

冠心病患者循环内皮祖细胞变化及功能的研究

方叶青¹, 谢培益¹, 王磊¹, 陈少源¹, 艾文¹, 方红城², 张松荣³

(1. 深圳南山人民医院心血管内科, 广东省深圳市 518067; 2. 深圳沙井人民医院心血管内科, 广东省深圳市 518104; 3. 深圳宝安人民医院科教科, 广东省深圳市 518102)

[关键词] 冠心病; 内皮祖细胞; 纤溶; 黏附; 炎症

[摘要] 目的 探讨冠心病患者外周血循环内皮祖细胞(EPC)变化及其纤溶、黏附和炎症因子表达。方法 选择冠心病患者 57 例(冠心病组)和对照组 30 例,提取 EPC 进行数量和细胞集落的比较。用酶联免疫吸附法和底物发光法检测 EPC 分泌组织型纤溶酶原激活物(tPA)和纤溶酶原激活物抑制剂(PAI)的浓度和活性。用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测 EPC 的 tPA、PAI、血管细胞黏附分子 1(VCAM-1)、细胞间黏附分子 1(ICAM-1)、过氧化物酶体增殖因子活化受体 γ (PPAR γ)的 mRNA 表达水平。结果 冠心病组 EPC 数量较对照组明显减少($P < 0.05$),形成细胞集落数、细胞增殖能力也明显降低($P < 0.05$)。与对照组比较,冠心病组 EPC 分泌的 tPA 含量和活性明显下降($P < 0.05$),PAI 含量和活性明显升高($P < 0.01$)。RT-PCR 检测结果显示,与对照组比较,冠心病组 EPC 的 tPA、PPAR γ mRNA 表达减弱,PAI、VCAM-1、ICAM-1 mRNA 表达增强($P < 0.05$)。结论 冠心病患者外周血循环 EPC 数量减少,纤溶功能减低,黏附和炎症因子表达增强,其在冠心病发生发展中起到重要作用。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

Research on change and function of circulating endothelial progenitor cells in patients with coronary heart disease

FANG Yeqing¹, XIE Peiyi¹, WANG Lei¹, CHEN Shaoyuan¹, AI Wen¹, FANG Hongcheng², ZHANG Songrong³

(1. Cardiovascular Department, Shenzhen Nanshan People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518067, China; 2. Cardiovascular Department, Shenzhen Shajing People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518104, China; 3. Science and Education Management Department, Shenzhen Baoan People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518102, China)

[KEY WORDS] coronary heart disease; endothelial progenitor cell; fibrinolysis; adhesion; inflammation

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the changes of peripheral circulating endothelial progenitor cells (EPCs) and fibrinolysis, adhesion and inflammatory factors expressions of EPCs in patients with coronary heart disease (CHD).

Methods 57 patients with CHD (CHD group) and 30 cases with control (control group) were selected, and EPCs were extracted and compared in number and cell colony. Concentrations and activities of tissue-type plasminogen activator (tPA) and plasminogen activator inhibitor (PAI) secreted by EPCs were detected by enzyme-linked immunosorbent assay and substrate chemiluminescence methods. The mRNA expressions of tPA, PAI, vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) in EPCs were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR).

Results The number of EPCs in CHD group was significantly lower than that in control group ($P < 0.05$), the number of forming cell colony and the ability of cell proliferation were also significantly lower ($P < 0.05$). Compared with the control group, the content and activity of tPA secreted by EPCs in CHD group decreased significantly ($P < 0.05$), and the content and activity of PAI increased significantly ($P < 0.01$). RT-PCR results showed that compared with the control group, the mRNA expressions of tPA and PPAR γ in EPCs of CHD group decreased, while the mRNA expressions of PAI, VCAM-1 and ICAM-1 increased ($P < 0.05$).

Conclusion The decrease of EPCs in peripheral blood circulation, the reduction of fibrinolytic function and the increase of adhesion and inflammatory factor expression in patients with CHD play an important role in the occurrence

[收稿日期] 2019-02-06

[修回日期] 2019-05-14

[基金项目] 广东省深圳市宝安区科技计划社会公益(医疗卫生类)项目(2012008)

[作者简介] 方叶青,博士,副教授,研究方向为心血管疾病的干细胞治疗,E-mail 为 fangyeqing2005@hotmail.com。通信作者张松荣,博士,统计师,研究方向为卫生统计,E-mail 为 zhangse168@126.com。

and development of CHD.

内皮祖细胞(endothelial progenitor cell,EPC)^[1]来源于骨髓,存在于外周循环中,在缺血、炎症、应激等条件刺激下,能够募集到血管损伤部位,促进血管新生,参与动脉内膜损伤修复,一定程度上决定了动脉粥样硬化的发展进程^[2]。Morishita 等^[3]研究发现,循环中的 EPC 具有分化为成熟内皮细胞能力,在内皮损伤引起的心肌缺血和血管损伤时可以诱导血管生成、血管发生和血管修复,故可以用 EPC 来衡量血管功能和心血管风险。动脉粥样硬化患者外周血 EPC 的数量远远低于健康人群^[4-6];EPC 的数量决定了心血管事件发生的概率并影响动脉粥样硬化的进程^[7-8]。内皮受损以及凝血纤溶系统、炎症因子的变化在动脉粥样硬化的发生发展中起重要作用。本文就冠心病患者的 EPC 和纤溶及炎症系统的变化进行探讨。

1 资料和方法

1.1 对象和标本

选择我院心内科 2006 年 5 月至 2007 年 1 月的住院患者,临床表现及心电图变化符合国际心脏病协会及 WHO 冠心病的诊断标准,依照冠状动脉造影证实冠状动脉左前降支、左回旋支、右冠状动脉中任何一支狭窄 $\geq 75\%$ 均为严重冠状动脉病变(根据第九版内科学诊断标准)。筛选共 57 例纳入研究(冠心病组),其中男 41 例,女 16 例。另选择冠状动脉造影阴性的对照组 30 例,其中男 19 例,女 11 例。所有患者均签署研究相关的知情同意书,本研究通过中南大学湘雅医院伦理委员会批准备案。

无菌条件下从股动脉处收集入选对象肝素抗凝外周血 20 mL,注入已加低分子肝素钠 500 U 的抗凝离心管,摇匀,采集后 4 h 内处理标本。所有入选对象均排除服用他汀类药物、血管紧张素转换酶抑制剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂、阿司匹林、抗氧化剂、调脂药物等;排除严重心肝肾功能不全、严重外周血管疾病史、感染性疾病;近期无其他手术史。

1.2 实验试剂

血管内皮生长因子 165 (vascular endothelial growth factor 165, VEGF165)为 Pepro Tech EC 公司产品,碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)为 BD Bioscience 公司产品,异硫氰酸荧光素-CD34 (fluorescein isothiocyanate, FITC-CD34)、藻红蛋白-血管内皮生长因子受体 2 (phyco-

erythrin-kinase insert domain-containing receptor, PE-KDR)、荆豆凝集素 1 (ulex europaeus agglutinin-1, UEA-1)、1'1'-十八烷基羧花青昔高氯酸盐-低密度脂蛋白(1'1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-teramet hylindocarbocyanine perchlorate-low density lipoprotein, Dil-LDL)为 R&D 公司产品,Trizol 为 MIC 公司产品。组织型纤溶酶原激活物(tissue-type plasminogen activator, tPA)、纤溶酶原激活物抑制剂(plasminogen activator inhibitor, PAI)活性测定试剂盒均购自上海太阳生物公司,血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)免疫组织化学试剂盒均购自武汉博士德公司。

1.3 EPC 的分离培养

取外周血 20 mL,注入已加低分子肝素钠 500 U 的抗凝离心管,用 Hank's 液对倍稀释混匀。使用密度梯度离心法提取单个核细胞,以 2×10^6 个细胞密度接种在已用 200 $\mu\text{g/L}$ 纤维连接蛋白包被 4 h 的 6 孔板。用含 10 $\mu\text{g/L}$ VEGF165 和 20 $\mu\text{g/L}$ bFGF 的 1640 培养基培养细胞 4 天,用 Hank's 洗去未贴壁细胞,将贴壁细胞进行细胞分析。

1.4 EPC 的鉴定

将培养第 7 天的 EPC 与 Dil 标记的乙酰化低密度脂蛋白(Dil-acLDL) (24 mg/L)和 FITC 标记的 UEA-1 (10 mg/L)混合,通过激光共聚焦显微镜鉴定 UEA-1 和 Dil-acLDL,双染色阳性的细胞被认为是正在分化的 EPC。

1.5 EPC 增殖能力观察

将 EPC 培养 7 天后,消化贴壁细胞,以 4×10^4 个细胞接种于 96 孔板,每孔加细胞悬液 200 μL ,设 3 个复孔,培养时间分别为 1、2、3、4、5、6、7 天。用噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)检测细胞的增殖性,在酶标仪上检测各孔吸光度值,记录结果,绘制细胞生长曲线图。

1.6 反转录-聚合酶链反应

反转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)操作如下:以 Trizol 试剂提取细胞总 RNA,用 M-MLV 反转录酶(MBI)将提出的 RNA 反转录为 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR 扩增反应。引物通过斯坦福大学在线引物设计软件设计,引物序列见表 1。PCR 反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$,预变性 1 min 后,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 90 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 终末延伸 10 min。

表 1. 引物序列

Table 1. Primer sequence

引物	上游序列	下游序列	扩增长度(bp)	循环次数
tPA	GAAGAGAGGGCTCTGCTGTG	GAGAAGTACAGGGCCTGCTG	300	35
PAI	CAGACCAAGAGCCTCTCCAC	ATCACTTGGCCCATGAAAAG	202	35
VCAM-1	TGACCTTCATCCCTACCATTG	TCCAGCCTGGTTAATTCCTT	359	30
ICAM-1	ACAAGAACCAGACCCGGGA	TCCACTCTGTTCACTGTGGCA	530	30
PPAR γ	CAAGTTCAAACACATCACCCC	TCATTTTCTGGAGCAGCTTG	539	30
GAPDH	AATCCCATCACCATCTTCCA	CCTGCTTACCACCTTCTTG	587	25

PPAR γ : 过氧化物酶体增殖因子活化受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ); GAPDH: 磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde phosphate dehydrogenase)。

1.7 tPA 和 PAI 的检测

EPC 培养 7 天后的上清液, 用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测 tPA、PAI 的含量, 用底物发光法测定 tPA、PAI 的活性。

1.8 统计学分析

所有数据均采用 SPSS for Windows 13.0 软件进行统计学处理, 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组临床资料的比较

2 组比较, 冠心病组吸烟人数和高血压患者的数量和比例均较对照组高, 血脂中总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白与对照组比较均升高, 差异有显著性 ($P < 0.05$; 表 2)。

表 2. 2 组基本资料比较

Table 2. Comparison of basic clinical data between two groups

项目	对照组 ($n=30$)	冠心病组 ($n=57$)
年龄 (岁)	62.1 \pm 7.6	64.3 \pm 8.2
男/女 (例)	19/11	41/16
吸烟 [例 (%)]	9 (30.0)	24 (42.1) ^a
吸烟数量 (支/天)	11.31 \pm 5.10	18.25 \pm 3.40
高血压 [例 (%)]	6 (20.0)	22 (38.6) ^a
收缩压 (mmHg)	133.00 \pm 21.20	143.70 \pm 25.22 ^a
舒张压 (mmHg)	80.25 \pm 13.50	87.01 \pm 18.16 ^a
脉压差 (mmHg)	50.28 \pm 16.12	58.21 \pm 5.60 ^a
糖尿病 [例 (%)]	3 (10.0)	9 (15.8)
血糖 (mmol/L)	4.50 \pm 1.23	5.18 \pm 1.76
总胆固醇 (mmol/L)	3.16 \pm 1.69	4.53 \pm 0.95 ^a
甘油三酯 (mmol/L)	1.43 \pm 1.02	1.77 \pm 1.35 ^a
低密度脂蛋白 (mmol/L)	2.31 \pm 0.94	2.76 \pm 1.22 ^a
高密度脂蛋白 (mmol/L)	0.94 \pm 0.35	0.78 \pm 0.42

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 细胞形态观察

与对照组比较, 冠心病患者的 EPC 在刚分离的单个核细胞数量及用生长因子诱导分化 7 天后的细胞数目明显减少, 分化为杆形和梭形的细胞数目也明显减少; 而且, 细胞集落数明显减少, 细胞集落较小而分散 (图 1A1 和 B1)。与对照组比较, 冠心病患者的 EPC 数量和形成集落数明显降低 ($P < 0.05$; 图 1A2 和 B2)。分离获得的单个核细胞培养 7 天后形成了梭形的内皮样细胞。用 Dil-acLDL 和 UEA-1 对细胞染色后, 通过共聚焦显微镜鉴定, Dil-acLDL 和 UEA-1 双染色阳性细胞被认为是正在分化的 EPC (图 1A3), 冠心病患者外周血的双染色阳性细胞较对照组明显减少 (图 1B3)。

2.3 EPC 的增殖活性比较

将分离获得的 EPC 培养 7 天后, 消化贴壁细胞, 2 组均以 4×10^4 个细胞密度接种在 96 孔板, 利用 MTT 检测细胞的增殖性。对照组细胞的增殖呈现明显的上升趋势, 从检测第 1 天到第 5 天 (相当于第 8 ~ 12 天), 细胞的 OD 值都是呈逐渐上升的趋势, 特别是在检测第 6 天 (相当于第 13 天), EPC 出现明显的对数增长期, 显示正常外周血 EPC 具有良好的细胞增殖活性。而冠心病患者 EPC 增殖活性明显低下, 没有明显的对数增长期 (图 2)。

2.4 tPA 和 PAI 含量和活性的变化

将 EPC 培养 7 天后的上清液用 ELISA 法测定 tPA 和 PAI 的含量, 与对照组比较, 冠心病患者的 tPA 含量明显下降 ($P < 0.05$), 而 PAI 含量明显升高 ($P < 0.01$; 图 3)。将 EPC 培养 7 天后的上清液用底物发光法测定 tPA 和 PAI 的活性, 与对照组比较, 冠心病患者的 tPA 活性明显下降 ($P < 0.05$), 而 PAI 活性明显升高 ($P < 0.01$; 图 4)。

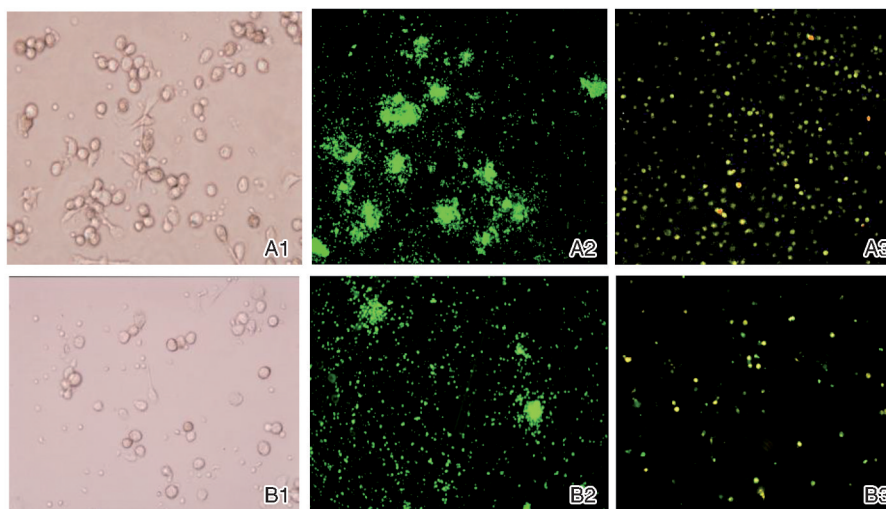


图 1. 冠心病组与对照组细胞形态比较 A 为对照组,B 为冠心病组。A1、B1 为培养 7 天后的 EPC(40×), A2、B2 为培养 7 天后的 EPC 细胞集落(10×), A3、B3 为培养 7 天后荧光双染色阳性细胞(40×)。

Figure 1. Comparison of cell morphology between coronary heart disease group and control group

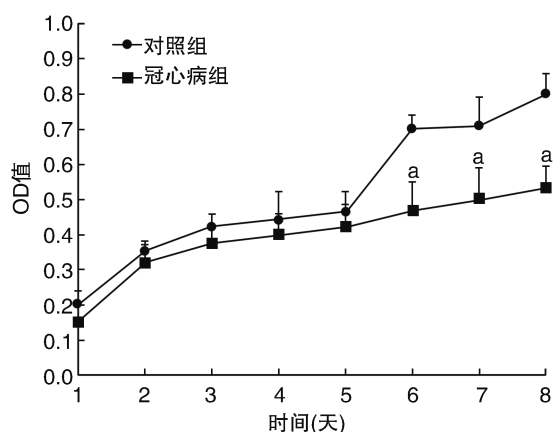


图 2. 冠心病组与对照组 EPC 增殖曲线比较 a 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

Figure 2. Comparison of EPC proliferation curve between coronary heart disease group and control group

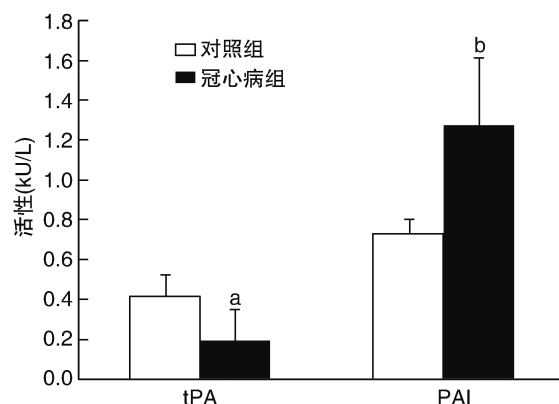


图 4. 2 组 EPC 培养上清液 tPA 和 PAI 活性比较 a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

Figure 4. Comparison of tPA and PAI activity in EPC culture supernatant between two groups

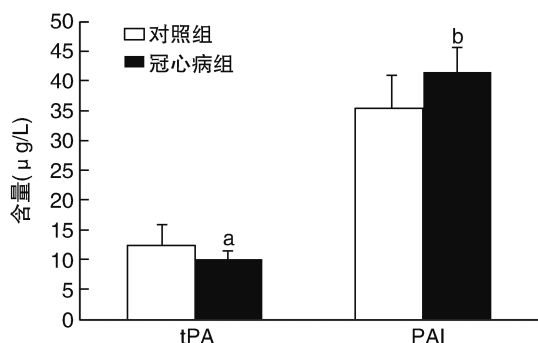


图 3. 2 组 EPC 培养上清液 tPA 和 PAI 含量比较 a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

Figure 3. Comparison of tPA and PAI content in EPC culture supernatant between two groups

2.5 RT-PCR 检测 tPA、PAI、VCAM-1、ICAM-1、PPAR γ mRNA 表达

将外周血 EPC 在体外培养 7 ~ 14 天后,用 RT-PCR 法检测 tPA、PAI、VCAM-1、ICAM-1、PPAR γ mRNA 表达。与对照组比较,冠心病患者 tPA、PPAR γ mRNA 表达减弱,PAI、VCAM-1、ICAM-1 mRNA 表达增强($P < 0.05$;图 5)。

3 讨论

在我们前面的研究^[9-10]中发现,冠心病患者 EPC 数量和活性较正常人明显下降,既有细胞数量的减少,也有细胞形态的改变、细胞形成集落能力

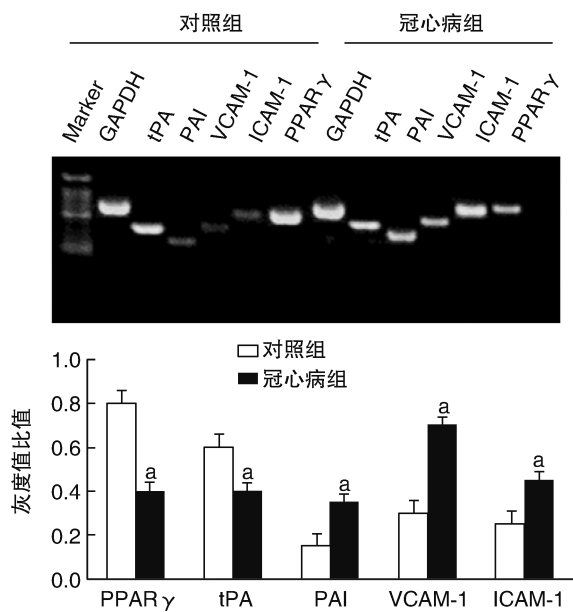


图5. RT-PCR 检测 tPA、PAI、VCAM-1、ICAM-1、PPAR γ mRNA 表达 a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

Figure 5. The expressions of tPA, PAI, VCAM-1, ICAM-1 and PPAR γ mRNA were detected by RT-PCR

的降低以及 EPC 增殖能力的低下等。EPC 数量和功能的受损可导致内皮损伤与修复之间动态平衡的破坏,促使冠状动脉粥样硬化的发生和发展。EPC 的这种变化已经成为内皮功能异常所致心血管病的危险因素,并且成为内皮功能异常的生物学标记,同时也提示可以通过改善内皮功能进而治疗冠心病的新靶点,为通过增加外周血 EPC 数量治疗冠心病提供更多依据^[11-12]。EPC 与冠心病患者的冠状动脉病变范围及病变狭窄程度相关^[10],同时也与冠心病患者的心血管危险因素相关,它们可通过各种途径促使 EPC 的数量减少从而影响内皮修复和再生,促使动脉粥样硬化的发生和发展^[13]。

冠心病患者外周血中 tPA 浓度和活性下降及 PAI 浓度和活性升高^[14]。RT-PCR 检测结果显示 EPC 的 tPA mRNA 表达明显降低,而 PAI mRNA 表达明显增强,这一变化与冠心病患者 EPC 的数量下降是明显相关的。tPA 和 PAI 由血管内皮细胞分泌,通过局部 tPA 和 PAI 的浓度维持着体内纤溶系统平衡^[15]。冠心病患者由于血管内膜损伤和血管内皮功能障碍,导致 EPC 分泌 tPA 的功能降低,PAI 的生成和表达增强,抑制纤溶酶原的激活,使血小板聚集,促进冠状动脉内血栓的形成、机化,又可致凝血、炎症及趋化因子的释放,还引发和维持新生内膜的生长过程,提高血管壁对修复增殖的反应

性,导致管腔狭窄^[16]。在 Shirota 等^[17]的研究中发现,人外周血 EPC 能产生抗血小板物质,产生的量相当于内皮细胞的 1/3。而 EPC 产生 tPA 量与内皮细胞相当。所以当冠心病患者 EPC 数量和活性下降时就可能出现 tPA 分泌减少,纤溶功能降低。

冠心病时血管内皮受损,内皮损伤参与炎症反应,主要表现在黏附功能改变^[18],导致白细胞与内膜的黏附增加、血管收缩、血小板激活、血栓形成而触发斑块破裂^[19]。ICAM-1 和 VCAM-1 是重要的细胞黏附分子^[20],冠心病患者 ICAM-1、VCAM-1 浓度升高可能与炎症、纤维蛋白原和凝血因子异常有关^[21]。随着斑块不稳定,ICAM-1、VCAM-1 在不同类型心绞痛依次升高,提示可作为动脉粥样斑块是否稳定的标志物^[22-23]。本研究中也发现冠心病患者 EPC 的 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达明显较正常对照组强。在我们最近的研究^[24]中提示,EPC 可表达 miR-126 和 miR-146,而 VCAM-1 是 miR-126 的靶基因^[25]。在冠心病患者,可能存在 EPC 的 miR-126 和 miR-146 低表达,miR-126 调控通过 SDF-1 α /CXCR4 轴相关 EPC 归巢的信号,降低 EPC 的迁移、增殖,增加心肌细胞凋亡,促使 EPC 数量减少及功能降低^[26]。而动脉粥样硬化病人的 EPC 中 miR-21 高表达,导致 EPC 增殖能力显著减弱,通过多种通路及靶向抑制 HMGA2 表达,促进 EPC 衰老和凋亡^[27-29]。

PPAR γ 是过氧化物酶体增殖因子活化受体的一种,可影响纤溶系统^[30],并影响炎症反应^[31-32],PPAR γ 几乎参与动脉粥样硬化所有病理过程。我们的研究显示,与对照组比较,冠心病患者 EPC 的 PPAR γ 表达水平明显降低。而胰岛素增敏剂是 PPAR γ 的合成激动剂,有独立于糖尿病治疗以外的在炎症反应中的调控作用,通过阻止炎症介质或细胞因子与其受体结合,从而阻断了由炎症介质或细胞因子所诱导的 PAI-1 的合成,增强 tPA 的表达^[33-34];在冠心病患者的研究中发现,由于 PPAR γ 表达较低,可能导致 EPC 分泌 tPA 的量减少,导致纤溶活性降低,至动脉粥样硬化血管内血栓容易形成。因此冠心病患者 EPC 的 PPAR γ 低表达,为临床上用 PPAR γ 类药物治疗糖尿病合并冠心病,改善血管内皮和纤溶功能,抑制炎症因子的表达提供了理论依据。

冠心病是一种多因素所致的疾病。我们的研究提示,EPC 数量减少,由此导致的 EPC 的纤溶功能减低,黏附和炎症因子表达增强都在冠心病发生发展中起到重要作用。

[参考文献]

- [1] Werner N, Nickenig G. Clinical and therapeutical implications of EPC biology in atherosclerosis[J]. *J Cell Mol Med*, 2006, 10(2): 318-332.
- [2] Du F, Zhou J, Gong R, et al. Endothelial progenitor cells in atherosclerosis[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2012, 17: 2327-2349.
- [3] Morishita T, Uzui H, Ikeda H, et al. Association of CD34/CD133/VEGFR2-positive cell numbers with eicosapentaenoic acid and postprandial hyperglycemia in patients with coronary artery disease[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 221: 1039-1042.
- [4] 陈丽, 王凤娇, 薛雅卓, 等. 颈动脉粥样硬化影响内皮祖细胞功能的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(4): 419-423.
- [5] Briasoulis A, Tousoulis D, Antoniadis C, et al. The role of endothelial progenitor cells in vascular repair after arterial injury and atherosclerotic plaque development[J]. *Cardiovasc Ther*, 2011, 29(2): 125-139.
- [6] 方叶青, 谢秀梅, 谢培益, 等. 冠心病患者内皮祖细胞 tPA 和 PAI 表达的变化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(7): 627-630.
- [7] Gutiérrez EI, Flammer AJ, Lerman LO, et al. Endothelial dysfunction over the course of coronary artery disease[J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(41): 3175-3181.
- [8] Werner N, Kosiol S, Schiegl T, et al. Circulating endothelial progenitor cell and cardiovascular outcomes[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(10): 999-1007.
- [9] 方叶青, 张松荣, 方红城, 等. EPC 的变化与冠心病危险因素相关性的研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2012, 22(1): 37-41.
- [10] 方叶青, 张松荣, 方红城, 等. 冠心病患者内皮祖细胞变化与冠状动脉病变的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(9): 814-818.
- [11] Asahara T, Kawamoto A, Masuda H. Circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine[J]. *Stem Cells*, 2011, 29(11): 1650-1655.
- [12] 陈伟, 谈红, 李晓燕, 等. 冠心病患者外周血内皮祖细胞数量差异及其对内皮功能的影响[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2012, 50(8): 73-76.
- [13] 买超平, 哈小琴, 高彩艳, 等. 冠心病患者内皮祖细胞数量及功能变化的研究进展[J]. *心脏杂志*, 2015, 27(3): 361-364.
- [14] 方叶青, 谢秀梅, 何晋, 等. 冠心病患者冠状动脉介入治疗前后 tPA 和 PAI 的变化[J]. *湘南学院学报(医学版)*, 2007, 9(3): 13-15.
- [15] 林美明, 林闽溪, 沈庆乐, 等. 老年人不稳定型心绞痛与稳定型心绞痛 TF、tPA 和 PAI 检测的临床意义[J]. *中国心血管杂志*, 2004, 9(3): 212-213.
- [16] Jaster M, Schwimbeck P, Specker S, et al. Randomized comparison of platelet-leukocyte aggregates and platelet activation in blood; heparin-coated coiled wire stent implantation versus balloon angioplasty in acute myocardial infarction[J]. *Thromb Res*, 2003, 112(5-6): 285-289.
- [17] Shirota T, Yasui H, Shimokawa H, et al. Endothelial progenitor cell vascular endothelial growth factor gene transfer for vascular regeneration[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(24): 2295-2302.
- [18] 刘虹兵, 王民登, 覃安强, 等. 老年代谢综合征患者颈动脉内膜中层厚度与血管内皮功能及血管粘附因子-1 的相关性[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(4): 709-712.
- [19] Parker C, Vita JA, Freedman JE, et al. Soluble adhesion molecules and unstable coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2001, 156(2): 417-424.
- [20] Peng DQ, Zhao SP, Li YF, et al. Elevated soluble CD40 ligand is related to the endothelial adhesion molecules in patients with acute coronary syndrome[J]. *Clin Chim Acta*, 2002, 319(1): 19-26.
- [21] Liu DQ, Shang K, Tan ZX, et al. Change of VCAM-1 in elderly with metabolic syndrome[J]. *China Med Herald*, 2012, 9(15): 110-118.
- [22] 吴素铭, 张立春, 张馨, 等. 急性冠脉综合征患者与 sCAM 关系分析[J]. *中国实用医药*, 2016, 11(8): 36-37.
- [23] Dgawa H, Sakamoto T, Nishiyama K, et al. Elevated levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 in the coronary circulation of patients with coronary organic stenosis and spasm[J]. *Jpn Circ J*, 2000, 64(3): 170-176.
- [24] Fang Y, Chen S, Liu Z, et al. Endothelial stem cells attenuate cardiac apoptosis via downregulating cardiac microRNA-146a in a rat model of coronary heart disease[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(5): 4246-4252.
- [25] Schober A, Schober A, Nazarijahan M, et al. MicroRNA-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis by suppressing Dlk1[J]. *Nat Med*, 2014, 20(4): 368-376.
- [26] 李叶婷. 糖尿病环境下 miR-126 对内皮祖细胞归巢的调控[D]. 上海: 上海交通大学, 2015: 1-53.
- [27] 谭晓勇, 方丹, 吴剑波, 等. miR-21 对血管内皮功能及血管生成调节作用的研究进展[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(12): 2299-2304.
- [28] Sun H, Tong Z, Fang Y, et al. Nucleolin protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity via upregulating microRNA-21[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(12): 9516-9525.
- [29] 程涛, 黄刚. 血清 miR-21、miR-126 表达在诊断 PCI 术后冠状动脉再狭窄的临床应用价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(1): 59-62.
- [30] 高焯, 何岚. PPAR γ 激动剂的病理生理及临床作用[J]. *陕西医学杂志*, 2004, 33(6): 539-541.
- [31] Ikeda U, Shimpo M, Murakami Y, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ ligands inhibit nitric oxide synthesis in vascular smooth muscle cells[J]. *Hypertension*, 2000, 35(6): 1232-1236.
- [32] Sidhu JS, Kaski JC. Peroxisome proliferator activated receptor: a potential therapeutic target in the management of ischaemic heart disease[J]. *Heart*, 2001, 86(3): 255-258.
- [33] Skurk T, Lee YM, Hauner H, et al. Angiotensin II and its metabolites stimulate PAI-1 protein release from human adipocytes in primary culture[J]. *Hypertension*, 2001, 37(5): 1336-1340.
- [34] Wang CH, Ciliberti N, Li SH, et al. Rosiglitazone facilitates angiogenic progenitor cell differentiation toward endothelial lineage: a new paradigm in glitazone pleiotropy[J]. *Circulation*, 2004, 109(11): 1392-1400.

(此文编辑 曾学清)