

· 论著 ·

雌激素对糖尿病大鼠内皮祖细胞功能的影响及其机制研究

董雅芬, 王建, 李莉, 李姝姝, 刘河龙, 邱彦 (上海市浦东新区人民医院, 上海 201200)

[摘要] 目的 探索雌激素对糖尿病大鼠内皮祖细胞 (EPCs) 功能的影响及其可能的作用机制。方法 取健康 Wistar 大鼠骨髓提取 EPCs 并采用流式细胞仪和荧光显微镜鉴定。大鼠给予链脲佐菌素诱导为糖尿病模型, 提取正常大鼠和糖尿病大鼠骨髓 EPCs 并培养, 糖尿病大鼠 EPCs 体外给予雌激素 10 nmol/L 孵育 24 h。检测 EPCs 增殖和功能; 测定 EPCs 中锰超氧化物歧化酶 (MnSOD) 水平和 NO 水平及上清液中凝血酶敏感蛋白-1(TSP-1) 蛋白水平。结果 与对照组比较, 糖尿病 EPCs 的细胞增殖能力、迁移能力和小管形成功能受损 ($P<0.01$), 而雌激素体外干预后细胞增殖能力、迁移能力和小管形成功能均得到改善 ($P<0.01$); 糖尿病 EPCs 中 MnSOD 水平和 NO 水平明显下调, 上清液中 TSP-1 蛋白水平升高 ($P<0.01$); 雌激素孵育能逆转上述改变 ($P<0.01$)。结论 雌激素能改善糖尿病大鼠 EPCs 迁移能力和小管形成功能, 作用机制可能与其降低糖尿病 EPCs 内的氧化应激及下调 TSP-1 的表达相关。

[关键词] 雌激素; 内皮祖细胞; 糖尿病; 凝血酶敏感蛋白; 锰超氧化物歧化酶; 一氧化氮

[中图分类号] R587.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2022)04-0320-06

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202106121

Effect and mechanism of estrogen on EPCs function in diabetic rats

DONG Yafen, WANG Jian, LI Li, LI Shushu, LIU Helong, QIU Yan (Shanghai Pudong New Area People's Hospital, Shanghai 201200, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect and mechanism of estrogen on endothelial progenitor cells (EPCs) function in diabetic rats. **Methods** EPCs were isolated from bone marrow of rats and characterized by fluorescence microscopy and flow cytometry. Rat diabetic model was established via streptozotocin induction. The bone marrow was taken to culture EPCs. EPCs of diabetes were incubated with Estrogen 10 nmol/L for 24h. The functions and proliferation of EPCs in vitro were detected. The levels of MnSOD and NO in EPCs and TSP-1 in supernatant were assayed. **Results** Compared with control group, EPCs proliferation, adhesion and angiogenesis functions were impaired in diabetic rats. The level of MnSOD and NO in diabetic EPCs were significantly decreased, while TSP-1 protein level in the supernatant increased. The above changes can be reversed with estrogen incubation. **Conclusion** Estrogen improved the EPCs migration and tubule formation in diabetic rats. The mechanism may be related to the reduction of oxidative stress and downregulation of TSP-1 expression in diabetic EPCs.

[Key words] estrogen; endothelial progenitor cells; diabetes; TSP-1; MnSOD; NO

随着经济的发展和人民生活水平的提高, 糖尿病的患病率仍在逐年上升, 血管并发症是导致患者残疾和死亡的主要原因, 并给社会和经济的发展带来了沉重负担。内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 在各种因素刺激下, 从骨髓动员到外周血, 参与损伤内皮的修复, 在血管新生中具有重要作用^[1-3]。但是高血糖会导致 EPCs 数量减少及功能受损^[4-5]。研究表明, 雌激素降低是心血管疾病发

病的危险因素。因此, 本实验通过研究雌激素对糖尿病大鼠 EPCs 功能的改善作用并探讨可能的作用机制, 为探讨糖尿病血管并发症提供理论依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠, 雄性, 体重(180±10)g (上海斯莱克实验动物有限公司)。实验期间, 保持动物房室温在 22 °C 左右, 相对湿度 70% 左右, 早 8 点至晚 8 点自动照明。动物自由进食, 自由饮水, 所有实验动物均符合实验动物伦理学要求。

1.2 药物与主要试剂

雌激素 (Abcam 公司); 链脲佐菌素 (Sigma aldrich 公司); FITC 标记的荆豆凝集素 I (FITC-

[基金项目] 上海市浦东新区人民医院科技项目 (E17-04); 浦东新区卫生健康委员会领先人才培养项目 (PRWL2020-08)

[作者简介] 董雅芬, 硕士, 主管药师, 研究方向: 临床药学, Email: dongyafen7y@126.com

[通信作者] 邱彦, 博士, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向: 临床药理, Email: qiuyan2189@163.com

UAE-I)(美国 Sigma 公司); Dil 标记的乙酰化低密度脂蛋白 (Dil-ac-LDL)(Molecular Probe 公司); 甲醛溶液(国药集团化学试剂有限公司); 基质胶 (matrigel)(Thermo Fisher 公司); EGM-2 培养基 (LON-ZA 公司); CCK-8 试剂盒(日本 Dojindo 公司); NO 检测试剂盒(美国 Abcam 公司)。

2 方法

2.1 动物模型的制备

Wistar 雄性大鼠, 10~12 周, 适应性地喂养 1 周后, 连续 7 d 空腹腹腔注射新鲜配制的链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 55 mg/(kg·d), 对照组大鼠腹腔注射等体积枸橼酸钠缓冲液。7 d 后测空腹血糖 (禁食 12 h), 将血糖值为 13.5~25 mmol/L 的大鼠作为糖尿病大鼠进行实验。注射 STZ 后, 每周称体重, 观察体重变化。大鼠给药、饲养过程中勤换垫料, 勤补水。

2.2 大鼠骨髓来源 EPCs 的分离培养

大鼠麻醉后处死, 将大鼠整体置于 75% 乙醇浸泡 10 min。取出大鼠, 使用吸水纸吸干动物身上水分后转移至超净工作台, 剥离胫骨, 使用无菌剪刀减去骨头两端, 使用 1 ml PBS 通过注射器冲洗骨髓并将冲洗液转移至 15 ml 无菌离心管, 冲洗过程重复操作 3 次。用密度梯度离心法获取单核细胞, 将单核细胞重悬于培养基 EGM-2 并调整细胞浓度至 1×10^6 个/ml, 接种于预先包被好纤维连接蛋白的细胞培养皿, 置于细胞培养箱 37 °C 和 5% CO₂ 条件下培养。培养 3 d 后洗去未贴壁细胞, 以后每 3 d 换培养液培养至 7 d。PBS 洗去未贴壁细胞, 贴壁细胞供实验用。

2.3 大鼠骨髓来源 EPCs 的鉴定

培养 7 d 的 EPCs 用 0.25% 胰蛋白酶消化后收集于 15 ml 离心管中, 将细胞用 PBS 1000r/min 离心 5 min, 清洗 3 次。用 PBS 100 μl 重悬细胞, 每管加入 CD34 和 CD133 抗体各 2 μl, 4 °C 避光孵育 30 min 后用 PBS 清洗离心, 将细胞重悬于 300 μl PBS 中避光保存待上机检测; 同时将消化的细胞采用 Dil-Ac-LDL 和 FITC-UAE-I 双染, 倒置荧光显微镜观察染色结果, 双染色阳性细胞为正在分化的 EPCs。

2.4 实验分组

实验分 3 组: ①对照组; ②糖尿病组: M199 培养基; ③雌激素组: 含雌激素 10 nmol/L 的 M199 培养基。在 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中孵育 24 h 后进行实验。

2.5 大鼠骨髓来源 EPCs 功能测定^[6-7]

2.5.1 细胞迁移实验

3 组 EPCs 用 0.25% 胰酶消化, 将细胞重悬于 EBM-2 培养基中, 调整细胞密度为 5×10^5 个/ml, 并取 100 μl 接种于 Transwell 上室, 在下室中加入 600 μl 含 50 ng/ml 血管内皮生长因子的 EGM-2 培养基。37 °C、5% CO₂ 孵育 24 h 后, 取出上室, 用棉球轻轻擦拭上室底部膜内上表面的细胞, 下室上表面用甲醛室温固定 20 min, 于 37 °C 用 0.1% 结晶紫染色 30 min, 用 PBS 多次冲洗晾干后在 160 倍光学显微镜下观察并拍照, 随机选取 5 个视野计算迁移细胞数并计算平均值。

2.5.2 EPCs 小管形成实验

在冰上将 48 孔板预冷, 然后加入 150 μl 的基质胶 Matrigel, 放置于 37 °C 孵育 30 min。3 组 EPCs 用 0.25% 胰酶消化, 将 5×10^4 个细胞接种于 Matrigel 上, 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中孵育 24 h 后, 于 160 倍光学显微镜下观察并拍照, 随机选取 5 个视野计算形成小管的数目并计算平均值。

2.6 骨髓来源 EPCs 中 NO 水平的测定

3 组 EPCs 用 0.25% 胰酶消化, 经 PBS 清洗 2 次, 制成细胞悬液, 采用 NO 检测试剂盒测定 EPCs 中 NO 的水平。按照说明书的操作方法, 完成后置于酶标仪在 540 nm 波长处测定吸光度(A)。

2.7 EPCs 增殖能力的测定

3 组 EPCs 用 0.25% 胰酶消化, 将 100 μl 细胞悬液接种于 96 孔培养板中并置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养 24 h。每孔加入 CCK-8 溶液 10 μl 培养 4 h, 置于酶标仪于 450 nm 处测 A 值。

2.8 Western blotting 测定 EPCs 中 MnSOD 水平

收集 3 组 EPCs 并提取蛋白, 应用 BCA 法进行蛋白质定量。蛋白样本经煮沸变性、SDS-PAGE 电泳后加入兔抗人锰超氧化物歧化酶(MnSOD)和肌动蛋白(β-actin)多克隆抗体 (1 : 1500 稀释), 蛋白质湿法转移至硝基纤维素膜, 羊抗兔二抗 (1 : 2000 稀释) 室温孵育 2 h, 用 ECL 化学发光法显色, Image J 凝胶成像分析系统扫描成像, 测定目标条带的 A 值, 以 β-actin 为内参比较同一条带与 β-actin 的灰度值进行分析。

2.9 ELISA 检测 EPCs 上清液中 TSP-1 蛋白水平

收集 3 组 EPCs 上清液, 按照说明书步骤进行操作。取各组细胞上清液各 100 μl 加入酶标板中 37 °C 孵育 90 min, 然后加入 100 μl 生物素标记抗体工作液 37 °C 孵育 60 min。洗涤 3 次, 加入 100 μl 酶结合物工作液在 37 °C 孵育 30 min 后, 洗涤 5 次。

加入 90 μl 底物溶液 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 15 min, 最后加入终止液 50 μl 后, 立即在 450 nm 波长处测量 A 值。

2.10 统计学处理

实验数据以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示, 采用 GraphPad Prism 软件进行统计处理, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 检验差异的显著性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠体重和血糖的变化

正常组大鼠, 精神状态良好, 动作自如, 反应灵敏, 毛发平伏有光泽。而糖尿病大鼠体重变轻, 精神萎靡, 反应迟钝, 毛杂乱无光泽, 动作迟缓, 弓背

卷体, 尿量显著增加。在建模 4 周后, 糖尿病模型组空腹血糖值 $(23.33\pm 3.61)\text{mmol/L}$ 明显高于对照组 $(16.91\pm 2.30)\text{mmol/L}$, 组间差异有统计学意义 ($P<0.01$) (图 1A)。对照组动物体重随时间增加而增加, 模型组在前 3 周随时间缓慢增加, 但最后 1 周出现体重下降趋势。在第 3、4 周, 两组动物体重有显著差异 ($P<0.01$) (图 1B)。

3.2 大鼠骨髓来源 EPCs 的分离培养和鉴定

以 EGM-2 培养基定向诱导培养 5 d 后, 镜下观察可见贴壁细胞形态由圆形逐渐向梭形转化 (图 2A)。流式细胞仪检测结果显示, CD34 与 CD133 双阳性细胞占比不小于总细胞数的 85.63% (图 2B)。采用 Dil-Ac-LDL 和 TITC-UEA-1 双染

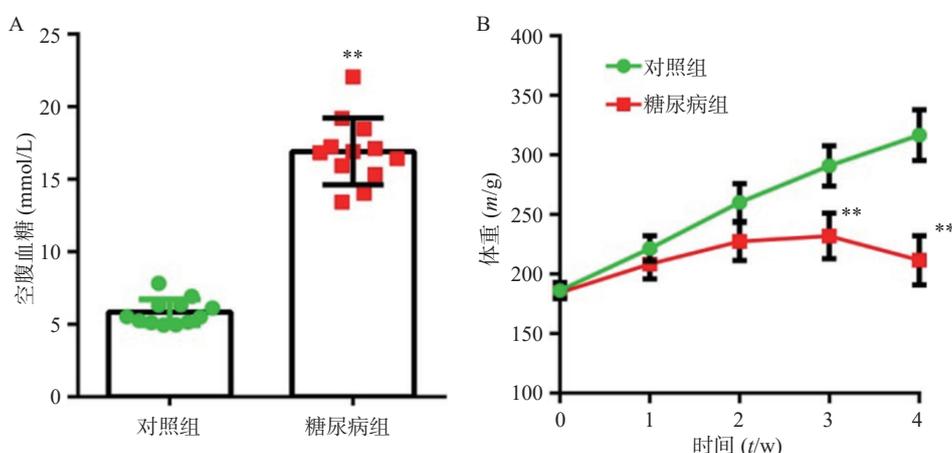


图 1 STZ 诱导后 Wistar 大鼠血糖及体重变化

A. STZ 造模 4 周后两组大鼠空腹血糖比较; B. STZ 造模 4 周两组大鼠体重随时间变化曲线 ($n=12$)

** $P<0.01$, 与对照组比较。

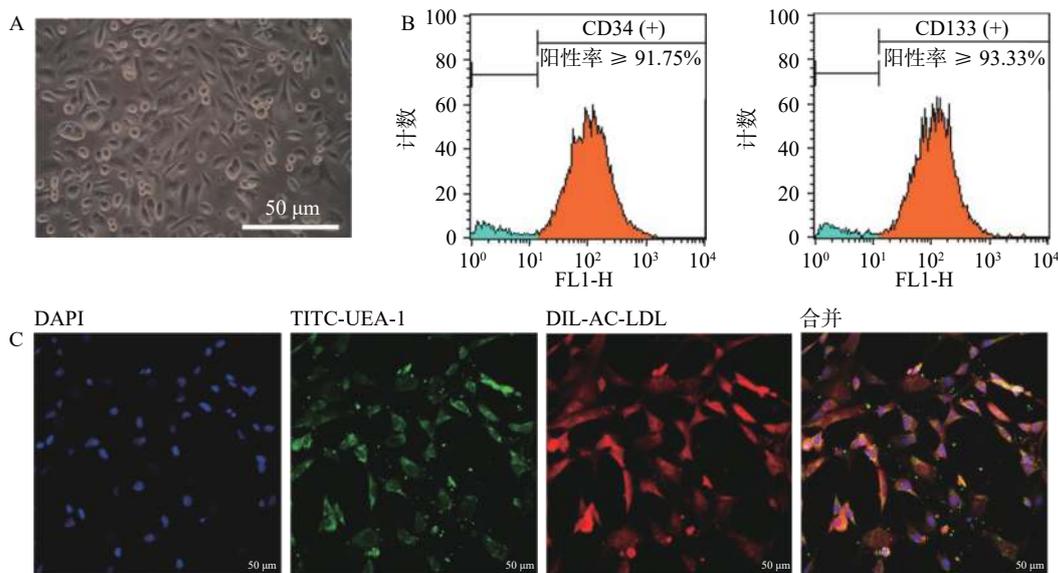


图 2 大鼠骨髓来源的 EPCs 分离培养和鉴定

A. 细胞形态学; B. 流式细胞仪鉴定: 用 CD34 和 CD133 两种抗体标记, 双标阳性的细胞为 EPCs;

C. 荧光染色鉴定: Dil-Ac-LDL 与 TITC-UEA-1 双染色阳性的细胞为 EPCs。

细胞,显示红绿荧光双阳性细胞占视野中细胞的绝大多数(图2C)。上述结果表明,我们成功地制备了大鼠骨髓来源EPCs细胞,且细胞具有较高纯度。

3.3 雌激素孵育改善糖尿病大鼠EPCs的增殖和功能

与对照组比较,糖尿病大鼠EPCs的对数期增殖活性明显降低($P<0.01$),而雌激素孵育后其增殖活性明显改善($P<0.01$)(图3A)。与对照组比较,糖尿病大鼠EPCs的小管形成功能明显下降($P<0.01$),而雌激素能够明显改善其小管形成功能($P<0.01$)(图3B)。细胞迁移实验表明,与对照组比较,糖尿病大鼠EPCs细胞迁移能力明显受损($P<0.01$),而雌激素孵育能够明显改善受损的细胞迁移能力($P<0.01$)(图3C)。

3.4 雌激素孵育上调糖尿病EPCs细胞内NO含量

糖尿病大鼠EPCs细胞中NO含量较对照组明显降低($P<0.05$),而雌激素孵育能够明显上调NO的含量($P<0.01$)(图4A)。

3.5 雌激素孵育上调EPCs细胞中MnSOD的表达并下调上清液中TSP-1的表达

糖尿病组大鼠EPCs细胞上清液中TSP-1含

量明显高于对照组($P<0.01$),而给与雌激素孵育后细胞上清液中TSP-1含量明显降低($P<0.05$,图4C)。Western blotting检测显示,糖尿病组大鼠EPCs中MnSOD蛋白表达较对照组明显降低($P<0.01$),而雌激素孵育能够明显上调细胞中MnSOD蛋白表达($P<0.01$)(图4D)。

4 讨论

EPCs主要来源于骨髓,在血管新生中具有重要作用。1997年Asahara等^[1]首次将其命名为内皮祖细胞,而后其在心血管方面的研究越来越多。EPCs与心血管疾病存在密不可分的联系。研究表明,EPCs的数量和功能与高血压、糖尿病、血脂等呈负相关^[8-11]。此外,EPCs在脑缺血、阿尔茨海默症治疗中表现出较好的疗效^[12-13]。故改善EPCs功能及增加其数量可作为改善糖尿病血管并发症的新靶点。并将能表达CD34、CD133等干细胞特征或血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)等细胞标志物定义为EPCs^[14]。用密度梯度离心法获取骨髓单核细胞,经培养并采用流式细胞术和荧光显微镜法对细胞进行鉴定,结果表明本实验成功制备大鼠骨

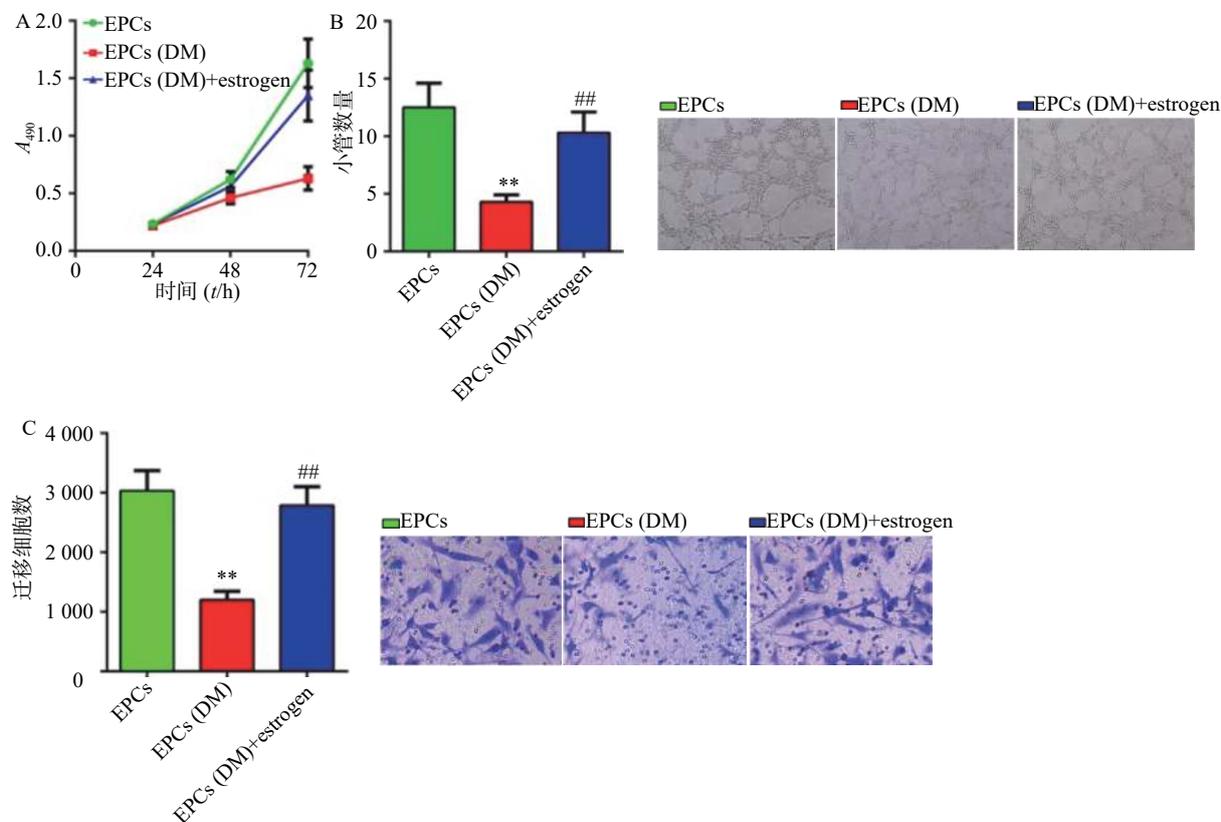


图3 雌激素对糖尿病大鼠EPCs增殖、小管形成功能及迁移能力的改善

A.细胞增殖能力;B.EPCs小管形成功能:左为成管数量组间比较,右为常规视野成像;C.EPCs迁移能力:左为穿膜细胞的荧光计数组间比较,右为Transwell底部穿膜细胞染色;EPCs:对照组大鼠EPCs;EPCs(DM):糖尿病大鼠EPCs;EPCs(DM)+estrogen:雌激素体外孵育的糖尿病大鼠EPCs($n=12$);** $P<0.01$,与EPCs组比较;## $P<0.01$,与EPCs(DM)组比较。

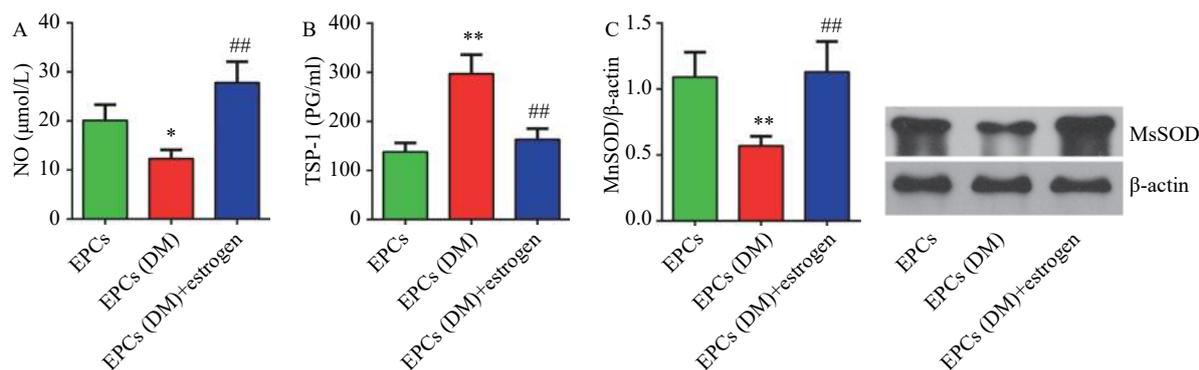


图4 雌激素孵育增加 EPCs 中 NO 水平并下调 EPCs 上清液中 TSP-1 表达及上调 MnSOD 的表达

A.EPCs 中 NO 水平; B.EPCs 上清液中 TSP-1 水平; C.EPCs 中 MnSOD 蛋白表达。EPCs: 对照组大鼠 EPCs; EPCs(DM): 糖尿病大鼠 EPCs; EPCs(DM)+ estrogen: 雌激素体外孵育的糖尿病大鼠 EPCs (n=12); *P<0.01, 与 EPCs 组比较; **P<0.01, 与 EPCs(DM) 组比较。

髓来源 EPCs 细胞,且细胞具有较高纯度。

流行病学提示雌激素为心脑血管疾病的保护因素。绝经后女性卒中发生风险明显高于绝经前女性^[15]。美国的调查数据显示,年龄在 18~39 岁的成年男性发生高血压的风险高于同龄女性,但是在年龄大于 60 岁成人中男性风险低于女性^[16]。不同性别发生高血压及靶器官损伤的差异与雌激素相关^[17]。此外,杨莹莹^[18]等的研究表明雌激素对急性期高血压脑出血患者的 EPCs 功能有改善作用且与雌激素浓度呈正相关。但是雌激素对糖尿病 EPCs 功能改善作用及相关机制的研究较少。

本实验采用腹腔注射链脲佐菌素制作大鼠糖尿病模型,提取其骨髓来源的 EPCs 进行实验,结果发现糖尿病大鼠骨髓 EPC 的增殖能力较正常 EPCs 明显下降,而雌激素体外孵育能明显促进其增殖活力;除增殖活力受到抑制外,糖尿病大鼠 EPCs 的迁移能力和小管形成功能也明显受损,而在体外给予雌激素 10 nmol/L 孵育后细胞功能得到明显改善。说明雌激素能促进糖尿病大鼠 EPCs 的增殖并改善其功能。

研究表明氧化应激可导致血管内皮损伤。MnSOD 是一种存在于线粒体并能清除机体新陈代谢中产生的过多的氧自由基(O₂^{·-})等有害物质的一种酶^[19]。MnSOD 在一定程度上能抵抗高糖所增加线粒体中的活性氧(ROS)细胞的伤害^[20]。本实验采用 Western blotting 检测 EPCs 细胞中 MnSOD 蛋白表达,糖尿病组大鼠 EPCs 细胞中 MnSOD 蛋白表达明显低于对照组,而给与雌激素体外孵育后能明显上调细胞中 MnSOD 蛋白表达,说明雌激素通过上调 EPCs 中 MnSOD 水平而改善细胞功能。

一氧化氮(NO)与血管健康密切相关。NO 通过促进 EPCs 向内皮细胞分化进而修复受伤的内

皮,而抑制内源性 NO 的合成对 EPCs 的迁移能力有不良影响^[21]。有文献报道,高血糖通过增加活性氧积聚、降低一氧化氮生物利用度及抑制内皮依赖性血管舒张功能,导致严重的血管内皮功能障碍^[22-23]。凝血酶敏感蛋白-1(TSP-1)属细胞外基质糖蛋白,其过表达能抑制 EPCs 的功能^[24],而 NO 含量降低能诱导 TSP-1 的表达^[25]。本实验发现,糖尿病组大鼠 EPCs 中 NO 含量明显降低而细胞上清中 TSP-1 含量明显升高,雌激素处理能够逆转上述改变,说明雌激素通过增加 EPC 内 NO 水平并降低 TSP-1 含量进而改善糖尿病 EPCs 功能。

综上所述,本研究证实雌激素能改善受损的糖尿病大鼠 EPCs 功能并促进其增殖,作用机制可能与其降低细胞内的氧化应激及下调 TSP-1 的表达相关。本研究为将来进一步进行雌激素在糖尿病血管并发症方面的研究提供了深入的实验与理论依据。

【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(5302): 964-967.
- [2] ACKERMANN M, PABST A M, HOUDEK J P, et al. Priming with proangiogenic growth factors and endothelial progenitor cells improves revascularization in linear diabetic wounds[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(4): 833-839.
- [3] 董雅芬,舒菁菁,马靖,等.天然药物及其活性成分保护内皮祖细胞机制的研究进展[J]. *药实践杂志*, 2013, 31(1): 11-13, 31.
- [4] TAN Q, LI Y, LI X, et al. Hyperinsulinemia impairs functions of circulating endothelial progenitor cells[J]. *Acta Diabetol*, 2019, 56(7): 785-795.
- [5] WEI H J, LIU L, CHEN F L, et al. Decreased numbers of circulating endothelial progenitor cells are associated with hyperglycemia in patients with traumatic brain injury[J]. *Neural Regen*

- Res, 2019, 14(6): 984-990.
- [6] 赵小亚, 江如钞, 肖青. MMP2介导Sonic hedgehog信号通路对糖尿病内皮祖细胞功能的影响[J]. *广州医科大学学报*, 2021, 49(1): 1-6.
- [7] 尚刘文心, 孙昕, 彭程, 等. 药物体外干预改善盐敏感性高血压小鼠内皮祖细胞功能研究[J]. *药学实践杂志*, 2020, 38(3): 221-226.
- [8] PIRES A, MARTINS P, PAIVA A, et al. Circulating endothelial progenitor cells in obese children and adolescents[J]. *J Pediatr (Rio J)*, 2015, 91(6): 560-566.
- [9] ARAGONA C O, IMBALZANO E, MAMONE F, et al. Endothelial progenitor cells for diagnosis and prognosis in cardiovascular disease[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016: 8043792.
- [10] YUE D D, WEI Z Y, CHEN X, et al. Predictive value of circulating endothelial progenitor cells in prognosis of acute ischemic stroke[J]. *J Shanghai Jiaotong Univ Med Sci*, 2017, 37(7): 964-968.[LinkOut].
- [11] KANG H, MA X, LIU J, et al. High glucose-induced endothelial progenitor cell dysfunction[J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2017, 14(5): 381-394.
- [12] HECHT N, SCHNEIDER U C, CZABANKA M, et al. Endothelial progenitor cells augment collateralization and hemodynamic rescue in a model of chronic cerebral ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2014, 34(8): 1297-1305.
- [13] SAFAR M M, ARAB H H, RIZK S M, et al. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells protect against scopolamine-induced alzheimer-like pathological aberrations[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(3): 1403-1418.
- [14] LANUTI P, ROTTA G, ALMICI C, et al. Endothelial progenitor cells, defined by the simultaneous surface expression of VEGFR2 and CD133, are not detectable in healthy peripheral and cord blood[J]. *Cytometry A*, 2016, 89(3): 259-270.
- [15] 康鑫, 李光勤, 刘明芬, 等. 绝经后女性雌激素水平与缺血性脑卒中相关性的meta分析[J]. *当代医学*, 2019, 25(1): 14-18.
- [16] FRYAR C D, OSTCHEGA Y, HALES C M, et al. Hypertension prevalence and control among adults: United States, 2015-2016[J]. *NCHS Data Brief*, 2017(289): 1-8.
- [17] SABBATINI A R, KARARIGAS G. Estrogen-related mechanisms in sex differences of hypertension and target organ damage[J]. *Biol Sex Differ*, 2020, 11(1): 31.
- [18] 杨莹莹, 陈秋娟, 袁文, 等. 不同浓度雌激素对急性期高血压脑出血患者的内皮祖细胞功能及衰老的影响[J]. *山西医药杂志*, 2017, 46(3): 250-253.
- [19] BRESCIANI G, DA CRUZ I B M, GONZÁLEZ-GALLEGO J. Manganese superoxide dismutase and oxidative stress modulation[J]. *Adv Clin Chem*, 2015, 68: 87-130.
- [20] 张鹏, 刘琰, 李萌, 等. 高糖环境下锰超氧化物歧化酶转染间充质干细胞促进抗氧化酶类表达[J]. *中国现代医学杂志*, 2014, 24(20): 27-30.
- [21] LEMARIÉ C A, SHBAT L, MARCHESI C, et al. Mthfr deficiency induces endothelial progenitor cell senescence via uncoupling of *ENOS* and downregulation of SIRT1[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 300(3): H745-H753.
- [22] 马春霞, 王利, 王萍, 等. 内毒素、NO及NOS在危重病应激性高血糖中的作用研究[J]. *宁夏医学杂志*, 2016, 38(1): 21-23.
- [23] CERIELLO A, NOVIALS A, ORTEGA E, et al. Evidence that hyperglycemia after recovery from hypoglycemia worsens endothelial function and increases oxidative stress and inflammation in healthy control subjects and subjects with type 1 diabetes[J]. *Diabetes*, 2012, 61(11): 2993-2997.
- [24] HU H, WANG B S, JIANG C Y, et al. Endothelial progenitor cell-derived exosomes facilitate vascular endothelial cell repair through shuttling miR-21-5p to modulate Thrombospondin-1 expression[J]. *Clin Sci*, 2019, 133(14): 1629-1644.
- [25] XIE H H, ZHOU S, CHEN D D, et al. GTP cyclohydrolase I/BH₄ pathway protects EPCs via suppressing oxidative stress and thrombospondin-1 in salt-sensitive hypertension[J]. *Hypertension*, 2010, 56(6): 1137-1144.
- [收稿日期] 2021-06-23 [修回日期] 2021-10-25
[本文编辑] 李春德