碱性成纤维细胞生长因子对庆大霉素致肾小管上皮损伤的拮抗效应★

黄荣师[1]，黄巨恩[2]，岑妍慧[1]，何国珍[1]，赵飞兰[1]，范 蓉[1]

Protective effect of basic fibroblast growth factor on renal tubular epithelial cell toxicity induced by gentamicin

Huang Rong-shi[1], Huang Ju-en[2], Cen Yan-hui[1], He Guo-zhen[1], Zhao Fei-lan[1], Fan Rong[1]

[1]Department of Histology and Embryology, Guangxi Chinese Traditional Medical University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; [2]Nurse College, Guangxi Medical University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Huang Rong-shi★, Master, Lecturer, Department of Histology and Embryology, Guangxi Chinese Traditional Medical University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
jaded123@163.com

Correspondence to: Huang Ju-en, Doctor, Master's supervisor, Nurse College, Guangxi Medical University, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
hje5810@163.com

Received: 2009-07-09
Accepted: 2009-08-30

Abstract

BACKGROUND: *In vivo* experiments have confirmed that fibroblast growth factor can effectively protect gentamicin-induced renal tubular epithelial cell injury, but the effect on the *in vitro* cultured cells is still rare.

OBJECTIVE: To explore the mechanisms of basic fibroblast growth factor (bFGF) at different concentrations on preventing nephrotoxity mediated by genamicin on the primarily cultivated renal tubular epithelial cell models.

METHODS: By use of enzyme and mesh screening, renal tubular epithelial cells were isolated from Kunming mice and purified, adjusting the cell concentration of 1×10^8/L, then cell suspension was moved to a 96-well culture plate and divided into different groups for culture: blank control group: normal culture; gentamicin group: 10, 30, 50 μL/hole (*ie*, 400, 1 200, 2 000 U/holes) are recorded as G1, G2, G3; bFGF group: 20, 50, 80 μL/hole (*ie*, 90, 225, 360 ng/hole) are recorded as B1, B2, B3; gentamicin plus bFGF intervention group: after adding bFGF 12 hours, then added gentamicin 12 hours, assigned into 9 dose subgroups, namely, G1B1, G1B2, G1B3, G2B1, G2B2, G2B3, G3B1, G3B2, G3B3, each subgroup contained four-hole complex. Cell morphology and quantity was observed.

RESULTS AND CONCLUSION: Gentamicin showed a dose-dependent effect on the renal tubular epithelial cell injury, epithelial cells in the medium and high concentration groups exhibited shrinkage, rounded, swelling, poor adhesion, severely damaged cytoplasm and structural disorder. In the low concentration group, the number change of cells was not obvious, and fibroblasts began to appear; In the bFGF groups, cells were full, exhibited strong refraction, the cell number increased significantly, these manifestations were significant in 50 μL/hole concentration, and there was no significant difference compared with 80 μL/hore concentration; in case of gentamicin plus bFGF intervention, cells with low concentrations of gentamicin had no obvious damage to cells, which increased, the damaged cells collapse was reduced in the group of low concentration of gentamicin, cell shrinkage and poor adhesion were slightly relieved, high concentrations of bFGF intervention could yield to good cell morphology, but high concentrations of gentamicin caused cell swelling and necrosis of injury, which could not be improved by any concentrations of bFGF intervention. 50 μL/hole bFGF has antagonistic effect on the nephrotoxicity mediated by medium and low concentrations of gentamicin, but has no protection on high concentration of gentamicin-induced nephrotoxicity.

Huang RS, Huang JE, Cen YH, He GZ, Zhao FL, Fan R. Protective effect of basic fibroblast growth factor on renal tubular epithelial cell toxicity induced by gentamicin.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(2): 240-244. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景：体内实验证实成纤维细胞生长因子能有效保护庆大霉素致肾小管上皮细胞的损伤，但对体外培养细胞的作用如何不多见。

目的：在建立庆大霉素肾毒性体外细胞模型的基础上，观察不同浓度碱性成纤维细胞生长因子对庆大霉素肾毒性的保护作用。

方法：采用酶加网筛方法分离纯化昆明小鼠肾小管上皮细胞，调整细胞浓度为 1×10^8 L^{-1}，将细胞悬液移入 96 孔细胞培养板，分组培养：空白对照组：正常培养；庆大霉素组: 10，30，50 μL/孔 (即 400，1 200，2 000 U/孔)记为 G1、G2、G3；碱性成纤维细胞生长因子组：20，50，80 μL/孔(即 90，225，360 ng/孔)记为 B1、B2、B3；庆大霉素加碱性成纤维细胞生长因子干预组：先加碱性成纤维细胞生长因子 12 h 后，再加庆大霉素 12 h 培养，分 9 个剂量组，即 G1B1、G1B2、G1B3、G2B1、G2B2、G2B3、G3B1、G3B2、G3B3，每组 4 复孔。观察细胞形态及数量变化。

结果与结论：庆大霉素对肾小管上皮细胞的损伤呈剂量依赖性，中、高浓度组的上皮细胞皱缩，变圆，肿胀，贴壁差，内部胞质破坏严重，结构紊乱，低浓度组细胞数量改变不明显，并且开始有成纤维细胞出现；碱性成纤维细胞生长因子各组细胞饱满、折光性强，数量明显增多，50 μL/孔浓度以上效果显著，与 80 μL/孔差异无显著性意义；庆大霉素加碱性成纤维细胞生长因子干预组中低浓度庆大霉素组细胞未见明显损害，细胞数量反而增多，中浓度庆大霉素组损害的细胞崩解减少、细胞皱缩和贴壁差的程度有所减轻，高浓度碱性成纤维细胞生长因子干预后细胞形态良好，但高浓度庆大霉素所致细胞肿胀、坏死损伤任何浓度的碱性成纤维细胞生长因子干预都无法改善。50 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子对中、低浓度庆大霉素所致肾毒性有拮抗作用，对高浓度庆大霉素所致肾毒性无保护作用。

关键词：碱性成纤维细胞生长因子；庆大霉素；肾小管上皮细胞；细胞培养；泌尿系统组织工程
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.02.012

黄荣师，黄巨恩，岑妍慧，何国珍，赵飞兰，范蓉. 碱性成纤维细胞生长因子对庆大霉素致肾小管上皮损伤的拮抗效应[J]. 中国组织工程研究与临床康复，2010，14(2):240-244. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

碱性成纤维细胞生长因子的作用是酸性因子作用的30~100倍，广泛存在于中胚层和神经外胚层的细胞，有促增殖分化作用，并参与胚胎发育、血管生成、损伤修复、神经再生等多项生理功能[1-5]。最近几年向临床应用发展。在皮肤、眼科、口腔、骨科等领域已被广泛用[6-8]。

肾来源于中胚层，故碱性成纤维细胞生长因子能对它产生增殖及保护的作用。庆大霉素致肾毒性众所周知，由于庆大霉素的有效血清浓度和毒性浓度相近，耳、肾毒性时有发生。研究证明，碱性成纤维细胞生长因子能有效保护庆大霉素损伤的肾小管上皮细胞。在此基础上，应用体外培养的方法，进一步探讨碱性成纤维细胞生长因子拮抗庆大霉素肾毒型的作用。

1 材料和方法

设计：细胞形态学及数量观察实验,对比析因分析。

时间及地点：于2005/2009在广西医科大学组胚实验室和广西中医学院组胚实验室完成。

材料：100 g左右昆明小鼠4只由广西医科大学动物实验中心提供。实验过程中对动物处置符合科学技术部2006年《关于善待实验动物的指导性意见》的要求[9]。

主要试剂：

试剂	来源
角蛋白 18	上海翔升生物科技有限公司
小鼠抗人一抗	BD 公司
兔抗鼠二抗	宁波新芝生物科技股份有限公司
DAB 显色剂	北京博奥森生物技术有限公司
苏木精	北京博奥森生物技术有限公司
多聚甲醛	常州市玉宇化工有限公司
4.5 mg/L 的碱性成纤维细胞生长因子	暨南大学生物工程研究所赠
4 000 万 U/L 庆大霉素	南宁新阳制药厂
CCK-8 试剂盒	同仁公司

实验方法：

肾小管上皮细胞培养：处死小鼠，肾皮质剪碎成糊状。离心，弃上清，重悬，反复2次，移到80目网筛研磨，下方的100目网筛收集肾小管节段，加2.5 g/L胰酶1 mL[10]，消化15 min，加DMEM培养基3 mL终止消化，离心重悬2次，调整细胞浓度为1×10^8 L^{-1}，将细胞悬液移入96孔细胞培养板，37 ℃，体积分数5% CO_2培养箱培养。一两天换液1次。培养至4 d左右细胞形态数量最佳，可用于实验。Cytokeratin 18是肾小管上皮细胞的特异性标志蛋白，可区分其他细胞。将消化后的细胞以1×10^4/孔的密度接种于铺有载玻片的6孔培养皿中，24 h后行免疫组织化学染色，阳性细胞胞质中出现棕黄色粗大颗粒。以肾小球细胞为对照。

实验分组：空白对照组：正常培养；庆大霉素组：10，30，50 μL/孔(即400，1 200，2 000 U/孔)记为G1、G2、G3；碱性成纤维细胞生长因子组：20，50，80 μL/孔(即90，225，360 ng/孔)记为B1、B2、B3；庆大霉素加碱性成纤维细胞生长因子干预组：先加碱性成纤维细胞生长因子12 h后，再加庆大霉素12 h培养，分9个剂量组，即G1B1、G1B2、G1B3、G2B1、G2B2、G2B3、G3B1、G3B2、G3B3。

主要观察指标：

细胞光镜观察：第4天细胞进入对数生长期，观察形态变化。

细胞数量变化：每组4复孔，细胞进入对数生长期后，每孔换新鲜培养基200 μL，加药处理后，加CCK-8试剂20 μL，继续培养4 h，设空白对照，酶联免疫检测仪检测，检测波长490 nm，参比波长630 nm，记录数据。

统计学分析：各分组所得计量数据采用$\bar{x}\pm s$表示，用SPSS 13.0软件处理数据，检验水准α=0.05，P < 0.05为差异有显著性意义。析因分析方法由广西医科大统计学教研室完成。

2 结果

2.1 细胞形态变化 免疫组化结果见阳性细胞胞质内有棕黄色颗粒，纯度91%以上。空白对照组细胞呈地砖样，结合紧密起；庆大霉素中、高浓度组肾小管上皮细胞皱缩，变圆，肿胀，贴壁差，内部胞质破坏严重，结构紊乱。但低浓度组细胞数量改变不明显，且开始有成纤维细胞出现；碱性成纤维细胞生长因子各组细胞饱满、折光性强，数量明显增多；庆大霉素、碱性成纤维细胞生长因子干预组中低浓度庆大霉素未致明显的细胞损害，细胞数量反而增多，中浓度(30 μL/孔)庆大霉素损害的细胞崩解减少、细胞皱缩和贴壁差的程度有所减轻，且

[1] 广西中医学院组胚教研室，广西壮族自治区南宁市 530001；[2] 广西医科大学护理学院，广西壮族自治区南宁市 530021

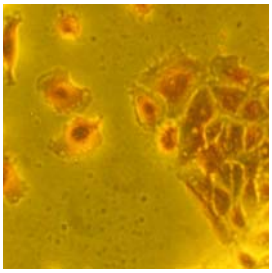
黄荣师★，男，1977 年生，广西壮族自治区钦州市人，壮族，2006年广西医科大学毕业，硕士，讲师，主要从事成纤维细胞生长因子研究。
jaded123@163.com

通讯作者：黄巨恩，博士，硕士生导师，广西医科大学护理学院，广西壮族自治区南宁市 530021
hje5810@163.com

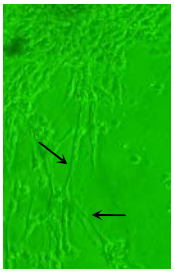
中图分类号:R392.114
文献标识码:B
文章编号:1673-8225(2010)02 -00240-05

收稿日期: 2009-07-09
修回日期: 2009-08-30
(20090519035/GW ·Y)

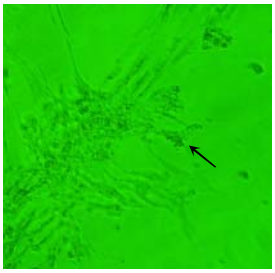
高浓度(80 μL/孔)碱性成纤维细胞生长因子干预后细胞形态良好，但高浓度(即50 μL/孔)庆大霉素所致细胞损害任何浓度的碱性成纤维细胞生长因子干预都无法改善。见图1。



a: Renal tubular epithelial cells positive for immunohistochemical staining (DAB staining, ×200)



b: Following 10 μL/hole gentamicin alone, renal tubular epithelial cell injury was not obvious, arrows indicate some fibrous cells began to increase (×100)



C: Following 50 μL/hole gentamicin alone, arrows indicate the serious injury and lytic necrosis of renal tubular epithelial cell (×100)

Figure 1 Gentamicin-induced renal tubular epithelial cell injury
图 1 庆大霉素对肾小管上皮细胞的损伤

2.2 酶联免疫检测各组*A*值 见表1。

表 1 酶联免疫检测各组 4 次 *A* 值
Table 1 Absorbance value detected by enzyme-linked immunoassay (n=4, A)

Group	1	2	3	4
Control	0.333	0.262	0.343	0.250
10 μL/hole GM	0.359	0.303	0.352	0.304
30 μL/hole GM	0.127	0.106	0.125	0.102
50 μL/hole GM	0.075	0.068	0.073	0.068
20 μL/hole bFGF	0.544	0.318	0.515	0.313
50 μL/hole bFGF	0.717	0.478	0.679	0.454
80 μL/hole bFGF	0.612	0.595	0.614	0.593
10 μL/hole GM + 20 μL/hole bFGF	0.397	0.268	0.401	0.262
10 μL/hole GM + 50 μL/hole bFGF	0.590	0.396	0.575	0.357
10 μL/hole GM + 80 μL/hole bFGF	0.733	0.440	0.705	0.430
30 μL/hole GM + 20 μL/hole bFGF	0.225	0.129	0.236	0.120
30 μL/hole GM + 50 μL/hole bFGF	0.332	0.204	0.324	0.192
30 μL/hole GM + 80 μL/hole bFGF	0.457	0.401	0.459	0.399
50 μL/hole GM + 20 μL/hole bFGF	0.080	0.065	0.084	0.067
50 μL/hole GM + 50 μL/hole bFGF	0.083	0.073	0.087	0.077
50 μL/hole GM + 80 μL/hole bFGF	0.092	0.075	0.096	0.069

bFGF: basic fibroblast growth factor; GM: genamincin

80，50 μL/孔组碱性成纤维细胞生长因子比较，差异无显著性意义(P > 0.05)；20 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子与10 μL/孔庆大霉素比较，差异无显著性意义(P > 0.05)；20 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子与对照组比较，差异无显著性意义(P > 0.05)；10 μL/孔庆大霉素与对照组比较，差异无显著性意义(P > 0.05)；30，50 μL/孔庆大霉素组比较，差异无显著性意义(P > 0.05)。除此以外其他各组间相互比较，差异均有显著性意义(P < 0.01)。

庆大霉素和碱性成纤维细胞生长因子存在交互作用，分析单独效应如下：当加10 μL/孔庆大霉素时：碱性成纤维细胞生长因子各浓度组差异无显著性意义。当加30 μL/孔庆大霉素时：20，50 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子差异无显著性意义，20，80 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子差异有显著性意义，50，80 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子差异有显著性意义。当加50 μL/孔庆大霉素时：碱性成纤维细胞生长因子各浓度组差异无显著性意义。当加20 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子时：10，30 μL/孔庆大霉素差异无显著性意义，10 μL孔与50 μL/孔庆大霉素差异有显著性意义，30，50 μL/孔 庆大霉素差异无显著性意义。当加50 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子时：10 μL/孔与30 μL/孔庆大霉素差异无显著性意义，10，50 μL/孔庆大霉素差异有显著性意义，30，50 μL/孔庆大霉素差异有显著性意义。当加80 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子时：10，30 μL/孔庆大霉素差异无显著性意义，10，50 μL/孔庆大霉素差异有显著性意义，30，50 μL/孔庆大霉素差异有显著性意义。

各组4次检测均值见表2，3。

表 2 单独碱性成纤维细胞生长因子或庆大霉素干预时 *A* 值
Table 2 Absorbance value following bFGF alone or alone gentamicin ($\bar{x}\pm s$, n=4)

Group	Levels (μL)	*A*
Control	–	0.297 0±0.047 8
GM	10	0.329 5±0.030 2
	30	0.115 0±0.012 8[a]
	50	0.071 0±0.003 6[a]
bFGF	20	0.422 5±0.124 1[c]
	50	0.582 0±0.135 2[bc]
	80	0.603 5±0.011 0[bc]

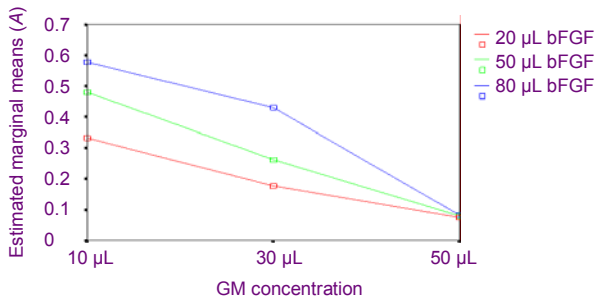
bFGF: basic fibroblast growth factor; GM: genamincin; [a]P < 0.01, *vs*. 10 μL/hole; [b]P < 0.01, *vs*. 20 μL/hole; [c]P < 0.01, *vs*. 20 μL/hole GM

表 3 碱性成纤维细胞生长因子+庆大霉素干预时 *A* 值
Table 3 Absorbance value following bFGF + GM intervention ($\bar{x}\pm s$, n=4, A)

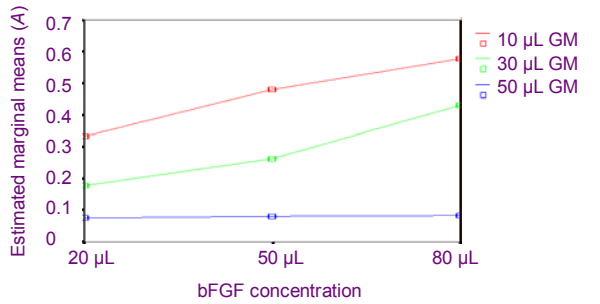
GM (μL/hole)	bFGF (μL/hole)		
	20	50	80
10	0.339±0.067	0.489±0.103c	0.576±0.142[d]
30	0.178±0.053[a]	0.261±0.065[ac]	0.432±0.029[d]
50	0.074±0.008[b]	0.079±0.005	0.083±0.010

[a]P < 0.01, *vs*. 30 μL/hole GM+80 μL/hole bFGF; [b]P < 0.01, *vs*. 10 μL/hole GM+20 μL/hole bFGF; [c]P < 0.01, *vs*. 50 μL/hole GM+50 μL/hole bFGF; [d]P < 0.01, *vs*. 50 μL/hole GM+80 μL/hole bFGF; bFGF: basic fibroblast growth factor; GM: genamincin

以庆大霉素浓度和碱性成纤维细胞生长因子浓度为横坐标，*A*值为纵坐标，绘制均数图，见图2。



a: With gentamicin (GM) as the X-axis, the marginal mean of absorbance value was estimated



b: With basic fibroblast growth factor (bFGF) as the Y-axis, the marginal mean of absorbance value was estimated

Figure 2 Estimated marginal means of absorbance (*A*) value
图 2 估测 *A* 值的边际均值

3 讨论

成纤维细胞生长因子以往有很多体内实验[11-15]，但体外培养的研究尚不多。原代细胞最大限度保留了体内细胞的生物学特点[16-17]。

庆大霉素对肾小管上皮细胞损伤，呈剂量依赖关系[18]。结果也证实：①10 μL/孔庆大霉素处理后，未见明显细胞形态变化，而且出现些纤维状的细胞。故知10 μL/孔的庆大霉素浓度太低，对肾小管上皮细胞起不到损伤作用。也可能低浓度的庆大霉素促进肾小管上皮细胞内分泌碱性成纤维细胞生长因子[19-20]。 因为低浓度庆大霉素对少部分细胞造成损伤，细胞破损的微小空隙使内源性的碱性成纤维细胞生长因子释放，对余下的细胞可起到很好保护。这也解释为什么纤维状细胞会增多，因为碱性成纤维细胞生长因子可促进成纤维细胞的增长。当然也有文献认为纤维状细胞可能是肾小管上皮细胞转化为的肌成纤维细胞[21]。类似的情况也发生在角膜内皮[22]。②30 μL/孔庆大霉素处理后，肾小管上皮细胞肿胀、边界不清。结果与对照组和10 μL庆大霉素组存在显著差异，说明此浓度的庆大霉素对肾小管上皮细胞可产生较强的损伤作用。但与50 μL/孔庆大霉素组结果对比差异不明显，说明30 μL/孔庆大霉素为一个临界值，可对细胞产生致死性结果。它与受体的结合基本饱和。③50 μL/孔的庆大霉素处理后，可见细胞溶解坏死。庆大霉素肾毒性的机制下：酶活性的改变，自由基损伤，膜流动性下降，细胞内高钙，抑制能量产生等。一些神经组织病变也可见相似改变[23]。

加入20 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子时，结果与对照组无明显区别，故认为20 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子浓度过低，对细胞增殖作用不明显。当加入50 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子时，细胞增多明显，胞核更清楚，见核仁。与对照组和20 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子组有显著差异，说明此浓度的碱性成纤维细胞生长因子对肾小管上皮细胞与显著的促增殖作用。但结果与80 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子组差异不明显，说明50 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子为一个临界值，可对肾小管上皮细胞产生显著的增殖作用。它与受体结合基本饱和[24-29]。当加入80 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子时，细胞显著增多，结果与对照组、20 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子差异显著，对上皮细胞有强增殖能力。

以往文献基本都先加庆大霉素后加成纤维细胞生长因子修复治疗[20]，机制不同，效果也不一定明显。先加碱性成纤维细胞生长因子12 h后，再加庆大霉素损伤，效果明显。碱性成纤维细胞生长因子受体有高亲和性和低亲和性两种，高亲和性受体，具有酪氨酸激活性[30]，对庆大霉素有预防保护作用。以往文献多是定性的研究，少涉及定量。碱性成纤维细胞生长因子和庆大霉素两个因素分别3个水平，做析因分析。它们之间存在有显著的交互作用。从2个均数图可看出，加50 μL/孔庆大霉素处理的细胞，*A*值都下降为一个低点上，说明无论何浓度碱性成纤维细胞生长因子处理都无效。因此50 μL/孔庆大霉素是致死量，无法保护修复，对细胞的伤害远大于各浓度碱性成纤维细胞生长因子的保护作用。

因为碱性成纤维细胞生长因子和庆大霉素之间存在显著交互作用，分析单独效应，从结果看：①10 μL/孔庆大霉素量太小，对细胞无法起到损伤作用，各浓度碱性成纤维细胞生长因子均能明显增殖细胞 ②加入50 μL/孔庆大霉素，细胞损害严重，无碱性成纤维细胞生长因子可以有保护作用。③用80 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子保护时，效果同50 μL/孔碱性成纤维细胞生长因子组，可能与受体饱和有关。

也有文献说明，碱性成纤维细胞生长因子的作用有时效性，随时间延长而失去促细胞增殖的作用。且内源性与外源性碱性成纤维细胞生长因子在量效，作用方式与途径等方面存在差异[31]，在合适的时间，碱性成纤维细胞生长因子效力最高，能对抗高浓度庆大霉素，故摸索最合适的作用时间也是今后的研究内容之一。

4 参考文献

[1] Borazan M,Karalezli A,Oto S,et al.Induction of apoptosis of rabbit corneal endothelial cells by preservative-free lidocaine hydrochloride 2%,ropivacaine 1%,or levobupivacaine 0.75%.J cataract Refract Surg.2009;35(4):753-758.

[2] Abuharbeid S,Czubayko F,Aigner A.The fibroblast growth factor-binding protein FGF-BP.Int J Biochem cell Biol. 2006;38(9): 1463-1468.

[3] Jeon O,HwangKC,Yoo KJ,et al.Combined sustained delivery of basic fibroblast growth factor and administration of granulocyte colony-stimulating factor: synergistic effect on angiogenesis in mouse ischemic limbs.J Endovasc Ther.2006;13(2):175-181.

[4] Villanueva S,Cespedes C,Gonzalez A,et al.bFGF induces an earlier expression of nephrogenic proteins after ischemic acute renal failure.Am J Physiol Regul Integr Comp physiol.2006;291(6): R1677-R1687.

[5] Sun XY,Fu XB,Yi HY,et al.Di San Junyi Daxue Xuebao.2008; 30(21):2003-2007.
孙晓艳,付小兵,伊海英,等. 碱性成纤维细胞生长因子诱导表皮细胞去分化的初步研究[J].第三军医大学学报,2008,30(21)：2003-2007.

[6] Kaul G,Cucchiarini M,Arntzen D,et al.local stimulation of articular cartilage repair by transplantation of encapsulated chondrocytes overexpressing human fibrobalast growth factor 2(FGF-2)in vivo.J Gene Med.2006;8(1):100-111.

[7] Link DP,Van den Dolder J,Jurgens WJ,et al.Mechanical evaluation of implanted calcium phosphate cement incorporated with PLGA microparticles.Biomaterials.2006;27(28):4941-4947.

[8] Sheng J, Zeng B, Jiang P. Effects of exogenous basic fibroblast growth factor on in-sheathed tendon healing and adhesion formation. Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.2007; 21(7):733-737.

[9] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance suggestion of caring laboratory animals. 2006-09-30.
中华人民共和国科学技术部. 关于善待实验动物的指导性意见. 2006-09-30.

[10] van Kooten C, Lam S, Daha MR.Isolation,culture,characterization and use of human renal tubular epithelial cells.J Nephrol.2001; 14(3):204-210.

[11] Li XK,Huang JE,Liang G,et al.Zhongguo Yike Daxue Xuebao. 2002;33(4):316-320.
李校堃,黄巨恩,梁刚,等.bFGF对庆大霉素及缺血性肾损伤的保护作用[J].中国药科大学学报,2002,33(4):316-320.

[12] Wei ZY,Huang QY,Shen JY,et al.Jiepouxue Yanjiu.2001;23(4): 310-312.
魏佑震,黄庆玉,申姜颖,等.碱性成纤维细胞生长因子对豚鼠庆大霉素肾毒性损伤的保护作用[J].解剖学研究,2001,23(4):310-312.

[13] Huang JE,Huang QY,Chen WP,et al.Zhongguo Yaolixue Tongbao.2005;21(2):232-235.
黄巨恩,黄全勇,陈维平,等.碱性成纤维细胞生长因子对庆大霉素肾损害保护作用的体外实验研究[J].中国药理学通报,2005,21(2): 232-235.

[14] Hu WJ, Huang JE, Li XK,et al. Zhongguo Yaolixue Tongbao. 2007;23(2)：166-169.
胡文娟,黄巨恩,李效堃,等.改构型酸性成纤维细胞生长因子对大鼠肾缺血/再灌注损伤的保护作用[J].中国药理学通报,2007,23(2): 166-169.

[15] Huang JE,Wang HJ,Liu HG,et al. Zhongguo Yaolixue Tongbao. 2007;23(11):1455-1457.
黄巨恩,王慧杰,刘华刚,等. 酸性成纤维细胞生长因子对庆大霉素诱导的肾小管上皮细胞损伤的保护作用[J].中国药理学通报,2007, 23(11):1455-1457.

[16] Lu YK,Li QJ,Gong DZ,et al.Weisheng Dulixue Zazhi.2003;17(2): 112-114.
卢永科,李秋娟,宫德正,等.利用原代培养细胞进行药物短期毒性筛选方法的建立[J].卫生毒理学杂志,2003,17(2)：112-114.

[17] Lash LH,Putt DA,Zalups RK.Biochemical and functional characteristics and cultured renal epithelial cells from uninephrectomized rats: factors influencing nephrotoxicity.J Pharmacol Exp Ther.2001;296(2):243-251.

[18] Swan SK. Aminoglycoside nephrotoxicity.Semin Nephrol.1997; 17(1):27-33.

[19] Du A,Zou W.The role bFGF in renal tubular injury and the interstitial lesion.Chin J Pathol.2000;29(3):208-211.

[20] Du AP,Zou WZ,Fu YH,et al.Shenzangbing yu Touxi Shen Yizhi Zazhi.1997;6(3):221-224.
杜爱萍,邹万忠,付艳华,等.肾小管上皮细胞损伤与成纤维细胞生长因子的关系[J].肾脏病与透析肾移植杂志,1997,6(3):221-224.

[21] Zhong B,Zhang J.Di San Junyi Daxue Xuebao.2002;24(7): 778-781.
钟波,张璟.酸性成纤维细胞生长因子诱导大鼠肾小管上皮转分化的作用及机制[J].第三军医大学学报,2002,24(7):778-781.

[22] Rahimi N.Vascular endothelial growth factor receptors:molecular mechanisms of activation and therapeutic potentials. Exp Eye Res.2006;83(5):1005-1016.

[23] Prolo P,chiappelli F,Grasso E,et al. Aluminium blunts the proliferative response and increases apoptosis of cultured human cells: putative relationship to alzheimer's disease.Bioinformation. 2007;2(1):24-27.

[24] Wang XB,Wang XJ,Zhang BL.Zhongguo Yaowu yu Linchuang. 2008;8(12):969-970.
王小兵,王晓健,张宝林.不同浓度的重组人碱性成纤维细胞生长因子对离体人表皮细胞增殖的影响[J].中国药物与临床,2008,8(12): 969-970.

[25] Luo WJ,Lin J,Wang CF.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.2009;13(20):3911-3914.
罗文娟,林静,王传富.碱性成纤维细胞生长因子促进猫角膜内皮细胞的增殖作用[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(20): 3911-3914.

[26] Cao XC,Wang JS,Zhang XG,et al.Dangdai Yixue.2009;3(2): 218-220.
曹喜才,王金胜,张秀刚,等. 碱性成纤维细胞生长因子治疗下肢缺血剂量的实验研究[J].当代医学,2009,3(2):218-220.

[27] Bian HN,Xie JL,Li TZ,et al.Zhongguo Zuzhi Hhuaxue yu Xibao Huaxue Zazhi.2008;17(1):6-8.
卞徽宁,谢举临,利天增,等. 碱性成纤维细胞生长因子对培养的瘢痕成纤维细胞FN合成的调控作用[J].中国组织化学与细胞化学杂志, 2008,17(1):6-8.

[28] Yang YJ,Gao S,Gao XW,et al.Guoji Yanke Zazhi.2009;9(4): 684-687.
杨玉洁,高杉,高晓唯,等. 碱性成纤维细胞生长因子和肌肽对中期保存液中角膜的保护作用[J].国际眼科杂志,2009,9(4):684-687.

[29] Wu FL,Yu L,Wang ZY.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2008;12(50):9973-9977.
吴凤麟,宇丽,汪卓赟. 碱性成纤维细胞生长因子对生长板软骨细胞增殖与分化的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2008,12(50): 9973-9997.

[30] Wang XB,Wang XJ,Zhang BL.Shanxi Yiyao Zazhi.2007;36(7): 618-620.
王小兵,王晓健,张宝林.创伤愈合中bFGF bFGF受体的研究进展及其对表皮干细胞的影响[J].山西医药杂志,2007,36(7):618-620.

[31] Deng GX,Huang JE,Hu SF,et al.Guangxi Yike Daxue Xuebao. 2009; 26(1):34-36.
邓桂祥,黄巨恩,胡世凤,等.酸性成纤维细胞生长因子对家兔血液凝固时间的影响[J].广西医科大学学报,2009,26(1):34-36.

来自本文课题的更多信息--

实验设计与文章构思：实验的创新在于：①采用改进方法建立了一套较有效的肾小管上皮细胞分离、培养及鉴定的技术方法。②观察对象为碱性成纤维细胞生长因子而不是酸性成纤维细胞生长因子，更有针对性。③和以往不同，实验提前给药，而不是造成毒性后才给药，因此可以看到碱性成纤维细胞生长因子的预防保护作用。④特殊的分组方法，通过析因分析，可以看出各浓度的交互作用。

实验观察手段略显单一，缺少电镜图像以及生化指标的支持。