

# 基因治疗缺血性心脏病的研究进展

程明综述, 仲崇俊审校

(南通大学附属第二医院胸心外科, 江苏省南通市 226001)

[关键词] 外科学; 治疗性血管生成; 促血管生成因子; 基因治疗; 缺血性心脏病

[摘要] 缺血性心脏病严重威胁着人类的健康, 尤其是严重的弥漫性病变, 目前临床使用的治疗方法无法取得满意的疗效, 根据血管生成的机制应用促血管生成因子、基因治疗等方式进行的治疗性血管生成成为此类疾病的治疗带来了希望。本文就促血管生成因子基因治疗缺血性心脏病的研究进展进行综述。

[中图分类号] R6

[文献标识码] A

冠状动脉旁路移植术 (coronary artery bypass grafting, CABG) 和经皮冠状动脉腔内成形术 (percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA) 是目前应用于临床治疗缺血性心脏病比较成熟的技术, 但术后并发症和再狭窄的发生率较高, 并且还有一部分患者不适宜选择上述方法 (如严重弥漫性冠状动脉病变), 因此探索新的治疗方法显得尤为重要。随着分子生物学的发展, 利用促血管生成因子促进血管的发生及生长从而改善缺血组织血液供应的非创伤性治疗手段已引起广泛关注, 这一新的治疗方法已在心肌及外周组织缺血性疾病的基础研究、临床试验中取得了一系列的进展。本文就该领域做一综述。

## 1 基因治疗的概述

### 1.1 基因治疗的概念

基因治疗是指将编码具有某种生物活性物质 (一般是蛋白质或肽) 的基因, 人为地转移到人体器官或组织细胞内, 使其在局部表达该活性物质, 从而达到相应的治疗或预防目的的疗法。缺血性心脏病的基因治疗就是将编码某种促血管生成因子的基因导入心肌缺血区适当受体细胞, 持续产生相应的促血管生成因子, 从而刺激心肌内血管生成、建立侧枝循环、改善缺血心肌的血供。

### 1.2 目的基因的选择

目前在缺血性心脏病的基因治疗中, 目的基因的种类选择包括编码各种促血管生成因子的基因、编码具有调控促血管生成因子作用分子的基因以及编码直接产生生血管效应的下游效应分子的基因。大多数学者选择的是编码血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF)、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、血管生成素 (angiopoietin,

ANG) 和血小板源生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 等多肽的基因, 并已成功用于对心肌及外周缺血性疾病的治疗<sup>[1]</sup>。由于 NO 分子对 VEGF 的促内皮细胞增殖及迁移具有很重要的作用, 所以近年来也有学者选择编码内皮细胞 NO 合酶的基因<sup>[2]</sup>。VEGF 基因是迄今为止在缺血性心脏病治疗研究中应用最多、疗效最理想的基因。

### 1.3 载体的选择

缺血性心脏病基因治疗的常用载体分为病毒载体和非病毒载体两大类。病毒载体在基因转染效率方面有很大优势, 但有潜在免疫原性和病毒播散的危险。非病毒载体毒性小、无免疫原性, 制剂可高度浓缩, 但多数非病毒载体的基因转移效率远远低于病毒载体, 且缺乏靶向性、只能作用于局部给药。

目前应用于缺血性心脏病基因治疗研究的主要有三种载体: 裸露质粒、脂质体和病毒载体。前两者转染简便易行, 但是转染效率低, 靶细胞有限, 表达持续时间短暂。其中裸露质粒的应用占有重要的地位, 它的成功应用取决于几个因素: 首先, 缺血性心脏病基因治疗多采用分泌性蛋白的基因, 如 VEGF, 蛋白合成后分泌到细胞外, 与靶细胞上的特异受体结合而发挥生物学功能, 研究显示, 仅少量被转染细胞分泌的蛋白就可以获得理想的治疗效应, 因此弥补了裸露质粒载体基因转移效率低的不足; 其次, 缺血性心脏病基因治疗只需要目的基因在 3~4 周的时间内表达就可以达到治疗目的, 裸露质粒载体完全能够胜任; 另外, 近年来如治疗性超声等方法逐渐出现, 可能不同程度地提高裸露质粒载体基因转移的效率; 同时裸露质粒在安全性方面比病毒载体具有很大的优势。脂质体是由带有大量负电荷的脂质颗粒和带有负电荷的质粒结合而成的。它与细胞膜融合后, 可在泡浆中释放出质粒 DNA, 但只有 1% 的 DNA 能免于蛋白水解酶的降解而进入核内, 其优点是转基因长度不受限制, 可携带较大的 DNA 分子, 方法简单, 容易制备, 转导效率较裸 DNA 高。缺点是转基因表达时间短, 脂质体的沉积可引起细胞毒性, 且在体内转染的效率低。病毒载体主要是逆转录病毒、腺病毒、腺相关病毒以及单纯疱疹病毒等。逆转录病毒载体构建简单, 宿主范围广, 可整合于宿主细胞基因组中稳定长期表达, 但病

[收稿日期] 2007-04-18

[修回日期] 2007-10-18

[作者简介] 程明, 硕士, 主要研究方向为冠心病的基因治疗, 联系电话为 13776910950, E-mail 为 paulcohc@yahoo.com.cn。通讯作者仲崇俊, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管疾病的基因治疗, 联系电话为 0513-85858558。

毒滴度低,转染效率较腺病毒低,且只能转染分裂细胞并且可以随机整合机体细胞,可能给人类带来危害。在体与离体研究显示腺病毒表达效率较高,腺病毒转染后不整合入宿主的基因组DNA,并且腺病毒表达持续几周至数月。由于心肌细胞是非复制状态的细胞,而腺病毒可转染心肌等非分裂性细胞,转染效率高,可携带较大的DNA分子,且易获得高滴度的病毒载体,不整合进细胞染色体,避免了插入突变的危险,对人类相对比较安全。但其基因表达短暂,可诱导机体产生免疫反应,重复使用转导效率明显降低。

## 2 基因导入途径

目的基因的导入有两种方式。一种是活体外导入法,指在体外将目的基因克隆至一合适载体,预先导入体外培养的细胞,再将这种目的基因修饰过的细胞在体内表达。另一种是活体内导入法,指将外源目的基因直接导入体内靶器官,使目的基因进入相应的细胞并进行表达。活体内导入法基因转移心脏的途径有:心肌内直接注射法、冠状动脉内注射法、心包注射法、静脉注射法等。

### 2.1 心肌内直接注射法

心肌内直接注射,方法简便,具有特异性。实验表明无论是开胸经心外膜注射途径,还是经心内膜下注射途径均发现促血管生成因子基因转染缺血心肌是可行的、有效的。开胸、微创开胸及搭桥手术中注射促血管生成因子基因的临床试验,证明这些方法安全、可行;但手术风险、创伤性和高额费用限制了临床应用。经导管心内膜心肌注射的动物实验显示,效果与开胸相当。新近有人尝试磁场诱导经皮心内膜心肌注射,在心脏跳动情况下取得了成功,未出现室速及心肌穿孔等并发症。但此方法的缺点是心肌内直接注射时的机械性损伤可引起心肌局部炎症反应。

### 2.2 冠状动脉内注射法

有研究者尝试在冠状动脉介入手术的同时注射目的基因转染缺血心肌,该方面的临床试验<sup>[3]</sup>较多,也较成熟。这为临床推广经冠状动脉基因转染促血管生成因子基因治疗心肌缺血提供了有力保证。冠状动脉内注射法创伤小、操作简便,不会引起因直接心肌内注射所致的炎症反应,但这种方法的基因转导效率不如心肌内直接注射,尤其是它可导致外源基因随血流在心脏外组织器官表达,缺乏组织特异性。

### 2.3 心包注射法

心包注射法的优点是心包可作为促血管生成因子基因的“仓库”,增加冠状动脉或心肌接触基因的时间。少数动物实验证实经心包投放酸性成纤维细胞生长因子或碱性成纤维细胞生长因子能够增加心肌局部血流和心功能,促进微血管新生,但缺乏可重复性。另外手术需要特殊的鞘管针及吸住心包的装置,虽然动物实验是安全可行的,但能否在临床及搭桥手术中使用尚待探讨。

### 2.4 其它方法

其它方法中静脉注射法最简便,但所需药物量大,靶向性差,药物会随血流扩散到全身,因而会造成全身性影响,有导致非靶器官血管新生、肿瘤形成等潜在危险。另外有些

学者研究了电穿孔、病毒脂质体包裹的内皮细胞源性一氧化氮合酶基因、涂有重组生长因子或表达质粒的生物可降解微粒子(包括纳米和微米粒子)以及联合心肌注射技术在缺血性心脏病治疗中的可行性,这些方法为基因治疗提供了广阔的思路。

## 3 基因治疗的效果

国内外大量实验表明,由多种载体介导的包括VEGF、FGF、HGF、PDGF、ANG等基因的治疗性血管生成在各种心肌缺血动物模型的研究中均取得了良好的效果,可检测到目的基因的持续表达、缺血局部血管生成以及灌注改善。随后开展的一些iv期临床试验证明了基因治疗的安全性及有效性。

### 3.1 血管内皮生长因子基因治疗

编码VEGF的基因在许多心肌缺血动物模型中通过裸质粒或腺病毒载体的方式进行转导获得了成功。Laguens等<sup>[4]</sup>报道在人为梗塞冠状动脉左前降支的猪模型中,观察到心肌内直接注射VEGF165基因可以引起心肌有丝分裂指数和单位体积有丝分裂数目成数倍地增长,说明该基因对于心肌梗死后细胞的复制是必须的。Yang等<sup>[5]</sup>研究心肌梗死大鼠模型,在这些大鼠心肌内均移入胚胎干细胞的早期分化细胞,部分伴有VEGF165转染,对照组无VEGF165转染。6周后,与对照组相比,伴有VEGF165转染的大鼠心肌梗死部位的毛细血管密度和血管数目均明显增多,而且心功能也有明显的改善。另有关于大鼠的类似报道,VEGF促使冠状动脉微循环数目增多,增厚心室壁,降低左室舒张末压,增强心肌收缩力,改善心功能。Hao等<sup>[6]</sup>用编码VEGF165的裸质粒DNA注射于大鼠心肌梗死区域后发现毛细血管和小动脉数量均明显增加,缺血心肌的灌注和心功能有明显改善。国内学者黄志军等<sup>[7]</sup>研究了重组2型腺相关病毒载体介导VEGF165基因对兔缺血心肌血管新生的影响,建立兔心肌缺血模型并随机分为高、中、低剂量组及对照组4组,结果显示导入VEGF165的局部心肌组织可以较持久地表达VEGF165 mRNA和分泌VEGF165,治疗组的表达水平远高于对照组。在治疗组的缺血心肌中,可以见到修复的心肌细胞和明显的微血管再生,而对照组仍可见较多的心肌坏死,微血管数目很少。此外还提示随着治疗剂量的增加,VEGF165基因表达增强,新生血管数目增多。另外易甫等<sup>[8]</sup>使用纳米粒子为载体,在兔心肌缺血模型经心肌直接注射VEGF165基因纳米粒子,能够促进心肌内毛细血管新生,达到改善心功能的目的,并且效果好于以裸质粒作为载体的VEGF165基因治疗组。VEGF基因表达仅仅能诱导缺血心肌部位血管再生,不能在非缺血心肌引起血管再生,它们的差别可能是正常和缺氧的条件下VEGF受体表达不同所致。VEGF受体在内皮细胞中广泛存在,对于血管形成具有重要的意义。缺氧除了能促进VEGF的表达,也同样能上调VEGF受体的表达。在各种动物实验的基础上,人们随后进行了iv期临床试验。Reilly等<sup>[9]</sup>通过胸廓切开术对30名加拿大心血管协会3~4级的难治性心绞痛患者进行直接心肌内注射编码VEGF-2基因的裸质粒,结果除1例患者术中死亡外,其他患者均能耐受该

操作。术后随访二年,第一年内没有 1 例患者出现加拿大心血管协会 4 级心绞痛,大多患者(88.5%)心绞痛症状得到明显改善。但一年后有 4 例死亡、5 例心肌梗死、7 例再次手术,这些可能是由于远离基因注射部位心肌缺血的病情发展引起的。此后研究者还计划进行更大规模的随机、双盲、安慰剂对照的 ③期临床试验,从而进一步探讨 VEGF 基因对缺血性心脏病的临床治疗效果及持续时间。

### 3.2 成纤维细胞生长因子基因治疗

在 Ninomiya 等<sup>[10]</sup>的研究中,采用猪心肌梗死模型,体外将 FGF 基因转入成纤维细胞,并通过导管技术将其注入猪的冠状动脉内,结果发现在术后 28 天 FGF 组相对于对照组而言,侧支循环形成良好,梗死区心肌收缩功能明显改善,移植细胞在小血管内能停留至少 7 天,而 FGF 浓度在注射后可持续升高至 14 天。国内学者对心肌内注射 FGF 基因和蛋白进行对比研究,发现心肌内注射蛋白和基因均有促缺血心肌血管新生的作用,但基因的促血管新生作用更强。这说明同样剂量的基因和蛋白前者可持续表达,作用较蛋白显著,表明心肌内注射 FGF 基因可以发挥更强的生物学效应,促进血管新生,从而对缺血心肌产生保护作用<sup>[11]</sup>。袁洪等<sup>[12]</sup>向兔缺血区域心肌注射重组 2 型腺相关病毒载体介导的 2 型成纤维细胞生长因子基因,结果显示基因具有明显的诱导缺血心肌血管生成的作用,且基因表达仅限于心肌。

除了动物实验外,Grines 等<sup>[13]</sup>进行了一个多中心随机、双盲、安慰剂对照的 FGF 基因治疗稳定型心绞痛的 ③期临床试验。共有 79 名具有慢性稳定心绞痛患者,对照组(19 例)和治疗组(60 例)分别于冠状动脉内注射安慰剂或 5 种不同剂量腺病毒介导的 FGF4 基因,通过超声心动图的检测治疗组与对照组患者心壁压力诱导运动无显著性差异,12 周后发现 FGF4 可提高患者的运动耐力、减少心绞痛发作;但 4 及 12 周时随访治疗组运动踏板耐受无明显改善,随访 1 年治疗组与对照组发生严重副作用的比例差异无显著性。

### 3.3 肝细胞生长因子基因治疗

吴丹莉等<sup>[14]</sup>用腺病毒载体介导 HGF 基因经心肌注射对大鼠心肌缺血模型进行治疗,证实了该治疗方法是有效的,并且腺病毒的分布是局限的,没有扩散到全身。为了进一步研究 HGF 基因治疗对心肌缺血的治疗效果及其安全性,在体外实验和大鼠实验的基础上,他们又采用心肌内直接注射腺病毒载体介导 HGF 基因对犬心肌缺血模型进行治疗,从三个方面评价其治疗效果:首先,通过冠状动脉造影观察侧支循环形成的情况,发现治疗组动物的侧支循环比对照组丰富;其次,对心脏切片进行染色并通过图像分析确定缺血区面积,结果显示治疗组动物的缺血区明显小于对照组;最后,从心肌中回收彩色微球计算局部心肌血流量,结果显示治疗组动物的局部心肌血流量基本恢复到了结扎前的水平<sup>[14]</sup>。王伟等<sup>[15]</sup>对猪心肌缺血模型经冠状动脉转染携带 HGF 的腺病毒,治疗组缺血心肌高度表达 HGF 蛋白,心肌血流灌注及左心室射血分数较对照组明显改善;治疗组侧支循环形成明显增多。说明经冠状动脉转染 HGF 能使心肌高度表达 HGF 蛋白,并对梗死心肌的侧支循环形成、心肌灌注及心功能均

有改善作用。

### 3.4 血管生成素基因治疗

陈仕林等<sup>[16]</sup>用 ANG-1 重组腺病毒直接注射转染 36 只新西兰兔的冠状动脉结扎后缺血的心肌内,测定其在转染心肌内的表达,并用免疫组织化学及冠状动脉造影方法观察缺血心肌内血管生长及侧支循环形成的情况。结果 ANG-1 重组腺病毒直接注射转染兔缺血心肌后能有效表达,28 天后新生毛细血管密度及侧支循环形成明显高于对照组。证明腺病毒介导的 ANG-1 基因能有效地促进兔心肌缺血区血管新生及侧支循环形成。

### 3.5 联合基因治疗

研究发现,联合使用 VEGF 和 ANG-1 的基因或蛋白治疗,能显著促进缺血区新成熟、稳定的血管,在治疗性血管生成的基因治疗方面有很好的应用前景<sup>[17]</sup>。PDGF-BB 和 FGF-2 的协同使用,比单用 FGF-2 能够生成更多、更成熟的侧支动脉<sup>[18]</sup>。

## 4 基因治疗的缺陷

尽管采用基因治疗的方式可以持续产生效用蛋白,但其本身也存在着一定缺陷。基因治疗难以对基因表达水平进行调控,表达效率普遍低下;④外源基因导入体内后在靶器官内的表达时间不长;⑤病毒载体所介导的基因转移,由于病毒基因组可整合入人细胞基因组,有引起插入性突变的危险;促血管生成因子过度表达有可能导致心肌内血管瘤形成;基因治疗除了能促进缺血组织新生血管的生成外,还有可能会促进肿瘤的生长。有研究表明,VEGF 在肿瘤发生过程中不但可以通过旁分泌促进肿瘤血管的生成,还可通过自分泌方式调节肿瘤细胞本身的增殖、分化、迁移及凋亡等<sup>[19]</sup>;某些促血管生成因子如 VEGF 在动脉粥样硬化斑块中的表达明显增加,并可能促进斑块的发生与发展<sup>[20]</sup>。其机制可能是增加斑块毛细血管密度并促进新生血管向内膜延伸。而毛细血管增加可促进巨噬细胞、T 淋巴细胞等向斑块内迁移。以上均是研究人员通过动物实验或理论推测得出的基因治疗潜在的不良反应。虽然在现有的 iv 期和 ③期临床试验中还未发现这些问题,但今后需要更多的大规模、随机、对照、双盲的临床试验来进一步检验基因治疗的安全性。

## 5 展望

在过去的十几年,动物实验和初步临床试验已经证实治疗性血管生成基因治疗对缺血性心脏病是有效的,但正直应用于临床还需要进行更多的深入研究。基因治疗目前仍有许多问题尚未解决。新的更适宜的治疗基因的选择;④基因治疗载体的完善。理想的载体应具备良好的安全性,较高的基因转移效率和基因表达在时间和空间上的可控性;⑤心脏基因转移途径的选择;肿瘤、血管瘤、动脉粥样硬化等不良反应的预防以及对临床应用的安全性进行更全面的监控。虽然缺血性心脏病基因治疗中仍存在许多问题,但随着生物

技术和分子生物学的不断发展,相信在不久的将来,基因治疗会成为临床治疗缺血性心脏病安全而又有效的手段,会给患有严重缺血性心脏病而不适合用传统治疗方法的患者带来新的希望。

## [参考文献]

- [1] Pachori AS, Melo LG, Dzau VJ. Gene therapy: role in myocardial protection [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2006, (176 Pt 2): 335-350.
- [2] Namba T, Koike H, Murakami K, Aoki M, Makino H, Hashiya N, et al. Angiogenesis induced by endothelial nitric oxide synthase gene through vascular endothelial growth factor expression in a rat hindlimb ischemia model [J]. *Circulation*, 2003, **108** (18): 2 250-257.
- [3] Hedman M, Hartikainen J, Syvanne M, Stjernvall J, Hedman A, Kivela A, et al. Safety and feasibility of catheter-based local intracoronary vascular endothelial growth factor gene transfer in the prevention of postangioplasty and in-stent restenosis and in the treatment of chronic myocardial ischemia: phase II results of the Kuopio Angiogenesis Trial (KAT) [J]. *Circulation*, 2003, **107** (21): 2 677-683.
- [4] Lagrèns R, Cabeza Meckert P, Vera Janavel G, Del Valle H, Lascano E, Negróni J, et al. Entrance in mitosis of adult cardiomyocytes in ischemic pig hearts after plasmid-mediated rhVEGF165 gene transfer [J]. *Gene Ther*, 2002, **9** (24): 1 676-681.
- [5] Yang Y, Min JY, Rana JS, Ke Q, Cai J, Chen Y, et al. VEGF enhances functional improvement of postinfarcted hearts by transplantation of ESC-differentiated cells [J]. *J Appl Physiol*, 2002, **93** (3): 1 140-151.
- [6] Hao X, Mansson-Broberg A, Blomberg P, Dellgren G, Siddiqui AJ, Grinnemo KH, et al. Angiogenic and cardiac functional effects of dual gene transfer of VEGF-A165 and PDGF-BB after myocardial infarction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **322** (1): 292-296.
- [7] 黄志军, 袁洪, 曾钧发, 吴小兵, 彭建强, 易斌, 等. 重组腺相关病毒载体介导人血管内皮生长因子 165 基因对缺血心肌血管新生的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (6): 627-631.
- [8] 易甫, 吴红, 贾国良, 郭文怡, 吕安林, 王海昌, 等. 纳米粒子介导血管内皮生长因子基因治疗兔心肌缺血的疗效 [J]. *中华医学杂志*, 2006, **86** (8): 510-514.
- [9] Reilly JP, Grise MA, Fortuin FD, Vale PR, Schaer GL, Lopez J, et al. Long-term (2-year) clinical events following transthoracic intramyocardial gene transfer of VEGF-2 in non-option patients [J]. *J Interv Cardiol*, 2005, **18** (1): 27-31.
- [10] Ninomiya M, Koyama H, Miyata T, Hamada H, Miyatake S, Shigematsu H, et al. Ex vivo gene transfer of basic fibroblast growth factor improves cardiac function and blood flow in a swine chronic myocardial ischemic model [J]. *Gene Ther*, 2003, **10** (14): 1 152-160.
- [11] 李易, 谭强, 张小勇, 孙林, 光雪峰, 马雁冰, 等. rhbFGF 基因及其蛋白促兔缺血心肌血管新生的对比研究 [J]. *中国微循环*, 2003, **7** (3): 143-145.
- [12] 袁洪, 黄志军, 吴小兵, 彭建强, 阎宏伟, 阳国平, 等. 重组腺相关病毒载体介导成纤维细胞生长因子 2 基因诱导缺血心肌血管新生 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (6): 648-650.
- [13] Grines CL, Watkins MW, Helmer G, Penny W, Brinker J, Marmur JD, et al. Angiogenic Gene Therapy (AGENT) trial in patients with stable angina pectoris [J]. *Circulation*, 2002, **105** (11): 1 291-297.
- [14] 吴丹莉, 张友荣, 劳妙芬, 袁丽珍, 王澜, 哈小琴, 等. 携带肝细胞生长因子基因的重组腺病毒对犬心肌缺血的基因治疗 [J]. *科学通报*, 2004, **49** (13): 1 278-282.
- [15] 王伟, 杨志健, 马东超, 徐顺霖, 王连生, 张郁青, 等. 肝细胞生长因子治疗心肌梗死后心力衰竭的实验研究 [J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2006, **14** (5): 296-299.
- [16] 陈仕林, 张宝仁, 梅举, 徐志云, 朱家麟, 蔡凯华, 等. 血管形成素 1 基因对兔缺血心肌中血管的新生作用 [J]. *中华医学杂志*, 2003, **83** (8): 637-640.
- [17] Shyu KG, Chang H, Isner JM. Synergistic effect of angiopoietin-1 and vascular endothelial growth factor on neoangiogenesis in hypercholesterolemic rabbit model with acute hindlimb ischemia [J]. *Life Sci*, 2003, **73** (5): 563-579.
- [18] Cao R, Brakenhielm E, Pawliuk R, Wariaro D, Post MJ, Wahlberg E, et al. Angiogenic synergism, vascular stability and improvement of hindlimb ischemia by a combination of PDGF-BB and FGF-2 [J]. *Nature Medicine*, 2003, **9** (5): 604-613.
- [19] Weigand M, Hantel P, Kreienberg R, Waltenberger J. Autocrine vascular endothelial growth factor signalling in breast cancer. Evidence from cell lines and primary breast cancer cultures in vitro [J]. *Angiogenesis*, 2005, **8** (3): 197-204.
- [20] Morsi WG, Shaker OG, Ismail EF, Ahmed HH, El-Serafi TI, Maklady FA, et al. HO-1 and VEGF gene expression in human arteries with advanced atherosclerosis [J]. *Clin Biochem*, 2006, **39** (11): 1 057-062.

(此文编辑 李玲玲)