

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2007)15-01-0006-05

基质细胞衍生因子 1 α 介导小鼠内皮祖细胞 修复损伤血管内膜

尹扬光¹, 黄 岚¹, 赵晓辉¹, 于世勇¹, 方玉强², 赵景红¹, 崔 斌¹

(中国人民解放军第三军医大学 1. 新桥医院心内科 全军心血管内科研究所, 重庆市 400037;

2. 大坪医院心内科, 重庆市 400042)

[关键词] 病理学与病理生理学; 基质细胞衍生因子 1; 内皮祖细胞; 血管损伤; 再内皮化; 内膜增生; 细胞移植

[摘要] 目的 探讨损伤血管局部表达的基质细胞衍生因子 1 α 是否能介导内皮祖细胞参与损伤血管的再内皮化, 抑制新生内膜的增生。方法 培养、获取小鼠骨髓源性内皮祖细胞, 采用改良的 Boyden 小室测定基质细胞衍生因子 1 α 诱导的内皮祖细胞迁移及 AMD3100(CXCR4 的拮抗剂) 对其的影响。分别将内皮祖细胞培养基、内皮祖细胞及 AMD3100 孵育过的内皮祖细胞经心脏穿刺注射给颈动脉损伤小鼠, 在 14 天后取损伤血管检测内皮祖细胞募集情况、再内皮化情况及新生内膜增生情况。结果 基质细胞衍生因子 1 α 能诱导内皮祖细胞迁移(与对照组比较 $P < 0.01$), AMD3100 能有效阻断该作用(AMD3100 组与对照组比较 $P > 0.05$)。较多注射的内皮祖细胞成功归巢到损伤血管处 (14.2 ± 3.6 个/切片), AMD3100 孵育过的内皮祖细胞仅少量可成功归巢 (4.0 ± 2.5 个/切片); 内皮祖细胞注射能加速损伤血管的再内皮化(内皮祖细胞移植组比对照组: $83.45\% \pm 5.44\%$ 比 $66.46\% \pm 6.16\%$, $P < 0.01$), AMD3100 孵育过的内皮祖细胞注射则无效 ($68.02\% \pm 6.68\%$, 与对照组比较 $P > 0.05$); 内皮祖细胞移植组新生内膜增生厚度 ($19\,237 \pm 1\,875 \mu\text{m}^2$) 和内膜中膜比值 (0.94 ± 0.12) 均小于对照组 ($34\,676 \pm 2\,412 \mu\text{m}^2$ 和 1.77 ± 0.18) 及 AMD3100 组 ($32\,451 \pm 2\,081 \mu\text{m}^2$ 和 1.60 ± 0.17) ($P < 0.01$)。结论 基质细胞衍生因子 1/CXCR-4 在介导移植的内皮祖细胞修复损伤血管内膜中起重要作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Involvement of Stromal Cell-Derived Factor-1—CXCR4 Axis in Recruitment of Endothelial Progenitor Cell and Reendothelialization After Vascular Injury in Mice

YIN Yang-Guang¹, HUANG Lan¹, ZHAO Xiao-Hui¹, YU Shi-Yong¹, FANG Yu-Qiang², ZHAO Jing-Hong¹, and CUI Bing¹

(1. Institute of Cardiovascular Diseases of PLA, Xinqiao Hospital of the Third Military Medical University, Chongqing 400037; 2. Department of Cardiology, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

[KEY WORDS] Stromal Cell-Derived Factor-1/CXCR4; Endothelial Progenitor Cell; Vascular Injury; Reendothelialization; Neointimal Hyperplasia; Cell Transplantation; Mice

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the involvement of stromal cell-derived factor 1 (SDF-1)/CXCR4 Axis in recruitment of endothelial progenitor cell (EPC) and reendothelialization after vascular injury. **Methods** EPC migration induced by SDF-1 α was determined with modified Boyden chamber assay. Treatment of mice after carotid injury with EPC or EPC coincubated with AMD3100 (an antagonist of CXCR4), recruitment of EPC, reendothelialization and neointimal lesion area were determined 14 d later. **Results** SDF-1 α profoundly enhanced EPC migration ($P < 0.01$), but could not enhance migration of EPC treated with AMD3100 ($P > 0.05$). Transfused EPC were strictly restricted to the injury site (14.2 ± 3.6 cell/section), and lectin binding confirmed the endothelial phenotype, but only few EPC coincubated with AMD3100 were recruited to the injury site (4.0 ± 2.5 cells/section). Treatment with EPC caused enhanced reendothelialization ($83.45\% \pm 5.44\%$, $P < 0.01$) associated with a reduction of neointima formation ($19\,237 \pm 1\,875 \mu\text{m}^2$, $P < 0.01$) compared with isotype control ($66.46\% \pm 6.16\%$, $34\,676 \pm 2\,412 \mu\text{m}^2$); treatment with EPC coincubated with AMD3100 caused no enhanced reendothelialization ($68.02\% \pm 6.68\%$, $P > 0.05$) and no reduction of neointima formation ($32\,451 \pm 2\,081 \mu\text{m}^2$, $P > 0.05$) compared with isotype control. **Conclusions**

Stromal cell-derived factor 1/CXCR4 Axis plays an instrumental role in recruitment of EPC and reendothelialization after vascular injury in mice.

[收稿日期] 2006-05-29 [修回日期] 2006-09-18

[基金项目] 国家自然科学基金(30470729 和 30400517)

[作者简介] 尹扬光, 博士研究生, 主治医师, 主要从事冠心病的基础和临床研究, 联系电话为 13102320830, E-mail 为 yyg751203@sohu.com。黄岚, 教授, 博士研究生导师, 主要从事冠心病的基础和临床研究以及血管损伤与修复的研究, 联系电话为 023-68755601, E-mail 为 huanglan@21cn.com。赵晓辉, 博士研究生, 主治医师, 主要从事冠心病的基础和临床研究, 联系电话为 023-68774661, E-mail 为 zxhwn2002@yahoo.com.cn。

已经证实, 动员或移植的内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC) 可粘附到损伤血管的内皮剥脱处分化成内皮细胞表型, 参与并加速损伤血管的再内皮化过程, 抑制损伤血管狭窄的形成, 但外周血 EPC 是怎样归巢到损伤血管处并分化成内皮细胞, 其机制目前仍不清楚^[1]。造血干细胞移植重建骨髓造血功能已应用于临床多年, 研究证实基质细胞衍生因子 1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1) —CXCR-4 系统在介导造血干细胞归巢到骨髓中发挥重要作用。目前, 干细胞或 EPC 移植治疗缺血性疾病的研究已取得相当进展, 而缺血组织高表达基质细胞衍生因子是介导干/祖细胞归巢到缺血组织参与新生血管形成的首要因素之一。最近研究表明, SDF-1 在损伤血管段的平滑肌细胞有强表达^[2,3], 这种表达能否介导内皮祖细胞在损伤血管段归巢并参与损伤内膜修复还不清楚, 因此本研究探讨损伤血管局部 SDF-1 的表达在介导内皮祖细胞修复损伤血管内膜中的作用。

1 材料与方法

1.1 小鼠颈动脉损伤模型的建立

由中国人民解放军第三军医大学大坪医院实验动物中心提供 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠, 体重 20~25 g, 按 Lindner 等^[4] 方法, 采用直径 1 mm 的弹性导丝在左颈总动脉内旋转, 来回推送导丝 3 次以剥离颈总动脉内皮, 建立颈动脉损伤模型。

1.2 内皮祖细胞的分离、培养和鉴定

取雄性 C57BL/6 鼠股骨和胫骨, 0.01 mol/L PBS 冲洗骨髓, 密度梯度离心法分离骨髓单个核细胞, 接种细胞(4×10^6) 于内皮细胞培养基(EBM) 培养 4 天, PBS 清洗去除非贴壁细胞, 换液培养至 7 天。贴壁细胞与 2.4 mg/L 乙酰化低密度脂蛋白(acetylated-low-density-lipoprotein, ac-LDL)-DiI (Biomedical Technologies) 共同孵育 1 h, 2% 多聚甲醛固定, 再用 BS-1 lectin (Vector Laboratories) 复染, 荧光显微镜下计数 ac-LDL-DiI 和 lectin 双阳性细胞百分比。贴壁细胞用冰冻甲醛/丙酮(1:1) —20℃固定 10 min, 再与抗血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2) (eBioscience)、抗 vWF (DAKO)、抗 CD31 (PharMingen) 或抗内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS) (Calbiochem) 孵育, SABC 法, DAB 显色, 显微镜下计数阳性细胞百分比。

1.3 细胞移植与分组

在小鼠颈动脉损伤后 3 h 内将 1×10^6 乙酰化低密度脂蛋白 DiI 标记的 EPC 重悬于 200 μ L 生理盐水, 经皮穿刺心内注射。实验分为对照组、单纯 EPC 移植组和与 AMD3100 孵育过的 EPC 移植组(简称 AMD3100 组)。对照组用 EPC 培养基注射, AMD3100 组内皮祖细胞先用含有 10 μ g/L AMD3100 (CXCR4 的特异性阻断剂, Sigma) 的培养基孵育 1 h 后再移植。

1.4 内皮祖细胞迁移实验

用 0.25% 胰蛋白酶消化收集贴壁细胞, 悬浮在定量的培养基中计数, 将等量 EPC 用于下述实验。对照组($n=5$): 改良 Boyden 小室的下室加培养基。SDF-1 α 组($n=5$): 分别在下室加终浓度为 1 μ g/L 和 10 μ g/L 的 SDF-1 α 诱导迁移。AMD3100 组($n=5$): 先用含有 AMD3100(终浓度为 10 μ g/L) 的培养基孵育 EPC 1 h, 再做 10 μ g/L SDF-1 α 诱导的迁移实验。 1×10^5 处理或未处理的 EPC 重悬于 50 μ L 培养基, 注入上室培养 6 h, 刮去滤膜上面的未移动细胞, 用甲醇固定, 苏木素染色, 随机选择 3 个高倍显微镜视野($\times 400$), 计数迁移的细胞。

1.5 损伤动脉局部内皮祖细胞募集情况

细胞移植后 14 天, 小鼠处死前 30 min 经静脉注射 BS-1 lectin(25 mg/kg), 取灌注固定的损伤侧颈总动脉(近分叉处部分 5 mm), 冰冻切片(7 μ m, 10 张片/标本), 荧光显微镜下计数 ac-LDL-DiI 和 BS-1 lectin 阳性细胞^[5]。

1.6 损伤动脉内膜修复情况的检测

术后 14 天测定损伤血管再内皮化和内膜增生情况。取材前 10 min 经静脉注射伊凡思蓝(25 mg/kg), 纵行剖开损伤侧颈总动脉, 显微镜下观察再内皮化情况, 内皮剥脱处被伊凡思蓝染成蓝色, 再内皮化部分不着色^[4], 显微镜下获取数字图像, 采用 Lucia 测量软件 4.6 测量染色区域面积和血管总面积, 损伤血管再内皮化百分比(%) = (血管总面积 - 染色区域面积) / 血管总面积 $\times 100\%$ 。观察损伤血管内膜增生情况: 取靶血管甲醛固定, 石蜡包埋切片 HE 染色, 荧光显微镜获取数字图像, 采用 Lucia 测量软件 4.6 测量外弹性膜、内弹性膜、管腔内周径及中膜和新生内膜面积(内弹力膜以内的组织面积)。

1.7 统计学处理

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析和 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 内皮祖细胞的特点和鉴定

分离获得的小鼠骨髓单个核细胞培养 7 天后形成梭形的内皮样细胞, $87.4\% \pm 4.1\%$ 贴壁细胞可摄取 acLDL-DiI 和与 lectin 结合 ($n=5$, 每孔 5 个高倍视野), 被认为是正在分化的 EPC^[6] (图 1)。免疫组

织化学结果显示, 绝大多数贴壁细胞表达内皮标志物 VEGFR-2 ($81.6\% \pm 4.8\%$)、CD31 ($81.2\% \pm 3.1\%$)、eNOS ($84\% \pm 3.7\%$) 和 vWF ($83\% \pm 3.4\%$) ($n=5$, 每孔 5 个高倍视野), 说明它们是来自骨髓表达内皮标志物的祖细胞群体, 即 EPC^[6]。

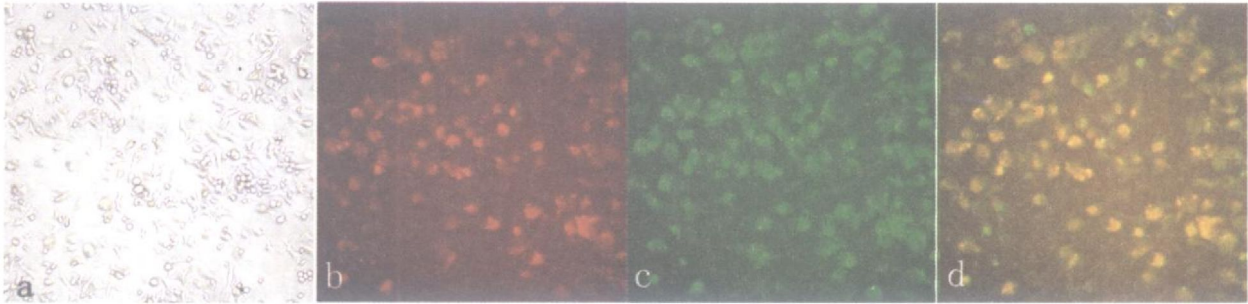


图 1. 内皮祖细胞的形态特点、荧光鉴定及迁移实验 分离获得的小鼠骨髓单个核细胞培养 7 天后, 贴壁细胞呈梭形的内皮样细胞 (a, $\times 200$); 荧光显微镜下观察贴壁细胞摄取 acLDL-DiI 呈红色 (b), 与 lectin 结合呈绿色 (c), 呈黄色双染阳性细胞 (d) 为正在分化的内皮祖细胞 ($\times 400$)。

2.2 各组基质细胞衍生因子 1 α 对内皮祖细胞迁移的影响

1 $\mu\text{g/L}$ SDF-1 α 组和 10 $\mu\text{g/L}$ SDF-1 α 组 EPC 迁移的数量分别为 13.80 ± 5.03 个和 37.87 ± 6.08 个, 均明显高于对照组 (7.80 ± 3.91 个) ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 10 $\mu\text{g/L}$ AMD3100 组 EPC 迁移数量 (7.00 ± 3.59 个) 与对照组 (7.80 ± 3.91 个) 比较无明显差异 ($P > 0.05$), 表明 10 $\mu\text{g/L}$ AMD3100 可有效阻断 SDF-1 α 诱导 EPC 迁移。

2.3 基质细胞衍生因子 1 α 对内皮祖细胞归巢和分化的影响

颈动脉损伤后 14 天, 在单纯 EPC 组损伤血管新生内膜表面覆盖有较多数量的 acLDL-DiI 阳性细胞, 其相应位置也显示为 lectin 阳性, 说明它们来源于移植的 EPC (图 2), 在对侧正常颈总动脉未检测

到 acLDL-DiI 阳性细胞; 在 AMD3100 组新生内膜表面仅覆盖少许 acLDL-DiI 和双 lectin 阳性细胞和少许 lectin 单阳性细胞; 在对照组新生内膜表面仅覆盖少许 lectin 单阳性细胞。半定量计数显示单纯 EPC 组动脉损伤处粘附的 acLDL-DiI 阳性细胞数明显多于 AMD3100 组 (14.2 ± 3.6 个比 4.0 ± 2.5 个, $P < 0.001$)。

2.4 基质细胞衍生因子 1 α 对损伤血管再内皮化和新生内膜增生的影响

细胞移植后 14 天, 伊凡思蓝染色显示单纯 EPC 组损伤动脉再内皮化面积明显高于 AMD3100 组和对照组; 形态学分析显示, 单纯 EPC 组新生内膜面积及内膜中膜比值明显低于 AMD3100 组和对照组 (图 3, 表 1)。

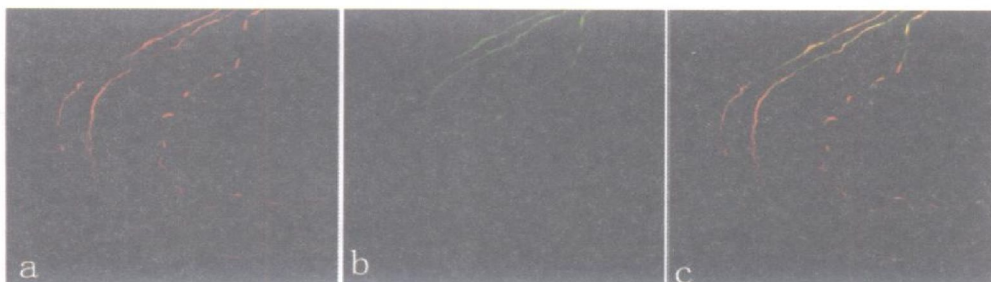


图 2. 内皮祖细胞参与损伤动脉再内皮化 ($\times 400$) 损伤动脉后 14 天, a 为 EPC 组新生内膜表面覆盖有较多数量的 acLDL-DiI 阳性细胞 (红色), b 为其相对应的位置显示为 lectin 阳性 (绿色), 说明为内皮细胞表型, c 显示新生内膜表面覆盖 acLDL-DiI 和 lectin 双阳性细胞。

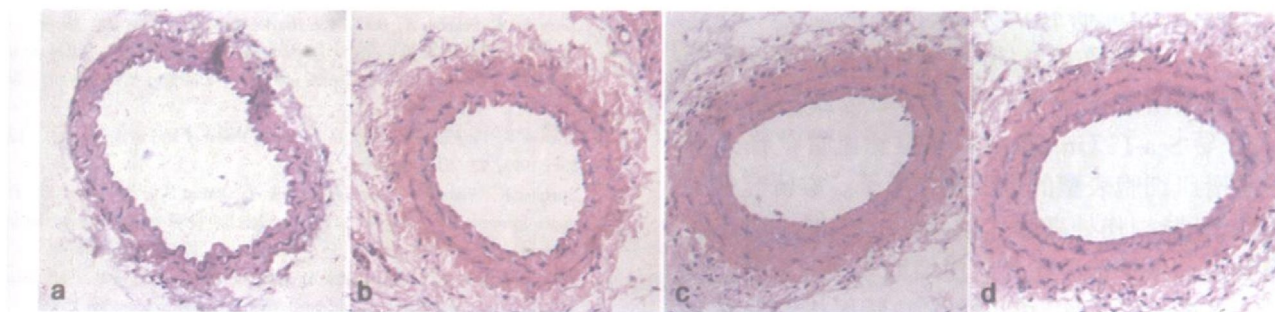


图 3. AMD3100 孵育的内皮祖细胞移植不降低损伤动脉新生内膜增生 ($\times 400$) 血管损伤后 14 天, 石蜡切片 HE 染色显示 EPC 移植显著降低新生内膜增生, a 为未损伤动脉, b 为 EPC 移植组动脉, c 为对照组动脉, d 为 AMD3100 组动脉。

表 1. 术后 14 天各组损伤动脉再内皮化及新生内膜增生的比较 ($\bar{x} \pm s$)

分 组	再内皮化面积	新生内膜面积 (μm^2)	内膜中膜比
对照组	66.46% \pm 6.16%	34 676 \pm 2 412	1.77 \pm 0.18
EPC 组	83.45% \pm 5.44% ^{ab}	19 237 \pm 1 875 ^{ab}	0.94 \pm 0.12 ^{ab}
AMD3100 组	68.02% \pm 6.68%	32 451 \pm 2 081	1.60 \pm 0.17

a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.01$, 与 AMD3100 组比较。

3 讨论

基质细胞衍生因子 1 又名 CXCL12 或前 B 细胞刺激因子, 属于 CXC 族趋化因子成员, 同基因编码 SDF-1 α 和 SDF-1 β 两种蛋白, SDF-1 α 主要在骨髓基质细胞及骨髓内皮细胞表达; SDF-1 唯一的受体 CXCR4 在 CD34⁺ 造血干/祖细胞表面及 EPC 表面高度表达^[8,9]。研究表明, SDF-1 可通过作用于其受体 CXCR4 对 CD34⁺ 造血干/祖细胞及 EPC 产生强大的趋化作用。最近研究表明, SDF-1 在损伤血管段的平滑肌细胞有强表达, 在 Schober 等^[2] 研究中, SDF-1 α 在动脉损伤后表达增强, 介导了循环 Sca-1⁺ lin⁻ 祖细胞归巢到载脂蛋白 E^{-/-} 小鼠颈动脉损伤处并分化成平滑肌细胞表型, 参与新生内膜形成。本研究设想动脉损伤处表达的 SDF-1 α 是否也能介导 EPC 归巢到损伤血管段参与损伤血管的再内皮化?

文献[8]用体外扩增的人外周血 EPC 做 SDF-1 诱导的迁移实验, 发现 SDF-1 对人 EPC 有强大的趋化活性, 这种趋化活性呈浓度依赖性。本研究 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ SDF-1 α 均能明显诱导小鼠骨髓源性 EPC 迁移, 且后者的作用明显更强 ($P < 0.001$), 证明 SDF-1 α 对小鼠骨髓源性 EPC 也有强大的趋化活性。本研究 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ SDF-1 α 不能诱导与 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ AMD3100 共同孵育过 1 h 的 EPC 迁移, 提示一定剂量的 AMD3100 能够完全封闭 EPC 表面的 CXCR4 受

体, 导制 SDF-1 α 无法对其产生趋化作用。

Schober 等^[2] 和 Zernecke 等^[3] 研究发现, 异体的外周血祖细胞 (Sca-1⁺ lin⁻ 祖细胞) 移植可成功募集并整合到损伤血管局部的新生内膜中。本研究中 C57BL/6 小鼠颈动脉损伤后, 经心脏穿刺注射的 ac-LDL-DiI 标记的异体 EPC 同样成功归巢到损伤血管的内皮剥脱处。但将与 AMD3100 共同孵育过的 EPC 以同样的方式移植给 C57BL/6 小鼠, 在颈动脉损伤处仅能检测到少许 ac-LDL-DiI 阳性细胞, 提示颈动脉损伤局部表达的 SDF-1 α 在介导移植的 EPC 归巢到损伤动脉局部起重要作用。

在骨髓源性 EPC 移植后 14 天, 经静脉注射 BS-1 lectin 染色发现, 移植的 ac-LDL-DiI 标记的 EPC 覆盖在损伤血管壁新生内膜的表面排列成线状, 这些 ac-LDL-DiI 阳性细胞亦被 BS-1 lectin 染成阳性, 在新生内膜中(表面以下)未检测到 ac-LDL-DiI 和/或 lectin 阳性细胞, 提示移植的骨髓源性 EPC 参与了损伤血管的再内皮化, 与文献[5]移植的脾源性 EPC 参与损伤血管再内皮化相似。本研究中 AMD3100 共同孵育过的 EPC 移植组损伤血管壁新生内膜的表面 ac-LDL-DiI 和 lectin 阳性细胞明显少于单纯 EPC 移植组; 经静脉注射伊凡思蓝染色亦发现, AMD3100 共同孵育过的 EPC 移植组损伤血管的再内皮化面积明显低于单纯 EPC 移植组, 与 EPC 培养基注射组的再内皮化面积相似。提示封闭移植 EPC 表面的 CXCR4 受体可干预它们参与损伤血管的再内皮化过程。

本研究形态学分析显示, 在颈动脉损伤后 14 天, 单纯 EPC 移植组内膜增生的厚度最低, 内膜与中膜的比值也最低, 与其加速的再内皮化过程相符合。而 AMD3100 组的内膜增生厚度及内膜与中膜的比值均不低于对照组, 且明显高于单纯 EPC 移植组, 提示损伤动脉局部表达的 SDF-1 α 在介导移植的

EPC 抑制损伤动脉新生内膜增生中起重要作用。

文献[2,3]的研究认为,未损伤的动脉不表达 SDF-1 α ,在动脉损伤后2周内,损伤处动脉中层的平滑肌细胞及增生内膜中的平滑肌细胞强表达 SDF-1 α ,是介导 Sca-1⁺ Lin⁻ 祖细胞募集到血管损伤处分化成平滑肌细胞表型的重要趋化因子。本研究的结果表明,动脉损伤处高表达的 SDF-1 α 也是介导 EPC 归巢到损伤血管壁分化为内皮细胞表型的重要趋化因子。基于上述事实,可以认为动脉损伤局部高表达的 SDF-1 α 可能是肌体动脉损伤后的一种重要的抗损伤机制,其募集各种祖细胞到血管损伤处,既参与新生内膜增生,也参与再内皮化过程。

[参考文献]

- [1] 崔斌,黄岚. 内皮祖细胞的生物学特性及在缺血性疾病中的应用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, 13(4): 526-528.
- [2] Schober A, Knarren S, Lietz M, Lin EA, Weber C. Crucial role of stromal cell-derived factor-1 α in neointima formation after vascular injury in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Circulation*, 2003, 108(20): 2491-497.
- [3] Zernecke A, Schober A, Bot I, von Hundelshausen P, Liehn EA, Mopps B, et al. SDF-1 α /CXCR4 axis is instrumental in neointimal hyperplasia and recruitment of smooth muscle progenitor cell [J]. *Circ Res*, 2005, 96(7): 784-791.
- [4] Lindner V, Fingerle J, Reidy MA. Mouse model of arterial injury [J]. *Circ Res*, 1993, 73(5): 792-796.
- [5] Strehlow K, Werner N, Berweiler J, Link A, Dimagl U, Priller J, et al. Estrogen increases bone marrow derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation [J]. *Circulation*, 2003, 107: 3059-065.
- [6] Werner N, Junk S, Laufs U, Link A, Walenta K, Bohm M, et al. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cell reduces neointima formation after vascular injury [J]. *Circ Res*, 2003, 93: 17-24.
- [7] Bershteyn J, Keren G, George J. Endothelial progenitor cell (EPCs)—new tools for diagnosis and therapy [J]. *Hartfuh*, 2006, 145(5): 362-366, 397.
- [8] Loetscher M, Geiser T, O'Reilly T, Zwahlen R, Baggiolini M, Moser B. Cloning of a human seven transmembrane domain receptor, LESTR, that is highly expressed in leukocytes [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(1): 232-237.
- [9] Yamaguchi J, Kusano KF, Masuo O, Kawamoto A, Silver M, Murasawa S, et al. Stromal cell-derived factor-1 effects on ex vivo expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization [J]. *Circulation*, 2003, 107(9): 1322-328.

(此文编辑 朱雯霞)

•读者•作者•编者•

我刊报道的疾病和诊治方法

- | | | |
|----------------|-----------------|-----------------|
| 1 肥胖症 | 9.4 动脉硬化性闭塞症 | 15 脑动脉硬化症 |
| 2 小儿肥胖病 | 9.5 动脉硬化性周围动脉缺血 | 16 动脉硬化性精神病 |
| 3 原发性高脂蛋白血症 | 10 高血压病 | 17 其他缺血性脑血管疾病 |
| 4 高脂血症 | 11 周围血管疾病 | 18 粥样栓塞性肾病 |
| 5 原发性肺动脉高压症 | 11.1 血栓闭塞性脉管炎 | 19 肾动脉血栓形成或栓塞 |
| 6 早老症 | 11.2 雷诺综合症 | 20 糖尿病合并心血管疾病 |
| 6.1 弥散性动脉粥样硬化 | 11.3 手足紫绀症 | 20.1 糖尿病并发冠心病 |
| 6.2 冠状动脉栓塞 | 11.4 急性动脉栓塞 | 20.2 糖尿病性心肌梗死 |
| 7 冠状动脉粥样硬化性心脏病 | 11.5 肢端动脉痉挛病 | 20.3 糖尿病并发血管病变 |
| 7.1 原发性心跳骤停 | 12 伯格氏病 | 21 代谢综合征 |
| 7.2 心绞痛 | 13 短暂性脑缺血发作 | 22 血管疾病的影像学诊断 |
| 7.3 心肌梗死 | 13.1 黑矇 | 23 血管疾病的手术疗法 |
| 7.4 冠状动脉性心力衰竭 | 13.2 视野异常 | 23.1 动脉旁路移植术 |
| 7.5 缺血性心律失常 | 14 脑梗死 | 23.2 动脉内膜切除术 |
| 8 急性冠状动脉综合征 | 14.1 脑血栓形成 | 23.3 激光心肌内血管重建术 |
| 9 动脉硬化症 | 14.2 脑血管栓塞 | 23.4 经腔内血管成形术 |
| 9.1 颈动脉硬化症 | 14.3 腔隙性脑梗死 | 23.5 其它血管手术 |
| 9.2 肾动脉硬化 | 14.4 多发梗死性痴呆 | 24 血管疾病的基因疗法 |
| 9.3 动脉硬化性主动脉瘤 | | |

(胡必利编写)