

骨髓成体干细胞在心血管疾病细胞替代治疗中的研究进展

武晓静 综述, 黄岚 审校

(第三军医大学附属新桥医院全军心血管内科中心, 重庆市 400037)

[关键词] 病理学与病理生理学; 细胞替代治疗; 综述; 骨髓成体干细胞; 心血管疾病

[摘要] 骨髓成体干细胞移植在心血管疾病细胞替代治疗中已经显示了强大的优越性, 但目前干细胞移植还存在发生严重并发症的可能。将来成体干细胞移植用于临床还有赖于干细胞体内增殖、分化调控机制的进一步阐明和大规模前瞻性、临床随机对照试验的验证。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

成体干细胞是人体发育过程中存留于多种组织中具有一定可塑性的亚全能干细胞群, 其强大的自我更新能力和分化潜能不仅使其成为组织工程研究的热点, 也促进了心血管疾病细胞替代治疗的研究与发展^[1]。骨髓是成体干细胞研究较为深入的组织, 主要包括骨髓基质干细胞、造血干细胞和内皮祖细胞。生理情况下, 骨髓基质干细胞的主要作用是维持骨髓基质细胞的补充与更新, 参与造血微环境的构成, 而造血干细胞和内皮祖细胞表达某些相同的表型分子, 它们可能来源于共同的祖细胞^[2]。骨髓基质干细胞、内皮祖细胞和造血干细胞之间存在着密切的内在联系, 在我们的研究中往往分离的也是干祖细胞混合群, 因此这些细胞在心血管疾病发生发展及治疗中的作用并不能截然分开, 本文统称为骨髓成体干细胞, 并就其在心血管疾病治疗性组织再生中的研究进展做一综述。

1 骨髓成体干细胞几种亚型生物学特性

1.1 骨髓基质干细胞

早在 20 世纪 70 年代 Friedenstein 等^[3]进行骨髓培养时发现一类易于粘附塑料培养板的细胞, 由于它是构成骨髓造血微环境的主要细胞, 被称为骨髓基质细胞。从 20 世纪 80 年代起, 人们利用 Friedenstein 的分离手段对其进行了深入研究, 发现骨髓基质细胞成分并不均一, 不仅包括已分化的基质细胞, 还包括一群可以向骨、软骨、脂肪、肌肉等多种间质系统细胞分化的具有一定自我更新能力和多向分化潜能的成体干细胞。鉴于这些细胞最终可分化为间质系统细胞, Pittenger 等^[4]学者将其命名为间充质干细胞。而 Prockop 等^[5]学者则认为如果重点考虑其来源于骨髓的支持结构, 则又完全可以称之为骨髓基质干细胞。

体外长期培养的骨髓组织中主要包括以下几类贴壁细

胞: 成纤维细胞、巨噬细胞、脂肪细胞和内皮细胞。Majumdar 等^[6]用密度梯度离心法分离了占细胞总量 0.001%~0.01% 的高纯度成纤维样贴壁细胞, 发现它们具有多向分化潜能, 因此, 通常认为骨髓中这些成纤维样贴壁细胞就是骨髓基质干细胞。Colter 等^[7]发现骨髓基质干细胞以极低密度接种后易于形成细胞集落, 并且这些形成集落的细胞原代培养时形态不均一, 大多数表现为成纤维形, 少数表现为小圆形, 传几代后就表现为均匀一致的长梭形。成人骨髓基质干细胞的倍增时间为 33 h, 细胞周期研究表明大约 20% 的细胞处于静止期^[8], 说明其具有强大的扩增潜能, 在生理状况下足以维持骨髓基质细胞的补充与更新。

由于研究方法各异, 目前关于骨髓基质干细胞的表型特征仍无完全一致认识, 但一般认为它们都表达整合素家族成员 CD29、粘附分子 CD44、anti-SH2(CD105, endoglin)、anti-SH3(CD166, ALCAM)、anti-SH4(CD74) 等基质和间质细胞标志, 不表达干祖细胞和内皮细胞表面抗原 CD34、成熟造血细胞表面抗原 CD38、泛白细胞标志抗原 CD45、淋巴细胞表面抗原 CD11a 和单核巨噬细胞表面抗原 CD14^[9]。虽然迄今骨髓基质干细胞的研究已有 30 余年, 但其鉴定仍需通过形态学、一定的表型特征和分化潜能等多种特征共同判断^[7]。

1.2 内皮祖细胞

内皮祖细胞是一类能循环、增殖并分化为血管内皮细胞, 但尚未表达成熟血管内皮细胞表型, 也未形成血管的前体细胞, 是成年个体中与血管新生关系最为密切的干细胞。1997 年, Asahara 等^[10]通过磁珠分选的方法从人周围血中分离了 CD34 阳性的单个核细胞, 这些细胞在体外培养呈梭形, 在促内皮生长的细胞因子诱导条件下可以表达内皮细胞抗原, 并能形成管腔样结构。后来发现, 这些细胞不仅存在于周围循环, 还存在于骨髓, 与成熟内皮细胞相比具有迟发性高增殖潜能, 因此称之为内皮祖细胞^[11]。现在已经证实循环中内皮祖细胞均来源于骨髓, 应激、缺氧、细胞因子等刺激都可促进骨髓内皮祖细胞向外周循环迁移, 增加外周循环中内皮祖细胞数量, 称内皮祖细胞动员^[12, 13]。

内皮祖细胞和成熟内皮细胞表型有重叠, 如它们都表达 CD34、VEGFR2、Tie-1、Tie-2 等表型分子。但内皮祖细胞不表

[收稿日期] 2004-06-21 [修回日期] 2005-01-17

[基金项目] 国家自然科学基金(30270568 和 30400517) 资助

[作者简介] 武晓静, 医学博士, 主治医师, 讲师, 主要研究方向为血管内膜损伤及相关修复机制。黄岚, 医学博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事冠心病基础及临床研究。

达成熟内皮细胞标志 VE-cadherin 和 vWF, 而表达 CD133, 当内皮祖细胞分化为相对成熟内皮细胞时就会逐渐丢失 CD133 抗原, 因此人们推测 CD133 可能是区分内皮祖细胞和成熟内皮细胞较好的表面标志。然而 CD133 并非内皮祖细胞特异抗原, 它也表达于早期造血干细胞。由于内皮祖细胞、成熟内皮细胞和造血干细胞表达某些相同的表面标志, 而且它们在分化和功能上又存在密切联系, 至今仍未发现能同时将它们区分的特异的细胞表面标志^[14]。目前内皮祖细胞的鉴定一般是先通过密度梯度离心分离骨髓或周围血单个核细胞, 经过贴壁培养筛选贴壁细胞或用磁珠分选的方法分离 CD133 或 CD34 阳性细胞, 再经促内皮生长的细胞因子如 VEGF、EGF 等诱导分化, 观察其是否具有同时摄取乙酰低密度脂蛋白 (acLDL) 及与 iv 型凝集素 (UEA-1) 结合的能力, 从而判断其是否为内皮祖细胞。

1.3 造血干细胞亚群

造血干细胞是研究开始最早、最深入的一群骨髓成体干细胞, 既往认为造血干细胞主要是参与造血, 近年随着成体干细胞分化机制研究的深入, 发现某些亚型的造血干细胞还可以分化为血管壁细胞和心肌细胞, 在心血管疾病发生发展中起一定作用。Sata 等^[15]通过荧光流式分选的方法分离高度纯化的表达 $c-kit^+$, scf^+ Lin^- 表面标志的绿色荧光蛋白 (GFP) 转基因鼠骨髓造血干细胞, 将其与大鼠主动脉平滑肌细胞共同培养, 结果发现这些 GFP 阳性的骨髓造血干细胞逐渐表现出平滑肌细胞的形态特征, 并且开始表达 α -SM-actin 和 calponin 等平滑肌细胞表型分子, 这说明骨髓造血干细胞在一定的离体培养条件下能分化成平滑肌细胞。Jackson 等^[16]发现骨髓中具有造血干细胞表型特征的 SP 细胞能在缺血心肌组织分化成心肌细胞和内皮细胞。

2 骨髓成体干细胞移植在常见心血管疾病治疗性组织再生中的作用

2.1 促进梗死心肌再生和改善心功能

心肌梗死是严重危害人类健康的一类疾病, 一般认为心肌细胞是终末分化细胞, 出生后即失去分裂能力, 心肌梗死后梗死组织由成纤维细胞填充, 最终为疤痕组织替代。近年虽然已经发现心肌梗死后骨髓成体干细胞能迁移到梗死心肌参与心肌和血管再生^[16], 但生理状态下骨髓成体干细胞在心肌再生和血管形成中所占比例非常低, 不足以产生治疗作用, 因此不能避免心肌梗死引起的心肌重构和心肌缺血。而骨髓成体干细胞不仅在体外一定诱导条件下能分化成心肌细胞和有促血管新生能力的内皮细胞, Chedrawy 等^[17]发现未经 5-aza 诱导的骨髓基质干细胞直接移植于缺血心肌也可分化为肌样细胞, 并且还可以表达连接蛋白, 提示有闰盘形成。因此人们设想将骨髓成体干细胞直接移植到缺血梗死心肌组织也能参与心肌再生和血管形成。

Kawamoto 等^[18]进行了动物实验, 他们结扎裸鼠冠状动脉前降支复制心肌梗死模型, 3 h 后将分离培养的人内皮祖细胞注射到缺血心肌组织, 移植后 7 天在缺血心肌组织发现标记的人内皮祖细胞参与血管网络的形成, 移植后 21 天, 与

对照组相比细胞移植组左心室功能明显改善。Orlic 等^[19]将小鼠骨髓中 $Lin^-/c-Kit^+$ 细胞注射入心肌梗死小鼠梗死部位旁的心室壁, 结果发现移植细胞参与了心肌再生, 心功能有 35% 改善。骨髓成体干细胞移植促进梗死心肌再生最有利的证据来源于临床研究。Strauer 等^[20]观察了 20 位心肌梗死患者, 其中 10 位接受药物和冠状动脉介入手术, 另 10 位接受药物治疗, 并在进行冠状动脉介入手术的同时经球囊导管注入自体骨髓单个核细胞。3 个月后, 他们发现与对照组相比同时接受细胞移植的患者梗死面积明显缩小、左心室功能和梗死心肌血流灌注均明显改善。Perin 等^[21]和 Tse 等^[22]学者对严重心肌缺血和心功能损害的患者进行直接心肌内自体骨髓单个核细胞移植, 结果也发现 2~3 个月后较细胞移植前相比心功能、射血分数、心肌血流灌注都明显改善。

2.2 促进缺血组织血管新生

由于骨髓成体干细胞在缺血刺激作用下能定向迁移到缺血组织, 并整合到新生血管内参与血管形成, 而且骨髓成体干细胞本身具有促血管新生活性, 能分泌多种细胞因子促进血管新生, 因此, 人们推测将骨髓成体干细胞移植到缺血组织也可促进局部血管形成, 并进行了一系列实验研究。Kalka 等^[23]切除无胸腺鼠一侧股动脉, 复制后肢缺血模型, 心内注射荧光标记的内皮祖细胞 3~7 天后, 在缺血后肢血管壁就发现有这种荧光标记的内皮祖细胞, 而其它器官及对侧非缺血后肢均未发现这种内皮祖细胞, 缺血后肢骨骼肌切片毛细血管密度增加、血流恢复到对侧非缺血后肢的灌注水平, 成功挽救了缺血肢体。他们的研究表明经体外扩增的内皮祖细胞通过静脉移植入体内后主要定位于血管新生活跃部位, 并能发育成有功能内皮细胞, 促进血管新生。Iwaguro 等^[24]发现内皮祖细胞转染 VEGF165 基因后, 分泌的 VEGF 量显著增加, 并且内皮祖细胞的增殖、粘附及促血管新生能力均明显增强。将内皮祖细胞转染 VEGF 基因后再移植, 缺血肢体的血管新生进一步得到改善, 缺血造成的肢体坏死较对照组减少 64%, 所需内皮祖细胞量较常规用量减少 30 倍, 他们的研究表明 VEGF 基因修饰能显著提高内皮祖细胞的生物学活性, 并且 VEGF 和内皮祖细胞在促进血管再生方面有协同作用。Tateishi-Yuyama 等^[25]将骨髓单个核细胞植入 25 例患者的缺血下肢, 结果治疗组下肢缺血症状缓解, 运动能力提高, 血管造影及多谱勒血流灌注扫描均证实肢体缺血灌注明显改善。

2.3 促进损伤血管修复

血管内皮层不仅仅是血管壁和血液之间的屏障, 它还是人体最大的内分泌器官, 能分泌多种血管活性物质, 在维持血管正常生理功能中起重要作用。内皮分泌的生长因子及抑制因子之间的平衡与血管内皮完整性密切相关, 内皮完整时其分泌的抗凝、抑制增殖的物质与促凝、促增殖物质维持动态平衡, 内皮损伤后则其分泌的促凝、促增殖物质明显占优势, 能显著刺激平滑肌细胞增殖迁移, 参与再狭窄和粥样斑块的形成。多项研究表明, 通过细胞因子或自体静脉内皮移植促进损伤动脉再内皮化能抑制平滑肌细胞增殖迁移, 减轻新生内膜增生和动脉粥样硬化形成^[26, 28]。骨髓成体干细

胞在体外能诱导分化成内皮细胞,并且生理情况下骨髓成体干细胞也参与动脉再内皮化^[29],因此有学者推测通过动员增加循环骨髓成体干细胞数量或直接进行骨髓成体干细胞移植可能也能促进损伤动脉再内皮化。Werner 等^[30]研究发现,将内皮祖细胞经静脉移植入颈动脉内皮损伤的小鼠体内,能促进损伤动脉再内皮化,并能减轻新生内膜增生。Walter 等^[31]发现他汀类药物促进损伤动脉再内皮化部分是通过促进内皮祖细胞动员实现的。

3 骨髓成体干细胞移植治疗心血管疾病可能发生的严重并发症

3.1 病理性血管形成

血管新生不仅能促进缺血组织血流恢复,活跃的血管新生在促进肿瘤生长和转移、参与粥样斑块形成和增强粥样斑块不稳定性、促进糖尿病视网膜病变发生发展中均起重要作用,将促进血管新生的成体干细胞移植入体内,不仅能促进缺血组织的血管新生,可能还会促进异位病理性血管形成,导致严重后果。

另外,促进缺血组织再血管化不仅要促进血管形成,更重要的是维持血管形成和淋巴管形成之间的平衡,淋巴管功能障碍会导致水肿发生。VEGF-C 能有效地促进缺血肢体功能恢复就是因为它不仅能促进血管形成,还能促进淋巴管形成,维持它们之间的平衡。研究表明 Syk⁺ 和 SLP-76⁺ 能型造血干细胞能分别促进淋巴管和血管形成^[32,33],将它们移植到体内可能会同时促进并维持淋巴管形成和血管形成之间的平衡,促进更有效的、更接近生理功能的缺血组织再血管化。然而由于骨髓中内皮祖细胞、造血干细胞、基质干细胞等成体干细胞表型有交叉,目前尚无鉴定它们特异的标志,进行细胞移植时往往移植的是这些细胞的混合群体,这些细胞又都具有分泌促血管新生因子的功能,如果在体外扩增时某个亚群细胞或混杂细胞占优势,如分泌 VEGF-A 的细胞占优势,则可能会导致易出血、高渗透性的血管甚至血管瘤的形成,导致病理性血管新生。

3.2 异常心肌重塑和心律失常

虽然多项动物实验和临床研究都表明骨髓成体干细胞能分化成心肌样细胞,这些细胞形态学上与成熟心肌细胞相似,能表达心肌细胞特征性蛋白,能自发搏动,移植到体内能参与心肌再生、改善心功能,并且自体移植不存在伦理道德观念限制,具有极大的优越性。然而,目前还有很多问题没有解决。体外实验表明骨髓成体干细胞分化的心肌细胞存在自发电活动、低 dv/dt 和动作电位时限延长等特征,这些均是心律失常发生的基础。心肌是一个合胞体,如果移植的细胞虽然在移植部位存活,但没有与宿主心肌细胞完全融合,没有形成有效的电-机械偶联,那么移植细胞可能不仅不会促进心功能恢复,可能还会导致心肌收缩不协调、严重心律失常等并发症。另外,局部微环境对成体干细胞分化具有重要作用,成体干细胞表型可能会受其周围微环境影响分化成与其周围细胞类似的细胞,如果成体干细胞移植到心肌纤维化部位,是否会分化为成纤维样细胞,促进心肌纤维化

的发生? 诸如此类问题均有待更多的基础和临床研究解决。

3.3 异位新生内膜增生和动脉粥样硬化形成

虽然有研究发现骨髓成体干细胞移植能促进损伤动脉再内皮化、抑制新生内膜增生,但也有研究发现骨髓成体干细胞不仅能向内皮分化促进损伤动脉再内皮化,还可能向平滑肌细胞和巨噬细胞分化、参与新生内膜增生和动脉粥样硬化形成。Sata 等^[14]用致死剂量射线照射破坏载脂蛋白 E 基因敲除小鼠骨髓造血功能,然后移植 GFP 转基因小鼠骨髓重建其造血功能,4 周后开始喂养高脂饮食复制动脉粥样硬化动物模型,结果在粥样斑块部位有约 42% 的平滑肌细胞 GFP 也呈阳性,大多数 GFP 阳性细胞或者同时表达平滑肌细胞标志 α -SM-actin 或者同时表达巨噬细胞标志 MOMA-2,他们的研究表明骨髓成体干细胞在体内能分化成平滑肌细胞和巨噬细胞,参与动脉粥样硬化形成。Caplice 等^[34]观察了 8 位性别错配的骨髓移植患者的冠状动脉标本,结果发现 4 个女性骨髓移植患者有病变的冠状动脉标本中,内膜、中膜、外膜 Y 染色体阳性的平滑肌细胞分别占平滑肌细胞总数的 9.4%、2.2%、6.5%,4 个男性骨髓移植患者有病变的冠状动脉标本中,内膜、中膜、外膜 XX 染色体阳性的平滑肌细胞分别占平滑肌细胞总数的 10.8%、1.7%、5.9%。这些结果第一次在人尸检标本中证实骨髓成体干细胞参与了动脉粥样硬化斑块的形成。可见目前关于骨髓成体干细胞移植后向内皮细胞分化和向平滑肌细胞分化调控机制尚不清楚,利用骨髓成体干细胞移植治疗缺血或损伤性血管疾病的同时,不能排除其分化为平滑肌细胞促进新生内膜增生和动脉粥样硬化的可能。

4 小结与展望

多项研究表明骨髓成体干细胞移植在心血管疾病治疗性组织再生中显示了强大的优越性,然而干细胞相关分化调控机制还未完全阐明,干细胞移植还存在发生潜在危险并发症的可能。目前成体干细胞移植治疗心血管疾病也主要局限于动物实验和极少量的临床病例,将来成体干细胞移植用于临床还有赖于干细胞体内增殖、分化调控机制的进一步阐明和大规模前瞻性、临床随机对照试验的验证。

[参考文献]

- [1] Sylvester KG, Longaker MT. Stem cells: review and update. *Arch Surg*, 2004, **139** (1): 93-99
- [2] Choi K. The hemangioblast: a common progenitor of hematopoietic and endothelial cells. *J Hematother Stem Cell Res*, 2002, **11** (1): 91-101
- [3] Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet*, 1970, **3** (4): 393-403
- [4] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, **284** (5411): 143-147
- [5] Prockop DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, 1997, **276** (5309): 71-74
- [6] Majumdar MK, Banks V, Peluso DP, Morris EA. Isolation, characterization, and chondrogenic potential of human bone marrow-derived multipotential stromal cells. *J Cell Physiol*, 2000, **185** (1): 98-106
- [7] Colter DC, Sekiya I, Prockop DJ. Identification of a subpopulation of rapidly

- self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, **98** (14): 7 841-845
- [8] Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, Prockop DJ. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (7): 3 213-218
- [9] Tocci A, Forte L. Mesenchymal stem cell: use and perspectives. *Hematol J*, 2003, **4** (2): 92-96
- [10] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, vanderZee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997, **275** (5302): 964-967
- [11] Lin Y, Weisdorf DJ, Solovey A, Heibel RP. Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J Clin Invest*, 2000, **105** (1): 71-77
- [12] Asahara T, Takahashi T, Masuda H, Kalka C, Chen D, Iwaguro H, et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J*, 1999, **18** (14): 3 964-972
- [13] Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 2001, **103** (23): 2 776-779
- [14] Schmeisser A, Strasser RH. Phenotypic overlap between hematopoietic cells with suggested angioblastic potential and vascular endothelial cells. *J Hematother Stem Cell Res*, 2002, **11** (1): 69-79
- [15] Sata M, Saiura A, Kunisato A, Tojo A, Okada S, Tokuhisa T, et al. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nat Med*, 2002, **8** (4): 403-409
- [16] Jackson KA, Majka SM, Wang HY, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest*, 2001, **107** (11): 1 395-402
- [17] Chedrawy EG, Wang JS, Nguyen DM, Shun-Tim D, Chiu RC. Incorporation and integration of implanted myogenic and stem cells into native myocardial fibers: anatomic basis for functional improvements. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2002, **124** (3): 584-590
- [18] Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, Yamaguchi JI, Uchida S, Masuda H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation*, 2001, **103** (5): 634-637
- [19] Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Bodine DM, Lerj A, Anversa P. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, **938** (1): 221-229
- [20] Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kosterling M, Hernandez A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*, 2002, **106** (15): 1 913-918
- [21] Perin EC, Dohmann HF, Borojevic R, Silva SA, Sousa AL, Mesquita CF, et al. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation*, 2003, **107** (18): 2 294-302
- [22] Tse HF, Kwong YL, Chan JK, Lo G, Ho CL, Lau CP. Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation. *Lancet*, 2003, **361** (9351): 47-49
- [23] Kalka C, Masuda H, Takahashi T, Kalka-Moll WM, Silver M, Kearney M, et al. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, **97** (7): 3 422-427
- [24] Iwaguro H, Yamaguchi J, Kalka C, Murasawa S, Masuda H, Hayashi S, et al. Endothelial progenitor cell vascular endothelial growth factor gene transfer for vascular regeneration. *Circulation*, 2002, **105** (6): 732-738
- [25] Tateishi YE, Matsubara H, Murohara T, Ikeda U, Shintani S, Masaki H, et al. Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial. *Lancet*, 2002, **360** (9331): 427-435
- [26] 武晓静, 黄 岚. 内皮细胞移植防治血管损伤后内膜增生反应的研究进展. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (6): 551-552
- [27] Asahara T, Bauters C, Pastore C, Kearney M, Rossow S, Bunting S, et al. Local delivery of vascular endothelial growth factor accelerates reendothelialization and attenuates intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery. *Circulation*, 1995, **91** (11): 2 793-801
- [28] 刘启功, 陆再英, 周洪莲, 张卫东, 颜 进. 血管内皮生长因子预防血管成形术后再狭窄的机理. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (3): 209-212
- [29] Werner N, Priller J, Laufs U, Endres M, Bohm M, Dimagl U, et al. Bone marrow-derived progenitor cells modulate vascular reendothelialization and neointimal formation: effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (10): 1 567-572
- [30] Werner N, Junk S, Laufs U, Link A, Walenta K, Bohm M, et al. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury. *Circ Res*, 2003, **93** (2): e17-e24
- [31] Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, et al. Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation*, 2002, **105** (25): 3 017-024
- [32] Abtahian F, Guerriero A, Sebzda E, Lu MM, Zhou R, Mocsai A, et al. Regulation of blood and lymphatic vascular separation by signaling proteins SLP-76 and Syk. *Science*, 2003, **299** (5604): 247-251
- [33] Rafii S, Skobe M. Splitting vessels: keeping lymph apart from blood. *Nat Med*, 2003, **9** (2): 166-168
- [34] Caplice NM, Bunch TJ, Stalboerger PG, Wang S, Simper D, Miller DV, et al. Smooth muscle cells in human coronary atherosclerosis can originate from cells administered at marrow transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, **100** (8): 4754-759