

血管再狭窄的基因治疗

李拥军, 管珩, 王宗立¹

(中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院, 北京 100730;

1. 中国医学科学院基础医学研究所病理室, 北京 100005)

[主题词] 血管再狭窄; 基因治疗; 动脉粥样硬化

[摘要] 血管局部定位基因转染是目前治疗血管再狭窄研究的热点, 它可将特异性基因精确定位转染至血管壁, 实现外源基因表达, 最大限度地在局部发挥生物学效应。本文以血管再狭窄发生机理为主线叙述了预转染目的基因的选择方案, 总结协助外源基因转染的载体系统的选择和设计, 并对不同定位基因转移的操作方式进行综述。

[中图分类号] Q789

[文献标识码] A

新生内膜增殖引起的血管再狭窄是导致经皮冠状动脉成形术、血管架桥手术失败的主要原因^[1,2]。传统的抗凝、抗血小板药物很难有效地抑制再狭窄的发生^[3]。随着分子生物学技术和载体技术的发展, 目的基因不断被克隆和再狭窄分子病理及生理学研究的不断深入, 血管局部定位基因转染逐步成为治疗再狭窄研究的热点, 它可将特异性基因精确地定位转染至血管壁, 实现外源基因表达, 最大限度地在局部发挥生物学效应, 减少全身副反应。本文就预转染目的基因的选择、协助外源基因转染载体系统的选择和设计及定位基因转移的操作方式三方面进行综述。

1 目的基因的选择

针对血管再狭窄不同时期病变的进程, 可选择适当的靶基因进行局部转染表达, 干扰抑制其病理过程, 起到控制和治疗作用。血管再狭窄的发生类似于创伤修复过程, 可分为 4 期: I. 血栓期, 发生于血管损伤后, 并于数小时内达到高峰, 表现为血小板粘附、聚集, 纤维素沉积; II. 炎症期, 炎症细胞 (T 淋巴细胞、中性粒细胞和单核巨噬细胞) 浸润; III. 增生期, 平滑肌细胞迁移、增殖; IV. 基质沉着、血管重塑期。

1.1 抑制血小板的聚集和血栓的形成

在球囊扩张、支架治疗及静脉移植过程中, 由于机械作用、缺血再灌注和血流剪切力的改变, 内膜不可避免地遭到损伤、剥落, 内膜下组织因子暴露, 血小板粘附、聚集、活化, 这一过程在再狭窄中的作用得到了广泛的重视^[2,4,5]。前列腺素 (prostaglandin)、一氧化氮 (NO)、纤溶酶原激活剂 (plasminogen activator, PA)、凝血酶受体以及血小板膜糖蛋白受体

均可作为候选基因, 用于对抗血小板粘附聚集和血栓形成。实验证实, 一氧化氮合酶^[6]、Cyclooxygenase^[7]、水蛭素^[8]以及重组纤溶酶原激活剂^[9,10] (u- PA, t- PA) 基因可转染至局部血管段, 提高局部血管的抗栓能力, 并不同程度地减轻新生内膜增殖。在高胆固醇饲养的小型猪主动脉球囊损伤模型中, 局部转染反义凝血酶受体真核表达基因, 能从 mRNA 及蛋白水平抑制血管平滑肌细胞凝血酶受体基因的表达, 使猪血管平滑肌细胞中 PDGF- A 链及 bFGF 的表达明显降低, 内膜增生显著减轻^[11]。应用单克隆抗体, 暂时抑制血小板受体 GPIIb- GPIIIa, 可减轻血小板与血管间的相互作用, 降低再狭窄的发生^[12], 这为今后寻求此方面的基因治疗提供了依据。

1.2 抑制炎症细胞作用

炎症细胞, 特别是单核巨噬细胞在动脉粥样硬化发病机制中的作用已得到肯定和重视。近年研究发现, 炎症细胞在血管再狭窄的进程中同样起着不可忽视的作用^[13]。血管内皮损伤后, 有大量单核细胞及多形核中性粒细胞粘附、浸润。此时, 尚检测不到各种生长因子的表达变化, 但是, JE 和 KC 基因的表达增高, JE 编码单核巨噬细胞趋化蛋白, KC 编码特异性中性粒细胞趋化因子。局部损伤血管段浸润、活化的炎症细胞可通过自分泌和旁分泌, 产生各种细胞因子、生长因子和趋化因子, 激活平滑肌细胞和内皮细胞分泌粘附分子和生长因子, 刺激平滑肌细胞迁移、增殖, 同时, 吸引更多的炎症细胞浸润, 产生瀑布效应^[14]。中性粒细胞在再狭窄中的作用, 目前研究并不多见, 而关于单核巨噬细胞的研究则较为深入。Stark 等^[15]以大鼠静脉移植为模型, 采用定量 PCR 和免疫组织化学方法, 测定并分析了静脉移植手术后不同时间点单核巨噬细胞浸润数量、单核细胞趋化蛋白- 1 及其它细胞因子表达量与内膜增生的关系, 结果发现术后静脉新生内膜增生与静脉壁单核巨噬细胞浸润和单核细胞趋化蛋白- 1 持续高表达相关。Guzman 等^[16]、Furukawa 等^[17]用抗单核细胞趋化蛋白- 1 抗体静脉注射, 分别以家兔和大鼠动脉 PTA 为模型进行实验性治疗, 结果证明抗单核细胞趋化

[作者简介] 李拥军, 男, 1967 年出生, 河南郑州人, 血管外科博士, 北京协和医院基本外科主治医师, 主要从事血管外科临床工作及血管再狭窄基因防治、动脉瘤病因和治疗方面研究。管珩, 女, 1941 年出生, 上海人, 主任医师, 教授, 血管外科博士生导师, 北京协和医院基本外科副主任。

蛋白-1 抗体不仅可有效抑制损伤血管壁单核巨噬细胞浸润,还可以显著减轻 PTA 术后新生内膜的增生。余铭鹏等^[18]给高胆固醇饲养的家兔静脉注射抗巨噬细胞单克隆抗体,用流式细胞仪分析主动脉细胞成分并结合扫描电镜观察,证明静脉注射抗巨噬细胞单克隆抗体可抑制单核巨噬细胞进入动脉壁并显著减轻动脉粥样硬化病变的形成。Trapidil 能有效地治疗血管再狭窄, Poon 等^[19]应用高胆固醇饲养的家兔股动脉球囊损伤模型对其作用机制进行了研究,结果发现: Trapidil 皮下注射可明显抑制单核细胞趋化蛋白-1 表达和单核巨噬细胞浸润。我们近年的实验证实,应用重组逆转录病毒可将反义单核细胞趋化蛋白-1 转入平滑肌细胞中,而且,反义单核细胞趋化蛋白-1 表达可抑制细胞自身单核细胞趋化蛋白-1 的表达^[20]。

1.3 抑制平滑肌细胞迁移和增殖

血管平滑肌细胞的迁移及过度增殖一直是新生内膜形成和血管再狭窄研究的主要方向。一系列原癌基因(*ras*、*c-myc*、*c-myb*、*fas*)表达增高、生长因子基因(*PDGF*、*FGF*、*VEGF*、*TGF-β*、*IGF-1*)表达增强,均是引起平滑肌细胞增殖的原因。因此,局部转染这些基因的反义序列(*antisense sequences*),如反义寡聚核苷酸(*antisense oligonucleotides*)、反义表达基因,使其与相应的 DNA、RNA 序列结合,可在转录和翻译水平上抑制特定基因的表达,抑制生长因子的合成,减轻再狭窄的程度。周正杰等^[21]将反义 *N-ras* 1 基因转染到大耳白兔的损伤血管局部,分别用 Northern 和 Western 方法检测 mRNA 和 *ras* 基因表达产物 P21 蛋白,证实转染成功,再通过血管造影和病理形态学检查,发现可以明显抑制平滑肌细胞增殖。Fulton 等^[22]将含有 *c-myb* 反义 RNA 的凝胶涂于颈总动脉静脉移植物的外膜,一天后即在中膜和外膜中检测到了反义 RNA。内膜的增殖与对照组相比明显减少,同时还可以保护乙酰胆碱介导的内膜细胞依赖性血管舒张作用。Abigail 等^[23]应用 bFGF 反义 RNA 以腺病毒为载体导入 Sprague-Dowley 大鼠损伤的颈动脉,通过检测内膜/中膜的比率,发现反义 bFGF 基因可以明显抑制新生内膜的增殖。

表 1 治疗再狭窄的有效基因

Table 1 Potential therapeutic genes for restenosis

Therapeutic Gene	Animal Model	Vector	Follow-up (d)	Proportionate Reduction of I/M Area Ratio
NOS	Rat carotid artery	Liposome(30μg/mL)	14	70%
c-myb	Rabbit vein graft	Commercial gel(200μg)	28	38%
BFGF	Rat carotid artery	Adv(1×10^{10} pfu)	14	60%
HSV tk	Canine ileofemoral artery	Adv(7×10^9 pfu)	21	54%
TIMP-1	Human saphenous vein	Adv(1.2×10^{10} pfu)	14	54%
Gax	Rabbit femoral artery	Adv(1×10^9 pfu)	14	69%
VEGF	Rabbit iliac artery	Plasmid(400μg)	28	74%

pfu: plaque-forming units; I/M: intimal-to-medial; Adv: adenovirus.

另外,细胞毒性治疗(*cytotoxic therapy*)同样可获得肯定疗效。Ohno 等^[24]用腺病毒载体将自杀基因(单纯疱疹病毒胸腺嘧啶激酶基因、*HSV tk*)进行局部血管转染,然后静脉注射 Ganciclovir,使其在局部发生作用,在犬的动脉损伤模型中成功地抑制了新生内膜的形成。

1.4 抑制基质沉积

中层静止的平滑肌细胞在受到损伤局部生长因子及各种血管活性物质刺激后,由收缩表型向合成表型转换,向内膜迁移、增殖,并分泌大量细胞外基质,形成过度增生的新生内膜。此时,局部组织中的金属蛋白酶(*MMPs*)亦被激活,从而加速平滑肌细胞的迁移、转型。实验表明^[25],局部高表达金属蛋白酶组织抑制剂 1(*TIMP-1*)能减轻新生内膜增生。于动脉球囊损伤模型中局部转染入看家基因 *Gax* (在分化良好的平滑肌细胞中表达,而细胞转型后,其表达下调),使其高表达,可抑制平滑肌细胞增殖,抑制内膜增生^[26]。上调 *MEF-2* 一类的肌特异性基因(*muscle-specific gene*)转录调控因子,可抑制平滑肌细胞的转型,减少基质的分泌^[27]。

1.5 促进内膜的完整化(再内皮化, reendothelialization)

内皮细胞在保持血管的通畅,防止血栓形成、炎症细胞浸润和抑制再狭窄方面起着重要的作用。研究表明^[28],在发生再狭窄的病人中存在着内皮再形成延迟和不完全的现象。因此应用 FGF 和 VEGF 等生长因子促进内皮细胞生长,加速内皮的完整化,是基因治疗的另一方面。因 VEGF 特异性地作用于内皮细胞,故它更多地被用于动物和临床试验中。局部应用 VEGF165 质粒 DNA 和静脉应用重组 VEGF 蛋白在动物试验中均表现为新生内膜堆积减少及管腔增宽^[29], Isner 等^[30]已开始应用这一基因进行临床试验。

目前的体内、体外实验研究以及临床研究多选用单一基因转染表达,虽有很多成功的报道,且对研究某一特异基因在再狭窄中作用机制有着重要的意义。但这显然是不够的,血管再狭窄是一个多因素共同作用的过程,因此在今后的设计中,应采用多基因共同转染,作用于再狭窄的不同过程和方面,即所谓的鸡尾酒疗法,以便更好的发挥作用。

2 载体体系的设计

目前用于基因转移的载体主要分为两大类: 病毒载体及非病毒载体。病毒载体大体包括: 逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒等。非病毒类载体有: 质粒 DNA(naked DNA)、阳离子脂质体、微粒子(particles)等。

2.1 病毒载体

多种病毒对哺乳动物具有很强的感染能力, 并在宿主细胞内复制表达。目前应用于实验和临床研究的病毒载体由两部分组成: 复制缺陷型病毒载体和包装细胞。

2.1.1 逆转录病毒载体 逆转录病毒是一类 RNA 病毒, 构建时保留了病毒内的长末端序列(LTR)和包装信号, 去除了病毒蛋白的编码结构, 一方面可插入外源启动子和目的基因, 同时使载体不产生包装蛋白, 不能形成病毒颗粒而感染细胞, 提高其应用的安全性。这类病毒可转染多种细胞, 整合至宿主细胞染色体中, 从而获得长期稳定的表达。但是, 逆转录病毒载体的容量较小, 只能感染分裂状态的细胞, 其随即整合有可能造成插入突变。这些缺点一定程度地限制了逆转录病毒载体的应用。但随着包装细胞体系和病毒载体体系的不断改进和完善, 在血管再狭窄治疗方面的应用前景仍十分广泛^[31]。Xu 等^[32]将 PGHS-1 cDNA 以逆转录病毒为载体体外转染血管内皮细胞, 测定 PGI₂ 的合成增多, 抗血栓的能力明显高于对照组。Dichek 等^[9]用逆转录病毒为载体将 t-PA 基因(B2NST)体外转染至血管内皮细胞, 再培养至支架上, 动物试验证实, 这种支架具有良好的抗栓和抑制内膜增生的作用。我们应用逆转录病毒载体成功地转染了反义单核细胞趋化蛋白-1, 使其在体外培养的平滑肌细胞中表达, 并抑制自身单核细胞趋化蛋白-1 的表达^[20]。

2.1.2 腺病毒载体 目前所用的腺病毒载体是通过将腺病毒的 36 kb 基因组的 E1 和 E3 区域缺失而获得的。它通过 293 细胞或 HeLa 细胞包装, 形成病毒颗粒, 感染细胞。其优点为: 容量大(7~10 kb); 不论靶细胞的增殖状态如何, 均可达到高效转染; 较为稳定, 可以分离纯化达到高浓度($1.011 \sim 1.012 \times 10^6$ pfu/L); 外源 DNA 序列独立于宿主基因组外进行复制表达, 因此几乎不存在插入诱变。这种表达虽是暂时的, 一般维持 2~4 周, 但对于血管再狭窄, 其短期高效表达即可产生有效的生物学效应。Kibbe 等^[33]、Claudio 等^[34]和 George 等^[25]分别成功地利用腺病毒载体将外源基因 NOS、RB2/p130、TIMP-1 转染至平滑肌细胞, 并相应的抑制细胞增殖, 减轻再狭窄的发生。

2.1.3 腺相关病毒载体 具有非致病性和特异性定位整合两大特点, 可以转染非分化细胞, 较少产生免疫反应。但其基因长度仅为 5 kb, 容纳外源 DNA 的能力有限。目前这种载体在血管疾病中的应用正在研究中^[35]。

2.2 非病毒载体

用于转染的病毒载体体系虽经过多次改进, 但在体内应用时仍有一定的风险, 并不可避免的存在着免疫原性。而非病毒载体介导转基因技术没有类似病毒载体体系的安全性问题, DNA 本身无毒性、免疫原性弱, 更适合在体内应用。

2.2.1 质粒 DNA 在真核表达质粒中插入目的基因即可

用来转染哺乳动物细胞, 指导相应基因在靶细胞中表达。与重组病毒相比, 质粒 DNA 具有操作简便, 容易生产, 且整合扩散的危险性低, 免疫原性小等优点。在血管再狭窄方面, 主要应用的是 VEGF165 质粒, 并已开始临床实验^[30]。但这种方法的转染效率有待进一步提高。

2.2.2 脂质体 发展安全有效的基因转染技术是转基因治疗研究的重要方面, 而阳离子脂质体转染技术的应用是一次飞跃^[36, 37]。脂质体是由表面带正电的脂质双层分子组成。阳离子脂质体和核酸相互作用形成脂质体复合物, 通过融合或细胞内吞噬作用, 将目的基因导入靶细胞细胞质, 再转运到核内, 以非整合形式存在。脂质体-基因复合物的制备简便易行, 细胞毒性小, 不产生免疫原性, 安全性好, 同时可转染多种细胞, 不受细胞生长状态的影响。在血管疾病基因治疗中应用的脂质体载体有 DOTMA/DOPE、DC-cholesterol、DOSPA/DOPE、DMRIE/DOPE 和 DOTAP 等。经脂质体载体介导转移的重组基因已在多种动物模型中获得阳性表达, 可成功地转染内皮细胞和平滑肌细胞, 表达在 2 周至 1 个月^[38]。在临床上已用于黑色素瘤的转基因治疗^[39]。

2.2.3 微粒子 微粒子包括纳米粒子和微米粒子(nano- and macro-particle), 载体的球体直径分别为: 30~500 nm 和 0.5~100 μ m, 直径越小其组织穿透性越强, 在血管壁中的转染效率越高。Wilensky 等^[40]的研究表明, $11.4 \pm 0.1 \mu$ m 的微粒转导系统可将局部药物维持在可检浓度达 7 天之久; 5 μ m 的转导体系, 经血管腔内给药后, 可在新生内膜、中膜、外膜中检测到, 而且持续 2 周以上。Rome 等^[41]的研究也说明粒子的大小与呈递药物的效率有关, 小颗粒粒子(2~6 nm)的传递效果最好, 粒子可分布于整个血管壁, 中等颗粒(93 nm)则只分布于内膜及外膜, 而 120~500 nm 的颗粒只存在于内膜。微粒子与 DNA 的结合是通过电荷作用, 物理包裹, 共价结合形成的, 在制备过程中, 可使 DNA 分子的直径(hydrodynamic diameter)进一步缩小, 并增强其耐核酸酶的能力, 延长在体内的有效释放时间, 起到缓释的作用。微粒子作为一种新兴的基因转染载体, 因其良好的组织穿透能力, 极易被细胞吸收以及缓释效应, 使之在血管再狭窄的治疗中有着潜在的不可比拟的优越性。

3 基因定位转移技术

3.1 血管腔内转染

经血管腔内定位基因转染采用动脉插管技术及各种球囊导管, 将目的基因选择性地转移至治疗部位, 在外源基因与病灶部位血管细胞紧密接触及压力作用下完成基因定位转染。这种基因定位转移具有和血管成形术同时进行的独特优势。目前应用的血管腔内定位基因转染装置主要包括: 双腔球囊导管、水凝胶包被球囊导管、多孔球囊导管等, 均可将目的基因转染至病变部位, 发挥相应的生物学效应, 抑制再狭窄的发生^[42, 43]。但是, 腔内注射有一定的局限性: 远端血流被阻断; 维持血管正常生理的内膜不可避免地受到损伤; 动脉硬化增厚的内膜对外源基因转染可能起着屏障作用, 加之血流的冲击, 使转染效率下降; 有远处基因转染表达

的可能。

3.2 经外膜基因转染

为了克服血管腔内基因转染的某些缺点,一些学者开始尝试血管周围注射外源基因,以期控制血管内膜增生^[44,45]。Neschis 等^[46]在兔髂动脉球囊扩张段的动脉外膜涂布生物凝胶包裹的反义 bFGF 基因;Fulton 等^[22]应用同样的方法在移植静脉外膜转染反义 c-myc 寡聚核苷酸;Nikol 等^[45]利用微注射装置(needle injection catheter)将 Cecropin A 基因转染至猪的球囊损伤动脉周围,不仅成功地将外源基因转至血管壁,而且有效地抑制了内皮损伤后新生内膜的增生。

3.3 移植静脉浸泡基因转移

静脉移植时,有一段离体时间,使体外基因转染成为可能,其薄弱的静脉壁,允许基因更容易的穿透外膜,实现血管壁的基因转染。Zou 等^[47]将移植静脉浸泡于质粒 DNA 中,实现基因转染;Kibbe 等^[33]同样应用浸泡的方法,实现了 iNOS 和 BH₄ 基因的共转染,抑制了静脉移植模型的内膜增生。

3.4 体外(ex vivo)基因转移

即先将目的基因导入中介细胞(内皮细胞或平滑肌细胞),通过体外的选择培养,再将转基因细胞种植于人工血管或支架上,用于血管成形^[48]。Dichek 等^[9]成功地将 t-PA 在体外导入了内皮细胞中,并培养在支架上,提高了支架的抗栓能力。这种方法的优点是:转染效率高,不会将目的基因转入非靶细胞中,且可直接观察目的基因在特定细胞中的表达情况。缺点是:操作复杂,且受组织细胞体外存活率的限制。同时,高表达目的基因的内皮细胞在人工血管或支架内粘附的稳定性也受影响^[10]。

综上所述,血管再狭窄的基因治疗在临床上目前尚难以制定出统一、完美的方案,但大量的实验室研究及临床试验,使我们逐步接近了问题的核心。

参考文献

- [1] Imparato AM, Bracco A, Kim GFE, et al. Intimal and neointimal fibrous proliferation causing failure of arterial reconstruction [J]. *Surgery*, 1972, **72**: 1 007- 017
- [2] Casterella PJ, Teirstein PS. Prevention of coronary restenosis [J]. *Cardiol Rev*, 1999, **7**(4): 219- 231
- [3] Franklin SM, Faxon DP. Pharmacological prevention of restenosis after PTCA: review of randomized clinical trials [J]. *Coronary Art Dis*, 1993, 232- 242
- [4] Gibbons GH, Dzau VJ. Molecular therapies for vascular diseases [J]. *Science*, 1996, **272**: 689- 693
- [5] Nikol S, Huehns TY, H•fing B. Molecular biology and post- angioplasty restenosis [J]. *Atherosclerosis*, 1996, **123**: 17- 31
- [6] Matsumoto T, Komori K, Yonemitsu Y, et al. Hemagglutinating virus of Japan- liposome- mediated gene transfer of endothelial cell nitric oxide synthase inhibits intimal hyperplasia of canine vein grafts under conditions of poor runoff [J]. *J Vas Surg*, 1998, **27**: 135- 144
- [7] Zoldhelyi P, McNatt J, Xu XM, et al. Prevention of arterial thrombosis by adenovirus- mediated transfer of cyclooxygenase gene [J]. *Circulation*, 1996, **93**: 10- 17
- [8] Rade JJ, Schulick AH, Vimani R, et al. Local adenoviral- mediated expression of recombinant hirudin reduces neointimal formation after arterial injury [J]. *Nat Med*, 1996, **2**: 293- 298
- [9] Dichek DA, Anderson J, Kelly AB, et al. Enhanced in vivo antithrombotic effects of endothelial cells expressing recombinant plasminogen activators transduced with retroviral vectors [J]. *Circulation*, 1996, **93**: 201- 209
- [10] Dunn PF, Newman KD, Jones M, et al. Seeding of vascular grafts with genetically modified endothelial cells: secretion of recombinant TPA results in decreased seeded cell retention in vitro and in vivo [J]. *Circulation*, 1996, **93**: 1 439- 446
- [11] 张茜,姜玉新,刘冬青,等. 反义凝血酶受体基因表达对猪主动脉平滑肌细胞增殖的抑制作用 [J]. *中华医学杂志*, 1999, **79**(5): 365- 368
- [12] Topol EJ, Califf RM, Weisman HF, et al. Randomised trial of coronary intervention with antibody against platelet IIb/ IIIa integrin for reduction of clinical restenosis: results at six months [J]. *Lancet*, 1994, **343**: 881- 886
- [13] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for 1990s [J]. *Nature*, 1993, **362**(6423): 801- 809
- [14] Tanaka H, Sukhova GK, Swanson SJ, et al. Sustained activation of vascular cells and leukocytes in the rabbit aorta after balloon injury [J]. *Circulation*, 1993, **88**: 1 788- 803
- [15] Stark VK, Hoch JR, Warner TF, et al. Monocyte chemotactic protein- 1 expression is associated with the development of vein graft intimal hyperplasia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 1 614- 621
- [16] Guzman LA, Whitlow PL, Geall CJ, et al. Monocyte chemotactic protein 1 antibody inhibit stenosis in the rabbit atherosclerosis model [J]. *Circulation*, 1993, **88** (suppl): 371
- [17] Furukawa Y, Matsumori A, Ohashi N, et al. Anti- monocyte chemoattractant protein- 1/ monocyte chemotactic and activating factor antibody inhibits neointimal hyperplasia in injured rat carotid arteries [J]. *Circ Res*, 1999, **84**: 306- 314
- [18] Poon M, Cohen J, Siddiqui Z, et al. TNP- 470 inhibits monocyte chemoattractant protein- 1 and macrophage accumulation after balloon arterial injury in rabbits [J]. *Lab Invest*, 1999, **79**(11): 1 369- 375
- [19] 李福生,王宗立,许漫,等. 表达反义单核细胞趋化蛋白- 1 的重组逆转录病毒对家兔动脉平滑肌单核细胞趋化蛋白- 1 基因表达的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7**(4): 283- 287
- [20] 周玉杰,汪丽蕙,周爱儒,等. 反义 N-ras1 基因对血管损伤后平滑肌细胞增殖的影响 [J]. *中华医学杂志*, 1997, **77**: 220- 223
- [21] Fulton GJ, Davies MG. Antisense oligonucleotide to proto- oncogene c-myc inhibits the formation of intimal hyperplasia in experimental vein grafts [J]. *J Vasc Surg*, 1997, **25**: 453- 463
- [22] Hanna AK, Fox JC, Neschis DG, et al. Antisense basic fibroblast growth factor gene transfer reduces neointimal thickening after arterial injury [J]. *J Vasc Surg*, 1997, **25**: 320- 325
- [23] Ohno T, Gordon D, San H, et al. Gene therapy for vascular smooth muscle cell proliferation after arterial injury [J]. *Science*,

- 1994, **265**: 781
- [25] George SJ, Johnson JL, Angelini GD, et al. Adenovirus- mediated gene transfer of the human TIMP- 1 gene inhibits smooth muscle cell migration and neointimal formation in human saphenous vein [J]. *Hum Gene Ther*, 1998, **10** 960: 867- 877
- [26] Huehns TY. New ideas for restenosis research aired in ohio [J]. *Lacert*, 1996, **347**: 1 824
- [27] Firulli AB, Miano JM, BiW, et al. Myocyte enhancer binding factor- 2 expression and activity in vascular smooth cells, Association with the activate phenotype [J]. *Circ Res*. 1996. **78**: 196- 204
- [28] Casscells W. Growth factor therapies for vascular injury and ischemia [J]. *Circulation*, 1995, **91**: 2 699- 702
- [29] Asahara T, Bauters C, Pastore CJ, et al. Local delivery of vascular endothelial growth factor accelerates reendothelialization and attenuates intimal hyperplasia in balloon- injured rat carotid artery [J]. *Circulation*, 1995, **91**: 2 793- 801
- [30] Isner JM, Walsh K, Rosenfield K, et al. Arterial gene therapy for restenosis [J]. *Hum Gene Ther*, 1996, **7**: 989- 1 011
- [31] Byun J, Kim SH, Kim JM, et al. Analysis of the relative level of gene expression from different retroviral vectors used for gene therapy [J]. *Gene Ther*, 1996, **3**(9): 780- 788
- [32] Xu XM, Ohashi K, Sanduja SK, et al. Enhanced prostacyclin synthesis in endothelial cells by retrovirus- mediated transfer of prostaglandin H synthase cDNA [J]. *J Clin Invest*, 1993, **91**: 1 843- 849
- [33] Kibbe MR, Nie S, Yoneyama T, et al. Optimization of ex vivo inducible nitric oxide synthase gene transfer to vein grafts [J]. *Surgery*, 1999, **126**(2): 323- 329
- [34] Claudio PP, Fratta L, Farina F, et al. Adenoviral RB2/ p130 gene transfer inhibits smooth muscle cell proliferation and prevents restenosis after angioplasty [J]. *Circ Res*, 1999, **85**(11): 1 032- 039
- [35] Arnold TE, Gnatenko D, Bahou WF. In vivo gene transfer into rat arterial walls with novel adeno- associated virus vectors [J]. *J Vasc Surg*, 1997, **25**: 347- 355
- [36] Gao X, Huang L. A novel cationic liposome reagent for efficient transfection in mammalian cell [J]. *Biochim Biophys Res Commun*, 1991, **179**(1): 280- 285
- [37] Stewart MJ, Plautz GE, Buono LD, et al. Gene transfer in vivo with DNA- liposome complexes: safety and acute toxicity in mice [J]. *Human Gene Therapy*, 1992, **3**: 267- 275
- [38] 李拥军, 管珩, 刘佩毛, 等. 反义 MCP- 1 转染兔平滑肌细胞及对其生长的影响 [J]. *基础医学与临床*, 1999, **19**(4): 79- 84
- [39] Nabel GJ, Nabel EG, Yang ZY, et al. Direct gene transfer with DNA- liposome complexes in melanoma: Expression, biologic activity, and lack of toxicity in humans [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 11 307- 311
- [40] Wilensky RL, March KL, Gradus PI, et al. Regional and arterial localization of radioactive microparticles after local delivery by unsupported or supported porous balloon catheters [J]. *Am Heart J*, 1995, **129**: 852- 859
- [41] Rome JJ, Shayani V, Flugelman MY, et al. Anatomic barriers influence the distribution of in vivo gene transfer into the arterial wall. Modeling with microscopic tracer particles and verification with a recombinant adenoviral vector [J]. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**: 148- 161
- [42] Barinaga M. Gene therapy for clogged arteries passed test in pigs [J]. *Science*, 1994, **265**: 738
- [43] Nabel EG, Plautz G, Nabel GJ. Site- specific gene expression in vivo by direct gene transfer into the arterial wall [J]. *Science*, 1990, **244**: 1 285- 288
- [44] Reed ML, Wu C, Kneller J, et al. Micromechanical devices for intravascular drug delivery [J]. *J Pharm Sci*, 1998, **87**(11): 1 387- 394
- [45] Nikol S, Huehns TY, Krausz E, et al. Needle injection catheter delivery of the gene for an antibacterial agent inhibits neointimal formation [J]. *Gene Ther*, 1999, **6**: 737- 748
- [46] Neschis DG, Sattord SD, Hanna AK, et al. Antisense basic fibroblast growth factor gene transfer reduces early intimal thickening in a rabbit femoral artery balloon injury model [J]. *J Vasc Surg*, 1998, **27**: 126- 134
- [47] Zou Y, Dietrich H, Hu Y, et al. Mouse model of venous bypass arteriosclerosis [J]. *Am J Pathol*, 1998, **153**(4): 1 301- 310
- [48] Flugelman MY. Inhibition of intravascular thrombosis and vascular smooth muscle cell proliferation by gene therapy [J]. *Thromb Haemo*, 1995, **74**(1): 406- 410

(此文 2000- 04- 22 收到, 2000- 08- 10 修回)

(此文编辑 朱雯霞)