

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2008)16-07-0532-05

猪静脉桥血管重建中平滑肌细胞和成纤维细胞表型转化

邱志兵¹, 陈鑫¹, 万松²

(1. 南京医科大学附属南京第一医院心胸外科, 江苏省南京市 210006;

2. 香港中文大学威尔斯亲王医院心胸外科, 香港)

[关键词] 病理学与病理生理学; 细胞增殖; 血管平滑肌细胞; 成纤维细胞; 表型; 血管重塑; 再狭窄

[摘要] 目的 动态观察静脉桥再狭窄动物模型中血管平滑肌细胞和外膜成纤维细胞表型转化和增殖活性的变化, 评价血管平滑肌细胞和外膜成纤维细胞表型转化及增殖迁移对血管重塑的影响。方法 建立猪静脉桥再狭窄模型, 采用血管病理形态学和免疫组织化学方法, 观察术后 7、14 和 30 d 血管重塑及血管壁中增殖细胞核抗原、平滑肌 α 肌动蛋白和骨桥蛋白表达变化。结果 术后 7 d 新生内膜形成并逐渐增厚, 于术后 30 d 达最大; 内弹力板围绕面积于术后 7 d 逐渐减小, 术后 30 d 管腔面积最小 ($P < 0.05$); 重塑指数和外弹力板围绕面积术后 7 d 稍有增大, 其后不断减小, 术后 14~30 d 明显减小 ($P < 0.05$)。④增殖细胞核抗原染色发现, 血管外膜成纤维细胞和血管平滑肌细胞增殖指数术后 7 d 显著增加, 术后 14 d 增殖细胞核抗原阳性表达达高峰, 术后 30 d 回到基线水准。④平滑肌 α 肌动蛋白染色发现, 术后 7 d 中膜阳性面积减少, 外膜和内膜中出现阳性表达; 术后 14 d 中膜血管平滑肌细胞阳性表达显著减少, 外膜成纤维细胞和内膜中阳性表达显著增加; 术后 30 d 中膜血管平滑肌细胞阳性表达恢复, 外膜阳性表达较术后 14 d 和 7 d 明显减少, 内膜阳性表达较术后 14 d 变化不明显。骨桥蛋白染色发现, 术后 7 d 中膜血管平滑肌细胞阳性表达明显; 术后 14 d 中膜血管平滑肌细胞阳性表达较术后 7 d 减少, 而内膜中血管平滑肌细胞阳性表达显著增加且达高峰; 术后 30 d 中膜血管平滑肌细胞有少部分阳性表达, 内膜中血管平滑肌细胞阳性表达较术后 14 d 减少; 外膜在术后各时间点均呈阴性表达。结论 血管平滑肌细胞和成纤维细胞的表型转化和增殖活性改变对血管重塑起重要作用, 参与并促进了血管桥再狭窄的发生过程。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Phenotypic Modulation of Vascular Smooth Muscle Cells and Fibroblasts in Vascular Remodeling of Pig Vein GraftsQIU Zhi Bing¹, CHEN Xin¹, and WAN Song²

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China; 2. Division of Cardiothoracic Surgery, The Chinese University of Hong Kong, Prince of Wales Hospital, Hong Kong)

[KEY WORDS] Cell Proliferation; Vascular Smooth Muscle Cells; Fibroblasts; Phenotypic Modulation; Vascular Remodeling; Restenosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the phenotypic modulation and proliferation changes of vascular smooth muscle cell (VSMC) and vascular adventitia fibroblasts (VAF) in the vein graft restenosis model. To evaluate the effects of the phenotypic modulation and proliferation changes of VSMC and VAF in vascular remodeling. **Methods** To create the pig autogenous vein grafts restenosis model, specimens were harvested at three time points that was 7th, 14th and 30th day. Histomorphometrical and immunohistochemical approach were used to detect the changes of vascular remodeling and the expression of proliferation cell nuclear (PCNA), smooth muscle α actin (SM- α actin) and osteopontin (OPN). **Results** At 7th day after operation, the neointima formed and continuously thickened, whose thickness reached maximum at 30th day postoperation. Internal elastic lamina (IELA) gradually decreased after operation, and at 30th day group luminal area reduced minimally ($P < 0.05$). Remodeling index and external elastic lamina (EELA) slightly increased at 7th day group, but reduced gradually after that, which at 14th day and 30th day group decreased distinctly ($P < 0.05$). ④According to PCNA stain, the proliferation index of VAF and VSMC increased significantly at 7th day after operation, which reached peak at 14th day, whereas the expression of PCNA reverted toward the baseline at 30th day after operation. ④According to SM- α actin stain, at 7th day after operation, the positive cell area decreased in the medium, but adventitia and neointimal were positive; At 14th day, the positive cell area decreased significantly in the medium, however, the positive area of adventitia and neointimal increased significantly; At 30th day positive expression of the medium recovered gradually, and the positive area of adventitia was less than that at 14th day, but the positive expression in the neointimal has no significant changes compared with 14th day. OPN stain showed that the positive expression was significant in the medium at 7th day after operation. At 14th day, the positive expression of VSMC was less than that at 7th day in the

[收稿日期] 2008-03-05

[修回日期] 2008-07-02

[作者简介] 邱志兵, 硕士, 主治医师, 主要研究方向为血管再狭窄的发病机制和预防, E-mail 为 qiuzhibingjs@yahoo.com.cn. 陈鑫, 博士, 教授, 主要研究方向为冠心病的外科治疗。万松, 博士, 教授, 主要研究方向为静脉桥再狭窄的发病机制和防治。

medium, but that of neointimal increased significantly, which reached peak. At 30th day, there was a less positive part of VSMC in the medium, and the positive expression of VSMC in the neointimal decreased significantly compared with 14th day. OPN was negative in adventitia at different time after operation. **Conclusion** The phenotypic modulation and proliferation changes of VSMC and VAF are the important factors on vascular remodeling, which takes part in and accelerates the course of vein restenosis.

冠状动脉旁路移植 (coronary artery bypass graft surgery, CABG) 手术已成为冠心病治疗的常规手术之一, 然而术后相当一部分患者出现静脉桥再狭窄, 大大降低了手术的远期效果。关于再狭窄的发病机制仍有许多不明之处, 目前认为再狭窄可能是新生内膜增生、血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 表型转化随之增殖迁移和不利的血管重塑 (vascular remodeling, VR) 共同作用的结果^[1]。近来发现冠状动脉损伤后伴随血管外膜激活, 血管外膜是参与血管重塑的重要因素, 血管外膜成纤维细胞 (vascular adventitia fibroblasts, VAF) 具有表型转化、增殖、迁移及合成细胞外基质的能力, 影响再狭窄过程^[2]。本文通过复制一种与人 CABG 术后静脉桥再狭窄病理过程相似的动物模型, 观察血管壁各成份结构的变化, 探讨 VSMC 和 VAF 表型转化及增殖活性的变化对内膜增生和血管重塑的影响, 进而揭示 VSMC 和 VAF 在再狭窄过程中的重要作用。

1 材料与方法

1.1 主要材料

健康普通长白猪 18 只, 体重 25~30 kg, 雌雄不拘, 由香港中文大学医学院外科学系实验动物中心提供。超薄切片 (RM2135 型, 德国 Leica 公司), 光学显微镜 (JVC TK-870E, 日本 Olympus 公司), 高清晰度数码显微图像分析系统 (Axioplan 2 imaging, 德国 Zeiss); 增殖细胞核抗原 (proliferation cell nuclear, PCNA) 和平滑肌 α 肌动蛋白 (smooth muscle- α -actin, SM- α actin) 单克隆抗体免疫组织化学试剂盒 (美国 Santa cruz 公司); 骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 多克隆抗体 (英国 Abcam 公司)。

1.2 猪静脉桥再狭窄模型的复制

将猪用盐酸氯胺酮 (20 mg/kg)、阿托品 1 mg 肌注基础麻醉后, 行气管插管并接麻醉机辅助通气, 再以氯胺酮和苯巴比妥钠静脉维持麻醉。局部消毒后铺巾, 取后腿外侧切口, 长约 8~10 cm, “no-touch” 技术剥离大隐静脉, 分支以 3-0 丝线结扎, 游离其主干约 10 cm 长, 离断后置于含肝素和硝酸甘油的常温生理盐水中冲洗并保存备用。然后颈部两侧气管旁 8~10 cm 距离纵切口, 逐层分离颈部肌群, 于两侧气管食管沟内解剖出两侧颈总动脉。离断动脉前给予肝素钠 1 mg/kg 静脉注射, 全身肝素化后用 Bull-

dog 钳阻断动脉两端, 预留动脉段约 3 cm, 从动脉段中间切断, 断端一侧剪开并斜剪为 45°, 大隐静脉等分为两段同样剪为 45°, 倒转, 然后用 7-0 Prolene 线与两侧颈总动脉进行端端吻合, 吻合方式同血管吻合, 完毕后开放阻断钳, 静脉桥充盈, 触之有搏动。切口常规逐层缝合。复苏后常规饲养, 未用抗生素和抗凝药。

1.3 术后分组取材及标本制备

随机分为手术后 7、14 和 30 d 共 3 组, 每组 6 只, 分别于术后不同时间点, 将猪麻醉后, 经原颈部切口于气管食管沟内找到静脉桥, 切断静脉桥远端吻合口动脉端, 可见血液喷出, 证实静脉桥通畅, 保留两端动脉约 1 cm, 完整取下静脉桥, 10% 中性甲醛固定, 常规脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋等程序制成蜡块, 切片厚度 5 μ m。以未移植前大隐静脉为对照。

1.4 血管壁形态和结构分析

所有标本用 Masson 三色染色法进行染色, 采用高清晰度数码显微图像分析系统对标本 Masson 染色片进行形态学计量分析。内皮细胞之间的部分定义为内膜, 内外弹力板之间的部分定义为中膜, 血管外膜以外弹力板为内界, 血管外脂肪为外界; 用管腔边界及内、外弹力板作为界限来计算管腔面积、新内膜、中膜和外膜厚度, 每个标本取 3 张切片, 取平均值; 以血管重塑指数、内弹力板围绕面积 (internal elastic lamina, IELA) 和外弹力板围绕面积 (external elastic lamina, EELA) 变化评价血管重塑情况, 其中重塑指数 = 术后 EELA/术前 EELA, 内膜厚度 = (内弹力板周径 - 管腔周径) / 2π , 中膜厚度 = (外弹力板周径 - 内弹力膜周径) / 2π 。

1.5 血管平滑肌细胞和外膜成纤维细胞表型改变的检测

采用鼠 B4 单抗 (1:400) SM- α actin 抗体和兔 AB8448 多抗 (1:200) 标记 OPN 抗体, 应用免疫组织化学技术 (SP) 检测, 具体步骤参照试剂盒说明书进行, SM- α actin 定位于胞核, OPN 定位于胞质, 细胞质或细胞核呈棕红或棕褐色为阳性细胞, 以磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。图文分析系统随机测量每张切片中 3 个视野, 分别计数 VAF 和中膜平滑肌细胞中 SM- α actin 和 OPN 阳性细胞百分率。根据 VSMC 和 VAF 中 SM- α actin 与 OPN 表达的动态变化

定性评价其表型改变。

1.6 细胞增殖活性的检测

使用鼠 M0879 单抗(1:500)标记 PCNA 抗体,用以判别细胞增殖情况;将上述石蜡切片采用 SP 法,具体步骤参照试剂盒说明书进行,室温下与生物素标记的二抗孵育 30 min, NovaRED 染色;光镜下观察,PCNA 阳性颗粒为棕红色或棕黑色颗粒,主要分布于细胞核中。光镜下计数 VSMC 和 VAF 中 PCNA 阳性细胞核数量,增生指数用 PCNA 阳性细胞占细胞总数百分比代表。

1.7 统计学处理

应用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析和重复测量多因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 血管形态学动态变化

正常猪大隐静脉内膜仅见单层内皮细胞,术后 7 d 血管内膜可见增殖的 VSMC,新生内膜形成并逐渐增厚,术后 30 d 新生内膜厚度达最大($P < 0.05$);

术后各时间点中膜厚度变化不明显,但较术前增厚($P < 0.05$);外膜厚度于术后 7 d 逐渐增厚,术后 14 d 达最大,术后 30 d 较术后 14 d 相对缩小($P < 0.05$)。血管重塑指数术后 7 d 稍有增大,术后 14~30 d 较术后 7 d 不断减小($P < 0.05$)。IELA 术后 7 d 逐渐缩小,术后 14~30 d 较术前及术后 7 d 明显减小,术后 30 d 较术后 14 d 减小,差异有显著性($P < 0.05$)。EELA 术后 7 d 稍有增大,其后不断减小,术后 14~30 d 较术前及术后 7 d 明显减小($P < 0.05$, 表 1 和图 1)。

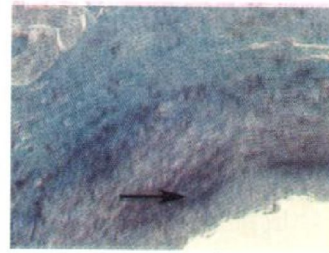


图 1. 术后 14 d 血管壁形态观察 (Masson, $\times 50$) 平滑肌细胞增殖并向内膜迁移,内膜增厚,外膜增厚,局部纤维化。

表 1. 手术前后血管各层膜厚度、内弹力板围绕面积、外弹力板围绕面积和重塑指数动态变化

分组	新内膜厚度 (mm)	中膜厚度 (mm)	外膜厚度 (mm)	IELA (mm ²)	EELA (mm ²)	重塑指数
术前(对照组)	0.000 \pm 0.000	0.233 \pm 0.024	0.421 \pm 0.032	0.498 \pm 0.026	0.641 \pm 0.045	-
术后 7 d	0.170 \pm 0.023 ^a	0.452 \pm 0.025 ^a	0.687 \pm 0.035 ^a	0.479 \pm 0.028	0.672 \pm 0.050	1.048 \pm 0.012
术后 14 d	0.872 \pm 0.058 ^{ab}	0.430 \pm 0.027 ^a	0.867 \pm 0.028 ^{ab}	0.426 \pm 0.033 ^{ab}	0.517 \pm 0.039 ^{ab}	0.807 \pm 0.018 ^b
术后 30 d	1.024 \pm 0.065 ^{abc}	0.421 \pm 0.030 ^a	0.784 \pm 0.033 ^{ac}	0.341 \pm 0.028 ^{abc}	0.426 \pm 0.032 ^{abc}	0.664 \pm 0.010 ^{bc}

a 为 $P < 0.05$, 与术前比; b 为 $P < 0.05$, 与术后 7 d 比; c 为 $P < 0.05$, 与术后 14 d 比。

2.2 细胞增殖活性变化

术前血管内膜、中膜和外膜 PCNA 均呈阴性表达。血管外膜细胞增生指数术后 7 d 显著增加,术后 14 d PCNA 阳性表达达高峰,术后 30 d 明显下降($P < 0.05$)。静脉中膜 VSMC 术后 7 d 出现 PCNA 阳性细胞,增生指数显著增加,而内膜阳性细胞较少;术后 14 d 内膜和中膜的 VSMC 处于高峰的增殖状态,与术前、术后 7 d 比差异有显著性($P < 0.05$);术后 30 d 时 VSMC 中 PCNA 阳性细胞集中于内膜,而增生指数较术后 14 d 和 7 d 下降($P < 0.05$, 表 2 和图 2)。

2.3 平滑肌 α 肌动蛋白表达变化

术前血管中膜 SM- α actin 呈阳性表达,内膜和外膜呈阴性表达;术后 7 d 中膜中阳性面积减少,外膜和内膜中出现 SM- α actin 阳性表达,尤以外膜为

著;术后 14 d 中膜 VSMC SM- α actin 阳性表达较术后 7 d 显著减少,外膜 VAF 中 SM- α actin 阳性表达较术后 7 d 显著增加,内膜中 SM- α actin 阳性表达增加,但弱于外膜($P < 0.05$);术后 30 d 中膜 VSMC SM- α actin 阳性表达恢复,接近术前水平,外膜 VAF SM- α actin 阳性表达较术后 14 d 和 7 d 明显减少,内膜阳性表达较术后 14 d 变化不明显,但弱于中膜(表 2 和图 2)。

2.4 骨桥蛋白表达变化

术前血管内膜、中膜和外膜 OPN 均呈阴性表达;术后 7 d 中膜 VSMC 中 OPN 阳性表达明显,且内膜 VSMC 中 OPN 也呈阳性表达;术后 14 d 中膜 VSMC 中 OPN 阳性表达较术后 7 d 减少,而内膜 VSMC 中 OPN 阳性表达显著增加,达高峰;术后 30 d 中膜 VSMC 有较少部分 OPN 阳性表达,内膜 VSMC

中 OPN 阳性表达较术后 14 d 减少; 外膜在术后各时间段均呈阴性表达(表 2 和图 2)。

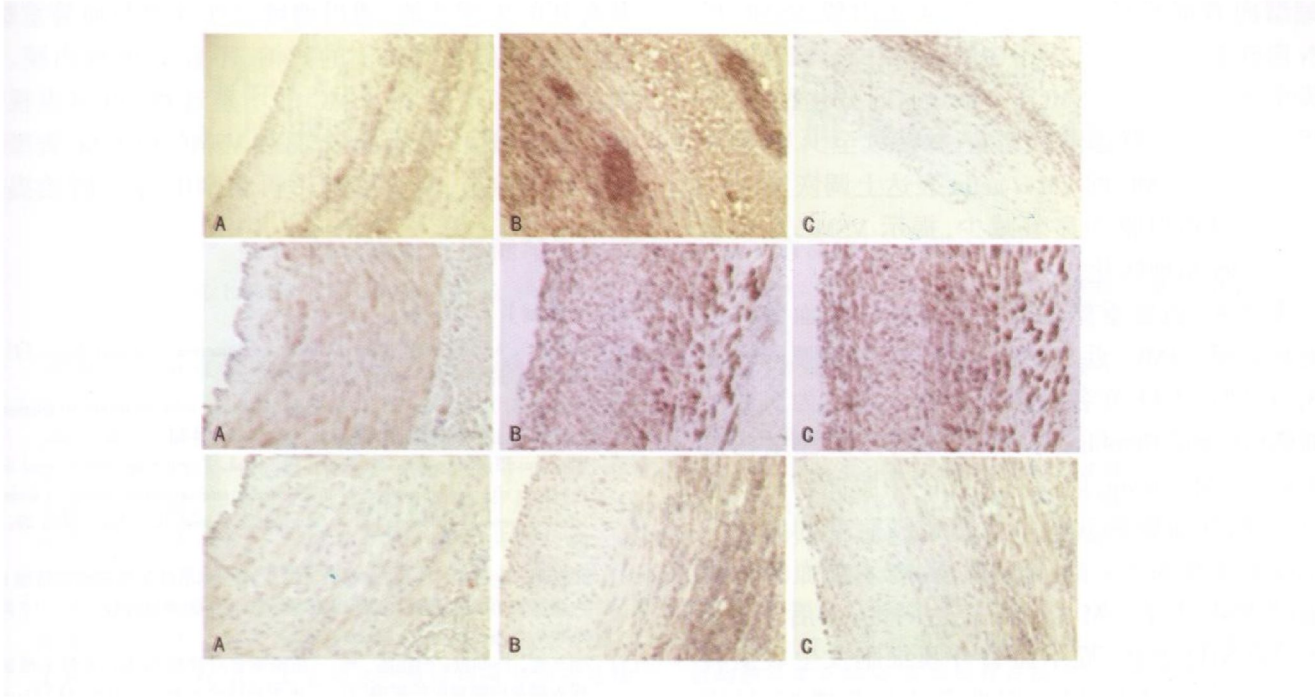


图 2. 不同时间增殖细胞核抗原(上图, $\times 100$)、平滑肌 α 肌动蛋白(中图, $\times 200$) 和骨桥蛋白(下图, $\times 200$) 表达变化 A 为术前, B 为术后 14 d, C 为术后 30 d。

表 2. 手术前后血管各层细胞增殖活性及平滑肌 α 肌动蛋白和骨桥蛋白表达的动态变化

分 组	增生指数			SM- α actin 表达			OPN 表达	
	中膜 VSMC	内膜 VSMC	外膜 VAF	中膜 VSMC	内膜 VSMC	外膜 VAF	血管中膜	血管内膜
术前	—	—	—	78.71 \pm 6.27	—	—	—	—
术后 7 d	49.0% \pm 3.2% ^a	38.2% \pm 2.8% ^a	26.8% \pm 2.3% ^a	56.13 \pm 5.28 ^a	21.04 \pm 3.05 ^a	35.06 \pm 4.07 ^a	58.24 \pm 6.21 ^a	21.75 \pm 2.84 ^a
术后 14 d	68.3% \pm 5.1% ^{ab}	67.4% \pm 4.9% ^{ab}	54.0% \pm 4.0% ^{ab}	45.06 \pm 5.04 ^{ab}	43.14 \pm 4.27 ^{ab}	50.21 \pm 6.27 ^{ab}	44.17 \pm 4.51 ^{ab}	48.09 \pm 4.57 ^{ab}
术后 30 d	30.2% \pm 2.8% ^{abc}	47.2% \pm 2.1% ^{abc}	28.0% \pm 2.0% ^{ac}	74.26 \pm 6.19 ^{abc}	40.01 \pm 4.01 ^{ab}	28.01 \pm 2.98 ^{abc}	20.04 \pm 3.01 ^{abc}	31.28 \pm 3.19 ^{abc}

a 为 $P < 0.05$, 与术前比; b 为 $P < 0.05$, 与术后 7 d 比; c 为 $P < 0.05$, 与术后 14 d 比。

3 讨论

血管重塑是血管壁为适应血管腔内血流动力学环境变化而产生的病理生理现象, 包括适应性血管重塑和病理性血管重塑, 病理性血管重塑是随着血管病变的进展, 动脉失去扩张能力, 甚至呈现收缩状态, 主要表现 EELA 的减少^[3]。CABG 术后静脉桥再狭窄是由内膜增生与血管重塑平衡失调所引起的, 因此, 由于术后早期适应性血管重塑引起血管代偿性扩张, 尽管内膜增生明显, 但发生血管再狭窄很轻; 相反, 随着病程发展, 出现病理性血管重塑引起血管慢性收缩, 整个管腔横断面积缩小^[4]。本研究发现术后 1 周尽管内膜厚度较术前增加, 但重塑指数和 EELA 未见明显变化; 随着病程进展, 术后 14 d 和 30 d 管腔明显缩窄, 重塑指数、IELA 和 EELA 进行性减小, 且内膜厚度较术前明显增加, 提示血管重塑明显。

研究表明 PCNA 可客观地反映细胞增殖活性及分布^[5]。本研究观察到移植静脉桥后早期出现血管外膜细胞和中膜平滑肌细胞增殖活性升高, 血管外膜细胞密度增加, 外膜厚度亦相应增加, 中膜平滑肌细胞向内膜增殖迁移, PCNA 增生指数增加, 随之内膜增生增厚, 提示血管外膜改变和平滑肌细胞增殖迁移在静脉桥再狭窄过程中可能起始动环节作用; 且有研究表明 PCNA 蛋白表达与内膜增生有密切联系, 其表达水平与细胞增殖程度成正比^[6]。

血管平滑肌细胞(VSMC)表型转化是促进细胞增殖迁移的关键性起始步骤, 是血管桥再狭窄的发病基础^[7]。现已证实, 以 SM- α actin 作为收缩型 VSMC 的分子标志, OPN 是 VSMC 由收缩型向合成型转化的特异性标志之一^[8]。本研究结果发现, 在术前 VSMC 表现为收缩型, SM- α actin 呈阳性表达而 OPN 呈阴性表达, 术后 7 d SM- α actin 表达下调, 而

OPN 呈阳性表达, 且以中膜为主, 提示中膜 VSMC 从收缩型向合成型转化; 到术后 14 d 内膜 VSMC 的 OPN 阳性表达达高峰, 提示中膜 VSMC 向内膜迁移, 且发生表型转化的 VSMC, 一部分返回分化型, 一部分仍处于去分化状态继续增殖, 并持续至少 30 d; 术后 30 d 中膜 VSMC 的 SM- α actin 表达上调恢复, OPN 表达在中膜和内膜均显著减少, 提示 VSMC 主要从合成型向收缩型转化。

多年来, 血管重塑的研究焦点集中于血管内膜细胞和中膜 VSMC, 近来研究发现, 血管外膜同样起作用, 特别是 VAF 在各种损伤刺激下转化为肌成纤维细胞 (muscle fibroblasts, MF)^[9]; 其特征性结构是胞质内含 SM- α actin, 能穿过损伤的中膜向新生内膜增殖迁移, 在血管再狭窄等血管重塑病变的发生发展中起重要作用^[10]。本研究发现, 在术前血管外膜细胞以 VAF 为主, SM- α actin 表达阴性; 术后 7 d 外膜中出现阳性表达, 提示血管外膜细胞发生表型转化, 出现 MF; 到术后 14 d 阳性表达显著增加, 且内膜中 SM- α actin 阳性表达增加, 但弱于外膜, 而中膜 VSMC 的 SM- α actin 表达明显下调, 提示 VAF 转变成 MF, 向内膜迁移, 促进新生内膜形成增厚; 术后 30 d 外膜中 SM- α actin 阳性表达明显减少, 提示外膜细胞又发生细胞转型, 从 MF 转变成 VAF, 增殖能力下降, 而内膜中阳性表达较术后 14 d 变化不明显, 但弱于中膜, 可能与外膜 MF 和中膜 VSMC 迁移后继续增殖共同作用有关。

综上所述, 静脉桥再狭窄与血管重塑有关, 血管

壁细胞包括平滑肌细胞和成纤维细胞发生表型转变具有新的生理功能, 通过增殖与迁移参与血管重塑。因此, 对静脉桥再狭窄的防治, 不仅要重视内膜、中膜的增生和增厚及 VSMC 的增殖迁移, 也应重视血管外膜 VAF 的增殖迁移, 而对 VSMC 和 VAF 表型转变的靶向调节, 将为静脉桥再狭窄的综合防治提供新的思路。

[参考文献]

- [1] Peykar S, Angiolillo DJ, Bass TA, et al. Saphenous vein graft disease [J]. *Minerva Cardioangiol*, 2004, **52**: 379-390.
 - [2] Torsney E, Hu Y, Xu Q. Adventitial progenitor cells contribute to arteriosclerosis [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2005, **15**: 64-68.
 - [3] Wiegman PJ, Barry WL, Mcpherson JA, et al. All-trans-retinoic acid limits restenosis after balloon angioplasty in the focally atherosclerotic rabbit: a favorable effect on vessel remodeling [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 89-95.
 - [4] 张新平, 庞月华, 冯义伯, 等. p38 和丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶 1 在内膜损伤后血管平滑肌细胞表型转化过程中的表达变化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (2): 127-131.
 - [5] 李玉光, 许端敏, 闫纯英, 等. 雷帕霉素对球囊损伤后血管平滑肌细胞表型及内膜增生的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (4): 414-416.
 - [6] Liu HW, Iwai M, Takeda-Matsubara Y, et al. Effect of estrogen and AT1 receptor blocker on neointima formation [J]. *Hypertension*, 2002, **40**: 451-457.
 - [7] 胡维诚. 外膜成纤维细胞的激活是动脉粥样硬化早期事件之一[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, **15** (7): 530.
 - [8] Regan CP, Adam PJ, Madsen CS, et al. Molecular mechanism of decreased smooth muscle differentiation marker expression after vascular injury [J]. *J Clin Invest*, 2000, **106**: 1 139-147.
 - [9] Sartore S, Chiavegato A, Faggini E, et al. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant [J]. *Circ Res*, 2001, **89**: 1 111-121.
 - [10] Cai WJ, Koltai S, Kocsis E, et al. Remodeling of adventitia during coronary arteriogenesis [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, **284**: H31-40.
- (此文编辑 许雪梅)