

红细胞生成素对慢性肾衰竭大鼠残肾组织归巢因子表达的影响

李镇洲 万建新 崔炯 陈俊 高娜 许艳芳 邹臻寰 尤丹瑜

【摘要】 目的 观察红细胞生成素(EPO)对慢性肾衰竭(CRF)大鼠肾组织归巢因子表达的影响。方法 采用分阶段 5/6 肾切除制备大鼠 CRF 模型。实验动物随机分为 3 组:假手术组、CRF 模型组和 EPO 治疗组。从第 3 周开始,治疗组大鼠每次皮下注射重组人 EPO 50 IU/kg,每周 3 次,共 6 周。8 周后检测各组大鼠血肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)、尿蛋白、血红蛋白(Hb);采用实时荧光定量 PCR、Western 印迹和免疫组化方法检测残肾组织 EPO 及其受体(EPOR)、归巢因子及其受体(SDF-1、CXCR4、Ang-1、Tie2、SCF、c-Kit)的表达。结果 与模型组比较,EPO 治疗可上调残肾组织归巢因子及其受体(SDF-1、CXCR4、Ang-1、Tie2、SCF、c-Kit) mRNA 和蛋白的表达(均 $P < 0.05$);同时,EPO 治疗还可上调残肾组织 EPO 及 EPOR 的 mRNA 和蛋白的表达(均 $P < 0.05$)。此外,EPO 治疗还能下调大鼠 Scr、BUN 和尿蛋白水平(均 $P < 0.05$),上调 Hb 水平($P < 0.05$)。结论 EPO 能改善慢性肾衰竭大鼠的肾功能,这种作用可能与其激活残肾组织归巢因子而参与损伤肾脏的修复有关。

【关键词】 红细胞生成素; 肾功能衰竭,慢性; 大鼠,Sprague-Dawley; 归巢因子

Effect of erythropoietin on the expression of homing factors of remnant renal tissue from rats with chronic renal failure Li Zhen-zhou, WAN Jian-xin, CUI Jiong, CHEN Jun, GAO Na, XU Yan-fang, ZOU Zhen-huan, YOU Dan-yu. Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China

Corresponding author: WAN Jian-xin, Email: wanjx@263.net

【Abstract】 Objective To investigate the effect of erythropoietin (EPO) on the expression of homing factors of remnant renal tissue from rats with chronic kidney failure (CRF). **Methods** The CRF model was established by a two stage 5/6 nephrectomy procedure in rats. Experimental rats were randomly divided into three groups: sham operation group, CRF model group, EPO treatment group (CRF rats treated with human recombinant EPO). CRF rats received EPO by hypodermic injection with 50 IU/kg three times a week for 6 weeks and then were sacrificed. Serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), urine protein and haematoglobin (Hb) were measured. The expression of EPO and its receptor (EPOR), homing factors and their receptors (SDF-1, CXCR4, Ang-1, Tie2, SCF, c-Kit) in remnant kidney tissue were detected by the methods of real-time PCR, Western blotting and immunohistochemistry. **Results** Compared with CRF model group, the expressions of homing factors and their receptors (SDF-1, CXCR4, Ang-1, Tie2, SCF, c-Kit) in remnant kidney tissue were up-regulated by administration of EPO in treatment group (all $P < 0.05$). Meanwhile, the expressions of EPO and its receptor in remnant kidney tissue were also up-regulated by administration of EPO in treatment group (all $P < 0.05$). Moreover, the Scr, BUN and urine protein in EPO treatment group were lower than those in CRF model group (all $P < 0.05$). Instead, haematoglobin was higher than that in

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2013.05.006

基金项目:福建省自然科学基金(2011J01163);福建医科大学教授发展基金(JS10010)

作者单位:350005 福州,福建医科大学附属第一医院肾内科

通信作者:万建新,Email:wanjx@263.net

CRF model group ($P < 0.05$). **Conclusion** EPO can improve renal function in rats with chronic renal failure, maybe through activation of homing factors in remnant kidney tissue which are involved in repairing damaged kidney.

【Key words】 Erythropoietin; Kidney failure, chronic; Rats, Sprague - Dawley; Homing factors

血管内皮细胞的损伤在肾脏微血管丢失中起重要作用。血管内皮祖细胞(EPC)是成熟血管内皮细胞的前体细胞。我们前期的研究表明红细胞生成素(EPO)能促进5/6肾大部切除大鼠外周血EPC的动员和增殖,改善外周血EPC黏附能力和形成血管腔样结构的能力,促进肾小球毛细血管内皮功能的修复、减轻肾脏的病理改变和改善肾功能^[1-2]。但其确切机制尚不清楚。本研究我们观察EPO是否能激活慢性肾衰竭(CRF)大鼠残肾组织归巢因子及其受体的表达,进一步探讨EPO改善大鼠CRF的机制。

材料和方法

1. 材料: 成年雄性6周龄SD大鼠,体质量200~250 g,购自吴氏动物中心(编号:2007000521321)。人重组EPO(rHuEPO,沈阳三生),Trizol(美国Invitrogen),PCR试剂盒(日本TaKaRa),通用型二步法免疫组化试剂盒(北京中杉金桥),EPO抗体及其受体(EPOR)抗体、原癌基因蛋白c-Kit抗体(美国Santa Cruz),基质细胞衍生因子1 α (SDF-1 α)及其受体(CXCR4)抗体(美国Abcam),干细胞因子(SCF)抗体(美国Sigma),原癌基因蛋白c-Kit抗体(美国Santa Cruz),血管生成素1(Ang-1)抗体(美国Molecular Robes),酪氨酸激酶受体2(Tie2)抗体(德国Merk)。

2. 动物模型制备及分组: 采用分阶段5/6肾切除制备大鼠CRF模型:10%水合氯醛腹腔麻醉后,经侧腹部切口,暴露左侧肾脏,分离肾动脉及其分支,结扎其中的左上支和中支并剪断,使左肾梗死约2/3,3 d后再将大鼠右肾摘除。28只SD大鼠按完全随机方法分为3组(每组7只):假手术组、CRF模型组和EPO治疗组。假手术组仅分离肾动脉及其分支,不予结扎;EPO治疗组于第2次手术后第3周开始皮下注射EPO 50 IU/kg,每周3次,连用6周。所有大鼠均于造模后8周处死。

3. 大鼠尿蛋白、肾功能、血红蛋白的检测: 处死大鼠前1 d,将大鼠放入代谢笼中收集24 h尿液,用邻苯三酚红钼络合法测定24 h尿蛋白量。处死大鼠时经心脏取血2 ml,用全自动生化分析仪和血常规分析仪测定血清尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)和血红蛋白(Hb)。

4. 实时荧光定量PCR: 取冻存于液氮中残肾组织约50 mg,加入1 ml Triol细胞裂解液,按试剂说明书进行总RNA提取和反转录。所用的引物序列及扩增长度见表1,由日本TaKaRa公司协助设计并合成。定量扩增用ABI PRISM 7500 Fast荧光PCR仪,采用SYBR Green PCR方法进行。PCR反应条件:95℃预变性30 s,95℃变性5 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s,共30个循环。反应结束后确认PCR扩增曲线和融解曲线。采用比较Ct法相对定量,结果以两组间目的基因拷贝数比值(RQ)表示。每个cDNA模板标本重复检测3

表1 各引物序列及扩增长度

目的基因	引物序列	产物长度
EPO	正义链TACGTAGCCTCACTTCACTGCTTC	169 bp
	反义链CCCGTGTACAGCTTCAGTTTCC	
EPOR	正义链TCTCACTGTTGCTGACTGTGCTG	127 bp
	反义链AAGTTACCCTTGTGGGTGGTGAA	
SDF-1	正义链TGAGAGCCATGTCGCCAGA	168 bp
	反义链GCTTACTTGTTTAAGGCTTTGTCCA	
CXCR4	正义链AGTGACCCTCTGAGGCGTTTG	139 bp
	反义链GAAGCAGGGTTCCTTGTGGAGT	
Ang-1	正义链ACCGTGAGGATGGAAGCCTAGA	101 bp
	反义链AATGAACTCGTCCCAAGCCAATA	
Tie2	正义链CACCGTGCTATTGGCGTTTC	128 bp
	反义链GGGCCAGAGTTCCTGAGTTGA	
SCF	正义链TGACCTCGTGCCATGTATGGA	157 bp
	反义链ACTAGTGTGATGCCACCATGAAG	
c-Kit	正义链TTACATAGACCCGACGCAAC	181 bp
	反义链GCACTTGGTTTGAGCATCTTC	

注: EPO: 红细胞生成素; EPOR: 红细胞生成素受体; SDF-1: 基质细胞衍生因子1; CXCR4: 基质细胞衍生因子受体; Ang-1: 血管生成素1; Tie2: 酪氨酸激酶受体2; SCF: 干细胞因子; c-Kit: 原癌基因蛋白

次,结果取平均值,每次反应 3 个基因各设阴性空白对照。

5. Western 印迹:每个标本取约 50 mg 肾组织用蛋白裂解液处理,按 Bradford 蛋白定量试剂盒说明书测定蛋白量。并按经典方法配制 10%SDS-PAGE 分离胶和 5%浓缩胶进行蛋白电泳。将电泳的凝胶以相同大小的 NC 膜进行转膜。将封闭好的 NC 膜分别放入用封闭液稀释的第一抗体中孵育。以 TIPC 标记山羊抗大鼠 IgG 做为第二抗体,用增强化学发光法显影,扫描后用 Ultraviolet Transilluminator 系统软件分析,蛋白表达量用吸光度(A)表示。以β-actin 为内参照,以目的蛋白与β-actin 的比值表示其相对含量。

6. 免疫组化:2 μm 的石蜡切片,常规二甲苯脱蜡和梯度乙醇水化,滴加 3% H_2O_2 去离子水孵育 10 min,阻断内源性过氧化物酶,PBS 冲洗,加入适当比例稀释的一抗 50 μl,37℃孵育 1 h,加入二抗,37℃孵育 30 min,PBS 冲洗,DAB 显色。蒸馏水及时终止反应,自来水冲洗 5 min;苏木素淡染细胞核,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封固。用 PBS 代替一抗作为阴性对照。阳性反应物部位呈棕色,细胞核呈淡蓝色。在 200 倍的显微镜视野下,每张切片取 5 个不重复的视野,由摄像系统提取数据化病理图像,输入图像分析系统 Motic Images Advanced 进行吸光度(A)计算,取其平均 A 值进行统计分析。

7. 统计学处理:所有计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,经方差齐性检验,再进行两独立样本均数的 *t* 检验和不同时间点组内的方差分析(单因素方差分析,组内的两两均数比较采用 LSD 检验),*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。使用 SPSS 15.0 统计软件包进行数据处理。

结 果

1. EPO 对残肾大鼠尿蛋白、肾功能和 Hb 的影响:模型组 Scr、BUN 和 24 h 尿蛋白量均显著高于假手术组(均 *P* < 0.05),Hb 显著低于假手术组(*P* < 0.05);而治疗组 Scr、BUN 和 24 h 尿蛋白量均显著低于模型组(均 *P* < 0.05),Hb 显著高于模型组(*P* < 0.05),见表 2。

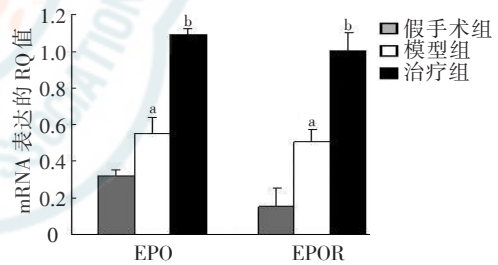
2. EPO 对残肾组织 EPO 和 EPOR 表达的影响:实时荧光定量 PCR 结果显示,模型组 EPO、

表 2 EPO 对 CRF 大鼠肾功能、尿蛋白和 Hb 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	Scr (μmol/L)	BUN (mmol/L)	尿蛋白量 (mg/24 h)	Hb (g/L)
假手术组	15.65±0.41	5.37±0.78	12.76±1.89	152.40±5.37
模型组	110.23±23.35 ^a	21.14±2.12 ^a	69.54±9.87 ^a	110.32±3.87 ^a
治疗组	64.37±9.56 ^b	15.43±3.29 ^b	30.49±6.53 ^b	138.85±5.56 ^b

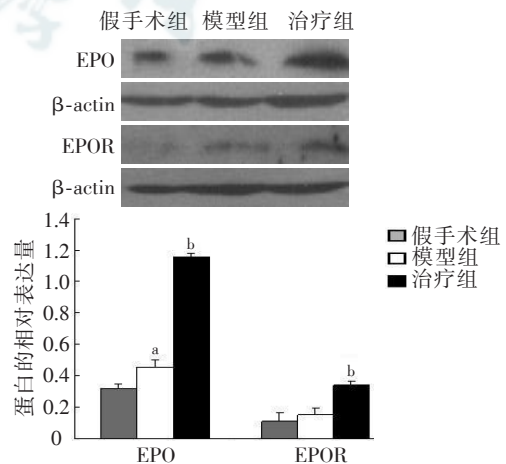
注:与假手术组比较,^a*P* < 0.05;与模型组比较,^b*P* < 0.05

EPOR 的 mRNA 表达显著高于假手术组(均 *P* < 0.05),而治疗组 EPO、EPOR 的 mRNA 表达均显著高于模型组(均 *P* < 0.05),见图 1。Western 印迹结果显示,模型组 EPO 的蛋白表达显著高于假手术组(*P* < 0.05),治疗组 EPO 的蛋白表达又显著高于模型组(*P* < 0.05);治疗组 EPOR 的蛋白表达显著高于模型组(*P* < 0.05),见图 2。免疫组化结果显示,EPO 和 EPOR 呈棕黄色颗粒状,EPO 主要分布于肾小管,EPOR 分布于肾间质小血管;与模型组相比,治疗组 EPO 和 EPOR 阳性细胞着色深、数



注:与假手术组比较,^a*P* < 0.05;与模型组比较,^b*P* < 0.05

图 1 EPO 对 CRF 大鼠残肾组织 EPO、EPOR 的 mRNA 表达的影响(实时荧光定量 PCR)



注:与假手术组比较,^a*P* < 0.05;与模型组比较,^b*P* < 0.05

图 2 EPO 对残肾组织 EPO、EPOR 的蛋白表达的影响 (Western 印迹)

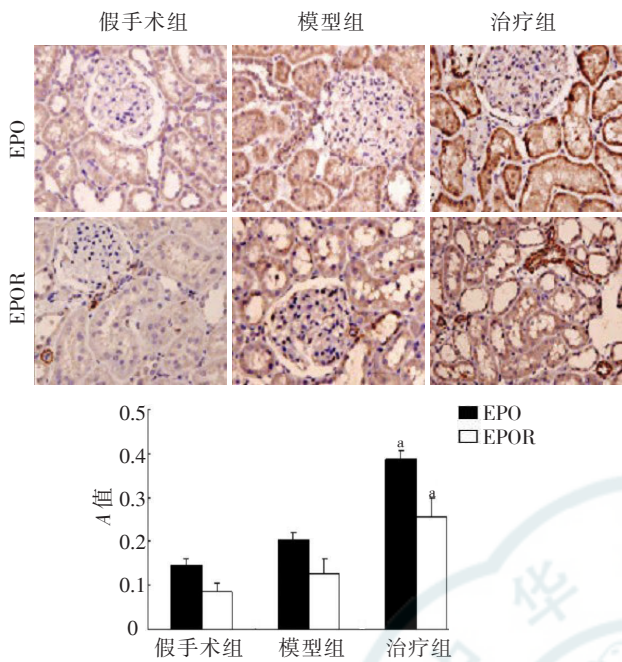


图3 EPO对CRF大鼠残肾组织EPO、EPOR表达的影响(免疫组化×200)

目多、平均吸光度值大,见图3。

3. EPO对残肾组织归巢因子及其受体表达的影响:实时荧光定量PCR结果显示,治疗组SDF-1、CXCR4的mRNA表达均显著高于模型组(均 $P < 0.05$);模型组Ang-1、Tie2、SCF、c-Kit的mRNA表达均显著高于假手术组(均 $P < 0.05$),而治疗组Ang-1、Tie2、SCF、c-Kit的mRNA表达又均显著高于模型组(均 $P < 0.05$),见图4。

Western印迹结果显示,治疗组Ang-1的蛋白表达显著高于模型组($P < 0.05$);模型组SDF-1、CXCR4、Tie2、SCF、c-Kit的mRNA表达均显著高于假手术组(均 $P < 0.05$),而治疗组SDF-1、CXCR4、Tie2、SCF、c-Kit mRNA的表达又均显著高于模型组(均 $P < 0.05$),见图5。

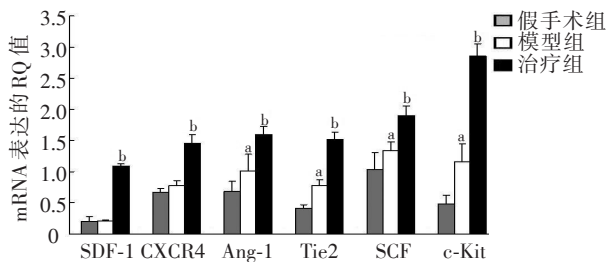


图4 EPO对CRF大鼠残肾组织归巢因子及其受体mRNA表达的影响(实时荧光定量PCR)

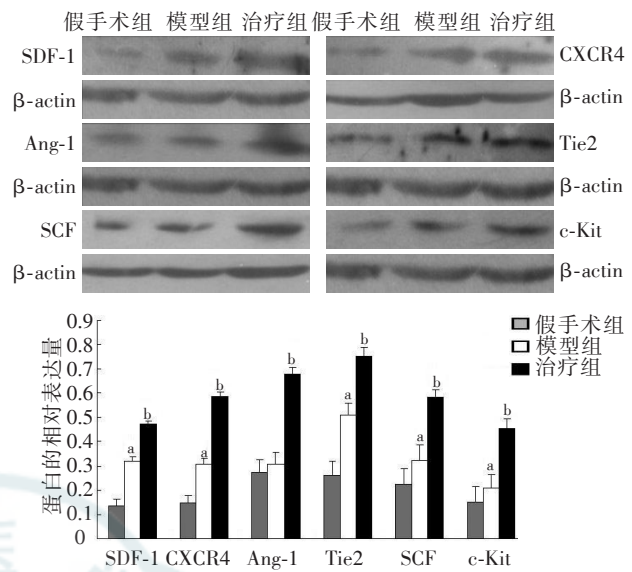


图5 EPO对CRF大鼠残肾组织归巢因子及其受体表达的影响(Western印迹)

免疫组化结果显示, SDF-1、CXCR4、Ang-1、Tie2、SCF、c-Kit蛋白呈棕黄色颗粒状, SDF-1、CXCR4主要分布于肾小管, Ang-1主要分布于肾小管, Tie2分布于肾小球和肾小管, SCF、c-Kit主要分布于肾小管, 见图6, 图7, 图8。半定量分析结果显示, 模型组SDF-1、CXCR4的蛋白表达显著高于假手术组(均 $P < 0.05$), 而治疗组SDF-1、

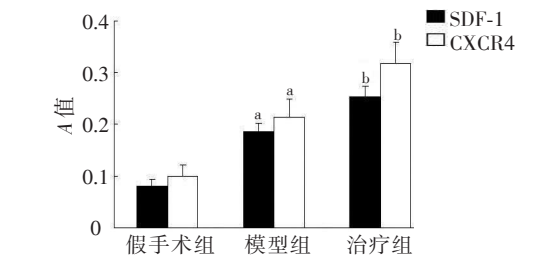
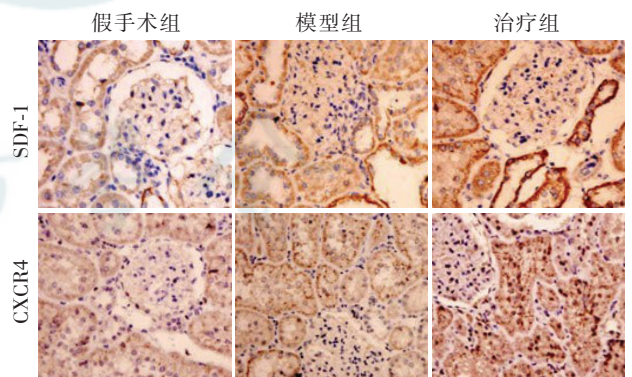


图6 EPO对CRF大鼠残肾组织SDF-1及其受体CXCR4表达的影响(免疫组化×200)

CXCR4 的蛋白表达又显著高于模型组 (均 $P < 0.05$), 见图 6; 模型组 Ang-1、Tie2 的蛋白表达显著高于假手术组 (均 $P < 0.05$), 而治疗组 Ang-1、Tie2 蛋白的表达又显著高于模型组 (均 $P < 0.05$), 见图 7; 模型组 SCF、c-Kit 的蛋白表达显著高于假手术组 (均 $P < 0.05$), 而治疗组 SCF、c-Kit 的蛋白表

达又显著高于模型组 (均 $P < 0.05$), 见图 8。

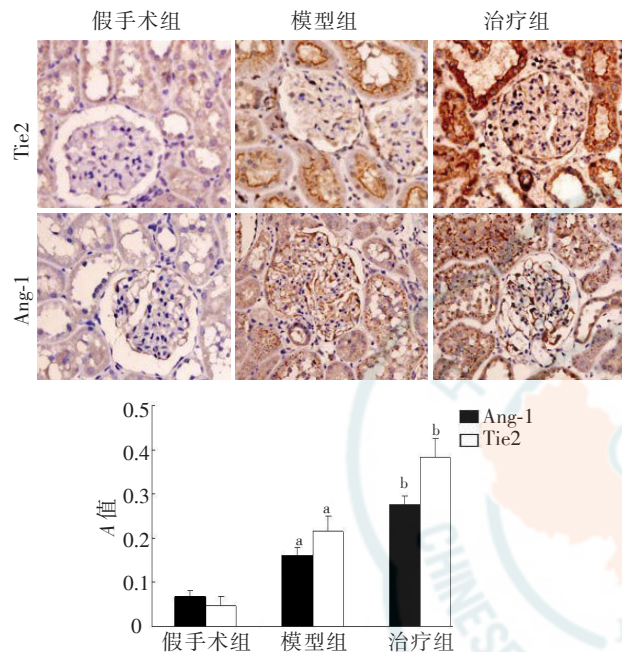
讨 论

干、祖细胞的归巢是一个多环节、多步骤协调的过程, 其中有细胞因子、趋化因子、黏附分子、基质蛋白降解酶等分子参与。目前, 有关 EPC 归巢的确切机制尚未完全清楚, 有研究表明靶组织中某些与归巢相关的因子表达上调与 EPC 的归巢有关^[3]。

SDF-1 是 CXC 趋化因子家族成员, CXCR4 是其特异性受体。研究表明 CXCR4 在 EPC 表面高度表达^[4]。SDF-1 通过与 CXCR4 结合, 促进 CD34⁺造血干、祖细胞逆 SDF-1 浓度梯度移行和增殖, 抑制 CD34⁺造血干、祖细胞凋亡, 诱导新生血管形成^[4]。SDF-1 还能促进内皮细胞和 EPC 的存活与增殖, 诱导 EPC 的定向迁移并参与新血管形成^[6-7]。Aiuti 等^[8]发现, 缺血的心肌组织 SDF-1 表达上调, 可介导干、祖细胞归巢到缺血组织并参与新生血管的形成。Yin 等^[9]发现在动脉损伤后, SDF-1 可作为独立因素动员和归巢 EPC 参与损伤血管的再内皮化。Kuliszewski 等^[10]发现, 在应用通过超声破坏微泡技术联合 SDF-1 基因质粒转染治疗肌肉缺血动物模型后, 移植的 EPC 能特异归巢到 SDF-1 表达的损伤组织。

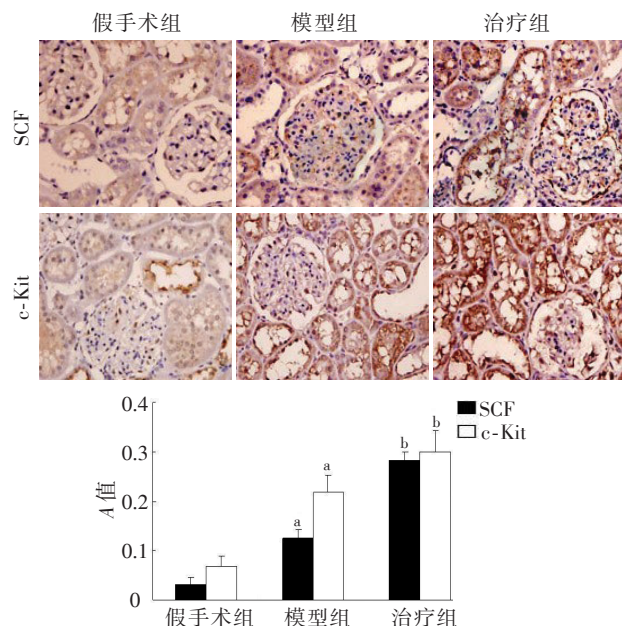
SCF 与其特定受体 c-Kit 结合后可形成受体配基二聚体复合物, 进而启动相应信号转导通路, 发挥细胞调控等生物学作用。随着造血干、祖细胞发育进程的变化, 原始干细胞表面 c-Kit 受体较少, 其后逐渐增加, 直至祖细胞水平达到最高, 当祖细胞向成熟细胞分化, c-Kit 的密度又逐渐降低, 终末分化的细胞表面不再表达 c-Kit 受体^[11]。EPC 有 c-Kit 受体表达^[12]。EPC 募集到特定组织需依赖 SCF 和 c-Kit 之间的相互作用, 抑制 c-Kit 酶活性可阻止 EPC 黏附到内皮细胞。Kim 等^[13]研究发现, SCF 可通过增强损伤内皮对 EPC 的黏附能力, 进一步增加归巢至损伤组织的 EPC 数量。还有研究证实 SCF 和白细胞介素 26 能诱导 CXCR4 在 CD34⁺细胞上表达^[14]。

研究表明血管紧张素家族在机体血管新生、迁移等方面具有重要作用^[15]。Ang-1 主要表达在胚胎期间质细胞和成人富含血管的组织, 可促进内皮细胞迁移, 抑制内皮凋亡, 降低血管通透性,



注: 与假手术组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$

图 7 EPO 对 CRF 大鼠残肾组织 Ang-1、Tie2 表达的影响 (免疫组化 ×200)



注: 与假手术组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$

图 8 EPO 对 CRF 大鼠残肾组织 SCF、c-Kit 表达的影响 (免疫组化 ×200)

增加血管稳定性。Tie2 是血管紧张素家族的共同受体。Hattori 等^[16]研究表明, Ang-1-Tie2 轴在出生后的造血重建过程中, 对造血干、祖细胞的动员和归巢起重要作用。

过去认为 EPOR 仅存在早期红系细胞表面, 而近年的研究发现 EPOR 还广泛表达于其他很多非造血组织细胞中^[17]。组织缺氧是介导 EPC 参与局部组织损伤血管再生修复的主要病理生理调节因素, EPC 的动员和归巢可能与局部的缺氧环境有关。EPO 还是一种低氧诱导因子, 在低氧和 EPO 的协同作用下可诱导 EPOR 的表达^[18]。Lin 等^[19]研究证实, 在低氧条件下, EPO-EPOR 可通过增强 SDF 表达, 加强干、祖细胞的动员。在低氧预刺激条件下, EPO 通过介导局部损伤心肌内 SDF-1 的高表达, 促进循环 CD34⁺CXCR4⁺祖细胞、内皮祖细胞的动员的增加, 且该效应可被 EPOR 阻断。

总之, 本研究的 CRF 大鼠经过 EPO 治疗后, 肾功能改善, 尿蛋白减少。EPO 这种肾脏保护作用, 很可能是与激活残肾组织归巢因子而参与损伤肾脏的修复有关。

参 考 文 献

- [1] 万建新, 杨霞, 崔炯, 等. 红细胞生成素对慢性肾衰竭大鼠外周血内皮祖细胞的影响. 中华肾脏病杂志, 2010, 26: 840-844.
- [2] 万建新, 杨霞, 崔炯, 等. 红细胞生成素对慢性肾衰竭大鼠肾小球内皮细胞功能的影响. 中华肾脏病杂志, 2011, 27: 442-447.
- [3] Chade AR, Zhu XY, Krier JD, et al. Endothelial progenitor cells homing and renal repair in experimental renovascular disease. *Stem Cells*, 2010, 28: 1039-1047.
- [4] Walter DH, Rochwalsky U, Reinhold J, et al. Sphingosine-1-phosphate stimulates the functional capacity of progenitor cells by activation of the cxcr4-dependent signaling pathway via the s1p3 receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27: 275-282.
- [5] Abbott JD, Huang Y, Liu D, et al. Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation*, 2004, 110: 3300-3305.
- [6] Togel F, Isaac J, Hu Z, et al. Renal SDF-1 signals mobilization and homing of CXCR4-positive cells to the kidney after ischemic injury. *Kidney Int*, 2005, 67: 1772-1784.
- [7] Askari AT, Unzek S, Popovic ZB, et al. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet*, 2003, 362(9385): 697-703.
- [8] Aiuti A, Webb IJ, Bleul C, et al. The chemokine sdf-1 is a chemoattractant for human cd34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of cd34+ progenitors to peripheral blood. *J Exp Med*, 1997, 185: 111-120.
- [9] Yin Y, Zhao X, Fang Y, et al. SDF-1 alpha involved in mobilization and recruitment of endothelial progenitor cells after arterial injury in mice. *Cardiovasc Pathol*, 2010, 19: 218-227.
- [10] Kuliszewski MA, Kobulnik J, Lindner JR, et al. Vascular gene transfer of SDF-1 promotes endothelial progenitor cell engraftment and enhances angiogenesis in ischemic muscle. *Mol Ther*, 2011, 19: 895-902.
- [11] McInnes CJ, Deane D, Thomson J, et al. The cloning and expression of the cDNA for ovine stem cell factor (kit-ligand) and characterization of its in vitro haematopoietic activity. *Cytokine*, 1999, 11: 249-256.
- [12] Dentelli P, Rosso A, Balsamo A, et al. C-kit, by interacting with the membrane-bound ligand, recruits endothelial progenitor cells to inflamed endothelium. *Blood*, 2007, 109: 4264-4271.
- [13] Kim KL, Meng Y, Kim JY, et al. Direct and differential effects of stem cell factor on the neovascularization activity of endothelial progenitor cells. *Cardiovasc Res*, 2011, 92: 132-140.
- [14] Grant MB, May WS, Caballero S, et al. Adult hematopoietic stem cells provide functional hemangioblast activity during retinal neovascularization. *Nat Med*, 2002, 8: 607-612.
- [15] Gao X, Xu Z. Mechanisms of action of angiogenin. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2008, 40: 619-624.
- [16] Hattori K, Dias S, Heissig B, et al. Vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1 stimulate postnatal hematopoiesis by recruitment of vasculogenic and hematopoietic stem cells. *J Exp Med*, 2001, 193: 1005-1014.
- [17] Jelkmann W, Bohlius J, Hallek M, et al. The erythropoietin receptor in normal and cancer tissues. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2008, 67: 39-61.
- [18] Beleslin-Cokic BB, Cokic VP, Yu X, et al. Erythropoietin and hypoxia stimulate erythropoietin receptor and nitric oxide production by endothelial cells. *Blood*, 2004, 104: 2073-2080.
- [19] Lin JS, Chen YS, Chiang HS, et al. Hypoxic preconditioning protects rat hearts against ischaemia-reperfusion injury: Role of erythropoietin on progenitor cell mobilization. *J Physiol*, 2008, 586 Pt 23: 5757-5769.

(收稿日期: 2013-02-25)

(本文编辑: 杨克魁)