

重组人促红细胞生成素联合骨髓间充质干细胞移植治疗脓毒症大鼠心肌损伤

滕金龙¹, 李丹², 于海初², 蔡尚郎², 潘新亭¹ (青岛大学附属医院, ¹重症医学科, ²心血管内科, 山东省青岛市 266003)

文章亮点:

1 脓毒症易于累及心肌, 导致心肌损伤, 加大了救治的难度。细胞凋亡是脓毒症相关性心肌损伤的重要原因。根据既往研究结果, 促红细胞生成素及骨髓间充质干细胞均有对抗心肌凋亡的作用, 实验创新性地通过联合以上两种方法观察其对心肌损伤的治疗作用。
2 实验结果显示联合应用人重组促红细胞生成素和骨髓间充质干细胞治疗脓毒症相关性心肌损伤, 可明显减轻心肌部位炎症细胞浸润。蛋白免疫印迹可检测抗凋亡蛋白 Bcl-2、凋亡蛋白 Caspase-3、Bax 的表达, 来观察心肌部位心肌细胞凋亡情况。

关键词:

干细胞; 移植; 脓毒症; 骨髓干细胞; 骨髓间充质干细胞; 重组人促红细胞生成素; 心肌损伤; 大鼠; 造血干细胞移植; 凋亡

主题词:

红细胞生成素; 间质干细胞; 脓毒症; 肌细胞, 心脏; 炎症

摘要

背景: 相关研究表明促红细胞生成素及骨髓间充质干细胞均对心肌凋亡有一定影响, 但两者联合应用治疗脓毒症相关性心肌损伤少见报道。

目的: 观察骨髓间充质干细胞移植联合腹腔内注射促红细胞生成素对脓毒症大鼠心肌细胞病理学改变及细胞凋亡的影响。

方法: 选用 SD 大鼠 50 只, 随机数字表法均分为 5 组($n=10$), 应用盲肠结扎穿孔术建立脓毒症大鼠模型。骨髓间充质干细胞组建模后即刻尾静脉输注异体间充质干细胞; 促红细胞生成素组建模后即刻腹腔内注射促红细胞生成素; 促红细胞生成素+细胞移植组两者联合应用; 模型组行盲肠结扎穿孔术, 对照组开腹后不做任何处理, 均尾静脉输注相同容量的生理盐水。24 h 后麻醉处死实验动物, 取心肌标本, 采用苏木精-伊红染色观察心肌组织形态; 用 Western blot 方法检测心肌组织中凋亡蛋白 Bax、Caspase-3, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达量。

结果与结论: 苏木精-伊红染色结果: 对照组可见心肌细胞排列整齐, 心肌细胞结构完整; 模型组可见广泛心肌纤维断裂, 排列紊乱, 心肌细胞肿胀或皱缩, 可见空泡变性; 心肌间质血管充血、水肿, 炎症细胞浸润; 促红细胞生成素组与骨髓间充质干细胞组心肌组织相似, 炎症细胞浸润情况较轻, 期间散在分布正常心肌细胞; 促红细胞生成素+细胞移植组心肌细胞损害较轻, 间质充血不明显, 少量炎症细胞浸润。Western blot 结果: 促红细胞生成素+细胞移植组 Bcl-2 蛋白表达显著高于促红细胞生成素组、模型组及对照组($P < 0.01$), Bax 及 Caspase-3 蛋白表达量均减低($P < 0.05$)。结果显示, 骨髓间充质干细胞移植联合给予促红细胞生成素在脓毒症相关性心肌损伤的治疗中可减轻心肌的病理学改变、抑制心肌细胞的凋亡, 其机制可能是通过上调抗凋亡蛋白、下调凋亡蛋白的表达来实现的。

滕金龙, 李丹, 于海初, 蔡尚郎, 潘新亭. 重组人促红细胞生成素联合骨髓间充质干细胞移植治疗脓毒症大鼠心肌损伤[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(28):4530-4534.

Recombinant human erythropoietin combined with bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for myocardial damage in sepsis rats

Teng Jin-long¹, Li Dan², Yu Hai-chu², Cai Shang-lang², Pan Xin-ting¹ (¹Department of Intensive Care Unit, ²Department of Cardiovascular Medicine, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Erythropoietin and bone marrow mesenchymal stem cells have been shown to affect myocardial apoptosis. However, few studies concerned their combined application to sepsis-related myocardial injury.

OBJECTIVE: To observe the effects of the combination of erythropoietin and bone marrow mesenchymal stem cells on pathology and apoptosis of sepsis rat cardiomyocytes.

METHODS: A total of 50 Sprague-Dawley rats were randomly selected and assigned to five groups ($n=10$). Sepsis models were established by cecal ligation perforation method. Rat models in the bone marrow mesenchymal stem cell group, erythropoietin group and erythropoietin + bone marrow mesenchymal stem cell group were respectively treated with bone marrow mesenchymal stem cells, erythropoietin and erythropoietin +

滕金龙, 男, 1975 年生, 山东省威海市人, 汉族, 2007 年青岛大学毕业, 硕士, 主治医师, 主要从事危重病专业的研究。

通讯作者: 蔡尚郎, 博士, 主任医师, 青岛大学附属医院心血管内科, 山东省青岛市 266003

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.28.017
[http://www.crter.org]

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2014)28-04530-05

稿件接受: 2014-04-09

Teng Jin-long, Master, Attending physician, Department of Intensive Care Unit, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Corresponding author: Cai Shang-lang, M.D., Chief physician, Department of Cardiovascular Medicine, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Accepted: 2014-04-09

bone marrow mesenchymal stem cells immediately after model induction via intraperitoneal injection or caudal vein. Model group received cecum ligation and puncture. Control group did not undergo any treatment after the abdomen was opened. Model and control groups were infused with an equal volume of physiological saline via caudal vein. At 24 hours, experimental animals were sacrificed by anesthesia. Myocardial specimens were collected. Myocardial appearance was observed using hematoxylin-eosin staining. Bax, Caspase-3 and Bcl-2 were tested by western blot assay.

RESULTS AND CONCLUSION: Hematoxylin-eosin staining: cardiomyocytes were regularly arranged, showing integrated structure in the control group. Extensive myocardial fiber breakage, disordered arrangement, cardiomyocyte swelling or shrinkage, and vacuolar degeneration were observed in the model group. Moreover, myocardial interstitial vascular congestion, edema, and inflammatory cell infiltration were visible. Myocardial tissue was similar between erythropoietin and bone marrow mesenchymal stem cell groups, with the presence of mild inflammatory cell infiltration and scattered normal cardiomyocytes. In the erythropoietin + bone marrow mesenchymal stem cell group, cardiomyocytes were slightly damaged. Interstitial vascular congestion was not apparent, and a few inflammatory cells infiltrated. Western blot assay results demonstrated that Bcl-2 protein expression was significantly higher ($P < 0.01$), but Bax and Caspase-3 protein expression was lower ($P < 0.05$) in the erythropoietin + bone marrow mesenchymal stem cell group than in the erythropoietin, model and control groups. The combination of erythropoietin and bone marrow mesenchymal stem cells in treatment of sepsis-related myocardial injury could lessen myocardial pathological changes, and inhibit cardiomyocyte apoptosis. The mechanisms maybe exert by upregulating anti-apoptotic protein expression and downregulating apoptotic protein expression.

Subject headings: erythropoietin; mesenchymal stem cells; sepsis; myocytes, cardiac; inflammation

Teng JL, Li D, Yu HC, Cai SL, Pan XT. Recombinant human erythropoietin combined with bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for myocardial damage in sepsis rats. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(28):4530-4534.

0 引言 Introduction

脓毒症(Sepsis)是严重创伤、休克、感染、外科手术等临床危急重症患者常见的并发症,可导致脓毒性休克、多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),是临床危重患者的最主要死亡原因之一^[1]。临床观察显示,约50%严重脓毒症和脓毒性休克患者存在左心室收缩功能障碍^[2],脓毒症伴严重心功能障碍的患者病死率比不伴心功能障碍者高^[3]。细胞凋亡是脓毒症相关性心肌损伤重要机制之一。

促红细胞生成素是一种具有抗凋亡活性的细胞因子,具有潜在的多系统细胞保护效应,促红细胞生成素及其受体同时存在于多种非造血组织并发挥着重要的作用^[4-6]。Khan等^[7]发现促红细胞生成素通过与 β 普通受体结合,可发挥改善脓毒症心脏的收缩功能,进而改善心脏功能。秦延军等^[8]通过盲肠结扎穿孔引流术建立脓毒症大鼠模型,在此基础上给予促红细胞生成素腹腔注射治疗,研究结果显示外源性促红细胞生成素可抑制脓毒症大鼠心肌细胞线粒体膜电位降低,抑制心肌细胞凋亡;同时抑制NF- κ B活化,减少促炎因子生成,减轻心脏组织的炎症损伤,因此,他们认为促红细胞生成素是通过以上两种机制发挥保护受损心肌、改善心功能的作用。另外,有研究发现促红细胞生成素及促红细胞生成素受体信号途径在生理及病理的促进心、脑损伤修复等多方面起重要作用^[9]。

间充质干细胞具有调节免疫细胞的功能,其既可作用于先天免疫系统又可作用于适应性免疫系统。苏绍红等^[10]通过观察骨髓间充质干细胞移植后小鼠免疫系统CD4⁺ T细胞亚群的变化,发现间充质干细胞移植具有治疗自身免疫性疾病的作用,该作用可能是由CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T细胞、白细胞介素10、转化生长因子 β 1及Foxp3的高表达所

介导。杨锐等^[11]的实验则证实了骨髓间充质干细胞输注能显著延长猪胰岛移植存活时间,并促进胰岛移植正常功能的发挥。

间充质干细胞调节免疫细胞功能的作用促使研究者探索其是否可以利用此治疗脓毒症。近年来,一些研究者将骨髓或脂肪间充质干细胞用于脓毒症模型^[12-13],可减少促炎因子产生,减轻器官损害和功能受损,并可改善生存。Yagi等^[14]研究表明,通过对由脂多糖及烧伤引起的脓毒症大鼠,输注骨髓间充质干细胞,可减轻肝、肺、肾等器官的炎症细胞浸润及细胞凋亡。李娜等^[15]研究显示脂肪间充质干细胞可降低血肌酐和尿素氮水平,促进抗炎因子白细胞介素10、COX2生成,抑制促炎因子肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素12释放,对烧伤脓毒症小鼠肾脏损伤有保护作用。Chang等^[16]发现脂肪来源的间充质干细胞对于淋巴祖细胞导致的脓毒症大鼠,有更好的器官抗凋亡作用。

研究表明促红细胞生成素及骨髓间充质干细胞均对心肌凋亡有一定影响,但两者联合应用治疗脓毒症相关性心肌损伤少见报道。实验通过应用骨髓间充质干细胞移植联合促红细胞生成素治疗,观察对脓毒症心肌细胞凋亡的影响及趋势,为进一步基础研究及临床实践提供依据。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 完全随机分组设计,对照实验。

时间及地点: 实验于2013年5至9月在青岛大学附属医院中心实验室完成。

材料:

实验动物: 健康Sprague-Dwley(SD)大鼠50只,雌雄不拘,体质量250-300 g,由青岛药检所实验动物中心提供,实验动物许可证号:SYXK(鲁)2009-0009。

在实验过程中对动物的处置符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

促红细胞生成素联合骨髓间充质干细胞移植治疗脓毒症大鼠实验用主要试剂:

试剂、抗体	来源
重组人促红细胞生成素注射液, 商品名为利血宝, 3 000 IU/支	麒麟鲲鹏(中国)生物药业有限公司
低糖DMEM培养基(L-DMEM)、胰蛋白酶	Gibco公司
胎牛血清(FBS)	杭州四季青生物有限公司
Ficon-Hypaque淋巴细胞分离液	上海试剂二厂
4%锥虫蓝母液	日本大木工业株式会社
一抗多克隆兔抗Bcl-2, Bax, Caspase-3抗体	美国Santa Cruz公司
HRP标记的二抗及抗 β -Actin的内参抗体	博奥森公司

实验方法:

骨髓间充质干细胞的培养: 应用贴壁法制备同种异体SD大鼠骨髓间充质干细胞备用。

脓毒症大鼠动物模型的建立: 实验前禁食过夜, 自由饮水。依照相关文献报道的方法行盲肠结扎穿孔术(CLP)复制脓毒症动物模型^[17]。

分组干预: 50只SD大鼠随机均分为5组($n=10$), 消化已经准备好的骨髓间充质干细胞, 并计数, 将每 2.5×10^6 个骨髓间充质干细胞重悬于0.5 mL无菌生理盐水中, 注意保持温度在37℃, 同时准备好无菌生理盐水。

骨髓间充质干细胞组: 建模后即刻尾静脉输注异体间充质干细胞悬液0.5 mL。

促红细胞生成素组: 模型复制后立即腹腔内注射促红细胞生成素1 000 IU/kg。

促红细胞生成素+细胞移植组: 建模后立即腹腔内注射促红细胞生成素1 000 IU/kg, 并尾静脉输注异体间充质干细胞悬液0.5 mL。

模型组: 行盲肠结扎穿孔术复制脓毒症动物模型, 建模后尾静脉输注相同容量的生理盐水。

对照组: 开腹后不造模, 手术结束后尾静脉输注相同容量的生理盐水。

模型建立后24 h后, 将全部实验动物以戊巴比妥钠麻醉后仰卧位固定于手术台, 麻醉处死。迅速开胸取出心脏, 大体观察心脏外形、大小、色泽。于左心室心尖部取适量心肌组织, 以冰生理盐水洗净残余血液后将心肌组织切割备用。

检测指标: 苏木精-伊红染色切片, 光镜下观察心肌病理组织学改变。

Western blot 法检测凋亡相关蛋白Bax, Bcl-2及Caspase-3的表达: 将新鲜梗死区心肌组织取组织匀浆后提取蛋白定量, 聚丙烯酰胺变性凝胶电泳分离, 经转膜、封闭, 加Bcl-2、Bax及Caspase-3兔多克隆一抗, 辣根过氧化物酶标

记二抗, 曝光显影, 以Quantity one软件分析样本灰度值。

指标评估均由第一作者、通讯作者和相关作者共同完成, 均受过系统培训, 未采用盲法评估。

主要观察指标: ①各组大鼠心肌组织苏木精-伊红染色病理组织学检查结果。②各组大鼠心肌组织抗凋亡蛋白Bcl-2, 凋亡蛋白Bax及Caspase-3的表达水平。

统计学分析: 数据采用SPSS 17.0软件分析处理。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用方差分析, 检验水准 $\alpha=0.05$, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义, $P < 0.01$ 为差异有非常显著性意义。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 纳入实验动物50只, 分为5组, 造模成功率100%。50只SD大鼠全部进入结果分析, 无脱失。

2.2 心肌组织苏木精-伊红染色病理组织学检查结果

对照组: 心肌结构清晰, 心肌纤维排列整齐, 横纹清晰, 结构正常(图1A)。

模型组: 可见心肌细胞水肿显著, 出现广泛的心肌小灶性出血及心肌小灶性坏死, 并有大量有炎性细胞浸润(图1B)。

促红细胞生成素组与骨髓间充质干细胞组: 两组大鼠的心肌组织病理变化相似, 心肌小灶性出血及心肌小灶性坏死及炎性细胞浸润情况较轻, 期间散在分布正常心肌细胞(图1C, D)。

促红细胞生成素+细胞移植组: 心肌组织中可见更多正常心肌细胞, 细胞排列较规则, 边缘少量炎性细胞浸润(图1E)。

2.3 Western blot法检测凋亡蛋白Bax、Caspase-3、抗凋亡蛋白Bcl-2的表达 见表1, 图2。

抗凋亡蛋白Bcl-2的表达: 与模型组比较, 促红细胞生成素+细胞移植组大鼠心肌组织Bcl-2蛋白表达量显著增高, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 促红细胞生成素组及骨髓间充质干细胞组Bcl-2蛋白表达量也有所增高($P < 0.05$), 但促红细胞生成素组及骨髓间充质干细胞组间比较差异无显著性意义($P > 0.05$)。

凋亡蛋白Bax、Caspase-3的表达: 与模型组比较, 促红细胞生成素组及骨髓间充质干细胞组心肌组织Bax、Caspase-3蛋白表达量降低, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 促红细胞生成素+细胞移植组心肌组织Bax、Caspase-3蛋白表达量降低更明显, 差异有非常显著性意义($P < 0.01$)。

3 讨论 Discussion

脓毒症特别是严重脓毒症患者的病死率较高, 是ICU工作者面对的重要课题。脓毒症引起的心功能障碍往往是脓毒症晚期休克状态持续不能缓解的原因之一, 是影响脓毒症预后的重要因素^[18]。

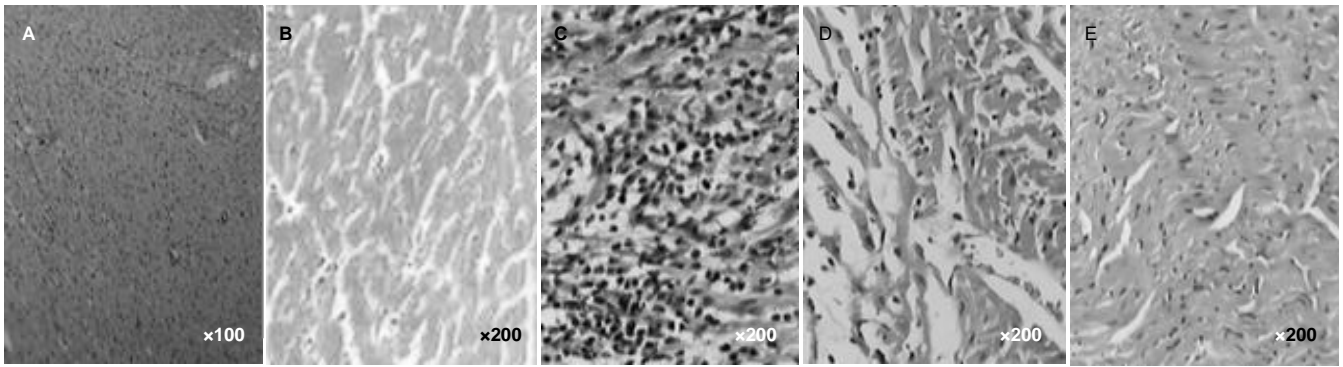


图1 经促红细胞生成素及骨髓间充质干细胞干预后心肌组织病理学观察(苏木精-伊红染色)

Figure 1 Histopathological observation of the myocardium after intervention with erythropoietin and bone marrow mesenchymal stem cells (hematoxylin-eosin staining)

图注: 图中 A 为对照组; B 为模型组; C 为促红细胞生成素; D 为骨髓间充质干细胞; E 为促红细胞生成素+细胞移植组。促红细胞生成素+细胞移植组大鼠心肌组织病理学变化最轻, 正常心肌细胞更多, 说明联合应用促红细胞生成素及骨髓间充质干细胞移植治疗脓毒症大鼠心肌损伤效果最好。

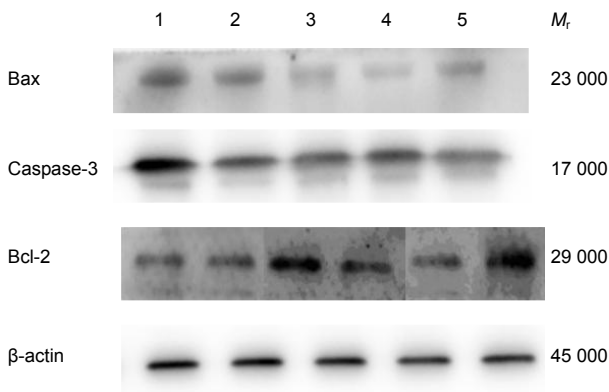


图2 Western blot 法检测各组凋亡蛋白 Bax、Caspase-3、抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达

Figure 2 Bax, Caspase-3 and Bcl-2 expression in each group as detected by western blot assay

图注: 1: 模型组; 2: 促红细胞生成素组; 3: 骨髓间充质干细胞组; 4: 对照组; 5: 促红细胞生成素+细胞移植组。各治疗组均有所变化, 促红细胞生成素+细胞移植组各因子表达量差异最大, 效果最好。

目前, 已有临床研究证实, 脓毒症早期就已存在心肌器质性损伤, 发生率很高, 这些患者易伴低血压、心力衰竭和心律失常^[19-23]。1951年, Waisbren 首先报道脓毒症可导致心肌抑制^[24], 特征为收缩功能损害, 心脏扩大、射血分数下降、对容量负荷收缩反应差、收缩峰值压力/收缩末期容积比值下降等。

国内研究发现大鼠在脓毒症造模 12 h 左右立即行心脏彩超检查^[25], 观察其心功能改变, 发现大鼠的左室舒张末内径与收缩末内径增大、射血分数降低、心排量增高、心率增快, 可能是引起大鼠死亡的重要原因之一。细胞凋亡等因素共同作用引起心肌结构和功能异常, 导致心肌受损或衰竭, 是导致脓毒症相关性心肌病的重要原因。

作者这次实验通过联合应用人重组促红细胞生成素和骨髓间充质干细胞移植治疗脓毒症相关性心肌损伤, 观察

表1 各组蛋白表达量与内参相对值的比较

Table 1 Comparison of protein expression and relative value of internal references in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	Bcl-2/ β -actin	Bax/ β -actin	Caspase-3/ β -actin
模型组	0.16 \pm 0.07	0.69 \pm 0.18	0.75 \pm 0.17
促红细胞生成素组	0.20 \pm 0.11 ^b	0.62 \pm 0.14 ^b	0.68 \pm 0.16 ^b
骨髓间充质干细胞组	0.38 \pm 0.10 ^b	0.51 \pm 0.13 ^b	0.54 \pm 0.14 ^b
促红细胞生成素+细胞移植组	0.59 \pm 0.26 ^a	0.34 \pm 0.15 ^a	0.36 \pm 0.15 ^a
对照组	0.11 \pm 0.10	0.14 \pm 0.07	0.17 \pm 0.08

表注: 各治疗组均有所变化, 促红细胞生成素+细胞移植组各因子表达量差异最大, 效果最好。与模型组比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$ 。

到联合治疗可明显减轻心肌部位炎性细胞浸润, 这提示促红细胞生成素可能与骨髓间充质干细胞在脓毒症相关性心肌损伤的治疗中存在协同作用。蛋白免疫印迹结果提示这种作用是有可能通过上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达、下调凋亡蛋白 Caspase-3、Bax 的表达, 进而抑制心肌部位心肌细胞凋亡实现的。

实验结果证实, 重组人促红细胞生成素和骨髓间充质干细胞移植联合应用治疗脓毒症相关性心肌损伤, 其效果优于单一使用干细胞移植, 可有效减少心肌细胞凋亡、挽救濒死的心肌细胞, 但其详细机制尚未明确, 需待进一步研究证实。

致谢: 感谢青岛大学附属医院中心试验室对实验的大力协助。

作者贡献: 于海初、蔡尚郎进行实验设计, 滕金龙、李丹进行实施, 潘新亭进行实验评估, 李丹进行资料收集, 滕金龙成文, 于海初审校, 蔡尚郎对文章负责。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》中相关动物伦理学标准的条例。

学术术语: 脓毒症-化脓性病原菌侵入血流并在其中大量的繁

殖, 并随血流向全身扩散, 在组织器官引起的新的多发性化脓性病灶。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] 崔书章, 寿松涛, 柴艳芬. 实用危重病医学[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2001: 913-920
- [2] Rabuel C, Mebazaa A. Septic shock: A heart story since the 1960s. *Intensive Care Med.* 2006;32(6):799-807.
- [3] Zanotti-Cavazzoni SL, Hollenberg SM. Cardiac dysfunction in severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care.* 2009; 15(5):392-397.
- [4] Li XJ, Wang XW, Du YJ. Protective effects of erythropoietin on myocardial infarction in rats: the role of AMP-activated protein kinase signaling pathway. *Am J Med Sci.* 2011;342(2): 153-159.
- [5] Merelli A, Caltana L, Lazarowshi A, et al. Experimental evidence of the potential use of erythropoietin by intranasal administration as a neuroprotective agent in cerebral hypoxia. *Drug Metabol Drug Interact.* 2011;26(2):65-69.
- [6] You Shang, Yan Wu, Shanglong Yao, et al. Protective effect of erythropoietin against ketamine-induced apoptosis in cultured rat cortical neurons: Involvement of PI3K/Akt and GSK-3 beta pathway. *Apoptosis.* 2007;12(11):2187-2195.
- [7] Khan AI, Coldewey SM, Patel NS et al. Erythropoietin attenuates cardiac dysfunction in experimental sepsis in mice via activation of the β -common receptor. *Dis Model Mech.* 2013; 6(4):1021-1030.
- [8] 秦延军, 张新亮, 于悦卿, 等. 促红细胞生成素对脓毒症大鼠心肌梗伤的保护作用[J]. *中华急诊医学杂志*, 2014, 23(2): 151-156.
- [9] Katsanos KH, Tatsioni A, Natsi D, et al. Recombinant human erythropoietin in patients with inflammatory bowel disease and refractory anemia: a 15-year single center experience. *J Crohns Colitis.* 2012;6(1):56-61.
- [10] 苏绍红, 张俊峰, 李倩如, 等. 骨髓间充质干细胞移植小鼠免疫系统 CD4⁺T 细胞亚群的变化[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(1): 106-111.
- [11] 杨锐, 马昭杰, 陈容平, 等. 间充质干细胞诱导糖尿病小型猪同种异体胰岛移植的免疫耐受[J]. *中国组织工程研究*, 2013, 17(14): 2558-2562.
- [12] Németh K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med.* 2009; 15(1):42-49.
- [13] Gonzalez-Rey E, Anderson P, González MA, et al. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut.* 2009;58(7):929-39.
- [14] Yagi H, Soto-Gutierrez A, Kitagawa Y, et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells attenuate organ injury induced by LPS and burn. *Cell Transplant.* 2010;19(6):823-830.
- [15] 李娜, 胡大海, 王耀军, 等. 脂肪间充质干细胞对烧伤脓毒症小鼠肾脏损伤的作用[J]. *中华烧伤杂志*, 2013, 29(3): 249-254.
- [16] Chang CL, Leu S, Sung HC, et al. Impact of apoptotic adipose-derived mesenchymal stem cells on attenuating organ damage and reducing mortality in rat sepsis syndrome induced by cecal puncture and ligation. *J Transl Med.* 2012; 10:244.
- [17] Wichterman KA, Baue AE, Chaudry IH. Sepsis and septic shock: A review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res.* 1980;29(2):189-201.
- [18] Chittock DR, Russell JA. Oxygen delivery and consumption during sepsis. *Clin Chest Med.* 1996;17(2):263-268.
- [19] Guest TM, Ramanathan JH, Tuteur PG, et al. Myocardial injury in critically ill patients. A frequently unrecognized complication. *JAMA.* 1995;273(24):1945-1949.
- [20] Kollef MH, Ladenson JH, Eisenberg PR. Clinically recognized cardiac dysfunction: an independent determinant of mortality among critically ill patients. Is there a role for serial measurement of cardiac troponin I? *Chest.* 1997;111(5): 1340-1347.
- [21] Ostermann M, Lo J, Toolan M, et al. A prospective study of the impact of serial troponin measurements on the diagnosis of myocardial infarction and hospital and 6-month mortality in patients admitted to ICU with non-cardiac diagnoses. *Crit Care.* 2014;18(2):R62.
- [22] Turner A, Tsamitros M, Bellomo R. Myocardial cell injury in septic shock. *Crit Care Med.* 1999;27(9):1775-1780.
- [23] Soriano FG, Nogueira AC, Caldini EG, et al. Potential role of poly(adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of myocardial contractile dysfunction associated with human septic shock. *Crit Care Med.* 2006; 34(4): 1073-1079.
- [24] Yip HK, Chang YC, Wallace CG, et al. Melatonin treatment improves adipose-derived mesenchymal stem cell therapy for acute lung ischemia-reperfusion injury. *J Pineal Res.* 2013; 54(2):207-221.
- [25] 杨澄, 张敏州, 郭力. 脓毒症大鼠早期心功能的变化[J]. *广东医学*, 2010, 31(18):2357-2358.