

单核细胞源性微囊泡与冠心病及其危险因素的关系

井永乐¹, 郭绪昆², 王伟³

(1.天津市第一中心医院,天津市 300192;2.天津市胸科医院,天津市 300222;3.泰达国际心血管病医院,天津市 300457)

[关键词] 单核细胞源性微囊泡; 冠心病; 危险因素

[摘要] 单核细胞源性微囊泡是单核细胞应激后脱落的微小囊泡状颗粒,能够引起内皮细胞功能异常,具有促炎活性和促凝血活性,在冠心病的病理过程中发挥着重要作用。同时,冠心病的一些危险因素能够促进单核细胞源性微囊泡的产生。因此,单核细胞源性微囊泡有潜力成为新的冠心病诊断依据和治疗靶点。文章就单核细胞源性微囊泡与冠心病及其危险因素关系的最新研究进展进行综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Relationship Between Monocyte-derived Microparticles and Coronary Heart Disease as well as Risk Factors

JING Yong-Le¹, GUO Xu-Kun², and WANG Wei³

(1.Department of Cardiology, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192; 2.Department of Cardiology, Tianjin Chest Hospital, Tianjin 300222; 3.Department of Cardiology, TEDA International Cardiovascular Hospital, Tianjin 300457, China)

[KEY WORDS] Monocyte-derived Microparticles; Coronary Heart Disease; Risk Factors

[ABSTRACT] Monocyte-derived microparticles (MMP) are small bubble-shaped particles released by stressed monocyte. MMP have multiple functions, such as causing endothelia dysfunction, proinflammatory activity and procoagulant activity, which play an important role in the process of the pathology of coronary heart disease. At the same time, some risk factors of coronary heart disease can promote the generation of MMP. Therefore, MMP have the potential to become the new diagnostic criteria and therapeutic targets of coronary heart disease. This paper mainly summarizes new research progress of relationship between MMP and coronary heart disease as well as risk factors.

微囊泡化是一种普遍存在的细胞机制。在生理和病理条件下,各类细胞可以产生不同数量的微囊泡,并发挥不同的生物学作用。循环中单核细胞在动脉粥样硬化过程中发挥着关键性的作用^[1]。单核细胞应激后释放的单核细胞源性微囊泡(monocyte-derived microparticles, MMP)能够引起内皮细胞功能异常,并具有促炎活性和促凝血活性。Matsumoto 等^[2]研究发现,急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)患者外周血中 MMP 数量 $[(164.2 \pm 25.3)/10^4 \text{plt}]$ 较稳定型心绞痛组 $[(73.4 \pm 11.5)/10^4 \text{plt}]$ 和正常对照组 $[(28.5 \pm 9.2)/10^4 \text{plt}]$ 显

著升高,且血清氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)抗体浓度高于 13.9AcU/mL 的 ACS 患者 MMP 数量较 ox-LDL 抗体浓度低于 13.9AcU/mL 的 ACS 患者明显增加,说明 MMP 水平升高可能是 ACS 患者动脉粥样硬化发展的标志。Suades 等^[3]研究显示,急性 ST 段抬高型心肌梗死(ST-elevation myocardial infarction, STEMI)患者外周血中 MMP 含量较正常人和陈旧性心肌梗死患者均显著增高,缺血时间 $<3 \text{ h}$ 的 STEMI 患者罪犯冠状动脉腔内的 MMP 含量较外周血中显著增高,表明 MMP 可能是参与急性心肌梗死急性期病变血管内

[收稿日期] 2015-12-17

[修回日期] 2016-01-29

[基金项目] 天津市卫生局科技基金重点资助项目(2013KZ078)

[作者简介] 井永乐,硕士研究生,研究方向为冠心病的基础与临床,E-mail 为 lele8618@126.com。通讯作者郭绪昆,硕士,主任医师,研究方向为冠心病的基础与临床、心力衰竭及心律失常的诊断和治疗,E-mail 为 guoxukun2008@163.com。王伟,博士,主任医师,教授,硕士研究生导师,研究方向为冠心病的基础与临床、心力衰竭及心律失常的诊断和治疗,E-mail 为 greatwhlm@yahoo.com。

皮损伤、炎症反应和血栓形成的活性成分。Hoyer等^[4]用高脂肪食物喂养小鼠8周,并分别予MMP和赋形剂一周两次处理,通过对粥样斑块进行免疫组织化学染色观察到MMP处理组的小鼠血管壁内的粥样斑块面积较对照组明显增大。进一步研究发现MMP促进了血管内的单核细胞和T淋巴细胞向血管壁内浸润,单核细胞随之分化为巨噬细胞,同时MMP能够提高内皮细胞细胞间黏附分子1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)表达,促进血管壁内的巨噬细胞聚集,从而加快粥样斑块的形成,但MMP并未改变斑块的组成成分。体外研究显示MMP不能影响巨噬细胞的凋亡和增殖,但能够促进巨噬细胞释放促炎性细胞因子白细胞介素6(interleukin, IL-6),并增强巨噬细胞的氧化应激,从而促进斑块内的炎症反应,增加粥样斑块的不稳定性。现就MMP与冠心病及其危险因素关系的研究进展作一综述。

1 单核细胞源性微囊泡概述

1.1 单核细胞源性微囊泡的来源

微囊泡起初被描述为“细胞尘埃”,是各类细胞遭受一系列应激(细胞激活或细胞凋亡)时,由细胞膜出芽或起泡并释放入体液的大小为0.1~1.0 μm的微小囊泡状颗粒。目前有许多类型的微囊泡已被描述,研究最广泛的是从外周血获得的微囊泡,如血小板、内皮细胞、白细胞和红细胞起源的微囊泡。微囊泡的成分和生物学功能主要依赖于起源细胞的类型。MMP是单核细胞在激活或凋亡状态下释放的微小囊泡状颗粒,外周由脂质双层包裹,表面表达单核细胞特异性抗原如CD14、CD16和CD64等,内含单核细胞源性的细胞器、核酸、蛋白质等活性物质。

1.2 单核细胞源性微囊泡的产生机制

在生理状态下,大多数细胞仅会释放少量的微囊泡。当细胞受到刺激时,微囊泡的分泌数量增多。化学刺激(如细胞因子、胆固醇富集和烟草烟雾暴露等)和物理刺激(如缺氧刺激、高剪切应力等)可以引起单核细胞表面受体活化或细胞凋亡^[5-6],使细胞内钙离子增加,在钙离子依赖的细胞降解酶(即钙蛋白酶)的作用下,细胞骨架被破坏,导致细胞膜破裂,同时细胞膜脂质双层磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)在外翻酶的作用下由内膜异位至外膜,继而脂筏内蛋白分离并形成MMP^[7]。

2 单核细胞源性微囊泡的分离检测

微囊泡的定性和定量对于建立统一的研究标准是十分重要的。目前,微囊泡的检测方法主要有流式细胞法、显微镜检测法、酶联免疫吸附法及色谱法等。其中,流式细胞法由于具有分析速度快、可同时对检测对象进行定性及定量分析等特性,已成为当今检测细胞源性微囊泡最常用的检测方法。

微囊泡的检测结果容易受到外界因素的影响,如静脉穿刺,血样收取至处理的时间,抗凝剂,离心方法和洗涤程序,血粘度以及血液中其它微小颗粒的干扰等,故建议使用直径相对较大的针头抽取血样,并用含有柠檬酸钠、柠檬酸、乙二胺四乙酸、茶碱、腺苷和双嘧达莫的抗凝血管收集血液,取血后应立即用离心机相继以预设的不同速度离心得到无血小板血浆。由于MMP表面表达有单核细胞特异性抗原CD14,因此向无血小板血浆中加入荧光标记的抗CD14抗体,流式细胞仪的激光光束经过特异荧光素标记的MMP后,能够得到一种荧光信号,通过对这类荧光信号的检测和定量分析就能检测出MMP的含量。但因为流式细胞仪的前向散射灵敏度有限,使部分直径较小的微囊泡不能被检测到,导致MMP的检测水平可能会略小于其真实值^[8]。所以,仍然需要更多的研究去探索更加准确的检测方法。

3 冠心病发生发展过程中单核细胞源性微囊泡的生物学作用

3.1 单核细胞源性微囊泡引起内皮细胞功能异常

内皮细胞具有多种功能,包括抗炎、抗凝血、抗血栓、控制血管张力和维持血管壁渗透性。内皮细胞功能异常被认为是冠心病的初始过程,也是动脉粥样硬化病理过程的一个重要因素。已经有报道证实多种类型血细胞起源的微囊泡均能够损伤内皮细胞功能。其中,MMP对内皮细胞的作用具有多效性。Aharon等^[9]将人类急性单核细胞白血病细胞株1(human acute monocytic leukemia cell line, THP-1)产生的MMP与内皮细胞共同孵育,使用显微镜和荧光辅助细胞筛选分析法进行观察、评估,结果发现MMP能够与内皮细胞膜黏附,并在内皮细胞骨架内被消化,而内皮细胞则出现多种细胞凋亡标志,包括内皮细胞变形伸长形成细胞间距、膜翻转、阴离子磷脂酰丝氨酸暴露和释放内皮细胞源性微囊泡,且内皮细胞的细胞核降解也明显增加,促进了内皮细胞的死亡。随着MMP数量增加或孵

育时间的延长,内皮细胞的凋亡和死亡数量逐渐增加。Essayagh 等^[10]发现低浓度的 MMP 可以通过 P38 丝裂原活化蛋白激酶 (P38 mitogen-activated protein kinase, P38 MARK) 信号通路诱发内皮细胞活性氧类,主要是阴离子超氧化物的产生。在亚毒性浓度下, MMP 引发内皮细胞表面的血管性假血友病因子快速表达,介导非活性血小板在流动状态下短暂黏附到内皮细胞。同时, MMP 能够上调内皮细胞组织因子 (tissue factor, TF) 的表达。由于活性氧类控制了这两个重要的过程,因此推测 MMP 能够在内皮细胞产生氧化还原信号而促进血栓形成事件的发生。因此, MMP 可以通过多种途径影响内皮细胞功能,促进动脉粥样硬化以及血栓形成事件的发生和发展。

3.2 单核细胞源性微囊泡的促炎性作用

炎症反应是动脉粥样硬化过程的关键环节,在斑块发展、斑块破裂和血栓形成过程中均发挥着关键性作用。微囊泡可通过促进多种炎症介质释放和细胞黏附分子的表达参与动脉粥样硬化期间的炎症反应。循环中单核细胞是炎症反应过程中的重要炎症细胞。在动脉粥样硬化形成期间,单核细胞渗透到血管壁内皮细胞形成炎症,并伴有 MMP 的释放^[4]。Bardelli 等^[11]使用钙离子载体刺激单核细胞产生 MMP,再将其分别处理单核细胞和巨噬细胞,结果发现,单核细胞及巨噬细胞均产生了超氧化物阴离子、细胞因子 IL-6 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α),其核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 信号传导通路也被激活,且以上三种效应均与 MMP 呈剂量依赖关系,充分说明了 MMP 的促炎性效应。Wang 等^[12]在研究 THP-1 产生的 MMP 时发现,内毒素处理组较未处理对照组产生的 MMP 内含有更多的具有促炎活性的细胞因子 IL-1 β ,以及炎症复合体的组成成分 caspase-1、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3)。MMP 能够促进内皮细胞表达 ICAM-1,并与内皮细胞融合将其炎性成分传递给内皮细胞,从而增强内皮细胞的炎症反应,这也说明了 MMP 的促炎活性与单核细胞的刺激因素具有一定关系。由于内毒素与冠心病的发生发展同样密切相关^[13],因此冠心病发展过程中的血浆 MMP 可通过其促炎活性加强动脉粥样硬化期间的炎症反应。

3.3 单核细胞源性微囊泡的促凝血活性

凝血活性增高与冠心病发病密切相关。组织因子是凝血过程的主要引发剂,通过与因子 VII/VIIa 结合而启动血液凝固级联反应。在病理状态下,微

囊泡会产生大量组织因子,而循环中含有组织因子的微囊泡主要来源于活化的单核细胞^[14]。此外,微囊泡表面含有带负电荷的 PS,提供了大量的凝血因子 IIa、Va、VIII 和 IXa 结合位点,作为一个装配凝血酶原复合物的催化面,促进凝血酶的生成。PS 还能够增大组织因子的活性,两者在促凝血活性方面起到协同作用。因此,循环中的 MMP 是引起血液高凝和血栓形成的重要因素之一。Oehmcke 等^[15]为了检测 MMP 的促凝活性,使用内毒素刺激单核细胞产生 MMP,并将其分别加入正常复钙血浆、去 XII 因子血浆和去 VII 因子血浆中观察凝血时间,结果显示正常复钙血浆组和去 XII 因子血浆组凝血时间无明显差异,但都较对照组显著减少;去 VII 因子血浆组与正常复钙血浆组和去 XII 因子组相比,凝血时间增加了大约 5 倍,但仍明显短于对照组,说明 MMP 可通过外源性凝血途径和内源性凝血途径两种方式促进血液凝固。进一步研究 MMP 的促凝血成分发现,PS 在酶联蛋白 V 的介导下转移到微囊泡外膜,且表面表达有大量的组织因子,两者共同促进了凝血反应。MMP 不仅本身具有强大的凝血功能,也能增强其他组织细胞的凝血活性。Aharon 等^[9]研究发现, MMP 能够增加内皮细胞组织因子活性和数量,减少抗凝血组织因子抑制物和血栓调节蛋白水平,从而提高内皮细胞的促凝活性。因此, MMP 能够通过促进凝血反应而参与冠心病的发展。

4 冠心病危险因素促进单核细胞源性微囊泡的产生

吸烟、脂代谢紊乱、糖尿病和高血压等是导致动脉粥样硬化的主要危险因素,其主要通过氧化应激引起内皮功能失调,是导致心血管疾病发病的重要因素。同时,氧化应激对于 MMP 的产生也发挥着重要作用^[11]。Li 等^[6]发现,香烟提取物刺激单核细胞后,线粒体氧化应激增加,产生 MMP,应用其相应抑制剂能够降低氧化应激并减少 MMP 的生成。Omoto 等^[16]研究发现,2 型糖尿病患者 MMP 含量较正常人显著升高。Hjuler 等^[17]研究发现,家族性高胆固醇血症患者血浆 MMP 含量升高,相关分析显示 MMP 含量与 LDL、ox-LDL 均呈正相关。张晓等^[18]则在体外研究中,分别使用高糖、高脂刺激 THP-1 后检测 MMP 含量,结果显示高糖组和高脂组 MMP 水平较对照组均显著升高。在进一步研究 MMP 产生机制的试验中,通过检测高糖、高脂刺激后 THP-1 细胞内活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 水平发现,高糖组刺激 2 h 后 ROS 的产生达峰

值,为对照组的3倍;高脂组刺激2 h后ROS的产生达峰值,为对照组的7倍。而在高糖、高脂组中分别加入抗氧化剂后再刺激THP-1,两组中MMP含量较对照组均无显著差异,充分说明了氧化应激是在高糖高脂刺激下产生MMP的重要机制。氧化应激在高血压的发病机制及并发症中均具有重要作用,Nomura等^[19]研究证实了高血压患者血清MMP水平较血压正常人显著升高。因此,吸烟、糖尿病、高脂血症、高血压均可以刺激MMP的生成从而进一步加快粥样硬化病变发展进程。此外,Gustafson等^[20]研究表明,年龄和性别变化均不会影响外周血中MMP的含量。C反应蛋白(C-reactive protein,CRP)和同型半胱氨酸(homocysteine,Hcy)作为冠心病发病的独立危险因素,均能够增强机体内的氧化应激反应^[21-22],但其与MMP之间的相关性尚需要进一步研究。

5 小结与展望

综上所述,MMP参与了动脉粥样硬化以及血栓形成的发生发展过程。冠心病危险因素如吸烟、糖尿病、高血压、高血脂等,能够促进MMP的产生。因此我们推断,血清中升高的MMP有可能成为诊断冠心病的新指标,并可用于冠心病的危险分层。控制冠心病危险因素可能会通过减少MMP的产生而延缓动脉粥样硬化的发展,减少冠状动脉内血栓形成事件的发生。但是,目前针对MMP的研究还缺乏大规模的临床试验,其是否能作为未来治疗动脉粥样硬化的靶点还有待进一步研究证实。

[参考文献]

- [1] 杨阳. 单核细胞表型与动脉粥样硬化关系的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(8): 702-706.
- [2] Matsumoto N, Nomura S, Kamihata H, et al. Increased level of oxidized LDL-dependent monocyte-derived microparticles in acute coronary syndrome [J]. *Thromb Haemost*, 2004, 91(1): 146-154.
- [3] Suades R, Padro T, Crespo J, et al. Circulating microparticle signature in coronary and peripheral blood of ST elevation myocardial infarction patients in relation to pain-to-PCI elapsed time [J]. *Int J Cardiol*, 2016, 202: 378-387.
- [4] Hoyer FF, Giesen MK, Nunes Franca C, et al. Monocytic microparticles promote atherogenesis by modulating inflammatory cells in mice [J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(11): 2777-788.
- [5] Ayers L, Nieuwland R, Kohler M, et al. Dynamic microvesicle release and clearance within the cardiovascular system: triggers and mechanisms [J]. *Clin Sci*, 2015, 129(11): 915-931.
- [6] Li M, Yu D, Williams KJ, et al. Tobacco smoke induces the generation of procoagulant microvesicles from human monocytes/macrophages [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(9): 1818-824.
- [7] Morel O, Jesel L, Freyssinet JM, et al. Cellular mechanisms underlying the formation of circulating microparticles [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(1): 15-26.
- [8] Nolan JP. Flow cytometry of extracellular vesicles: potential, pitfalls, and prospects [J]. *Curr Protoc Cytom*, 2015, 73(13): 1-13.
- [9] Aharon A, Tamari T, Brenner B. Monocyte-derived microparticles and exosomes induce procoagulant and apoptotic effects on endothelial cells [J]. *Thromb Haemost*, 2008, 100(5): 878-885.
- [10] Essayagh S, Xuereb JM, Terrisse AD, et al. Microparticles from apoptotic monocytes induce transient platelet recruitment and tissue factor expression by cultured human vascular endothelial cells via a redox-sensitive mechanism [J]. *Thromb Haemost*, 2007, 98(4): 831-837.
- [11] Bardelli C, Amoruso A, Federici Canova D, et al. Autocrine activation of human monocyte/macrophages by monocyte-derived microparticles and modulation by PPARgamma ligands [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(3): 716-728.
- [12] Wang JG, Williams JC, Davis BK, et al. Monocytic microparticles activate endothelial cells in an IL-1beta-dependent manner [J]. *Blood*, 2011, 118(8): 2366-374.
- [13] Kallio KA, Hatonen KA, Lehto M, et al. Endotoxemia, nutrition, and cardiometabolic disorders [J]. *Acta Diabetol*, 2015, 52(2): 395-404.
- [14] Owens AP, Mackman N. Microparticles in hemostasis and thrombosis [J]. *Circ Res*, 2011, 108(10): 1284-297.
- [15] Oehmcke S, Morgelin M, Malmstrom J, et al. Stimulation of blood mononuclear cells with bacterial virulence factors leads to the release of pro-coagulant and pro-inflammatory microparticles [J]. *Cell Microbiol*, 2012, 14(1): 107-119.
- [16] Omoto S, Nomura S, Shouzu A, et al. Detection of monocyte-derived microparticles in patients with Type II diabetes mellitus [J]. *Diabetologia*, 2002, 45(4): 550-555.
- [17] Hjuler Nielsen M, Irvine H, Vedel S, et al. Elevated atherosclerosis-related gene expression, monocyte activation and microparticle-release are related to increased lipoprotein-associated oxidative stress in familial hypercholesterolemia [J]. *PLoS One*, 2015, 10: 4.
- [18] 张晓, 孙丽荣, 李明珍, 等. 高糖高脂刺激单核细胞产生微囊泡及初步机制[D]. 天津医科大学, 2013; 1-66.
- [19] Nomura S, Inami N, Kimura Y, et al. Effect of nifedipine on adiponectin in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *J Hum Hypertens*, 2007, 21(1): 38-44.
- [20] Gustafson CM, Shepherd AJ, Miller VM, et al. Age- and sex-specific differences in blood-borne microvesicles from apparently healthy humans [J]. *Biol Sex Differ*, 2015, 6: 10.
- [21] Liu H, Yang Y, Huang G, et al. Positive association of pro-inflammatory biomarkers and increased oxidative stress in the healthy elderly [J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2012, 54(2): e8-e12.
- [22] Derouiche F, Bole-Feysot C, Naimi D, et al. Hyperhomocysteinemia-induced oxidative stress differentially alters proteasome composition and activities in heart and aorta [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 452(3): 740-745.

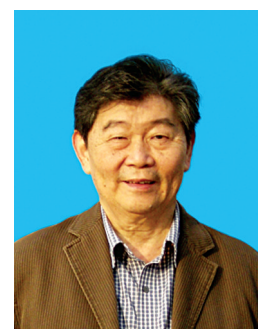
中国动脉粥样硬化研究纪事(十)

杨永宗, 刘录山

(南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001)

[专家介绍] 杨永宗, 南华大学病理生理学教授, 博士研究生导师, 享受国务院特殊津贴专家, 《中国动脉硬化杂志》名誉主编。曾任中国病理生理学会理事, 中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会主任委员, 国际动脉粥样硬化学会中国分会主席。长期从事动脉粥样硬化病因发病学和动脉粥样硬化防治的实验研究。在国内外发表学术论文 200 多篇, 5 次获得省部级科技成果奖。主编《动脉粥样硬化性心血管病基础与临床》(第二版) 和《Advances in Atherosclerosis Research》专著两部。

刘录山, 博士, 教授, 博士研究生导师。动脉硬化化学湖南省重点实验室副主任, 南华大学心血管疾病研究所副所长。中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会常务委员兼秘书长, 国际动脉粥样硬化学会中国分会理事兼秘书长, 中国细胞生物学会医学细胞生物学分会委员。湖南省新世纪 121 人才工程和湖南省“225”工程高层次卫生人才人选。《中南医学科学杂志》编委, 《Nutrition & Metabolism》特邀审稿人, 《中国动脉硬化杂志》编委。长期从事《病理生理学》、《分子生物学》和《心血管病理生理学》等教学。主要研究方向是动脉粥样硬化病因发病学与防治基础。主持和完成国家自然科学基金 2 项, 湖南省自然科学基金、湖南省“十一五”教育科学规划课题等多项。在《Mol Cell Biochem》、《Int J Mol Med》、《Artif Cell Blood Substit Biotechnol》等杂志发表论文 50 余篇。



1999 年, Ross Russell^[1] 在损伤反应学说基础上, 基于大量的实验证据, 就炎症在动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 中的作用做了综合论述, 使得 As 的最古老的学说之一——炎症学说得到了更新与丰富, 重新焕发出崭新的生命。上世纪 80 年代, 临床研究发现, 诸多发生急性冠状动脉事件的患者, 影像学上冠状动脉狭窄的程度并未超过 50%, 而尸检发现这些因急性冠状动脉事件死亡的患者大多发生了斑块破裂和血栓形成, 由此 Fisher 等^[2] 和 Fuster 等^[3] 提出了“斑块破裂” (plaque disruption/plaque rupture) 的概念, Muller 等^[4-5] 提出了“易损斑块” (vulnerable plaque) 概念。新炎症学说和斑块破裂概念的提出是此阶段国际动脉粥样硬化研究领域最重要的事件, 是对动脉粥样硬化发病机制和导致临床事件的重新认识, 在此后持续至今的时间里, 成为指导国际动脉粥样硬化研究的主流观点。这些概念和学说也深深地影响了中国动脉粥样硬化研究的方向。除此之外, 由于介入性治疗在动脉粥样硬化性疾病中的广泛应用, 由此而导致的经皮冠状动脉腔内血管成形术 (percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA) 术后再狭窄

和支架内再狭窄也是此阶段国内外研究的一个热点方向。

1 科学研究

1.1 L-精氨酸/一氧化氮通路抗动脉粥样硬化研究

L-精氨酸对动脉粥样硬化的影响是此阶段比较突出的一个研究领域^[6-7], 其中以衡阳医学院杨永宗教授等研究比较系统。杨永宗教授等^[8] 应用病理学、病理生理学、生物化学、药理学、细胞和分子生物学等手段, 从整体、器官、组织、细胞及分子等不同水平探索了 L-精氨酸/一氧化氮通路对动脉粥样硬化的防治作用及可能机制。结果发现, L-精氨酸对动脉粥样硬化具有多种作用。首先, 它可调节内皮细胞氧化应激状态, 如抑制氧自由基的生成。其次, 它能拮抗血清低密度脂蛋白氧化修饰。第三, 它抑制细胞黏附分子 1 的释放。第四, 它阻抑粒细胞和血小板的黏附和聚集。第五, 它通过促进组织型纤溶酶原激活物的释放和抑制纤溶酶原激活物抑制剂的合成及释放来调节血凝/纤溶功能。第

[收稿日期] 2016-03-10

[修回日期] 2016-07-15

[基金项目] 南华大学基础医学湖南省重点学科、动脉硬化化学湖南省重点实验室开放课题、南华大学资助。

六,它通过调节内皮细胞自分泌和/或旁分泌内皮素和血管紧张素 I,从而调节血管舒缩状态及内皮通透性。第七,L-精氨酸/一氧化氮通路对动脉粥样硬化病变过程中内膜增生、斑块形成和血管闭塞等事件中与细胞增殖和细胞凋亡关系密切的原癌基因和抗癌基因的表达失衡具有调节作用。在抗动脉粥样硬化方面,L-精氨酸的药效优于消心痛和硝苯吡啶。以上研究结果表明,L-精氨酸/一氧化氮通路抗动脉粥样硬化的作用是多环节的、多层次的,L-精氨酸/一氧化氮通路的障碍是动脉粥样硬化病变的重要始动环节,适时调节 L-精氨酸/一氧化氮通路将是防治动脉粥样硬化的重要手段。此系列研究 1999 年获得了卫生部科技进步二等奖(图 1)。



图 1. 杨永宗等《L-精氨酸/一氧化氮通路抗动脉粥样硬化研究》获得卫生部科技进步二等奖。

1.2 动脉粥样硬化分子和细胞病理形态学研究

进入 1990 年以后,很多从事 As 病理形态学研究的专家退休或转行,加上尸检量减少,研究材料来源困难,传统的纯粹以 As 斑块检出为目标的大体病理形态学研究日渐式微,取而代之的是分子和细胞病理形态学研究。而 PTCA 和血管内支架等介入治疗应用于动脉粥样硬化性疾病,使得心血管介入治疗后再狭窄的病理学研究兴起。此阶段最具代表性的研究是斑块破裂和它所引起的急性冠状动脉综合征的病理形态学及细胞分子机制研究,以及 PTCA 术后再狭窄和血管内支架再狭窄的病理形态学及细胞分子机制研究。在斑块破裂研究方面,解放军总医院韦立新等^[9]进行了系列研究:(1)对冠状动脉斑块中炎性细胞和平滑肌细胞作了定量,探讨其与斑块稳定性的关系,同时还对稳定型和不稳定型心绞痛患者冠状动脉斑块形态、狭窄程度作了对比研究。(2)探讨了基质金属蛋白酶 1(MMP-1)与冠状动脉 As 斑块破裂的关系,冠状动脉 As 斑块

内血管新生与斑块稳定性的关系,并进行了冠状动脉 As 斑块破裂的临床危险因素分析。(3)发现稳定型心绞痛患者冠状动脉斑块大部分为纤维性斑块(稳定型斑块),斑块由致密的纤维组织构成,斑块内没有或仅有很小的脂质坏死中心,脂质中心表面的纤维帽较厚。不稳定型心绞痛和急性心肌梗死患者冠状动脉病变主要为不稳定斑块,斑块内可见较大的脂质坏死中心,超过斑块面积的 40%,斑块表面的纤维帽非常薄,并且在两侧肩部含有较多的炎细胞。新生血管主要分布在斑块的肩部和基底部,纤维帽相对较少。不稳定斑块组各部位的新生血管最大密度均显著大于稳定斑块组的相应部位。需要指出的是,虽然中国科学家在斑块破裂的病理形态学和细胞分子机制方面进行了有价值的研究,但很遗憾在 2003 年提出易脆斑块和易脆病人的定义及风险评估的国际共识作者名单中,并未出现中国本土科学家的名字。这也提醒中国科学家应该更加重视和加强国际学术交流,在相关国际标准和指南等制订中发出中国学术界的的声音。在再狭窄研究方面,发现再狭窄主要由下述 3 方面原因所造成^[9]:(1)损伤反应所致的平滑肌细胞过度增殖及细胞外基质大量形成;(2)血管重塑(remodeling)所致的结构紊乱,主要表现为早期的弹性收缩(elastic recoil)和晚期的血管重塑性狭窄;(3)损伤部位血小板、纤维素沉积致血栓形成以及随之而来的血栓机化。但正如韦立新教授指出,遗憾的是国内用人体材料进行介入治疗后的病理学研究几乎为空白,上述结论基本来自动物实验研究。

1.3 炎症学说指导下的肺炎衣原体感染与动脉粥样硬化研究

动脉粥样硬化免疫炎症学说的重新兴起,使得病原微生物如巨细胞病毒、肺炎衣原体(chlamydia pneumoniae, Cpn)和牙周菌等在动脉粥样硬化发病机制中作用的研究受到重视。国内 Cpn 与动脉粥样硬化关系研究主要涉及到 4 个方面:(1) Cpn 感染与冠心病关系研究^[10-12]。主要是应用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)和间接微量免疫荧光检测冠心病患者血清中 Cpn 和抗 Cpn IgG 和 IgM 抗体水平。这些流行病学结果表明 Cpn 感染与冠状动脉粥样硬化性心脏病存在一定的联系,不足之处是样本量较小。(2)动脉粥样硬化斑块中 Cpn 的检测。雷小勇等^[13]利用 PCR 法从成人冠状动脉左前降支粥样硬化斑块中检测出 Cpn,阳性率为 43.75%,正常冠状动脉中未检出。鲁刚等^[14]利用 PCR 法从主动脉粥样硬化病灶检测出 Cpn,阳性率

为 33.75%, 正常冠状动脉中检出率为 3.8%。这些结果表明肺炎衣原体感染与动脉粥样硬化有明显相关性。(3) 利用 Cpn 感染诱导建立动脉粥样硬化模型。王卫群等^[15] 用 Cpn 经鼻腔感染新西兰兔并同时予以高脂饮食。结果发现 Cpn 可能会助长和加重高脂饮食动物的动脉粥样硬化。(4) Cpn 与动脉粥样硬化关系的机理研究。金俊飞等^[16] 将 Cpn 与 C57 BL/6J 小鼠腹膜巨噬细胞培养 72 h 后用油红 O 方法染色观察细胞的形态变化并测定细胞内胆固醇的含量。结果发现 Cpn 能使 C57 BL/6J 小鼠腹膜巨噬细胞胞浆内脂质颗粒增多, 胆固醇酯占总胆固醇的比例增加, 表明 Cpn 能促进 C57 BL/6J 小鼠腹膜巨噬细胞泡沫化。金俊飞等^[17] 进一步研究了 Cpn 促巨噬细胞泡沫化的机制, 证实脂质过氧化是肺炎衣原体促进巨噬细胞泡沫化的机制之一。

1.4 模型研究

1.4.1 动脉粥样硬化转基因实验动物模型建立

1995 年, 中国协和医科大学(中国医学科学院)余铭鹏教授指导博士研究生余立清建立了国内第一个动脉粥样硬化转基因动物模型^[18], 通过将人载脂蛋白 AI (apolipoprotein AI, Apo AI) 基因置于小鼠 MT-I 启动子控制之下, 构建了一个真核表达载体, 然后通过显微注射法, 将目的基因导入 C57 BL/6 背景小鼠受精卵中, 建立了人 Apo A I 转基因小鼠模型。2000 年, 衡阳医学院杨永宗教授指导博士研究生万腊香和香港大学合作建立了鼠 tie -1 启动子驱动人清道夫受体 A I 在血管内皮细胞特异性表达的转基因鼠, 并发现其具有动脉粥样硬化易感性^[19]。2000 年尹卫东和杨永宗教授等^[20] 在国际上率先建立了饮食诱发糖尿病合并动脉粥样硬化新西兰兔和小型猪模型, 受到国际同行高度关注, 丹麦哥本哈根大学兽医学博士、国际药理学专家 Larsen 女士等专程前来考察该模型(图 2)。

1.4.2 泡沫细胞模型建立 泡沫细胞是动脉粥样硬化病变的特征性细胞。在此阶段, 各种细胞源性泡沫细胞模型相继被建立。刘国庆等^[21] 利用中国仓鼠卵细胞, 刘尚喜等^[22] 利用 NIH 小鼠腹腔巨噬细胞, 杨永宗等^[23-25] 利用 C57 BL/6 小鼠腹膜巨噬细胞、猪主动脉平滑肌细胞和 U937 细胞(图 3), 朱宇等^[26] 利用 THP-1 单核细胞经佛波酯诱导成巨噬细胞, 张春妮等^[27] 利用 J774 巨噬细胞, 分别建立了氧化型低密度脂蛋白孵育诱导的泡沫细胞模型。其中杨永宗等建立的 U937 泡沫细胞模型被中国药品生物制品检定所用于检测高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 活性^[28], 在 U937 泡沫细胞



图 2. 丹麦哥本哈根大学兽医学博士、国际药理学专家 Larsen 女士等专程前来考察。

模型基础上建立起来的细胞内胆固醇高效液相色谱测定法^[29] 成为国内测定细胞内胆固醇的标准方法而被国内研究机构广泛采用。

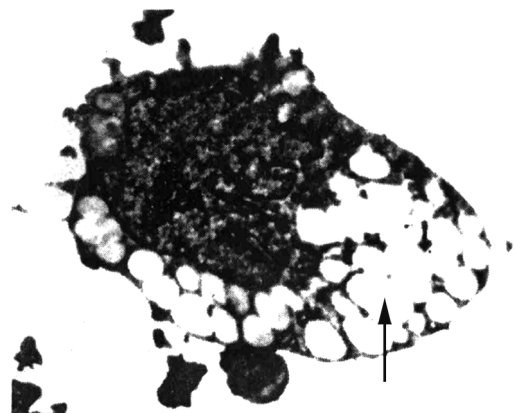


图 3. 李全忠等建立的 U937 泡沫细胞模型电镜照片。

1.5 国宝大熊猫动脉粥样硬化病理形态观察

自发性或实验性动脉粥样硬化可发生于人、猪、兔、小鼠和鹌鹑等诸多动物, 那么在中国国宝大熊猫中的发生情况如何呢? 1995 年, 高齐豫等^[30] 报告了这一特有珍稀物种中动脉粥样硬化病变情况。高齐豫等观察了 7 例因各种原因死亡大熊猫, 结果在 3 只 20 岁以上老龄大熊猫中发现(图 4): 动脉粥样硬化病变主要见于主动脉, 尤其是主动脉弓; 病变中既可见动脉内膜小泡状水肿的早期病变和纤维斑块形成的后期病变。病灶内虽有脂质和胆固醇堆积, 但未见粥样硬化斑块和复合性病变, 而且后期的纤维斑块中胆固醇结晶很少, 仅在平滑肌细胞内见到微细的脂质粒, 作者推测可能是病变消退过程, 中膜纤维化和软骨化而不是钙化, 这是与其它动物或人类的动脉粥样硬化病变不同之处。

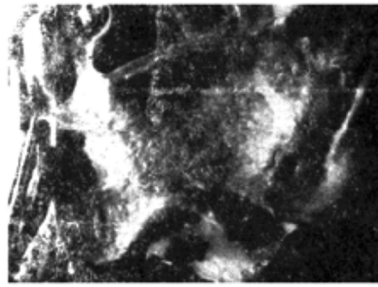


图1 初期病变 主动脉弓内膜泡状水肿。
Fig. 1 Lesions of initial stage. Blister-like edema on the intima surface of arcus aorta.

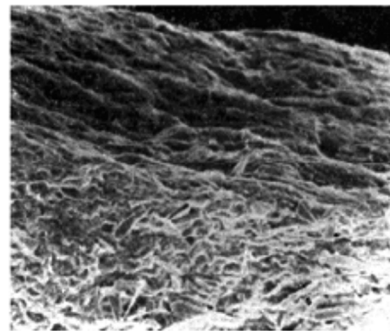


图2 扫描电镜 主动脉弓, 内膜肿胀(上) 内皮下纤维蛋白层叠和胆固醇结晶堆积(下)。
Fig. 2 Scanning electronograph. Arcus aorta. Intima swelled (above), fibrin layer and cholesterol crystal in the subendothelial tissue (below). × 170.



图3 后期病变 主动脉弓内膜上纤维斑块。
Fig. 3 Lesions of later stage. Fibrotic plaque in the intima of arcus aorta.



图4 肾动脉内膜局灶性纤维结缔组织增生(↓)。
Fig. 4 Focal proliferation of fibrous connective tissue(↓)in the arteria renalis. H-E. × 16.5

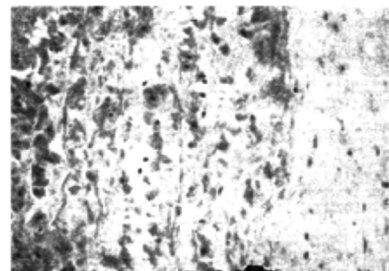


图5 主动脉弓内膜水肿(1), 弹性纤维断裂, 平滑肌细胞增生并移向内膜(2)。
Fig. 5 Arcus aorta. Intima edema (1). Disruption of smooth muscle cells and some of which migrated into the intima (2). H-E. × 41.25

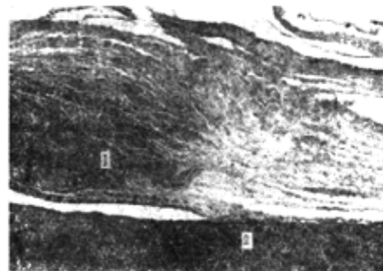


图6 内膜表面附壁性血栓机化(1)、主动脉壁(2)。
Fig. 6 Adhesive organized thrombus on the intimal surface (1), aorta wall (2) .

图4. 大熊猫动脉粥样硬化病变。

2 会议

1998年5月17日~22日,中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会和中国生物化学学会脂蛋白专业委员会在浙江杭州联合举办了全国第五届脂蛋白和动脉粥样硬化学术研讨会^[31],会议具体情况见图5。此次会议的联合主办是基于脂质代谢和动脉粥样硬化之间的紧密联系而进行的一次

尝试。

1997年10月5日~9日在巴黎召开第11届国际动脉粥样硬化会议,中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会主任委员蔡海江参加学术顾问委员会,蔡海江教授和范乐明教授出席了此次国际会议(图6)。

1997年1月,《中国动脉硬化杂志》组建了第二届编委会(图7)。



全国第五届脂蛋白动脉粥样硬化学术研讨会在杭州召开

全国第五届脂蛋白和动脉粥样硬化学术研讨会于 1998 年 5 月 17~22 日在杭州召开。会议由中国生物化学学会脂蛋白专业委员会和中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会联合举办,这次会议是我国关于脂蛋白和动脉粥样硬化研究影响最大,规模最大,水平最高的系列学术会议,每 3 年召开一次。大会接受有关论文 200 余篇,与会代表 160 余人,来自全国 20 多个省市。会议包括大会交流,由十几名专家作专题报告,就目前国外一些重点发展领域和前沿课题作了综述性的报告,代表们于小会上作了学术交流,内容包括:脂蛋白和动脉粥样硬化的研究,分子生物学,受体、细胞因子和酶,氧化修饰脂蛋白,高脂血症和动脉粥样硬化的中西药治疗,脂蛋白代谢,脂蛋白(a)和载脂蛋白 E 等内容。大会还改选了两个专业委员会,推选陈保生教授为第五届中国生物化学学会脂蛋白专业委员会主任委员,蔡海江教授继续担任第五届中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会主任委员。这次会议内容丰富,水平较高,在转基因动物模型,基因治疗,新基因的筛选等前沿领域,取得了一定的进展,对于我国脂蛋白和动脉粥样硬化的研究方向,具有指导作用。

张涛

图 5. 全国第五届脂蛋白和动脉粥样硬化学术研讨会。



图 6. 蔡海江教授和范乐明教授参加第 11 届国际动脉粥样硬化会议。

《中国动脉硬化杂志》第二届编委会 (1997 年 1 月)

- 名誉主任委员: 蔡海江*
- 主任委员(兼主编): 杨永宗*
- 副主任委员: 唐朝枢*, 邓仲端*
- 编辑委员(以下按姓氏笔画排列)
- 韦立新*, 王宗立*, 王孝铭, 邓满平, 卢兴, 刘秉文, 刘德文*, 朱晓东, 吕俊升, 陈琪*, 陈瑶, 陈文培, 陈保生, 陈铁镇, 沈卫峰, 李元建, 吴可贵, 吴其夏, 吴葆杰, 吴满平*, 杨小毅, 杨和平*, 林曙光*, 周群, 范乐明 *胡必利*(专职副主编), 胡维诚, 赵水平, 徐也鲁, 涂玉林, 夏辉明, 黄士通, 黄永麟, 温进坤, 楼定安*, 廖端芳*
- 注: 姓名右上角打“*”者为常务编辑委员。

图 7. 《中国动脉硬化杂志》第二届编委会名单。

3 课题与成果

此阶段开始,科研人员开始重视科研课题的申报。以国家自然科学基金为例,以“动脉粥样硬化”

作为查询主题词,分析 1995 年~2000 年间项目情况(图 8)。从中可以看出,1995 年以后,无论是中标数量,还是获资助金额都呈逐年上升趋势。1997 年,中国医学科学院吴其夏教授牵头申报的“血管

损伤的发病机制及其在常见疾病中的作用”(No: 39730220)是笔者查询到的与动脉粥样硬化研究相关的第一个国家自然科学基金重点项目。2000年北京医学部唐朝枢教授牵头申报的“心脑血管疾病发病和防治的基础研究(No:G2000056900)”是与动脉粥样硬化研究相关的第一个《国家重点基础研究发展规划》项目即“973项目”。这些科研项目一方面稳定了动脉粥样硬化已有的研究队伍,另一方面也吸引了大量年轻的科研工作者投入到动脉粥样硬化研究领域,如徐仓宝教授、廖端芳教授、黎健教授和凌文华教授等都是比较早期的国家自然科学基金获得者,至今仍活跃在动脉粥样硬化研究领域。

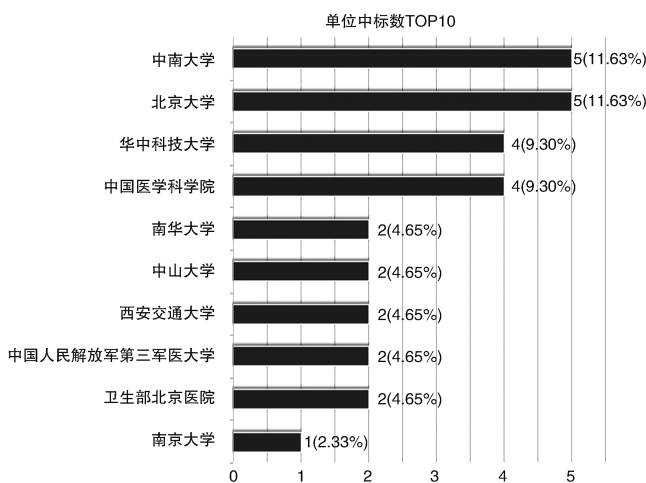
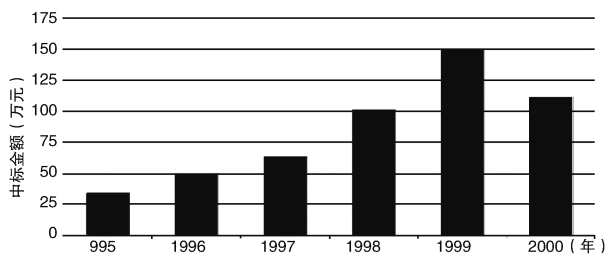
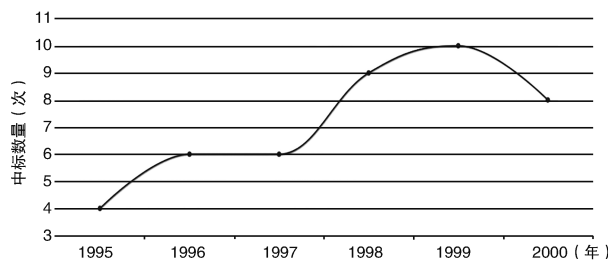


图 8. 1995-2000 年间动脉粥样硬化研究领域国家自然科学基金资助情况。

在研究成果方面,除了前面提及衡阳医学院杨永宗教授的卫生部成果之外,另一重要成果就是中国医学科学院基础医学研究所余铭鹏教授领衔获得的国家科技进步二等奖“载脂蛋白 A I (apo A I) 抑制动脉粥样斑块形成”(图 9)。以及南京医科大学蔡海江教授等获得国家教委科技进步二等奖“高胆固醇血症和泡沫细胞形成分子机理研究”。



图 9. 余铭鹏教授等“载脂蛋白 A I (apo A I) 抑制动脉粥样斑块形成”研究获得国家科技进步二等奖。

4 专著与论文

1996年,南京医科大学蔡海江教授邀请国内部分动脉粥样硬化研究知名学者,编写出版了《动脉粥样硬化-基础与临床》(江苏科学技术出版社)(图 10)。该书是第一本比较全面介绍动脉粥样硬化研究的专著,正如衡阳医学院杨和平教授在书评中所写^[32]:该书的特点是综合了动脉粥样硬化的病理学、病理生理学、药理学、生物化学、分子生物学、临床诊断学和治疗学的现状,重点放在其他书籍涉及较少的动脉粥样硬化的发病学,尽量引用了细胞及分子生物学方面的研究成果;概论为书中的精华,阐明了国内外动脉粥样硬化研究的概况和展望,为同行们指明了努力的方向;动脉粥样硬化的病理学所述内容较其他书籍更具体;脂代谢章节新颖翔实;动脉粥样硬化的流行病学、发病学、临床表现、临床诊断和治疗章节系统深入;书中还突出了动脉粥样硬化本身的发生原因、发展机理、预防、诊断和治疗的特色。需要指出的是,这并非蔡教授第一本关于动脉粥样硬化的专著,此前 1982 年蔡教授就

组织编写了病理生理学丛书《动脉粥样硬化与冠心病》(人民卫生出版社)(图 11)。继续逐本溯源,1963 年,人民卫生出版社出版了来自前苏联的译著《动脉粥样硬化症》(图 12),该书侧重于动脉粥样硬化病因学和发病机制问题及其临床意义;1980 年,江苏科学技术出版社出版了来自前西德的译著《动脉粥样硬化及其消退过程》(图 13),该书侧重于动脉粥样硬化消退问题的讨论。

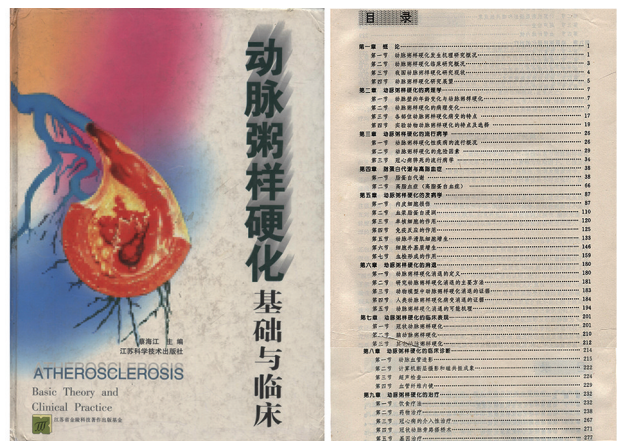


图 10. 蔡海江教授主编《动脉粥样硬化-基础与临床》(1996,江苏科学技术出版社)。

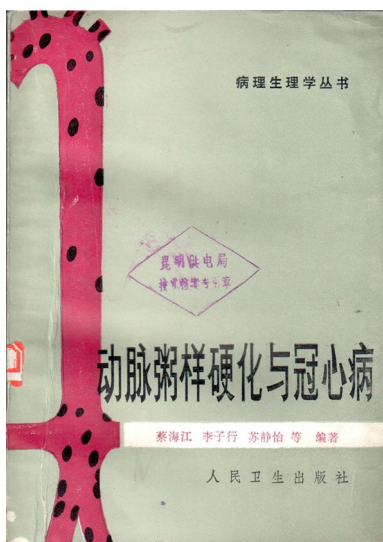


图 11. 蔡海江教授主编病理生理学丛书之一《动脉粥样硬化与冠心病》(1982,人民卫生出版社)。

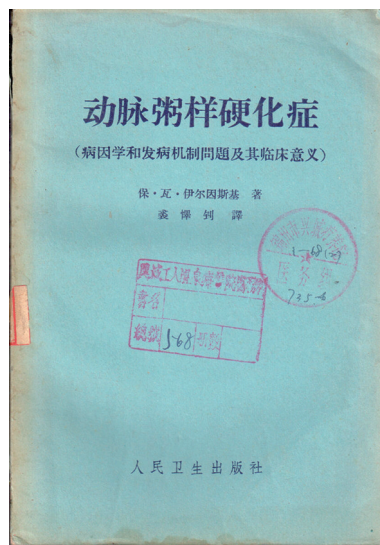


图 12. 保·瓦·伊尔因斯基著,袁泽列译。《动脉粥样硬化症》(1963,人民卫生出版社)。

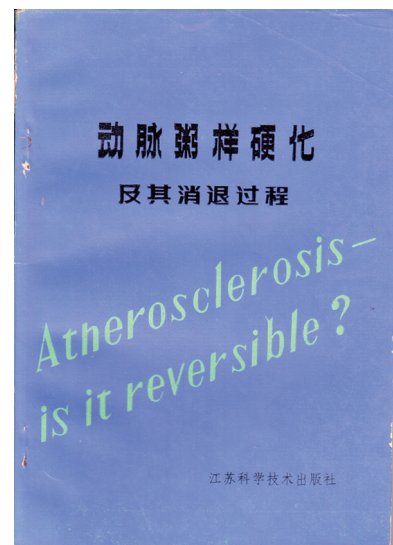


图 13. G 舍特勒等著,卢佩译。《动脉粥样硬化及其消退过程》(1980,江苏科学技术出版社)。

[参考文献]

- [1] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease [J]. N Engl J Med, 1999, 340(2): 115-126.
- [2] Fisher M, Blumenfeld AM, Smith TW. The importance of carotid artery plaque disruption and hemorrhage [J]. Arch Neurol, 1987, 44(10): 1086-1089.
- [3] Ambrose JA, Hjelm Dahl-Monsen CE, Fuster V, et al. Angiographic demonstration of a common link between unstable angina pectoris and non-Q-wave acute myocardial infarction [J]. Am J Cardiol, 1988, 61(4): 244-247.
- [4] Muller JE, Tofler GH, Stone PH. Circadian variation and triggers of onset of acute cardiovascular disease [J]. Circulation, 1989, 79(4): 733-743.
- [5] Muller JE, Abela GS, Nesto RW, et al. Triggers, acute risk factors and vulnerable plaques: the lexicon of a new frontier [J]. J Am Coll Cardiol, 1994, 23(3): 809-313.
- [6] 徐少平, 李鲁光, 唐朝枢, 等. 一氧化氮及其合酶在家兔粥样硬化动脉的改变及 L-精氨酸的作用 [J]. 中国动脉硬化杂志, 1999, 7(3): 197-200.
- [7] 霍玉庆, 徐成斌, 张杰, 等. L-精氨酸抑制高胆固醇饮食诱发的大鼠动脉血管细胞间黏附分子表达 [J]. 中国循环杂志, 1999, 14(1): 52-54.
- [8] 杨永宗, 杨和平, 戴爱国, 等. L-精氨酸/一氧化氮抗动脉粥样硬化的作用及机理 [J]. 中国动脉硬化杂志, 1997, 5(3): 258-264.
- [9] 韦立新, 阮秋蓉. 我国心血管病理五十年 [J]. 中华病理学杂志, 2005, 34(10): 616-618.
- [10] 金俊飞, 杨永宗, 张晓明, 等. 冠心病患者肺炎衣原体

- 感染的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2000, 16(10): 1019.
- [11] 罗显荣, 宁波, 王琳, 等. 冠心病患者血清肺炎衣原体特异性抗体的测定[J]. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8(3): 260-262.
- [12] 袁 佶, 余竹元, 黄土通. 冠状动脉粥样硬化性疾病患者肺炎衣原体抗体检测[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15(1): 12-13.
- [13] 雷小勇, 杨永宗, 杨和平. 成人冠状动脉左前降支粥样硬化斑块中检测出肺炎衣原体[J]. 中国动脉硬化杂志, 1997, 5(4): 323-326.
- [14] 鲁 刚, 冯根宝. 主动脉粥样硬化病灶与肺炎衣原体感染关系研究[J]. 江苏医药, 1999, 25(10): 732-733.
- [15] 王卫群, 袁 佶, 王岫南, 等. 家兔的肺炎衣原体感染和动脉粥样硬化模型[J]. 上海医科大学学报, 2000, 27(4): 292-294.
- [16] 金俊飞, 杨永宗. 肺炎衣原体对 C57 BL/6J 小鼠腹膜巨噬细胞泡沫化的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2000, 16(8): 730-733.
- [17] 金俊飞, 杨永宗. 脂质过氧化在肺炎衣原体促进巨噬细胞泡沫化过程中的作用[J]. 南京铁道医学院学报, 1999, 18(3): 160-163.
- [18] 余立清. 重组人 ApoA-I 基因转基因小鼠的研究[D]. 北京: 中国协和医科大学, 1995.
- [19] 万腊香, 杨永宗, Sookja SC, 等. 转基因小鼠中人清道夫受体 A I 基因的稳定遗传和特异表达[J]. 中国动脉硬化杂志, 2000, 8(1): 5-11.
- [20] 尹卫东, 杨保堂, 杨永宗, 等. 诱发糖尿病饲料致新西兰兔动脉粥样硬化的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2000, 16(10): 989.
- [21] 刘国庆, 蔡海江, 陈琪, 等. 激素敏感脂酶基因高度表达对泡沫细胞形成的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 1994, 2(1): 10-13.
- [22] 刘尚喜, 周 玫, 陈瑗. 氧化修饰低密度脂蛋白对巨噬细胞的脂质过氧化损伤在泡沫细胞形成中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 1993, 1(1): 30-35.
- [23] 杨永宗, 谭健苗, 杨小毅. 动脉粥样硬化敏感小鼠 C 5 7B L / 6J 腹膜巨噬细胞源性泡沫细胞模型的建立[J]. 中国动脉硬化杂志, 1995, 3(4): 279-282.
- [24] 袁中华, 杨永宗, 杨小毅. 平滑肌源性泡沫细胞模型的建立[J]. 临床与实验病理学杂志, 1998, 14(1): 70-73.
- [25] 李全忠, 杨永宗, 易光辉, 等. U937 泡沫细胞模型的建立[J]. 中国动脉硬化杂志, 1999, 7(2): 152-154.
- [26] 朱 宇, 蔡海江, 范乐明, 等. 泡沫细胞形成过程中清道夫受体的变化[J]. 中国动脉硬化杂志, 1995, 3(2, 会议专辑): 171.
- [27] 张春妮, Miyazaki A, Hakamata H, 等. ApoE 基因摧毁鼠 VLDL/IDL 组分诱导 J774 巨噬细胞胆固醇酯蓄积[J]. 中国病理生理杂志, 1999, 15(11): 969-971.
- [28] 侯继锋, 程稚琴. 应用 U937 细胞泡沫化模型检测人血高密度脂蛋白生物学功能[J]. 中国生物制品学杂志, 2002, 15(2): 105-106.
- [29] 王 佐, 李全忠, 杨永宗, 等. 高效液相色谱分析氧化型低密度脂蛋白处理的 U937 细胞内胆固醇及胆固醇酯[J]. 中国动脉硬化杂志, 1998, 6(4): 317-320.
- [30] 高齐瑜, 余锐萍, 王保强, 等. 大熊猫动脉粥样硬化病理形态观察[J]. 畜牧兽医学报, 1995, 26(1): 76-80.
- [31] 张 涛. 全国第五届脂蛋白动脉粥样硬化化学学术研讨会在杭州召开[J]. 心肺血管病杂志, 1998, 17(3): 190.
- [32] 杨和平. 评《动脉粥样硬化—基础与临床》一书[J]. 中国动脉硬化杂志, 1997, 5(1): 36.
- (此文编辑 朱雯霞)