

## • 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2003)11-03-0214-05

## 反义纤溶酶原激活物抑制剂 1 RNA 对家兔 动脉粥样硬化形成的影响

富路<sup>1</sup>, 李佳<sup>1</sup>, 李晖<sup>2</sup>, 梅雨<sup>1</sup>, 尹申<sup>2</sup>, 孔一慧<sup>1</sup>

(哈尔滨医科大学 1. 附属第一医院心内科, 黑龙江省哈尔滨市 150001;

2. 生物化学教研室, 黑龙江省哈尔滨市 150086)

[关键词] 分子生物学; 纤溶酶原激活物抑制剂 1 对动脉粥样硬化形成的影响; 聚合酶链反应; 反义 RNA; 组织型纤溶酶原激活物; 血脂; 动脉粥样硬化

[摘要] 为探讨纤溶酶原激活物抑制剂 1 反义 RNA 对家兔血浆纤溶活性及纤溶酶原激活物抑制剂 1 的表达、血脂及对动脉粥样硬化斑块形成的影响, 通过聚合酶链反应扩增纤溶酶原激活物抑制剂 1 第二外显子, 将聚合酶链反应产物纯化克隆后连入真核细胞表达载体 pcDNA3.1, 构建纤溶酶原激活物抑制剂 1 反义 RNA 重组质粒。将 pcDNA3.1-反义纤溶酶原激活物抑制剂 1 重组质粒注射到哈尔滨大白兔腹部皮下组织。通过发色底物法测定家兔血浆组织型纤溶酶原激活物及纤溶酶原激活物抑制剂 1 活性变化, 通过免疫组织化学方法检测组织中纤溶酶原激活物抑制剂 1 表达的改变。测定家兔血脂变化, 病理检测其动脉粥样硬化程度。结果显示, 应用反义纤溶酶原激活物抑制剂 1 RNA 重组质粒的家兔血浆纤溶酶原激活物抑制剂 1 活性降低, 组织型纤溶酶原激活物活性升高, 纤溶酶原激活物抑制剂 1 蛋白表达于内皮细胞, 而在平滑肌细胞中未表达 (动脉粥样硬化对照组中内皮细胞、平滑肌细胞和泡沫细胞内均有表达); 应用反义纤溶酶原激活物抑制剂 1 RNA 重组质粒的家兔胆固醇和甘油三酯明显低于动脉粥样硬化对照组 ( $96 \pm 42$  mg/L 比  $123 \pm 12$  mg/L,  $15 \pm 10$  mg/L 比  $46 \pm 29$  mg/L), 且动脉粥样硬化程度亦轻于后者。以上提示, 反义纤溶酶原激活物抑制剂 1 RNA 重组质粒的皮下注射能有效阻断家兔体内纤溶酶原激活物抑制剂 1 蛋白的合成, 减轻动脉粥样硬化程度。

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

### The Influence of Antisense Plasminogen Activator Inhibitor-1 RNA on Atherosclerosis in Rabbits

FU Lu<sup>1</sup>, LI Jia<sup>1</sup>, LI Hui<sup>2</sup>, MEI Yu<sup>1</sup>, YIN Sheng<sup>2</sup>, and KONG Yi-Hui<sup>1</sup>

(1. Department of Cardiology, the First Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001; 2. Department of Biochemistry, Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

[KEY WORDS] Antisense RNA; Tissue Plasminogen Activator; Serum Lipid; Atherosclerosis; Plasminogen Activator Inhibitor-1; Immunohistochemistry

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the role of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) antisense RNA in influencing plasma fibrinolytic activity, and regulating the expression of PAI-1 and the process of atherogenesis in rabbits. **Methods** PAI-1 antisense RNA recombination plasmid was constructed by using eukaryotic cell expression vector pcDNA3.1. Thirty rabbits were classified into 4 groups. Control group ( $n=7$ ) was fed with a normal diet. Atherosclerosis (As) group ( $n=7$ ) was fed with a high cholesterol diet. Plasmid treatment group (treatment group,  $n=9$ ) was fed with a high cholesterol diet and injected with PAI-1 antisense RNA recombination plasmid ( $20 \mu\text{g/kg}$ ) into the abdominal subcutaneous tissue weekly. Plasmid group ( $n=7$ ) was fed with a normal diet and injected with PAI-1 antisense RNA recombination plasmid ( $20 \mu\text{g/kg}$ ) into the abdominal subcutaneous tissue weekly. Then the activities of tissue plasminogen activator (t-PA), PAI-1, and serum lipid were detected. PAI-1 protein expression in tissues was tested by immunohistochemistry. Lastly, the extent of atherosclerosis was observed by pathology. **Results** In plasmid treatment group and plasmid group, the activity of PAI-1 in plasma decreased while that of t-PA increased. Although there were no differences between As group and plasmid treatment group in the activities of PAI-1 and t-PA at the beginning of the study ( $P>0.05$ ), in the end the differences were significant ( $P<0.05$ ). PAI-1 protein only existed in endothelial cells in plasmid treatment group, while in As group, it not only existed in both endothelial cells and smooth muscle cells but also outnumbered the former. Compared with As group, the intima of the arterial vessel was thinner in plasmid treatment group. Plasmid treatment group had a lower lipid count (serum triglyceride and cholesterol) ( $96 \pm 42$  mg/L vs  $123 \pm 12$

[收稿日期] 2002-07-28

[修回日期] 2003-03-25

[作者简介] 富路, 女, 1955 年出生, 辽宁省沈阳市人, 主任医师, 博士, 博士研究生导师, 研究方向为纤溶酶原激活物抑制剂 1 与动脉粥样硬化的关系, 联系电话: 0451-3644265-5463, E-mail: FuLu@0451.com。李佳, 女, 1971 年出生, 黑龙江省哈尔滨市人, 主治医师, 硕士, 从事心血管内科工作, E-mail: almaxu@yahoo.com.cn。李晖, 女, 1958 年出生, 山东省淄博市人, 教授, 博士后, 硕士研究生导师, 主要从事生物化学及分子生物学研究。

mg/L,  $15 \pm 10$  mg/L vs  $46 \pm 29$  mg/L) and a lesser degree of atherosclerosis than group B. RNA can block the translation progress of PAF-1 protein effectively and degrade the severity of atherosclerosis.

## Conclusions

PAF-1 antisense

纤溶酶原激活物抑制剂 1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAF-1) 是组织型纤溶酶原激活剂 (tissue plasminogen activator, t-PA) 和尿激酶型纤溶酶原激活剂 (urokinase plasminogen activator, u-PA) 的生理性抑制剂, 存在于血浆、血小板和血管内皮, 抑制血管内血栓的溶解。近年研究表明, PAF-1 血浆水平的增高与血栓性疾病包括心肌梗死和静脉血栓形成有关<sup>[1]</sup>, 而血栓的形成和机化是促进动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 发展的重要原因, 在 As 形成过程中起重要作用。有研究表明, 在人类冠状动脉 PAF-1 mRNA 水平随动脉粥样硬化损伤的程度加重而增加, 这说明 PAF-1 与 As 关系密切。本研究利用反义 PAF-1 RNA 阻断 PAF-1 表达, 观察血浆纤溶活性及 PAF-1 蛋白表达情况、血脂水平及动脉粥样硬化程度, 以期 As 性疾病的防治提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

克隆载体 pGEM-T (Promega), 真核细胞表达载体 pcDNA3.1(-) (Invitrogen), Tag DNA 多聚酶 (Gibco), 聚合酶链反应产物纯化及质粒提取纯化试剂 (Promega), 限制性内切酶类 Apa I、Not I 和 Pst I (Promega)。聚合酶链反应引物 P1: 5'-CAATCIT-GAATCCCATACCTGG-3', P2: 5'-CTTGTCTTTGGT-GAAGGGTCTG-3' (Gibco)。PAF-1 及 t-PA 活性测定试剂盒购自上海太阳生物技术公司。纯种哈尔滨大白兔购于哈尔滨兽医研究所。

### 1.2 纤溶酶原激活物抑制剂 1 反义核苷酸的构建

提取人外周血基因组 DNA, 参照基因克隆手册进行 PAF-1 特异片段扩增。聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 体系: 1.0  $\mu$ g 基因组 DNA 做模板、引物 P1、P2 各 20 pmol, 5  $\mu$ L 10  $\times$  Tag DNA 聚合酶缓冲液, dNTP (pH8.3) 各 320  $\mu$ mol/L。PCR 反应条件: 94  $^{\circ}$ C 变性 50 s  $\rightarrow$  56  $^{\circ}$ C 退火 50 s  $\rightarrow$  72  $^{\circ}$ C 延伸 50 s, 30 个循环, 延伸 10 min。PCR 产物 10  $\mu$ L 用 1.5% 琼脂糖凝胶 (含溴化乙锭 0.5 mg/L) 电泳检查, 紫外灯下观察结果。测定 PAF-1 核酸序列。

纤溶酶原激活物抑制剂 1 片段产物克隆: 将 PCR 纯化产物用 T4 连接酶与 pGEM-T Vector 连接。氯化钙法制备 Top 10 感受态细菌。连接产物转化感受态细菌, 取 10 mL 转化菌, 涂布于已制备好的蓝白筛选 LB 平板上, 37  $^{\circ}$ C 培养 4 h。挑取白色菌落, 扩

增培养。提取质粒 DNA, 分别用相应插入片段引物进行 PCR, 确定克隆产物含有所需片段。进行 DNA 循环测序, 确认质粒多克隆位点内确有所需 PAF-1 顺序插入, 并证实碱基顺序与原始序列一致。

纤溶酶原激活物抑制剂 1 反义表达载体的定向克隆: 用 ApaI 和 PstI 对 pGEM-PAF-1 重组质粒和 pcDNA3.1(-) 质粒进行双酶切。电泳回收目的基因片段和载体片段, T4 连接酶连接。转化入感受态细菌, 以含 Amp 的 LB 培养基选择培养, 次日挑选阳性菌落, 少量提取质粒, 酶切鉴定重组子。大量提取质粒, 以核酸纯化试剂盒纯化。以载体自身引物 T7 Primer 和目的片段特异引物 P1、P2 为引物进行 PCR。1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 循环测序鉴定插入的目的片段。

### 1.3 反义纤溶酶原激活物抑制剂 1 RNA 质粒的扩增和提取

参照文献[2], 采用碱裂解法进行反义 PAF-1 RNA 质粒的扩增和提取。

### 1.4 动物分组

纯种哈尔滨大白兔 30 只, 体重  $2.0 \pm 0.4$  kg, 按性别、体重随机分成 4 组。正常对照组 ( $n=7$ ) 饲以普通颗粒饲料; 动脉粥样硬化对照组 (简称 As 组) ( $n=7$ ) 喂饲高胆固醇颗粒饲料; 反义 PAF-1 RNA 治疗组 (简称治疗组) ( $n=9$ ) 喂饲高胆固醇饲料, 同时, 每周给予皮下注射反义 PAF-1 RNA 重组质粒 20  $\mu$ g/kg; 反义 PAF-1 RNA 质粒组 (简称质粒组) ( $n=7$ ) 饲以普通颗粒饲料, 每周给予皮下注射反义 PAF-1 RNA 重组质粒 20  $\mu$ g/kg。动物单笼饲养, 每日进食量约为 150 g, 饮水不限, 实验中每日观察动物进食和行为变化, 定期称体重、抽血, 实验共 12 周。各组动物全部存活, 生长发育良好。实验过程中各组动物同期体重增加无显著差异。

### 1.5 纤溶酶原激活物抑制剂 1、组织型纤溶酶原激活剂活性和血脂水平的测定

各组实验前及实验过程中每 2 周由兔耳缘静脉采血 2 mL。采血时间为上午 9~12 时, 以 4% 枸橼酸钠抗凝 (9:1), 放于 -4  $^{\circ}$ C 离心机中以 4 000 r/min 离心 5 min, 取血浆 200  $\mu$ L 分装后放于 -70  $^{\circ}$ C 冰箱中保存, 用发色底物法测定 t-PA 和 PAF-1 活性。

实验前及实验过程中, 每月由兔耳缘静脉采血 3 mL, 室温下 4 000 r/min 离心 10 min, 取血清 1.5 mL 测总胆固醇、高密度脂蛋白和甘油三酯水平。

### 1.6 病理及免疫组织化学检查

12 周后空气栓塞处死家兔,取主动脉直至髂动脉分叉处,剪断,彻底清除其周围结缔组织,包埋固定,切片,HE 染色,显微镜下观察。将组织漂洗固定,加入 PAF-1 抗体(山羊抗人抗体)和生物素化二抗, DAB 显色,显微镜下观察。

1.7 统计学方法

定量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用  $t$  检验和方差分析、 $q$  检验,  $P < 0.05$  表示差异有显著性,  $P < 0.01$  表示差异有非常显著性。

2 结果

2.1 纤溶酶原激活物抑制剂 1 反义表达载体的定向克隆

纤溶酶原激活物抑制剂 1 目的片断与 pcDNA3.1 线性质粒载体连接后,用目的片断特异引物进行 PCR 扩增反应,证实质粒内存在有插入片段。进一步采用末端测序方法对克隆的表达质粒进行测序分析,结果证明插入顺序无缺失和错配,并存在 SD 序列和起始密码子 ATG 位点,插入方向为反向插入。

2.2 纤溶酶原激活物抑制剂 1 及组织型纤溶酶原激活剂活性的变化

与实验前比较,治疗组与质粒组 PAF-1 活性降低( $P < 0.01$ ),而 As 组活性增加( $P < 0.05$ )。t-PA 活性在治疗组与质粒组明显升高( $P < 0.01$ ),As 组降低( $P < 0.05$ ) (图 1, Figure 1)。

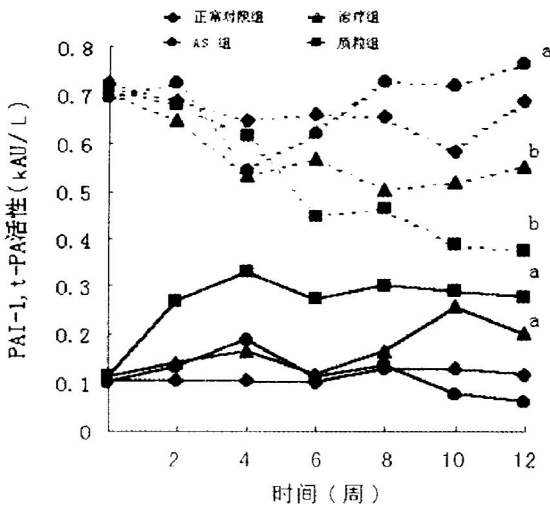


图 1. 各组纤溶酶原激活物抑制剂 1 和组织型纤溶酶原激活剂活性的变化 图中实线为组织型纤溶酶原激活剂,虚线为纤溶酶原激活物抑制剂 1。与各组实验前比较, \* :  $P < 0.05$ , \* \* :  $P < 0.01$ 。

Figure 1. The changes of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue plasminogen activation in four groups

2.3 各组血脂的变化

实验前各组总胆固醇、高密度脂蛋白和甘油三酯水平无差别( $P > 0.05$ )。第 12 周时除正常对照组与质粒组间无差别外其余各组间总胆固醇均有明显差异( $P < 0.05$ ),正常对照组与质粒组、治疗组与质粒组、正常对照组与治疗组间甘油三酯无差别( $P > 0.05$ ),其余各组间甘油三酯有极显著差异( $P < 0.01$ ),高密度脂蛋白注射前及第 12 周末各组间均无差异( $P > 0.05$ )。

表 1. 各组血清总胆固醇、高密度脂蛋白和甘油三酯水平的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1. The changes of total cholesterol, high density lipoprotein and triglyceride in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 (n)		总胆固醇 (mg/L)	高密度脂蛋白 (mg/L)	甘油三酯 (mg/L)
正常组 (7)	实验前	5.7±2.3	2.2±0.8	5.4±2.9
	第 12 周	5.2±2.0 <sup>bc</sup>	2.7±1.0	5.8±3.2 <sup>f</sup>
As 组 (7)	实验前	5.7±2.3	2.4±0.8	5.1±1.2
	第 12 周	123±12 <sup>acd</sup>	2.1±0.8	46±29 <sup>gh</sup>
治疗组 (9)	实验前	5.2±1.8	2.6±0.9	5.4±1.5
	第 12 周	96±42 <sup>abd</sup>	2.0±1.1	15±10 <sup>f</sup>
质粒组 (7)	实验前	5.6±1.5	2.7±0.6	5.0±2.6
	第 12 周	4.9±1.8 <sup>bc</sup>	1.6±0.4	6.0±2.6 <sup>f</sup>

$P < 0.05$ , a: 与正常组比较, b: 与 As 组比较, c: 与治疗组比较, d: 与质粒组比较。  $P < 0.01$ , e: 与正常组比较, f: 与 As 组比较, g: 与治疗组比较, h: 与质粒组比较。

2.4 病理观察及免疫组织化学测定

大体标本观察正常组和质粒组均未见到动脉粥样硬化斑块形成,而 As 组与治疗组从主动脉至髂总动脉均可见不同程度的动脉粥样硬化斑块形成,但治疗组斑块面积要小于 As 组,且 As 组中 4 只家兔有肾梗死形成,而治疗组中家兔无肾梗死形成。肉眼上,心、脑等组织无明显差异。镜下:正常组和质粒组动脉相似,无明显病变(图 2a, Figure 2a)。As 组动脉内膜明显增厚,部分内皮细胞脱落,内膜中见大量泡沫细胞(图 2b, Figure 2b)。治疗组动脉内膜增厚,内可见少量泡沫细胞(图 2c, Figure 2c)。

免疫组织化学测定观察 PAF-1 蛋白表达情况,其中棕褐色物质为阳性表达产物。正常组和质粒组未见 PAF-1 蛋白表达。As 组动脉内皮细胞、中膜平滑肌细胞和内膜中泡沫细胞表达均为阳性(图 3a、b、c, Figure 3 a、b、c)。治疗组仅内皮有少量表达(图 3d, Figure 3 d)。

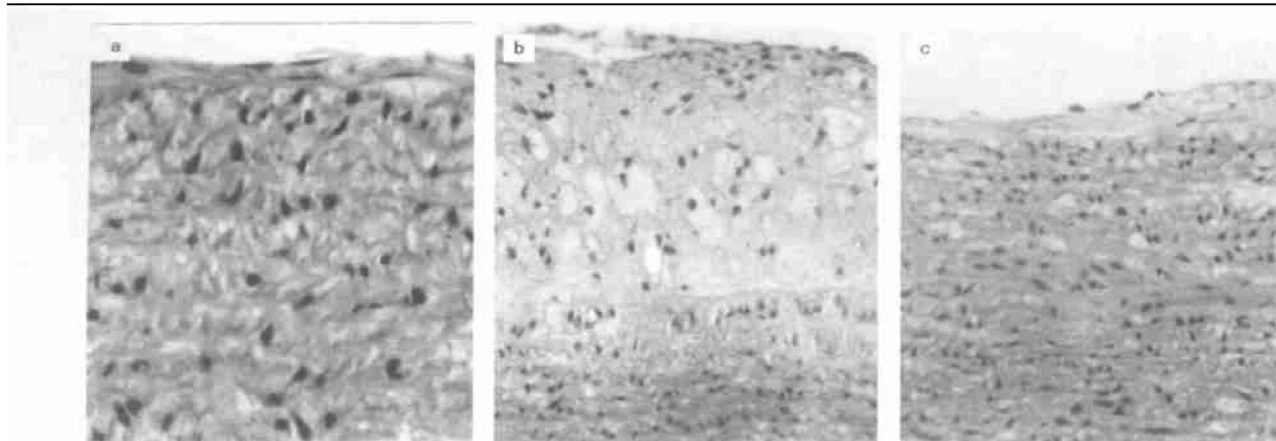


图 2. 动脉病理结果(HE 染色) a: 正常组和质粒组(20 倍); b: As 组(10 倍) 动脉内膜明显增厚, 部分内皮细胞脱落, 内膜中见大量泡沫细胞; c: 治疗组(10 倍), 动脉内膜增厚, 内可见少量泡沫细胞。

Figure 2. Patho-anatomy results of the artery ( HE dye)

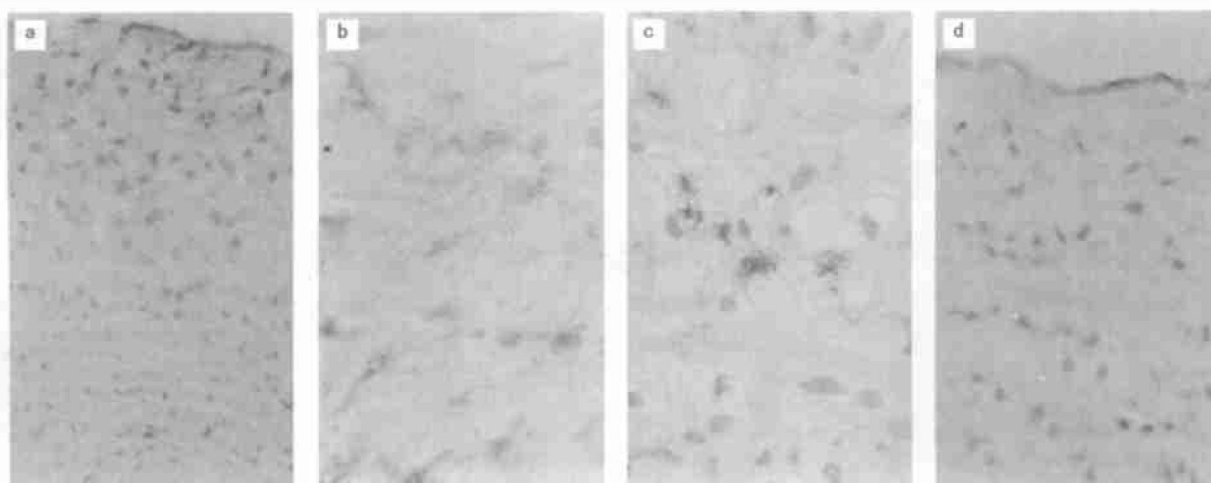


图 3. 动脉免疫组织化学结果 棕褐色物质为阳性表达产物。 a, b, c: 分别为 As 组动脉内皮细胞(10×3.3 倍)、中膜平滑肌细胞(40×3.3 倍)和内膜中泡沫细胞(40×3.3 倍), 表达均阳性; d: 治疗组(20×3.3 倍), 仅内皮少量表达。

Figure 3. Immunohistochemistry results of the artery

### 3 讨论

内源性纤溶活性降低导致微血栓形成和血栓沉积, 从而可能导致 As 和冠状动脉综合征。内源性纤溶活性主要由 PAI-1 调节, 增加的 PAI-1 活性导致内源性纤溶活性降低已被证实为是心血管疾病的一个重要独立的风险因素。越来越多的研究表明: 血浆 PAI-1 活性升高与动脉及血栓性疾病的发生有关<sup>[3]</sup>, 且可能参与球囊血管成形术后血管的损伤过程<sup>[4]</sup>。PAI-1 可以通过促进细胞外基质聚集, 促进血栓形成和调节平滑肌细胞迁移和增殖而促进 As 发展<sup>[5]</sup>。我们旨在将反义 PAI-1 RNA 重组质粒移植于家兔体内, 通过反义 RNA 与特异的 mRNA 分子互补结合来调控 PAI-1 基因表达, 希望以此方法在一定程度上调节 PAI-1 的活性, 寻找动脉粥样硬化基因治疗的

一个可行办法。

实验表明, 反义 PAI-1 RNA 通过直接注射到家兔体内(治疗组和质粒组), 其 PAI-1 血浆活性可见降低, 说明方法有效, 反义 RNA 在家兔体内发挥作用。在转录水平上封闭了 PAI-1 mRNA, 使其表达减少。虽然其活性有一定波动性, 但随时间延长, 仍呈下降趋势, 考虑为应用直接注射重组质粒到动物体内, 由于体内一些酶类及其他物质作用, 该法稳定性欠佳, 但通过重复注射, 仍可以取得一定的效果。随 PAI-1 活性下降, t-PA 活性呈上升趋势, 考虑为 PAI-1 表达减少而致 t-PA 水平增高。t-PA/PAI-1 比值升高, 纤溶功能增强。

另外, 免疫组织化学测定显示正常组和质粒组未见 PAI-1 表达, 其原因很可能是由于所选用抗体为山羊抗人抗体, 特异性欠佳, 在 PAI-1 活性较低

时,因抗原量少而未见表达。但从 PAI-1 活性变化趋势上来看,质粒组明显下降说明反义 PAI-1 RNA 发挥了作用,封闭了 PAI-1 mRNA,使其表达减少。而 As 组与治疗组见到表达是由于喂饲高胆固醇饲料造成动物动脉粥样硬化,虽抗体特异性欠佳,但由于 PAI-1 表达增高,仍可测到。这说明: 动脉粥样硬化形成与 PAI-1 增多密切相关; ④反义 PAI-1 RNA 能够在转录水平上封闭 PAI-1 mRNA,使其表达减少。

临床研究表明,血浆 PAI-1 水平与血脂关系密切相关,甘油三酯和胆固醇增加,高密度脂蛋白降低可能影响 t-PA 降低,PAI-1 增加,其中甘油三酯对 PAI-1 影响最为显著,PAI-1 与甘油三酯呈明显的正相关<sup>[6,7]</sup>。本实验结果亦支持这一观点,且表明应用反义 PAI-1 RNA 在一定程度上可以抑制血脂的升高,减轻动脉粥样硬化病变的程度。但这一作用是通过降低血脂而减轻动脉粥样硬化,还是通过影响动脉粥样硬化其他因素而使血脂降低,尚需进一步研究。

本研究将反义 PAI-1 RNA 重组质粒直接注射移植到家兔体内,发现家兔血脂水平明显低于动脉粥样硬化对照组且动脉粥样硬化程度轻于后者。但是单纯应用反义 PAI-1 RNA 并未彻底预防动脉粥样硬化的发生,可能因为 动脉粥样硬化性疾病并非单基因遗传病且与多因素相关,单纯封闭某一种基因并不能阻止其发病,而只能减轻病变程度; ④应用质粒的直接注射法,虽然通过简单的重复注射可以维持效果,但基因整合的效率尚低,这需要进一步

地寻找更为有效的表达载体和转移途径; ④封闭效率能否与反义质粒的用量呈剂量相关性,故而进一步增加反义质粒的用量能否增加疗效需进一步实验证实。

基因治疗已被用于防治由基因缺失、突变或过度表达而导致的疾病。本研究将反义 PAI-1 RNA 重组质粒直接注射到家兔体内,观察其在体内表达情况,发现家兔血浆 PAI-1 活性明显下降,t-PA 活性升高,PAI-1 蛋白表达受到抑制,血脂降低,动脉粥样硬化程度减轻。通过简单的重复注射可以维持效果,这为我们寻找预防 As 性疾病的新方法提供了一定的思路。

#### 参考文献

- [1] Gardemann A, Lohre J, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, Haberbosch W. The 4G/4G genotype of the plasminogen activator inhibitor 4G/5G gene polymorphism is associated with coronary atherosclerosis in patients at high risk for this disease. *Thromb Haemost*, 1999, **82**(3): 1 121-126
  - [2] 谷志远. 现代医学分子生物学. 北京: 人民军医出版社, 1998, 387-396
  - [3] De Young MB, Tom C, Dichek DA. Plasminogen activator inhibitor type 1 increases neointima formation in balloon-injured rat carotid arteries. *Circulation*, 2001, **104**(16): 1 972-981
  - [4] 陈晓文, 戚文航. 球囊血管成形术后纤溶酶原激活物抑制剂-1 基因的表达. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9**(3): 251-252
  - [5] Zhu Y, Farrehi PM, Fay WP. Plasminogen activator inhibitor type 1 enhances neointima formation after oxidative vascular injury in atherosclerosis-prone mice. *Circulation*, 2001, **103**(25): 3 105-110
  - [6] Sarkar R, Misra A, Saxena R, Pandey RM, Chaudhary D. Plasminogen activator inhibitor 1 activity in normoglycemic hypertriglyceridemic north Asian Indian subjects: a preliminary case-control study. *Indian Heart J*, 2001, **53**(1): 61-65
  - [7] 黄秋霞, 姜德谦. 冠心病患者血清甘油三酯水平与纤溶激活系统的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9**(4): 313-315
- (此文编辑 朱雯霞)

#### •会议征文•

## 首届国际腔内血管学大会

由上海长海医院血管外科、心内科和脑外科联合举办的首届国际腔内血管学大会(Endovascology-iv)将于2003年11月21~24日在上海召开。会议将针对全身血管系统疾病的腔内诊治进行专题讨论和手术演示。特邀请来自美、英、韩、意、澳、日等相关领域的国际领军人物就该专业的热点和前沿问题进行专题演讲,同时结合典型和特殊病例进行现场手术演示。凡是有关血管腔内诊治的文章均欢迎投稿。有关血管腔内治疗的术前评估、术中操作技巧、术中术后并发症的发现和将处理将是研讨的重点。

投稿请寄: 上海市长海路174号,长海医院血管外科曲乐丰医师收,邮编200433。信封左下角请注明“会议征文”字样。大会交流语言可用中文或英文,会议论文摘要必须为英语,并附软盘。

投稿截止日期为2003年10月15日。