

心血管疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002974

匹伐他汀纳米微球促进损伤血管有效再内皮化的作用研究

刘焕云¹, 谢红梅¹, 黄志梅¹, 邓梦杨², 王玉清²

(1. 重庆两江新区第一人民医院心血管内科, 重庆 401121; 2. 陆军军医大学第二附属医院心血管内科, 重庆 400037)

【摘要】目的:探讨匹伐他汀纳米微球修饰内皮祖细胞对损伤血管再内皮化的作用及机制。**方法:**培养内吞匹伐他汀纳米微球的内皮祖细胞, 移植至鼠颈动脉损伤模型, CCK-8 检测损伤血管中膜平滑肌细胞增殖情况, 1 周后伊文思蓝染色观察血管再内皮化, 2 周后 HE 染色观察损伤血管新内膜增生。**结果:**内吞匹伐他汀纳米微球的内皮祖细胞移植后 3 d, 荧光显微镜可见损伤处内皮祖细胞聚集, 其中匹伐他汀纳米微球组内皮祖细胞归巢数高于匹伐他汀单药组 ($P=0.025$)。与匹伐他汀单药组相比较, 匹伐他汀纳米微球组可明显抑制损伤血管平滑肌细胞增殖 ($P=0.013$), 内皮祖细胞移植可抑制损伤内膜增生, 促使局部血管再内皮化, 匹伐他汀纳米微球组效果明显 ($P=0.043, 0.024$)。**结论:**匹伐他汀纳米微球可被内皮祖细胞吞噬, 更有益于内皮祖细胞归巢至损伤部位, 同时可抑制局部平滑肌细胞增殖, 有效抑制内膜增生及促血管再内皮化。

【关键词】匹伐他汀纳米微球; 内皮祖细胞; 损伤血管; 再内皮化; 内膜增生

【中图分类号】R114

【文献标志码】A

【收稿日期】2021-05-09

Effect of pitavastatin nanoparticles on improving effective re-endothelialization of injured blood vessels

Liu Huanyun¹, Xie Hongmei¹, Huang Zhimei¹, Deng Mengyang², Wang Yuqing²

(1. Department of Cardiology, The First People's Hospital of Chongqing Liang Jiang New Area;

2. Department of Cardiology, Xinqiao Hospital, Army Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of coated pitavastatin nanoparticles on re-endothelialization of injured blood vessels and its mechanism of action. **Methods:** Endothelial progenitor cells were cultured with pitavastatin nanoparticles and transplanted into a rat carotid artery injury model. CCK-8 method was used to observe the proliferation of smooth muscle cells in the injured vascular media. One week later, Evan's blue staining was used to observe the re-endothelialization, and hematoxylin-eosin staining was used to observe the neointimal hyperplasia of the injured blood vessels. **Results:** Three days after transplantation of endothelial progenitor cells that endocytosed pitavastatin nanoparticles, fluorescence microscopy showed that endothelial progenitor cells accumulated at the injury site, and the number of homing endothelial progenitor cells in the pitavastatin nanoparticle group was higher than that in the pitavastatin drug group ($P=0.025$). Compared with the pitavastatin drug group, the pitavastatin nanoparticle group could significantly inhibit the proliferation of injured vascular smooth muscle cells ($P=0.013$). Endothelial progenitor cell transplantation could inhibit intimal proliferation and promote the re-endothelialization of injured blood vessels. The effect of pitavastatin nanoparticles group was more significant than that of the pitavastatin drug group ($P=0.043, 0.024$, respectively). **Conclusion:** Pitavastatin nanoparticles can be taken up by endothelial progenitor cells, which can promote their homing to damaged blood vessels, and inhibit smooth muscle cell proliferation at the same time, thereby effectively inhibiting intimal proliferation and promoting re-endothelialization of damaged blood vessels.

【Key words】pitavastatin nanoparticles; endothelial progenitor cells; injured blood vessels; re-endothelialization; intimal hyperplasia

作者介绍: 刘焕云, Email: 511355541@qq.com,

研究方向: 血管损伤与修复。

通信作者: 王玉清, Email: 314029811@qq.com。

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目 (编号: cstc2017jcyjAX0042)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20220112.1047.002.html>

(2022-01-13)

内皮损伤是血管介入术后再狭窄以及动脉粥样硬化性疾病的重要病理基础^[1-2], 有效促进损伤血管再内皮化是血管损伤后良性重塑的关键。目前研究发现在此过程中以内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPC) 为主的细胞疗法可发挥举足轻重

的作用^[3-4]。本研究发现包载匹伐他汀纳米微球可被内皮祖细胞摄取,可明显改善内皮祖细胞增殖、分化、迁移等生物学功能。与传统匹伐他汀相比,匹伐他汀纳米微球具备更好的生物利用度、组织靶向定位、缓释高效等优点^[5]。近年有研究显示,匹伐他汀纳米微球可被内皮细胞、单核细胞等活体细胞吞噬摄取,可有效促血管新生、抑制斑块破裂、抗炎抗增殖改善肺动脉高压^[6-8],但目前尚无匹伐他汀纳米微球作用在损伤血管修复方面的研究。本研究拟观察匹伐他汀纳米微球对损伤血管再内皮化及内膜增生的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 药品与试剂 低糖 DMEM 细胞培养基(美国 Gibco 公司);0.25% 胰酶(美国 Hyclone 公司);DiI-acLDL(美国 Invitrogen 公司);CCK-8 试剂盒(北京碧云天);FITC-UEA-I(美国 Sigma 公司);胎牛血清(美国 Gibco 公司);HE 染色试剂盒(北京索莱宝科技公司)。

1.1.2 仪器 台式低速离心机(Beckman 公司);倒置荧光显微镜(Leica 公司);1.5F 球囊导管(Baxter)。

1.1.3 动物 雄性健康 SD 大鼠,体质量(130 ± 20) g,陆军军医大学附属三院动物试验中心提供,合格证号:SYXK(军)2012-0035。

1.1.4 实验分组 分为单纯手术损伤组(对照组)、单纯内皮祖细胞移植组(EPC 组)、0.1 $\mu\text{mol/L}$ 匹伐他汀单药干预内皮祖细胞移植组(匹伐他汀单药-EPC 组)、0.1 $\mu\text{mol/L}$ 匹伐他汀纳米微球干预内皮祖细胞移植组(匹伐他汀纳米微球-EPC 组)。

1.2 实验方法

1.2.1 颈动脉损伤模型的建立 2%戊巴比妥腹腔注射麻醉 SD 大鼠,取颈部正中皮肤切口,暴露颈外、颈内及颈总动脉,结扎颈内动脉及颈外动脉远心端和颈总动脉近心端阻断血流,在颈外动脉结扎处近心端使用针头刺口,球囊导管通过刺口送至颈总动脉,旋转推送加压球囊损伤血管内皮,恢复血流并缝合颈部切口,术后给予肝素抗凝 3 d。

1.2.2 脾源性内皮祖细胞的培养及鉴定 无菌条件下取 SD 大鼠脾脏,剪碎后 200 目筛网过滤,加入淋巴细胞分离液,密度梯度离心法获取大鼠单核细胞接种于包被纤维蛋白的细胞培养板,加入低糖 DMEM 细胞培养基,放置于 5%CO₂、37℃ 培养箱中诱导培养,48 h 后 PBS 洗涤除去未贴壁细胞,继续培养,每 3 d 换液、传代,培养 1 周后使用 FITC-UEA-I、DiI-acLDL 双染阳性鉴定为正在分化的 EPC。

1.2.3 内吞匹伐他汀纳米微球的内皮祖细胞移植 前期采取超声乳化溶剂扩散法制备匹伐他汀纳米微球,取培养 1 周

的脾源性内皮祖细胞,按实验组进行分组预处理 24 h,胰酶消化、收集细胞,将所得细胞与 DiI-acLDL 避光孵育 1 h,PBS 离心洗涤 3 次,消毒颈动脉损伤模型鼠尾,通过尾静脉注射 1×10^6 荧光标记的内皮祖细胞。

1.2.4 内皮祖细胞归巢鉴定 移植术后 3 d,每组随机选取 3 只处死,取损伤侧颈总动脉制备成冷冻切片(7 μm),给予 FITC-UEA-I 染色后倒置荧光显微镜下进行观察。

1.2.5 损伤血管平滑肌细胞增殖功能检测 CCK-8 检测各组细胞的增殖功能,移植术后 7 d,每组随机选取 3 只,获取小鼠损伤侧颈总动脉,分离培养中膜平滑肌细胞,接种至 96 孔板中,每孔 100 μL ,密度约 1.5×10^5 个/mL,培养 24 h 后更换为饥饿液继续培养 12 h,均加入 10 μL CCK-8,继续孵育 4 h 后,置酶标仪下(波长 450 nm)读取细胞光密度(optical density, OD)值。

1.2.6 损伤血管再内皮化检测 移植术后 7 d,每组随机选取 3 只,经尾静脉注射 5%伊文思蓝,处死后取损伤侧颈总动脉近分叉处进行检测,PBS 液冲洗纵向剖开的血管,显微镜下观察再内皮化情况,完成再内皮化部分无染色,未完成内皮化部分可染为蓝色。采用 IPP5.1 软件分析测量血管总面积和染色面积,损伤血管再内皮化比例(%)=(血管总面积-染色区域面积)/血管总面积 $\times 100\%$ 。

1.2.7 损伤血管内膜增生检测 移植术后 14 d,每组随机选取 3 只,取大鼠损伤侧颈总动脉近分叉处约 5 mm,标本固定后行冰冻切片,PBS 液冲洗 1~2 s,HE 染色,倒置显微镜获取图片,使用 IPP5.1 软件测量内膜和中膜面积。

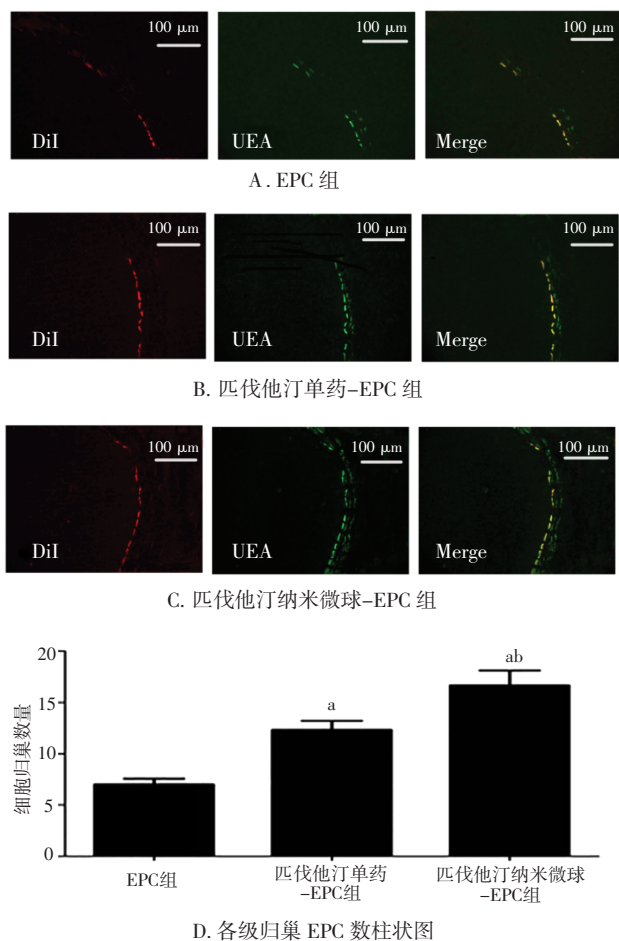
1.3 统计学处理

使用 SPSS 19.0 软件处理数据。数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组之间的比较采用单因素方差分析,两两比较使用 LSD-*t* 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 内皮祖细胞移植后体内示踪

荧光显微镜下显示:在内皮损伤部位可见孵育 DiI-acLDL 后呈红色荧光的 EPC 聚集,相应部位 FITC-UEA-I 呈绿色荧光,双染色阳性为具有内皮细胞特性的归巢 EPC(图 1A、B、C)。提示通过尾静脉移植 EPC 可归巢至血管损伤部位,成功分化为内皮细胞,对损伤血管的内皮修复起到极为重要的作用。统计可知 3 组归巢细胞数量差异具有统计学意义($F=21.828, P=0.002$),结果显示匹伐他汀可促进 EPC 归巢(匹伐他汀单药-EPC 组 vs. EPC 组, 12.33 ± 1.53 vs. $7.00 \pm 1.00, P=0.011$;匹伐他汀纳米微球-EPC 组 vs. EPC 组, 16.67 ± 4.47 vs. $7.00 \pm 1.00, P=0.001$)($n=3$),且以匹伐他汀纳米微球组效果明显(匹伐他汀纳米微球-EPC 组 vs. 匹伐他汀单药-EPC 组, 16.67 ± 4.47 vs. $12.33 \pm 1.53, P=0.025$)($n=3$)(图 1D)。



注:a,与EPC组比较, $P=0.011$;b,与匹伐他汀单药-EPC组比较, $P=0.025$

图1 匹伐他汀纳米微球对损伤动脉EPC归巢的作用(400×)

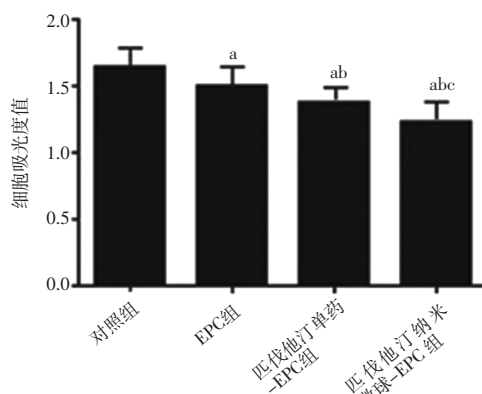
2.2 损伤血管平滑肌细胞增殖功能检测

移植术后1周获取损伤血管提取平滑肌细胞,CCK-8检测各组平滑肌细胞增殖情况,结果显示4组平滑肌细胞增殖差异具有统计学意义($F=18.919, P<0.001$)。EPC移植可抑制局部平滑肌细胞增殖(EPC组 vs. 对照组, 1.51 ± 0.04 vs. $1.65 \pm 0.02, P=0.011$)($n=9$),与单纯EPC移植组相比,匹伐他汀预处理EPC移植组增殖细胞数减少,且以匹伐他汀纳米微球组作用明显(匹伐他汀单药-EPC组 vs. EPC组, 1.41 ± 0.03 vs. $1.51 \pm 0.04, P=0.059$;匹伐他汀纳米微球-EPC组 vs. EPC组, 1.27 ± 0.05 vs. $1.51 \pm 0.04, P<0.001$;匹伐他汀纳米微球-EPC组 vs. 匹伐他汀单药-EPC组, 1.27 ± 0.05 vs. $1.41 \pm 0.03, P=0.013$)($n=9$)(图2)。

2.3 EPC移植对血管再内皮化的作用

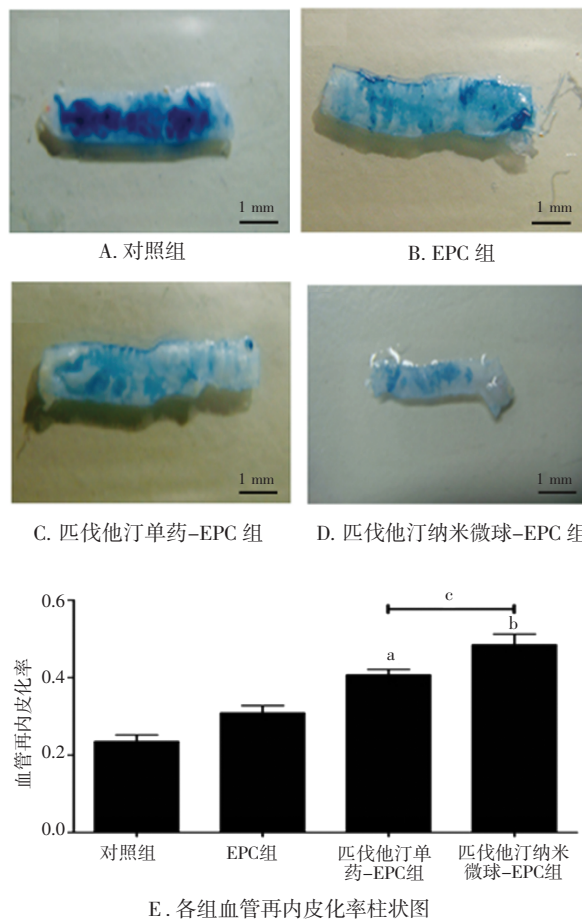
伊文思蓝染色后显示,4组血管再内皮化率差异具有统计学意义($F=30.649, P<0.001$)。与单纯手术组为对照,EPC移植可促进损伤血管的再内皮化(EPC组 vs. 对照组, 0.31 ± 0.03 vs. $0.24 \pm 0.03, P=0.030$)($n=3$),匹伐他汀预处理后血管的再内皮化率优于单纯EPC移植(匹伐他汀单药-EPC组 vs. EPC

组, 0.41 ± 0.02 vs. $0.31 \pm 0.03, P=0.008$;匹伐他汀纳米微球组 vs. 单纯EPC移植组, 0.48 ± 0.05 vs. $0.31 \pm 0.03, P<0.001$)($n=3$),且以匹伐他汀纳米微球组效果明显(匹伐他汀纳米微球-EPC组 vs. 匹伐他汀单药-EPC组, 0.48 ± 0.05 vs. $0.41 \pm 0.02, P=0.024$)($n=3$)(图3)。



注:a,与对照组比较, $P=0.010$;b,与EPC组比较, $P=0.005$;c,与匹伐他汀单药-EPC组比较, $P=0.005$

图2 匹伐他汀纳米微球对平滑肌细胞增殖的作用

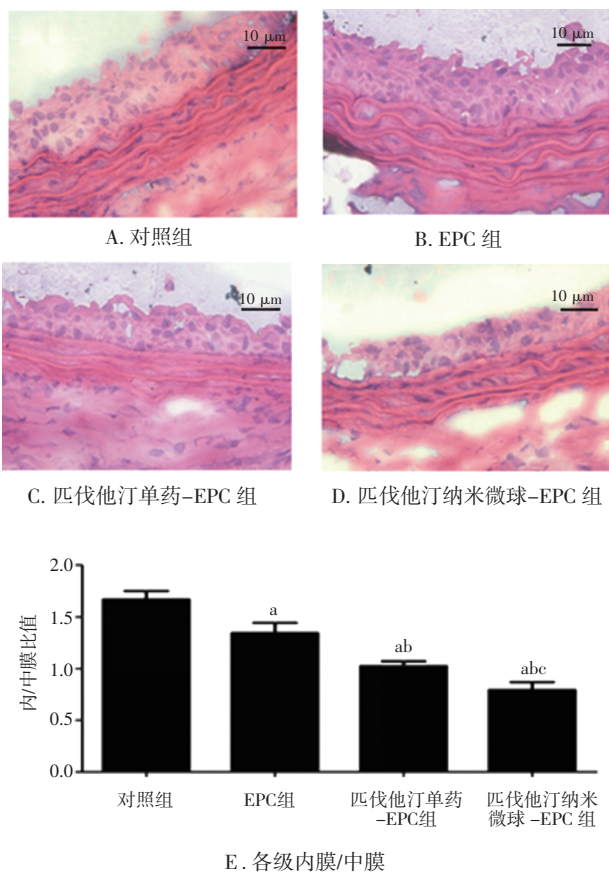


注:a,与对照组比较, $P=0.030$;b,与EPC组比较, $P=0.008$;c,与匹伐他汀单药-EPC组比较, $P=0.024$

图3 匹伐他汀纳米微球对损伤动脉再内皮化的作用

2.4 EPC 移植对损伤血管内膜增生的作用

EPC 移植后 2 周, HE 染色观察损伤血管内膜增生情况。方差分析 4 组血管内/膜比值差异, 结果显示差异具有统计学意义 ($F=24.552, P<0.001$)。以单纯手术组为对照, EPC 移植组 I/M 值低于单纯手术组 (EPC 移植组 vs. 对照组, 1.34 ± 0.29 vs. $1.67 \pm 0.24, P=0.005$) ($n=3$), 同时匹伐他汀预先处理 I/M 值低于单纯 EPC 移植 (匹伐他汀单药-EPC 组 vs. EPC 组, 1.02 ± 0.14 vs. $1.34 \pm 0.29, P=0.006$; 匹伐他汀纳米微球-EPC 组 vs. EPC 组, 0.79 ± 0.23 vs. $1.34 \pm 0.29, P<0.001$) ($n=3$), 而匹伐他汀纳米组 I/M 值明显低于匹伐他汀单药组 (匹伐他汀纳米微球-EPC 组 vs. 匹伐他汀单药-EPC 组, 0.79 ± 0.23 vs. $1.02 \pm 0.14, P=0.043$) ($n=3$) (图 4)。



注: a, 与对照组比较, $P=0.005$; b, 与 EPC 组比较, $P=0.006$; c, 与匹伐他汀单药-EPC 组比较 $P=0.043$

图 4 匹伐他汀纳米微球对损伤血管内膜增生的作用 (400 ×)

3 讨论

内皮损伤后可导致局部血管血栓形成、炎细胞聚集、基质重构、平滑肌细胞增殖等多种病理生理改变, 最终可导致血管内膜增生、管腔狭窄, 从而导

致动脉粥样硬化性疾病及血管成形术后再狭窄, 在这个过程中平滑肌细胞增殖迁移发挥重要作用, 而有效再内皮化和抑制平滑肌细胞增殖可抑制内膜过度增生, 从而有利于损伤血管的良性修复^[9-10]。

越来越多的研究显示, EPC 移植在修复损伤血管过程中起重要作用, 动员自身或移植的内皮祖细胞不仅可分化为内皮细胞有效促进血管再内皮化, 还可以通过旁分泌抑制平滑肌细胞增殖。但目前 EPC 移植仍面临极大挑战。首先, EPC 的功能和数量受高血压、高糖、衰老等多种因素影响^[11-13]; 其次, 移植后 EPC 归巢、存活率较低, 难以有效发挥修复损伤血管作用。临床上血管内膜增生及再内皮化是一个缓慢过程, 单次给予内皮祖细胞移植效果甚微。因此, 目前较多研究着眼于优化 EPC 生物功能, 寻找促进 EPC 归巢优势分布于靶区域的有效措施^[14-16]。

近年来, 有研究将纳米技术和干细胞移植这 2 项先进技术相结合, 提出基于纳米技术的干细胞研究新概念, 已将纳米技术广泛应用于干细胞培养、基因转染、功能优化、移植后示踪标记等^[17], 在心血管系统疾病上, 已有研究将纳米技术用于损伤血管的局部给药, 将雷帕霉素、紫杉醇等抗增殖药物制备成纳米微球, 通过纳米微球的缓慢水解释放以抑制平滑肌细胞增殖、防治损伤血管再狭窄, 但此种药物可同时抑制内皮祖细胞的生物学功能, 不利于血管的再内皮化, 对损伤血管的良性修复产生不利影响^[18-19]。因此, 有效抑制平滑肌细胞增殖同时促进血管再内皮化是血管损伤后良性重塑的关键。既往研究显示匹伐他汀可以高分子聚合物为载体制备成为纳米微球, 匹伐他汀纳米微球可改善内皮祖细胞的增殖、黏附分化、迁移等生物学功能, 但是否增强 EPC 移植的治疗潜能尚未可知。前期研究显示匹伐他汀纳米微球可被内皮祖细胞吞噬摄取, 在活体细胞内可持续 2~4 周, 缓慢水解释放给予细胞持续作用, 有效改善内皮祖细胞的分化、增殖、黏附等功能。与传统药物相比, 载药纳米微球具有良好的生物相容性, 可靶向定位、缓控释药。因此, 本研究充分利用匹伐他汀纳米微球特点, 可在 EPC 移植归巢后继续发挥作用, 为长期有效修复损伤血管提供一种新方法。

本研究结果显示, 较单纯 EPC 或匹伐他汀单药组, 移植匹伐他汀纳米微球预处理的 EPC 更易于归

巢至血管损伤局部,并分化为成熟内皮细胞,可为损伤血管的修复提供有效的优质干细胞资源。本研究发现移植匹伐他汀纳米微球处理的 EPC 能明显增加损伤段血管的再内皮化面积,说明匹伐他汀纳米微球处理的 EPC 在促进损伤血管的再内皮化上具有明显优势。与此同时,损伤血管部位可见平滑肌细胞增殖得到有效抑制,而匹伐他汀纳米微球修饰后内皮祖细胞移植组抑制效果明显。众所周知,抑制血管平滑肌细胞的异常增殖在心血管疾病的防治中具有非常重要的意义。本研究考虑其可能机制为匹伐他汀纳米微球可促进内皮祖细胞通过旁分泌作用于平滑肌细胞。此外,内皮祖细胞通过胞吐作用排出匹伐他汀纳米微球也可能直接作用于平滑肌细胞,在一定程度上发挥辅助作用。但匹伐他汀纳米微球如何对损伤血管发挥修复作用的具体分子机制和信息通路尚需进一步研究。

综上所述,在损伤血管的局部环境下,匹伐他汀纳米微球修饰后的 EPC 移植表现出更明显的损伤血管良性修复功能,为下一步临床应用提供了理论基础。

参 考 文 献

- [1] Wu Y, Su SG, Xie Y, et al. Murine models of vascular endothelial injury: techniques and pathophysiology[J]. *Thromb Res*, 2018, 169: 64–72.
- [2] Du YH, Ma XL. Mechanisms of adiponectin protection against diabetes-induced vascular endothelial injury[J]. *Acta Physiol Sin*, 2019, 71(3): 485–490.
- [3] Peters EB. Endothelial progenitor cells for the vascularization of engineered tissues[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2018, 24(1): 1–24.
- [4] Mitchell A, Fujisawa T, Newby D, et al. Vascular injury and repair: a potential target for cell therapies[J]. *Future Cardiol*, 2015, 11(1): 45–60.
- [5] 刘焕云. 匹伐他汀纳米颗粒改善内皮祖细胞生物学功能及修复损伤血管研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2016.
- [6] Katsuki S, Matoba T, Nakashiro S, et al. Nanoparticle-mediated delivery of pitavastatin inhibits atherosclerotic plaque destabilization/rupture in mice by regulating the recruitment of inflammatory monocytes[J]. *Circulation*, 2014, 129(8): 896–906.
- [7] Chen L, Nakano K, Kimura S, et al. Nanoparticle-mediated delivery of pitavastatin into lungs ameliorates the development and induces regression of monocrotaline-induced pulmonary artery hypertension[J]. *Hypertension*, 2011, 57(2): 343–350.
- [8] Ichimura K, Matoba T, Koga JI, et al. Nanoparticle-mediated targeting of pitavastatin to small pulmonary arteries and leukocytes by intravenous administration attenuates the progression of monocrotaline-induced established pulmonary arterial hypertension in rats[J]. *Int Heart J*, 2018, 59(6): 1432–1444.
- [9] Yao JT, Zhao XZ, Tan FC, et al. Early modulation of macrophage ROS-PPAR γ -NF- κ B signalling by sonodynamic therapy attenuates neointimal hyperplasia in rabbits[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 11638.
- [10] Chen DD, Tao XY, Wang Y, et al. Curcumin accelerates reendothelialization and ameliorates intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery via the upregulation of endothelial cell autophagy[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(6): 1563–1571.
- [11] Skrzypkowska M, Myśliwska J, Słomiński B, et al. Quantitative and functional characteristics of endothelial progenitor cells in newly diagnosed hypertensive patients[J]. *J Hum Hypertens*, 2015, 29(5): 324–330.
- [12] Yang JX, Pan YY, Wang XX, et al. Endothelial progenitor cells in age-related vascular remodeling[J]. *Cell Transplant*, 2018, 27(5): 786–795.
- [13] Yang Y, Zhou Y, Wang YY, et al. Exendin-4 regulates endoplasmic Reticulum stress to protect endothelial progenitor cells from high-glucose damage[J]. *Mol Cell Probes*, 2020, 51: 101527.
- [14] Zhang JB, Zhang HL, Chen YK, et al. Platelet-derived growth factor D promotes the angiogenic capacity of endothelial progenitor cells[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(1): 125–132.
- [15] Zhang WG, Chen PJ, Zong HM, et al. miR-143-3p targets ATG2B to inhibit autophagy and promote endothelial progenitor cells tube formation in deep vein thrombosis[J]. *Tissue Cell*, 2020, 67: 101453.
- [16] 钟钧琳, 张艳玲, 赵云跃, 等. 瑞舒伐他汀通过抑制晚期糖基化终末产物受体改善晚期内皮祖细胞再内皮化功能[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(1): 15–20.
- [17] Zhong JL, Zhang YL, Zhao YY, et al. Rosuvastatin enhances reendothelialization of endothelial outgrowth cells induced by C-reactive protein through regulating receptor for advanced glycation end products[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2016, 32(1): 15–20.
- [18] Krohn-Grimberghe M, Mitchell MJ, Schloss MJ, et al. Nanoparticle-encapsulated siRNAs for gene silencing in the haematopoietic stem-cell niche[J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(11): 1076–1089.
- [19] Reddy MK, Vasir JK, Sahoo SK, et al. Inhibition of apoptosis through localized delivery of rapamycin-loaded nanoparticles prevented neointimal hyperplasia and reendothelialized injured artery[J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2008, 1(3): 209–216.
- [20] 朱琳琳, 陈绍良, 张娟, 等. 雷帕霉素和紫杉醇对骨髓内皮祖细胞数量及功能的影响[J]. *中国临床医学*, 2012, 19(5): 459–461.
- [21] Zhu LL, Chen SL, Zhang J, et al. Effects of rapamycin and paclitaxel on the number and activity of bone marrow-derived endothelial progenitor cells[J]. *Chin J Clin Med*, 2012, 19(5): 459–461.

(责任编辑: 冉明会)