

紫杉醇对兔血管内皮和平滑肌细胞增殖影响的时间效应关系

武晓静¹, 黄 岚¹, 周 骐², 宋明宝¹, 于世勇¹, 晋 军¹

(第三军医大学附属新桥医院 1 全军心血管内科中心; 2 心外科, 重庆市 400037)

[关键词] 病理学与病理生理学; 紫杉醇/药理作用; 细胞增殖; 血管平滑肌细胞; 内皮细胞; 微管; 兔

[摘要] 目的 观察紫杉醇对兔血管内皮和平滑肌细胞增殖影响的时间效应关系, 探讨药物洗脱支架植入后, 损伤血管修复过程中延迟再狭窄发生的部分细胞学机制。方法 将兔平滑肌接种于上室、内皮细胞接种于下室建立细胞共培养体系, 根据下室内皮细胞生长状态随机分为融合内皮组、对数内皮组、平滑肌对照组和内皮对照组, 于融合内皮组和对数内皮组下室加入 10 nmol/L 紫杉醇干预 20 min, 分别于干预前、干预后第 1 天、第 3 天、第 7 天和第 10 天检测平滑肌细胞和内皮细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率, 并作细胞计数。结果 紫杉醇干预后第 1 天和第 3 天, 对数内皮组和融合内皮组平滑肌细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率和细胞计数均明显低于平滑肌对照组(对数内皮组和融合内皮组平滑肌细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率分别为第 1 天 54% ± 4% 和 56% ± 5%, 第 3 天 65% ± 3% 和 63% ± 3%; 细胞计数分别为第 1 天 64% ± 6% 和 62% ± 4%; 第 3 天 68% ± 5% 和 66% ± 5%, $P < 0.05$)。对数内皮组内皮细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率和细胞计数明显低于内皮对照组(对数内皮组内皮细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入为第 1 天 75% ± 9%, 第 3 天 81% ± 6%; 细胞计数为第 1 天 72% ± 7%, 第 3 天 80% ± 7%; $P < 0.05$)。紫杉醇干预后第 7 天和第 10 天, 融合内皮组平滑肌细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率和细胞计数仍明显低于对照组平滑肌细胞(融合内皮组平滑肌细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率为第 7 天 69% ± 5%, 第 10 天 73% ± 4%; 细胞计数为第 7 天 72% ± 5%, 第 10 天 76% ± 6%; $P < 0.05$)。对数内皮组内皮细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率和细胞计数与内皮对照组相比均无显著差异, 对数内皮组平滑肌细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率和细胞计数在紫杉醇干预后第 7 天与平滑肌对照组相比也无统计学差异, 干预后第 10 天时明显高于平滑肌对照组(氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率为 107% ± 5%, 细胞计数为 112% ± 7%, $P < 0.05$)。结论 紫杉醇短时作用 20 min 即能持续抑制血管内皮和平滑肌细胞增殖, 紫杉醇干预后平滑肌细胞延迟增殖与内皮细胞延迟再生密切相关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect of Paclitaxel on the Time Course of Rabbit Vascular Smooth Muscle Cells and Endothelial Cells Growth

WU XiaoJing, HUANG Lan, ZHOU Qi, SONG Ming-Bao, YU ShiYong, and JIN Jun

(The Cardiovascular Center of Xinqiao Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

[KEY WORDS] Paclitaxel; Smooth Muscle Cell; Endothelial Cell; Cell Proliferation; Microtubule; Rabbit

[ABSTRACT] Aim To investigate the effect of paclitaxel on the time course of rabbit vascular smooth muscle cells (SMC) and endothelial cells (EC) growth. Methods In the cell coculture system, rabbit EC were seeded in the lower chamber and SMCs in the upper chamber. Four groups were divided: confluent EC group, proliferative EC group, EC control group and SMC control group. Paclitaxel of 10 nmol/L was added to the lower chamber of the confluent and proliferative EC group and act for 20 minutes. ³H-TdR incorporation and cell counting were assayed respectively after 0, 1, 3, 7 and 10 d to determine the effect of paclitaxel on the time course of vascular EC and SMC growth. Results

At 1 and 3 d after paclitaxel was added, the ³H-TdR incorporation and cell counting of SMC in the confluent and proliferative EC group were both significantly lower than those in the SMC control group (confluent EC group, proliferative EC group, ³H-TdR incorporation was respectively: 1d: 54% ± 4%, 56% ± 5%; 3 d: 65% ± 3%, 63% ± 3%; cell counting was respectively: 1 d: 64% ± 6%, 62% ± 4%; 3 d: 68% ± 5%, 66% ± 5%; $n = 6$, $P < 0.05$). The ³H-TdR incorporation and cell counting of EC in the proliferative EC group were also significantly lower than those in the EC control group (³H-TdR incorporation: 1 d: 75% ± 9%, 3 d: 81% ± 6%; cell counting: 1 d: 72% ± 7%, 3 d: 80% ± 7%; $n = 6$, $P < 0.05$). At 7 and 10d after paclitaxel was added, the ³H-TdR incorporation and cell counting of SMC in the confluent EC group were still lower than those in the SMC control group (³H-TdR incorporation: 7 d: 69% ± 5%, 10 d: 73% ± 4%; cell counting: 7 d: 72% ± 5%, 10 d: 76% ± 6%; $n = 6$, $P < 0.05$). However, the ³H-TdR incorporation and cell counting of EC in the proliferative EC group have no statistical significance compared with the EC control group(³H-TdR incorporation: 7 d: 97% ± 5%, 10 d: 101% ± 4%; cell counting: 7 d: 95% ± 4%, 10 d:

[收稿日期] 2004-04-08

[修回日期] 2004-12-02

[基金项目] 国家自然科学基金(30270568, 30400517)资助

[作者简介] 武晓静, 博士, 主治医师, 研究方向为血管损伤及相关修复机制。黄岚, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 全军心血管内科中心主任, 主要研究方向为血管损伤及修复机制, 本文通讯作者。周骐, 博士, 主治医师, 心肌肥厚及相关分子机制。

99% \pm 5%; $n = 6$, $P < 0.05$). The ^3H -TdR incorporation and cell counting of SMC in the proliferative EC group had no statistical significance at 7d compared with SMC control group(^3H -TdR incorporation: 96% \pm 3%; cell counting: 95% \pm 4%; $n = 6$, $P < 0.05$), and higher than those in the SMCs control group at 10 d after paclitaxel was added(^3H -TdR incorporation 107% \pm 5%, cell counting 112% \pm 7%, $n = 6$, $P < 0.05$). **Conclusion** Paclitaxel of single dose and short time application can sustainly inhibit rabbit vascular SMC and EC growth. The delayed SMC proliferation was closely related with the delayed EC regeneration induced by paclitaxel.

冠状动脉介入是治疗冠心病的重要手段,然而再狭窄一直是困扰介入治疗的难题。药物洗脱支架的应用将冠心病介入治疗推向一个新的阶段,支架抑制了球囊扩张术后血管弹性回缩和动脉收缩性重塑,而携载于支架上的抗增生药物(紫杉醇、雷帕霉素等)则能显著抑制平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)增殖^[1],因此,从理论上讲药物洗脱支架植入是冠心病介入治疗较为理想的方式。许多临床随机对照试验也都表明药物洗脱支架能显著降低再狭窄发生率,在再狭窄防治方面具有巨大的应用前景^[2]。也有部分临床资料表明药物洗脱支架植入后有延迟血栓形成和再狭窄发生^[3,4],完整内膜在防止血栓形成和再狭窄发生中起有重要作用^[5],延迟血栓形成和再狭窄发生可能与药物在抑制 SMC 增殖的同时也抑制内皮再生有关。为此,本研究以紫杉醇为研究对象,在分析了不同浓度紫杉醇对兔血管内皮和 SMC 增殖迁移关系影响的基础上,进一步通过细胞共培养模拟血管修复过程,观察紫杉醇对兔血管内皮和 SMC 增殖影响的时间效应,为药物洗脱支架植入后损伤血管修复过程中延迟再狭窄发生提供进一步实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

健康雄性纯种新西兰兔,体重 250~500 g,由第三军医大学实验动物中心提供。Transwell 培养板(膜孔径 0.4 μm)由 Corning(美国)生产;DMEM 干粉培养基、胎牛血清由 Hyclone(美国)生产;紫杉醇、内皮细胞生长补充因子(endothelial cell growth supplement, ECGS)由 Sigma(美国)生产;氚标胸腺嘧啶脱氧核苷(^3H -TdR)系上海原子核研究所生产; β 液体闪烁计数仪(Beckmen LS-6500 型)系美国生产。

1.2 药物配制

紫杉醇在无水乙醇中完全溶解后,用 DMEM 培养基稀释成 1 mmol/L 储存液,过滤除菌,保存备用。临用前再用培养液稀释为 10 nmol/L。研究表明 10 nmol/L 紫杉醇中乙醇浓度小于 0.05%,对平滑肌和内皮增生无影响^[6]。

1.3 兔主动脉内皮细胞的原代培养与鉴定

无菌条件下取出新生兔胸主动脉,用酶消化法分离内皮细胞,培养于含 20% 胎牛血清、100 mg/L ECGS 的 DMEM 培养基中。细胞融合后传代继续培养,实验用 3~5 代细胞。内皮细胞通过形态学及 vWF 因子免疫组织化学方法鉴定。

1.4 兔平滑肌细胞的原代培养与鉴定

无菌条件下取出新生兔胸主动脉,分离中膜平滑肌组织,以组织块法进行血管 SMC 原代培养,实验用 3~5 代细胞。SMC 通过形态学及 α 平滑肌肌动蛋白免疫组织化学方法鉴定。

1.5 Transwell 共培养体系的建立和分组^[7,8]

将内皮细胞接种于 6 孔板内,SMC 接种于 Transwell insert 膜上。待内皮细胞分别长至融合(100% 融合)和对数生长期(60% 融合)时换无血清培养基培养 24 h,使细胞同步化。然后将种有 SMC 的 Transwell insert 插入 6 孔板,使上室为 SMC,下室为内皮细胞,两室培养基通过 insert 膜孔交通。根据下室中内皮细胞生长状态随机分为 融合内皮组:下室为融合生长状态的内皮细胞;④对数内皮组:下室为对数生长状态的内皮细胞;④平滑肌对照组:下室为等量培养液、上室为 SMC;内皮对照组:下室为对数生长状态内皮、上室为 SMC。分别在融合内皮组和对数内皮组的下室加入紫杉醇使其终浓度为 10 nmol/L,作用 20 min 后,弃去共培养体系中的培养基,用无血清培养液漂洗 2 遍,洗去未进入细胞的游离紫杉醇。分别于加入紫杉醇前的当天(0 d)、加入紫杉醇后第 1 天、第 3 天、第 7 天和第 10 天进行 SMC 和内皮细胞 ^3H -TdR 掺入率和细胞计数检测。药物干预前及检测前均进行苔盼蓝染色以测定细胞活力。

1.6 氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入

于培养体系中加入 ^3H -TdR,使其终浓度为 37 MBq/L,共同培养 24 h 后用多头细胞收集器收集细胞于玻璃纤维滤膜上,用 10% 三氯醋酸处理、洗净,滤膜经红外线烤箱烘烤后置入闪烁瓶,加闪烁液,在 Beckmen 液体闪烁计数仪上测定 ^3H -TdR 掺入量。结果以相对于各时相点对照组的 ^3H -TdR 掺入率(与对照组的百分率)表示,掺入率反映紫杉醇对

SMC 和内皮细胞 DNA 合成的抑制程度。

1.7 细胞计数

共培养结束后,常规胰酶消化并进行细胞计数。结果以相对于各时相点对照组的细胞计数率(对照组的百分数)表示。

1.8 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 one way ANOVA 分析,两组间比较用 q 检验,以 SPSS10.0 统计软件包行统计学处理, $P < 0.05$ 为差异有显著性统计学意义。

2 结果

2.1 紫杉醇影响血管平滑肌细胞 DNA 合成的时间效应

如图 1 (Figure 1) 所示,紫杉醇干预前(0 d)融合内皮组和对数内皮组 SMC $^3\text{H-TdR}$ 掺入与平滑肌对照组相比均无统计学差异;紫杉醇干预后第 1 天,融合内皮组和对数内皮组 SMC $^3\text{H-TdR}$ 掺入分别为平滑肌对照组的 $56\% \pm 5\%$ 和 $54\% \pm 4\%$,与平滑肌对照组相比明显降低($n = 6, P < 0.05$);紫杉醇干预后第 3 天,融合内皮组和对数内皮组 SMC $^3\text{H-TdR}$ 掺入分别为平滑肌对照组的 $63\% \pm 3\%$ 和 $65\% \pm 3\%$,与平滑肌对照组相比仍明显降低($n = 6, P < 0.05$);紫杉醇干预后第 7 天,融合内皮组 $^3\text{H-TdR}$ 掺入为平滑肌对照组的 $69\% \pm 5\%$,仍明显低于平滑肌对照组($n = 6, P < 0.05$),但对数内皮组 SMC $^3\text{H-TdR}$ 掺入为对照组的 $96\% \pm 3\%$,与对照组相比无明显差异;紫杉醇干预后第 10 天,融合内皮组 SMC $^3\text{H-TdR}$ 掺入为对照组的 $73\% \pm 4\%$,仍明显低于平滑肌对照组($n = 6, P < 0.05$),对数内皮组 SMC $^3\text{H-TdR}$ 掺入为对照组的 $107\% \pm 5\%$,明显高于平滑肌对照组($n = 6, P < 0.05$)。

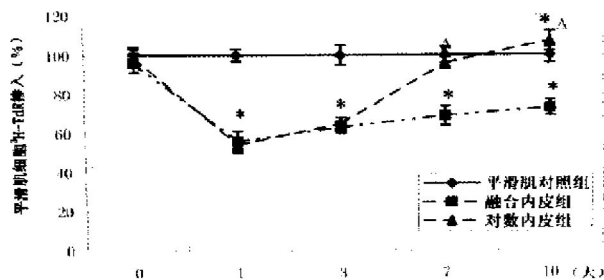


图 1. 紫杉醇对血管平滑肌细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入率影响的时间效应 * : $P < 0.05$, 与平滑肌对照组比较, Δ : $P < 0.05$ 与融合内皮组比较。

Figure 1. Time course of smooth muscle cells $^3\text{H-TdR}$ incorporation after incubated with paclitaxel of 10 nmol/L for 20 min

2.2 紫杉醇影响血管平滑肌细胞计数的时间效应

如图 2 (Figure 2) 所示,紫杉醇干预前融合内皮组和对数内皮组 SMC 计数与平滑肌对照组相比均无统计学差异;紫杉醇干预后第 1 天,融合内皮组和对数内皮组 SMC 计数分别为平滑肌对照组的 $62\% \pm 4\%$ 和 $64\% \pm 6\%$,与平滑肌对照组相比明显降低($n = 6, P < 0.05$);紫杉醇干预后第 3 天,融合内皮组和对数内皮组 SMC 计数分别为平滑肌对照组的 $66\% \pm 5\%$ 和 $68\% \pm 5\%$,与平滑肌对照组相比仍明显降低($n = 6, P < 0.05$);紫杉醇干预后第 7 天,融合内皮组 SMC 计数为对照组的 $72\% \pm 5\%$,仍明显低于平滑肌对照组($n = 6, P < 0.05$),对数内皮组 SMC 计数为平滑肌对照组的 $95\% \pm 4\%$,与平滑肌对照组相比无明显差异;紫杉醇干预后第 10 天,融合内皮组 SMC 计数为平滑肌对照组的 $76\% \pm 6\%$,仍明显低于平滑肌对照组($n = 6, P < 0.05$),对数内皮组 SMC 计数为对照组的 $112\% \pm 7\%$,明显高于平滑肌对照组($n = 6, P < 0.05$)。

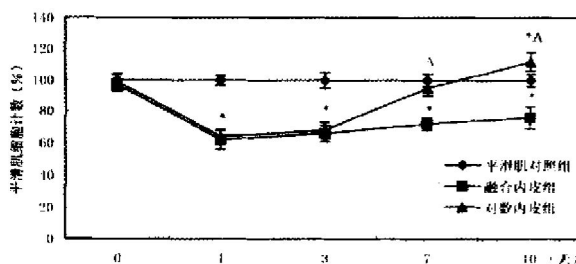


图 2. 紫杉醇影响血管平滑肌细胞计数的时间效应 * : $P < 0.05$, 与平滑肌对照组比较, Δ : $P < 0.05$, 与融合内皮组比较。

Figure 2. Time course of smooth muscle cells counting after incubated with paclitaxel of 10 nmol/L for 20 min

2.3 紫杉醇影响内皮细胞 DNA 合成的时间效应

如图 3 (Figure 3) 所示,紫杉醇干预前对数内皮组内皮细胞 $^3\text{H-TdR}$ 掺入与内皮对照组相比均无统计学差异;紫杉醇干预后第 1 天和第 3 天,对数内皮组内皮细胞 $^3\text{H-TdR}$ 掺入分别为对照组的 $75\% \pm 9\%$ 和 $81\% \pm 6\%$,均明显低于内皮对照组($n = 6, P < 0.05$);紫杉醇干预第 7 和第 10 天,对数内皮组内皮细胞 $^3\text{H-TdR}$ 掺入分别为对照组的 $97\% \pm 5\%$ 和 $101\% \pm 4\%$,与内皮对照组相比无明显差异。

2.4 紫杉醇影响血管内皮细胞计数的时间效应

如图 4 (Figure 4) 所示,紫杉醇干预前对数内皮组内皮细胞计数与内皮对照组相比无统计学差异;紫杉醇干预后第 1 天和第 3 天,对数内皮组内皮细胞

胞计数分别为对照组的 $72\% \pm 7\%$ 和 $80\% \pm 7\%$, 均明显低于内皮对照组 ($n = 6, P < 0.05$); 紫杉醇干预后第 7 和第 10 天, 对数内皮组内皮细胞计数分别为对照组的 $95\% \pm 4\%$ 和 $99\% \pm 5\%$, 与内皮对照组相比无明显差异。

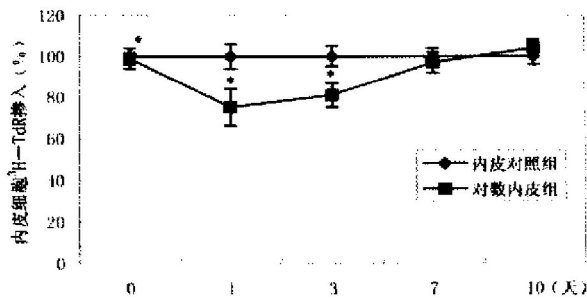


图 3. 紫杉醇对血管内皮细胞氚标胸腺嘧啶脱氧核苷掺入影响的时间效应 * : $P < 0.05$, 与平滑肌对照组比较。

Figure 3. Time course of endothelial cells ^3H -TdR incorporation after incubated with paclitaxel of 10 nmol/L for 20 min

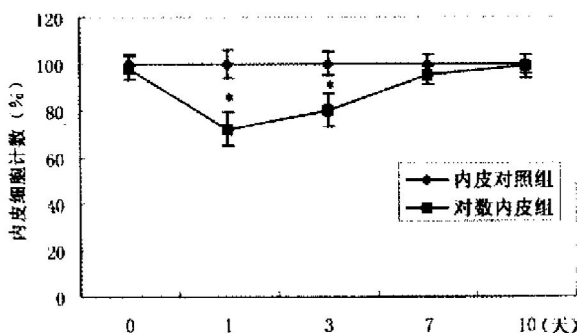


图 4. 紫杉醇影响血管内皮细胞计数的时间效应 * : $P < 0.05$, 与平滑肌对照组比较。

Figure 4. Time course of endothelial cells counting after incubated with paclitaxel of 10 nmol/L for 20 min

3 讨论

在用于洗脱支架的药物中, 紫杉醇由于其抑制 SMC 增殖效果确切, 且呈高度脂溶性适合局部药物转运而倍受关注^[9]。在前面的研究中我们通过细胞共培养观察了紫杉醇对兔血管内皮和 SMC 增殖迁移影响的剂量效应及相互关系, 结果发现紫杉醇在 $1 \text{ nmol/L} \sim 1 \mu\text{mol/L}$ 之间呈浓度依赖地抑制兔血管 SMC 增殖迁移, 在 $10 \text{ nmol/L} \sim 1 \mu\text{mol/L}$ 之间呈浓度依赖地抑制内皮细胞增殖迁移, 1 nmol/L 紫杉醇对内皮细胞增殖有抑制倾向, 但与对照组相比无统计学差异, 然而却显著抑制了内皮细胞迁

移^[6]。紫杉醇抑制 SMC 增殖的主要机制是微管动力学稳定作用, 然而微管是真核细胞中普遍存在的细胞骨架蛋白^[10], 因此紫杉醇抑制细胞增殖的作用是非选择性的, 这些结果表明紫杉醇不仅能抑制 SMC 增殖, 在一定剂量范围内还可能会抑制内皮细胞增殖迁移, 延迟内皮再生。为进一步探讨药物洗脱支架植入后、损伤血管修复过程中延迟再狭窄发生的细胞学机制, 本研究通过细胞共培养, 于上室接种 SMC、下室接种不同生长状态内皮细胞模拟血管修复过程, 观察紫杉醇对兔血管内皮和 SMC 增殖影响的时间效应及关系。结果发现紫杉醇干预后第 1 天和第 3 天, 内皮细胞增殖受到明显抑制, 干预后第 7 天和第 10 天, 内皮增生与对照组相比已无明显差异。这些结果表明 10 nmol/L 紫杉醇短时作用 20 min 就能抑制血管内皮细胞增殖, 但随作用时间的延长, 对内皮细胞增殖的抑制程度逐渐减弱。同样, 紫杉醇短时作用 20 min 即能抑制血管 SMC 增殖, 但下室中内皮生长状态不同, 上室中 SMC 对紫杉醇的反应也不同。在观察时间段内, 与对照组 SMC 相比, 紫杉醇能持续抑制融合内皮组 SMC 增殖, 干预后第 1~3 天也能抑制对数内皮组 SMC 增殖, 但到第 7 天对数内皮组 SMC 增殖和对照组相比已无明显差异, 第 10 天对数内皮组 SMC 增殖明显高于对照组。结合紫杉醇作用后内皮和 SMC 增殖的时间特点, 本研究结果说明对数内皮组 SMC 延迟增殖与接种于下室的内皮细胞延迟再生密切相关。

由于内皮细胞生长状态不同, 对 SMC 生物学特性的影响也不同, 增殖期内皮释放的促平滑肌增生的细胞因子占优势, 内皮增殖本身就能刺激 SMC 增殖迁移^[11]。虽然在本研究中我们只观察了 10 nmol/L 紫杉醇对平滑肌和内皮细胞增殖影响的时间效应, 但如果增大紫杉醇浓度, 则其对平滑肌和内皮细胞增殖的抑制程度和抑制时间都会相应增加和延长, 但最终随着紫杉醇药效的减弱, 对平滑肌和内皮细胞增殖的抑制程度也会逐渐减弱, 最后都会出现未融合内皮延迟增生现象。因此, 这些结果也能说明紫杉醇干预后 SMC 的延迟增生与内皮细胞的延迟再生密切相关。

完整内膜在维持血管功能中起重要作用, 介入手术不可避免地会损伤内皮, 内皮损伤后主要靠邻近正常内皮增生迁移恢复内膜完整性^[12, 13]。本研究存在一定局限性, 因为药物洗脱支架的效果不仅取决于药物本身, 还与支架的设计类型、药物涂层的方式都密切相关, 二者均可直接影响到药物在支架

表面分布是否均匀、药物的释放速度以及到达组织中的浓度等,从而最终影响药物洗脱支架的效果^[14]。而本实验仅探讨了紫杉醇这一药物对平滑肌和内皮细胞增殖影响的时间效应,但本实验也能说明紫杉醇干预后 SMC 延迟增生与内皮细胞延迟再生密切相关。由于增殖期内皮本身就能刺激 SMC 增殖迁移,即血管损伤后内皮再生不仅参与了损伤内膜修复,也参与了动脉粥样硬化、再狭窄等病理性重构过程^[11],因此结合本研究结果我们推测紫杉醇洗脱支架植入后引起的延迟再狭窄可能与紫杉醇药物作用减弱后,再生内皮在修复内膜的同时,也促进了 SMC 增殖有关。另外,本研究发现在观察时间段内紫杉醇能持续抑制融合内皮组平滑肌增生,此结果进一步提示如果在药物抑制血管 SMC 增殖的同时,联合细胞因子或细胞移植治疗促进损伤血管段再内皮化、早日恢复内膜完整性,就能使我们更好地应用紫杉醇洗脱支架,取得更好的临床效果。

[参考文献]

- [1] Smith EJ, Rothman MT. Antiproliferative coatings for the treatment of coronary heart disease: what are the targets and which are the tools? *J Interv Cardiol*, 2003, **16** (6): 475-483
- [2] Fattori R, Piva T. Drug-eluting stents in vascular intervention. *Lancet*, 2003, **361** (9353): 247-249
- [3] Derntl M, Syeda B, Beran G, Schukro C, Denk S, Glogar D. Prevention of stent thrombosis following brachytherapy and implantation of drug-eluting

stents. *J Interv Cardiol*, 2002, **15** (6): 477-483

- [4] Virmani R, Liistro F, Stankovic G, Dimario C, Montorfano M, Farb A, et al. Mechanism of late in-stent restenosis after implantation of a paclitaxel derivative-eluting polymer stent system in humans. *Circulation*, 2002, **106** (21): 2 649-651
- [5] Losordo DW, Isner JM, Diaz-Sandoval LJ. Endothelial recovery the next target in restenosis prevention. *Circulation*, 2003, **107** (21): 2 635-637
- [6] 武晓静, 黄 岚, 晋 军, 宋明宝, 于世勇. 紫杉醇对培养兔血管平滑肌和内皮细胞增殖迁移的影响及相互关系. *中华心血管病杂志*, 2004, **32** (7): 626-630
- [7] Axel DI, Riessen R, Athanasiadis A, Runge H, Koveker G, Karsch KR. Growth factor expression of human arterial smooth cells and endothelial cells in a transfilter coculture system. *J Mol Cell Cardiol*, 1997, **29** (11): 2 967-978
- [8] Spees JL, Olson SD, Ylostalo J, Lynch PJ, Smith J, Perry A, et al. Differentiation, cell fusion, and nuclear fusion during ex vivo repair of epithelium by human adult stem cells from bone marrow stroma. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, **100** (5): 2 397-402
- [9] 武晓静, 黄 岚. 微管抑制剂与球囊成形术后新生内膜增生和收缩性血管重塑. *中国循环杂志*, 2001, **16** (5): 397-398
- [10] Frixione E. Recurring views on the structure and function of the cytoskeleton: a 300-year epic. *Cell Motil Cytos*, 2000, **46** (2): 73-94
- [11] Xiaojing W (武晓静), Lan H (黄岚), Dailiang S (宋代良), Jun J (晋军), Gang Z (赵刚). Effects of endothelial cells growth states on the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells in vitro (English). *生理学报*, 2003, **55** (5): 554-559
- [12] Carmelet P, Moons L, Stassen JM, Demol M, Bouche A, vandenoord JJ, et al. Vascular wound healing and neointima formation induced by perivascular electric injury in mice. *Am J Pathol*, 1997, **150** (2): 761-776
- [13] 韦立新. 经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄的病理学机制. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (1): 1-3
- [14] König A, Schiele TM, Rieber J, Theisen K, Mudra H, Klauss V. Influence of stent design and deployment technique on neointima formation and vascular remodeling. *Z Kardiol*, 2002, **91** (Suppl 3): 98-102

(此文编辑 胡必利)