待细胞基本融合, 加入 3% 血清 DMEM 作用 24 h; 分组: ①时间依赖组: 内皮样细胞中加入 bFGF (10  $\mu$ g/L), 平滑肌样细胞中加入 PDGF-BB (15  $\mu$ g/L), 并设立相应对照组, 分别作用 0、6、12、24 h 和 48 h。②浓度依赖组: 内皮样细胞中按 0、2、4  $\mu$ g/L 和 8  $\mu$ g/L 浓度梯度加入 bFGF; 平滑肌样细胞中按 0、3、6  $\mu$ g/L 和 9  $\mu$ g/L 加入 PDGF-BB, 作用 24 h。每组设 5 个复孔。检测时, 每孔加入 20  $\mu$ L 无菌 MTT (5 g/L) 孵育 4 h, 然后小心吸除培养孔内的液体, 每孔加入 150  $\mu$ L DMSO, 于微量振荡器充分震荡 10 min, 置酶标仪于波长 490 nm 处测 OD 值。

1.5 内皮样细胞和平滑肌样细胞迁移的检测

0. 125% 胰蛋白酶消化内皮样和平滑肌样细胞

并制成单个细胞悬液;将 600  $\mu\text{L}$  无血清 DMEM 加入 Transwell 小室的下室,并按下述情况加入 bFGF 和 PDGF-BB;①时间依赖组:内皮样细胞中加入 bFGF (10  $\mu\text{g/L}$ ),平滑肌样细胞中加入 PDGF-BB (15  $\mu\text{g/L}$ ),并设立相应对照组,分别作用 0、6、12 h 和 24 h;②浓度依赖组:内皮样细胞中按 0、2、4  $\mu\text{g/L}$  和 8  $\mu\text{g/L}$  浓度梯度加入 bFGF 作用 24 h;平滑肌样细胞中按 0、3、6  $\mu\text{g/L}$  和 9  $\mu\text{g/L}$  加入 PDGF-BB,作用 24 h。每组设 3 个复孔。然后再以  $5 \times 10^4$  个/小室的细胞数加入 Transwell 小室的上室,体积 200  $\mu\text{L}$ ,置 37℃、5%  $\text{CO}_2$  的孵育箱内培养。检测时,吸除上室培养液,PBS 冲洗,用棉签擦拭膜上表面未迁移的细胞,然后用 100% 甲醇固定膜下表面,吉姆萨染色;将膜切下,用中性树胶封固于载玻片上;在 200 倍光学显微镜下随机选取 5 个视野计数迁移的细胞数。

1.6 统计学分析

各组实验重复 3 次。应用 SPSS 13.0 统计软件

进行统计学分析和处理,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间资料比较采用方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 内皮祖细胞形态学特点及鉴定

原代培养 24 h 后,细胞大部分呈圆形;差速贴壁筛选后,培养 1 天可见少量细胞贴壁;第 2 天即可观察到多且大小相对均一的圆形贴壁细胞,陆续可见从细胞一侧伸出芽状突起并逐渐伸展成梭形或纺锤形,第 5 天时呈“铺路石”样排列。EPC 免疫荧光检测结果显示,大鼠骨髓来源的单个核细胞在内皮培养条件下,第 5 天采用 AC133 + vWF 双标染色,细胞同时表达 AC133 和 vWF,即被培养的细胞表达特异性干细胞抗原和内皮细胞抗原,表明其为 EPC (图 1)。

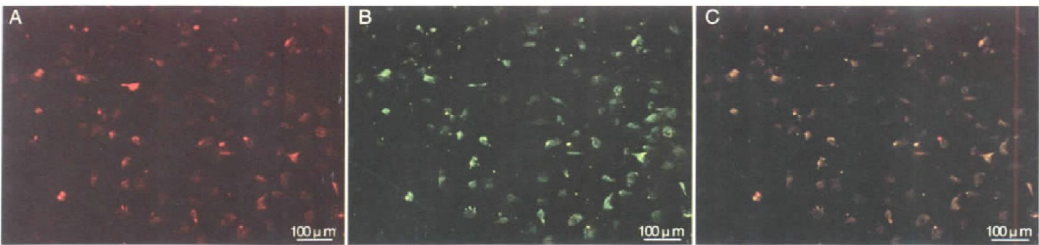


图 1. 内皮祖细胞的鉴定 ( $\times 200$ ) A 为 vWF 阳性细胞示红色荧光;B 为 AC133 阳性细胞示绿色荧光;C 为双重染色阳性的细胞示黄色荧光,即正在分化中的内皮祖细胞。

Figure 1. Characterization of endothelial progenitor cells ( $\times 200$ )

2.2 内皮祖细胞在碱性成纤维生长因子和血小板源生长因子 BB 诱导下标记物的变化

bFGF 或 PDGF-BB 诱导的 EPC (分别称为 FIC 和 PIC) 分别带有很强的内皮细胞 (CD31, vWF) 或平滑肌细胞 ( $\alpha$ -SMA, Calponin) 的荧光染色,但 FIC 的对照组中有微弱内皮细胞标记物 (vWF) 表达;PIC 的对照组中未见有平滑肌细胞标记物 ( $\alpha$ -SMA) 的表达 (图 2);FIC 和 PIC 的 AC133 标记物基本消失 (未附图片)。与对照组相比,FIC 和 PIC 的荧光强度明显增强 ( $P < 0.01$ ;图 2)。

2.3 碱性成纤维生长因子和血小板源生长因子 BB 分别对内皮样细胞和平滑肌样细胞增殖的影响

相同浓度下,在 0 ~ 48 h 内,bFGF 促进内皮样细胞和 PDGF-BB 促进平滑肌样细胞增殖的作用随

时间延长而明显增强,尤其 24 h 时更加明显 ( $P < 0.01$ ;图 3),在小剂量 (相对于促进 EPC 分化时的剂量而言) bFGF (2  $\mu\text{g/L}$ ) 和 PDGF-BB (3  $\mu\text{g/L}$ ) 时就能促进上述 2 种细胞的增殖,并且在一定范围内呈剂量依赖性,但 bFGF 在 8  $\mu\text{g/L}$ 、PDGF-BB 在 9  $\mu\text{g/L}$  时增殖达高峰 ( $P < 0.01$ ;图 3)。

2.4 碱性成纤维生长因子和血小板源生长因子 BB 对内皮样细胞和平滑肌样细胞迁移能力的影响

相同浓度下,在 0 ~ 48 h 期间,bFGF 促进内皮样细胞和 PDGF-BB 促进平滑肌样细胞迁移的作用随时间延长而显著增加,并具有时间依赖性 ( $P < 0.01$ ;图 4),小剂量 bFGF (2  $\mu\text{g/L}$ ) 和 PDGF-BB (3  $\mu\text{g/L}$ ) 即可促进上述 2 种细胞的迁移,并且在一定范围内呈剂量依赖性 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ;图 4)。

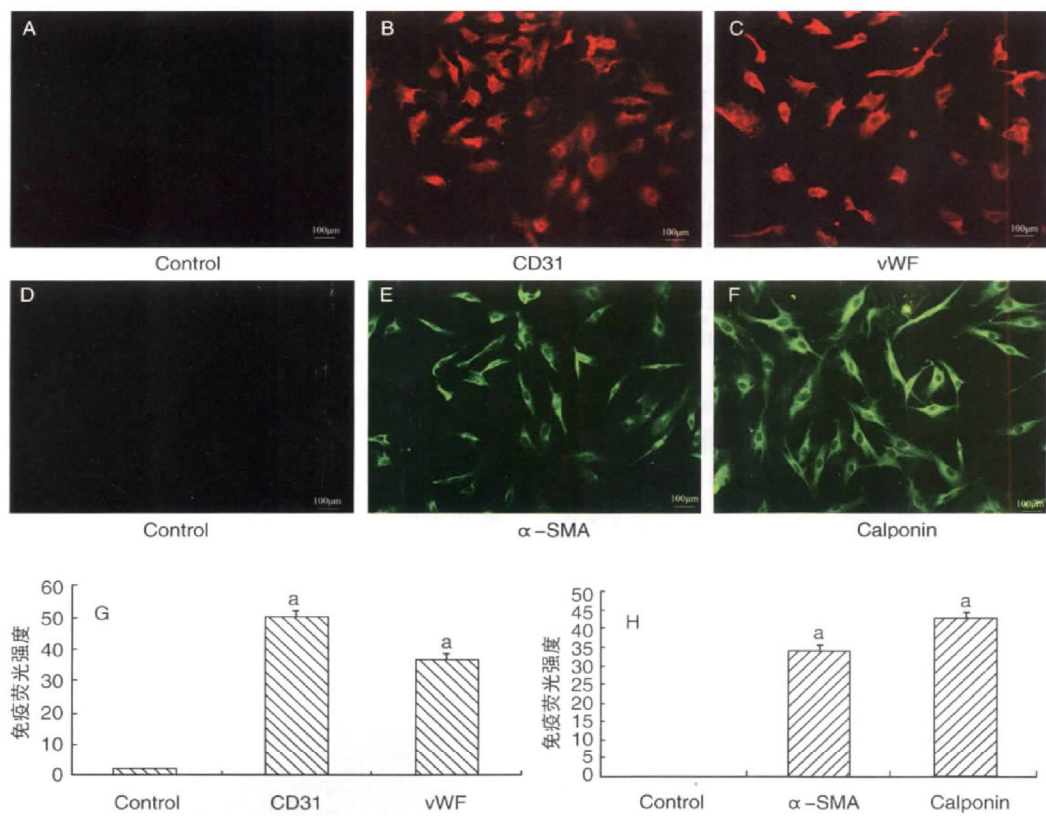


图 2. 碱性成纤维生长因子和血小板源生长因子 BB 诱导 8 天时的荧光染色特征及荧光强度分析 (×200) A、D 为对照组; B、C 为 FIC; E、F 为 PIC。G、H 分别为 FIC 和 PIC 在第 8 天时的荧光强度均明显增加 (a 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较)。

Figure 2. Characterization of endothelial progenitor cells induced for 8 days (×200)

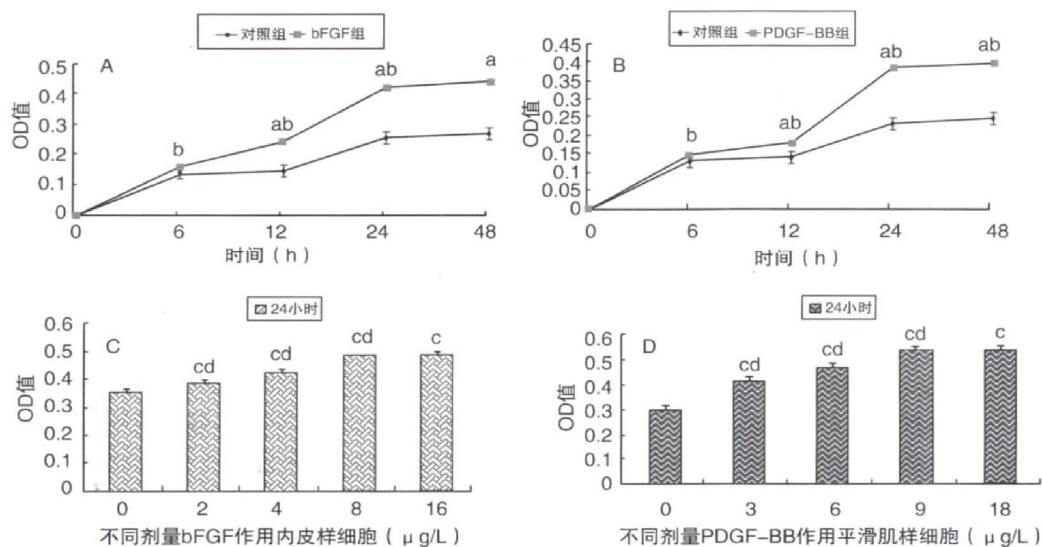


图 3. 碱性成纤维生长因子作用内皮样细胞和血小板源生长因子 BB 作用平滑肌样细胞促进增殖的时效和量效关系 A 和 B 为时效关系; a 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与相邻时间点比较; C 和 D 为量效关系; c 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较, d 为  $P < 0.01$ , 与相邻浓度组比较。

Figure 3. Endothelial-like cells and smooth muscle-like cells proliferation ability

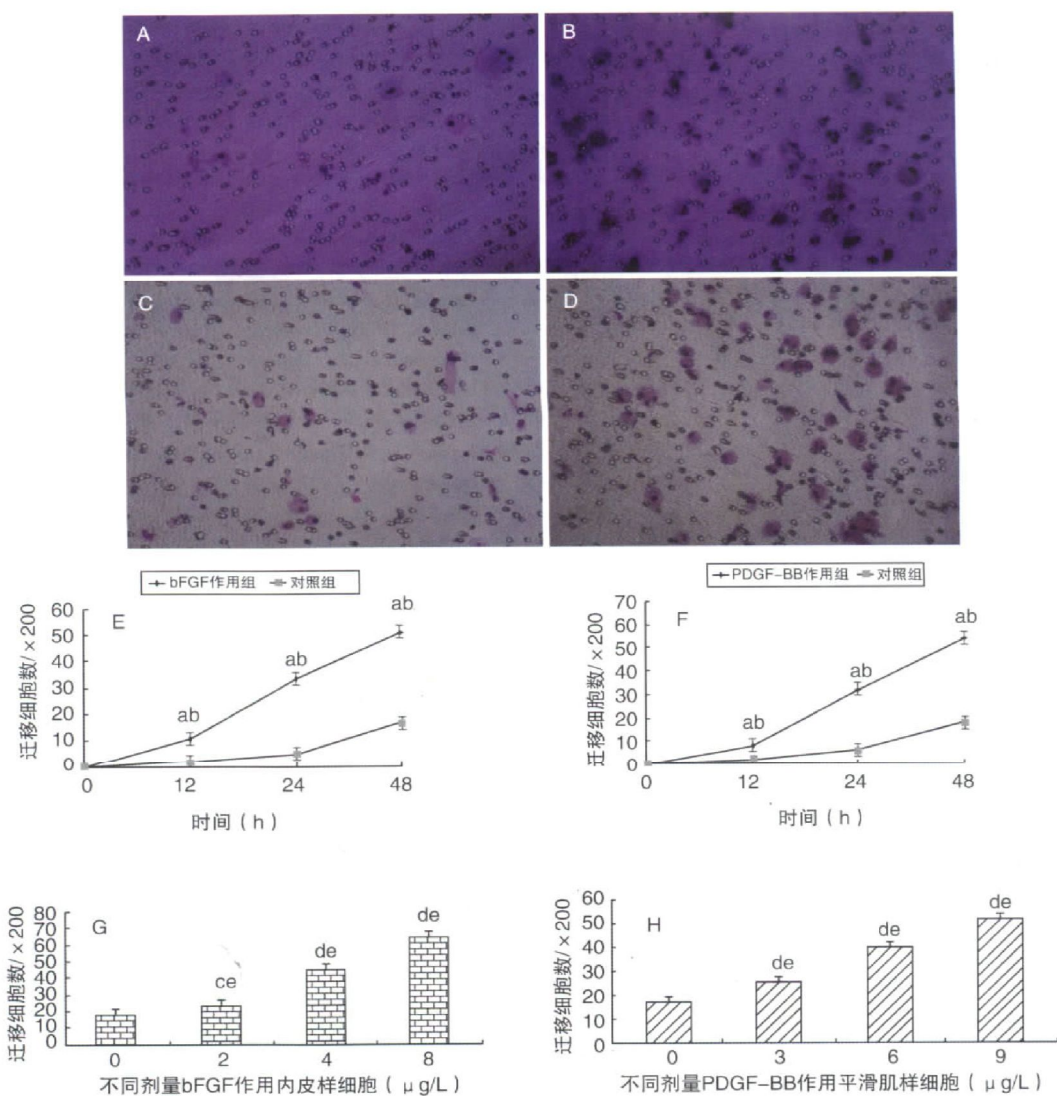


图 4. 碱性成纤维生长因子和血小板源生长因子 BB 均能促进内皮样细胞和平滑肌样细胞迁移并具有时效和量效关系  
A 为内皮样细胞对照组,B 为内皮样细胞;C 为平滑肌样细胞对照组;D 为平滑肌样细胞。E、F 为时效关系图,G、H 为量效关系图。a 为  $P < 0.01$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.01$ ,与相邻时间点比较;c 为  $P < 0.05$ ,d 为  $P < 0.01$ ,与对照组比较;e 为  $P < 0.01$ ,与相邻浓度组比较。  
**Figure 4. Endothelial-like cells and smooth muscle-like cells migration ability**

### 3 讨 论

实验证明 Ficoll 密度梯度离心法结合差速贴壁筛选法可以用来分离大鼠骨髓的 EPC,获得 EPC 纯度和存活率较高。本研究用上述方法分离单个核细胞,经含有内皮方向诱导因子的培养基培养 5 天后进行鉴定,结果显示 AC133 和 vWF 双染阳性,证明这些细胞为是正在分化的 EPC。

干细胞的不同方向分化是其行使功能的前提基础,干细胞在其微环境中,通过细胞-细胞间,细胞-间质及各种细胞因子的相互作用,引起调控其分化的一些关键基因表达,合成特异的蛋白质,随后细胞在生

化、结构、功能方面发生改变,细胞表型出现差异。

目前对 EPC 分化的研究主要从形态和细胞表面标志两方面入手。本实验发现:EPC 经 bFGF 作用后细胞扁平,呈现“铺路石”状排列;而经 PDGF-BB 作用后细胞呈梭形外观。尽管这些细胞在形态上存在差异,但通过形态并不能完全将 EPC 与其他细胞区分开,因此较好的方法是靠分子标记物识别。AC133 是新近发现的干细胞标记,不表达于成熟内皮细胞或平滑肌细胞,被认为是目前区分干/祖细胞和成熟细胞的最主要标记<sup>[10-14]</sup>。研究结果表明,bF-GF 和 PDGF-BB 作用 EPC 后,AC133 的表达在第 8 天时基本消失。CD31 和 vWF 是血管内皮细胞的分

子标志物。EPC 经 bFGF 诱导后,免疫荧光结果显示:当 EPC 被诱导到第 8 天时,CD31 和 vWF 的表达都显著增加,因此证明 bFGF 可以单独诱导 EPC 分化为具有成熟内皮标记的细胞,我们称其为内皮样细胞。此外,本实验还应用 PDGF-BB 诱导 EPC 分化,免疫荧光结果表明:平滑肌细胞标记物  $\alpha$ -SMA 和 Calponin 在被诱导到第 8 天时表达明显增加,这也说明 PDGF-BB 可以诱导 EPC 分化为具有平滑肌标记的细胞,我们称其为平滑肌样细胞,这也符合干细胞分化的并带有成熟细胞标记的这类细胞的命名习惯<sup>[15,16]</sup>,但是本实验并未研究这种平滑肌样细胞是否有肌丝出现,这也需将来的实验去证明。因此,EPC 具有多分化潜能,这也和其他人的研究是一致的<sup>[17-20]</sup>,同时也说明 bFGF 和 PDGF-BB 可以单独诱导 EPC 的这种分化潜能。

治疗性血管生成(therapeutic angiogenesis)是促进毛细血管的芽生(angiogenesis,血管新生)和侧支血管的发展(arteriogenesis,动脉生成),是动脉闭塞性疾病改善缺血损伤的治疗选择,因此这种治疗性的血管形成如果要达到明显改善缺血区血运的作用,那么就需要有大量参与血管构成的细胞,如血管内皮细胞、平滑肌细胞和/或周细胞。我们的实验已经证明 EPC 可以分化为内皮样和平滑肌样细胞,但分化细胞的增殖、迁移能力又如何还知之甚少,而且一种细胞如何更好的发挥其功能特性,与这种细胞的增殖、迁移能力等有很大关系,因此我们在实验中又对分化细胞的上述特性进行了研究。MTT 结果显示:bFGF 促进内皮样细胞和 PDGF-BB 促进平滑肌样细胞增殖的作用随时间延长而明显增强,并具有时间依赖性;同时也看到:bFGF 和 PDGF-BB 在小剂量时就能促进上述两种细胞的增殖。这可能与 bFGF 和 PDGF-BB 的有丝分裂原活性有关。在内皮样细胞和平滑肌样细胞迁移检测中,bFGF 和 PDGF-BB 在小剂量时即可促进内皮样细胞和平滑肌样细胞迁移,但这种活动是在 24 h 后才有明显变化,这可能是 24 h 前大量细胞还主要处于增殖阶段有关。

因此,研究者可以试图利用 EPC 来源的内皮样细胞和平滑肌样细胞作为组织工程构建血管的种子细胞,这也可能避免利用成熟的内皮细胞和平滑肌细胞的增殖能力低,易于老化等特点所造成的血管不稳定。

[参考文献]

[1] Isner JM, Asahara T. Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization [J]. J Clin Invest, 1999, 103: 1 231-236.  
[2] Naoito K, Fukumura D, Gralla O, et al. Tissue engineering: creation of long-lasting blood vessels [J]. Nature, 2004, 428: 138-139.

[3] Darland DC, D' Amore PA. Blood vessel maturation: vascular development comes of age [J]. J Clin Invest, 1999, 103: 157-158.  
[4] Levenberg S, Rouwkema J, Macdonald M, et al. Engineering vascularized skeletal muscle tissue [J]. Nat Biotechnol, 2005, 23: 879-884.  
[5] Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis [J]. Nat Med, 2000, 6: 389-395.  
[6] von Tell D, Armulik A, and Betsholtz C. Pericytes and vascular stability [J]. Exp Cell Res, 2006, 312: 623-629.  
[7] Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance [J]. Science, 1997, 277: 48-50.  
[8] Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation [J]. Nature, 2000, 407: 242-248.  
[9] Folkman J, D' Amore PA. Blood vessel formation: what is its molecular basis [J]. Cell, 1996, 87: 1 153-155.  
[10] Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization [J]. Circ Res, 1999, 85: 221-228.  
[11] Reeves MB, MacAry PA, Lehner PJ, et al. Latency, chromatin remodeling, and reactivation of human cytomegalovirus in the dendritic cells of healthy carriers [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 4 140-145.  
[12] Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34+ cells identifies a population of functional endothelial precursors [J]. Blood, 2000, 95: 952-958.  
[13] Gehling UM, Ergun S, Schumacher U, et al. In vitro differentiation of endothelial cells from AC133-positive progenitor cells [J]. Blood, 2000, 95: 3 106-112.  
[14] Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia [J]. Circulation, 2001, 103: 634-637.  
[15] Ferreira LS, Gerecht S, Shieh HF, et al. Vascular progenitor cells isolated from human embryonic stem cells give rise to endothelial and smooth muscle-like cells and form vascular networks in vivo [J]. Circ Res, 2007, 101: 286-294.  
[16] Sakuma T, Matsumoto T, Kano K, et al. Mature, Adipocyte derived, dedifferentiated fat cells can differentiate into smooth muscle-like cells and contribute to bladder tissue regeneration [J]. J Urol, 2009, 182: 355-365.  
[17] Badorf C, Brandes RP, Popp R, et al. Transdifferentiation of blood-derived human adult endothelial progenitor cells into functionally active cardiomyocytes [J]. Circulation, 2003, 107: 1 024-032.  
[18] Pesce M, Orlandi A, Iachininoto MA, et al. Myoendothelial differentiation of human umbilical cord blood-derived stem cells in ischemic limb tissues [J]. Circ Res, 2003, 93: e51-62.  
[19] Yeh ET, Zhang S, Wu HD, et al. Transdifferentiation of human peripheral blood CD34+ -enriched cell population into cardiomyocytes, endothelial cells, and smooth muscle cells in vivo [J]. Circulation, 2003, 108: 2 070-073.  
[20] Nieda M, Nicol A, Denning-Kendall P, et al. Endothelial cell precursors are normal components of human umbilical cord blood [J]. Br J Haematol, 1997, 98: 775-777.

(此文编辑 李小玲)