

# 内皮细胞移植防治血管损伤后内膜增生反应的研究进展

武晓静 综述, 黄 岚 审校

(第三军医大学附属新桥医院心血管内科中心, 重庆市 400037)

[主题词] 细胞移植; 经皮冠状动脉介入; 内膜增生, 动脉; 再狭窄, 冠状动脉

[摘要] 经皮冠状动脉介入(PCI)是冠心病治疗的重要手段,但其不可避免的会损伤内皮细胞,内皮功能失调或/和结构损害在血管损伤后内膜增生性病变成中起重要作用。细胞移植已成为治疗多种疾病的新策略,本文主要综述近年来关于内皮细胞移植促进损伤内膜修复,防治血管损伤后新生内膜增生的研究进展。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

经皮腔内冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)是治疗冠心病的重要手段,但机械损伤后引起的损伤反应是难题。PCI不可避免地会损伤内皮,内皮再生过程中还可发生表型改变,不能行使正常内皮功能。而血管内皮细胞(endothelial cell, EC)是具有高度活性的代谢组织,能形成多种血管活性物质和结缔组织的大分子,EC功能失调或/和结构损害在血管损伤后内膜增生性病变成中起重要作用。细胞移植近年已成为治疗多种疾病的新策略,本文主要综述近年来关于EC移植替代损伤内皮、促进损伤内膜修复,防治血管损伤后新生内膜增生的研究进展。

## 1 血管损伤后面临的主要问题是新生内膜增生

经皮冠状动脉介入(PCI)术后再狭窄的主要病理基础是:平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)增殖、迁移、分泌细胞外基质形成过度增生的新生内膜;④收缩性血管重塑所致的结构紊乱<sup>[1]</sup>。近年,冠状动脉内支架植入术广泛应用于临床,支架能显著抑制球囊扩张术后血管弹性回缩和动脉收缩性重塑,但不能抑制血管中膜SMC的增殖与迁移,而且支架本身对血管壁的刺激还会促进SMC的增殖与迁移,因此,目前PCI术后面临的主要问题是内膜增生反应<sup>[2]</sup>。

## 2 内皮损伤在血管损伤后内膜增生性病变成中起重要作用

### 2.1 内皮损伤促进血管损伤后SMC增殖与迁移

血管EC是人体最大、最广泛的细胞,沿着整个血管网排列,能形成多种血管活性物质和结缔组织的大分子,是具有高度活性的代谢组织。PCI不可避免地会损伤血管内皮,内皮受损脱落,胶原暴露,血小板黏附聚集,激活凝血反

应,一方面血小板释放大量促进SMC增殖的物质如血小板源生长因子(PDGF)等,另一方面凝血反应的激活使凝血酶活化,活化的凝血酶不仅在凝血过程中起关键作用,近年发现它还是强有丝分裂原,能通过复杂的信号传导网络促进SMC的增殖与迁移<sup>[3,4]</sup>。同时,EC的损伤使其分泌抑制平滑肌增生的血管活性物质(如NO、PGI<sub>2</sub>等)减少,而促进平滑肌增生的血管活性物质(如ET等)增多,并且内皮对SMC的接触抑制丧失,进一步促进SMC增殖、迁移并分泌大量细胞外基质,形成过度增生的新生内膜。

### 2.2 再生内皮不能有效抑制血管损伤后SMC增殖与迁移

内皮的一个重要特征是在单细胞层,这种形式使EC不能在损伤部位相互缓慢移动生长,以利于去内皮化表面的修复,只有靠损伤边缘的EC参与再生反应。如果参与再生的EC丧失再生能力,虽其远端细胞具有复制能力,也因不能到达损伤位置而不能参与修复过程。关于球囊成形术后内皮再生的研究表明,内皮剥脱24h后开始出现再生,2周左右再生速度达到最大,6周后再生停止。EC再生覆盖面积与剥脱程度有关,轻度剥脱可完全覆盖创位面,而较大面积的剥脱即使在半年以后也不能完全覆盖创位面<sup>[5]</sup>。对SMC增殖的研究表明,在内皮再生高峰期,平滑肌增殖速度加快,即使内皮再生完全覆盖创位面的情况下,SMC也呈现增殖活跃状态<sup>[6]</sup>。这就提示血管损伤后内皮再生虽然起到了修复内膜的作用,但同时再生内皮功能紊乱,EC不能发挥正常功能,结果就不能有效抑制新生内膜增生。另外, Axel<sup>[7]</sup>和 Gorog等<sup>[8]</sup>通过建立细胞联合培养体系,发现对数增殖期内皮显著刺激SMC增殖与迁移,而融合期相对静止内皮则抑制其增殖与迁移。他们的研究表明,EC表型不同,对SMC生物学特性的影响也不同,处于增殖期的再生内皮本身就会通过旁分泌作用刺激SMC增殖,形成过度增生的新生内膜。

## 3 内皮细胞移植防治血管损伤后新生内膜增生的研究进展

目前,防治PCI后再狭窄有涂层支架、血管内放射治疗和基因治疗。基因技术目前由于不完善,存在很多后顾之

[收稿日期] 2002-04-28 [修回日期] 2002-11-05

[基金项目] 国家自然科学基金资助(30277842)

[作者简介] 武晓静,女,1974年出生,博士研究生。主要研究方向为冠心病防治。黄岚,男,1959年出生,主任医师,博士生导师,研究方向为冠心病防治:血管壁非内皮细胞成分替代内皮功能;治疗性血管再生。

忧,影响了临床试验。涂层支架和血管内放射治疗都能抑制或破坏 DNA 合成,显著抑制新生内膜增生,在防治再狭窄方面可能更有希望<sup>[9]</sup>。但它们不但不会促进 EC 功能恢复,还会影响 EC 再生,有迟发血栓形成和支架裸露的危险。如果在抑制 SMC 增殖的同时,加速损伤血管段内皮覆盖的进程,尽早恢复内膜完整性和 EC 生理功能,抑制 EC 自身增殖对 SMC 增殖的刺激,则更有利于血管生物学功能的重建。

目前关于损伤后促进内皮修复的研究主要集中在利用药物、细胞因子或转染相关基因使其过度表达,从某个角度补偿 EC 功能。但损伤内皮修复是个复杂的过程,很难想象某种药物或细胞因子就能完全恢复 EC 功能。而细胞移植近年来已成为治疗多种疾病的新策略,其目的是替代、修复或加强受损组织或器官的生物学功能。国外从 20 世纪 90 年代以来陆续有关于自体 EC 移植促进损伤内皮修复的报道。Conte 等<sup>[10]</sup>复制兔股动脉球囊损伤模型,阻断股动脉两端血流后,将转染  $\beta$ -半乳糖苷酶基因的自体颈静脉 EC 注入内皮剥脱血管段,共同孵育 30 min,恢复血流 4~7 天后,发现血管壁有 40%~90% 的 EC 表达  $\beta$ -半乳糖苷酶。后来他们又用同样的动物模型,发现自体颈静脉 EC 移植能有效抑制高胆固醇血症兔球囊成形术后再狭窄<sup>[11]</sup>。Darcin 等<sup>[12]</sup>复制狗股动脉球囊损伤模型,将自体颈静脉 EC 移植到内皮剥脱血管段,结果能明显改善损伤血管的长期开通率。这些方法都需手术分离血管,完全阻断血流 30 min。Kipshidze 等<sup>[13]</sup>发现纤维蛋白能促进 EC 黏附于血管壁,他们复制兔髂动脉粥样硬化球囊损伤模型,将兔自体颈静脉 EC 与纤维蛋白基质一起经带孔球囊导管移植到球囊损伤血管段,结果不仅减少了操作时间,而且大大提高了 EC 的种植率,减轻了再狭窄。国内这方面的研究主要是 EC 种植人工血管的实验研究<sup>[14-16]</sup>,尚未见 EC 移植促进损伤动脉再内皮化的研究。

#### 4 问题与展望

实验表明自体颈静脉 EC 移植确实能促进损伤动脉再内皮化,减轻新生内膜增生。但目前这些研究仅停留在 EC 移植到损伤部位,减轻新生内膜增生这一现象,而关于自体 EC 移植对血管功能的影响及抑制新生内膜增生的机制还缺乏深入研究。可能与移植的内皮黏附裸露血管壁,形成相对完整的内膜,一方面抑制了 EC 自身增殖对 SMC 增殖的刺激,另一方面限制了继发的凝血和炎症反应,阻止脂蛋白等物质在血管壁的沉积有关。

此外,目前移植的 EC 来源多局限于自体成熟静脉内皮,与动脉内皮相比存在异质性,且需手术切除一段血管才能分离培养自体 EC,而异体内皮移植又存在排斥反应。因此,寻找合适的 EC 来源是深入研究的关键问题。干细胞具有保持未分化状态的增殖能力及分化为多种细胞类型的潜能,在细胞移植及组织工程中有诱人的应用前景,正成为生物学和医学中最有吸引力的领域之一<sup>[17]</sup>。目前已经发现骨髓及外周血中存在成体干细胞来源的内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC),在体外经诱导分化可表达 EC 特征性抗

原,在体内局部微环境作用下可发育为适宜局部生长的 EC,行使 EC 功能,解决成熟内皮异质性的问题<sup>[18]</sup>。且内皮祖细胞可取自外周血及骨髓,取材方便,对肌体创伤性小,因此它可能是进行 EC 移植的最佳选择。但目前关于内皮祖细胞移植的研究主要是其促进血管新生,治疗缺血性心血管疾病<sup>[19,20]</sup>,尚未见内皮祖细胞移植能否改善血管损伤后新生内膜增生的报道。若自体内皮祖细胞移植后能替代损伤内皮功能,则有望开辟内皮损伤治疗的新领域。

#### [参考文献]

- [1] 武晓静, 黄岚. 微管抑制剂与球囊成形术后新生内膜增生和收缩性血管重塑. *中国循环杂志*, 2001, **16**: 397-398
- [2] El-Omar MM, Dangas G, Iakovou I, et al. Update on Ir-stent Restenosis. *Curr Interv Cardiol Rep*, 2001, **3**: 296-305
- [3] Patterson C, Stouffer GA, Madamanchi N, et al. New tricks for old dogs: non-thrombotic effects of thrombin in vessel wall biology. *Circ Res*, 2001, **88**: 987-997
- [4] 王启贤, 周兰清, 赵媛, 等. 凝血酶对大鼠平滑肌细胞血小板源生长因子受体基因表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9**: 253-254
- [5] Tada T, Reidy MA. Endothelial regeneration. IX. Arterial injury followed by rapid endothelial repair induces smooth muscle cell proliferation but not intimal thickening. *Am J Pathol*, 1987, **129**: 429-433
- [6] Reidy MA. In vivo proliferation of vascular smooth muscle cells in vessels with intact endothelial cover (Abstr). *Fed Proc*, 1986, **45**: 683
- [7] Axel DI, Riessen R, Athanasiadis A, et al. Growth factor expression of human arterial smooth cells and endothelial cells in a transfilter coculture system. *J Mol Cell Cardiol*, **29**, 2 967-978
- [8] Gorog P, Kovacs IB. Inhibition of vascular smooth muscle cell migration by intact endothelium is nitric oxide-mediated: interference by oxidized low density lipoproteins. *J Vasc Res*, 1998, **35**: 165-169
- [9] Lowe HC, Oesterle SN, Khachigian LM. Coronary ir-stent restenosis: Current status and future strategies. *J Am Coll Cardiol*, 2002, **39**: 183-193
- [10] Conte MS, Birinyi LK, Miyata T, et al. Efficient repopulation of denuded rabbit arteries with autologous genetically modified endothelial cells. *Circulation*, 1994, **23**: 2 161-169
- [11] Conte MS, VanMeter GA, Akst LM, et al. Endothelial cell seeding influences lesion development following arterial injury in the cholesterol-fed rabbit. *Cardiovasc Res*, 2002, **5**: 502-511
- [12] Darcin OT, Islamoglu F, Yagdi T, et al. Effectiveness of endothelial cell seeding on patency of damaged vascular surfaces in a canine model. *Ann Vasc Surg*, 2001, **15**: 350-354
- [13] Kipshidze N, Ferguson JJ, Keelan MH, et al. Endoluminal reconstruction of the arterial wall with endothelial cell/glue matrix reduces restenosis in an atherosclerotic rabbit. *J Am Coll Cardiol*, 2000, **36**: 1 396-403
- [14] 潘玉先, 郑振华, 何红兵, 等. 人大隐静脉内皮细胞种植人工血管的实验研究. *中国普外基础与临床杂志*, 2000, **7**: 13-15
- [15] 何红兵, 潘明新, 潘玉先, 等. 体外扩增恒河猴自体内皮细胞人工血管移植研究. *中华医学杂志*, 1998, **78**: 135-138
- [16] 陈学明, 汪秀杰, 汪忠镐, 等. 内皮细胞衬里静脉人工血管 10 例随访报告. *透析与人工器官*, 1997, **8**: 37-39
- [17] Claude Lenfant. Cardiovascular research: a look into tomorrow. *Circ Res*, 2001, **88**: 253-255
- [18] Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B, et al. Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. *J Clin Invest*, 2002, **109**: 337-346
- [19] Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*, 1999, **85**: 221-228
- [20] Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation*, 2001, **103**: 634-637

(此文编辑 胡必利)