

Simvastatin 与 rhG-CSF 促进兔颈总动脉球囊损伤后内膜修复的实验研究

田广磊 姜孝奎¹ 侯梅华² 赛里木³ 戈小虎^{3△}

(1 石河子大学医学院 新疆 石河子 832002 2 兰州军区乌鲁木齐总医院呼吸内科 新疆 乌鲁木齐 830000 ;

3 新疆维吾尔自治区人民医院普外二科 新疆 乌鲁木齐 830001)

摘要 目的 观察辛伐他汀及重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)在兔颈总动脉内膜损伤后对血管壁变化及外周血中CD34⁺细胞含量的影响。方法 雄性新西兰大白兔48只,随机均分为单纯损伤组,辛伐他汀组,rhG-CSF组及辛伐他汀和rhG-CSF联合组(简称联合组),建立兔左颈总动脉内膜球囊导管损伤模型,术后给予辛伐他汀(10mg/kg/d经胃灌入)及rhG-CSF(100μg/d皮下注射)干预治疗,每组分别于术前1d、术后7d、14d、21d、28d抽取静脉血2ml,经流式细胞仪检测外周血中CD34⁺细胞含量;4周后处死所有动物取损伤段血管,弹力纤维染色,计算内膜厚度、中膜厚度、管腔面积(S)、内膜面积(Si)、中膜面积(Sm)及Si/Sm比值评价血管再狭窄程度。结果:①术前4组之间相比外周血CD34⁺细胞含量无明显差异(P>0.05)术后7d时各組外周血CD34⁺细胞含量最高,后逐渐下降,28d较低,但仍高于术前含量;rhG-CSF组及联合组与对照组相比外周血CD34⁺细胞明显增多(P<0.01,P<0.01)术后7d、14天时辛伐他汀组与单纯损伤组相比外周血CD34⁺细胞无明显差别(P>0.05)。术后21d、28天时辛伐他汀组与单纯损伤组相比外周血CD34⁺细胞有显著差异(P<0.05)。②与单纯损伤组相比辛伐他汀组、rhG-CSF组及联合组Si/Sm比值明显减小(P<0.05)辛伐他汀组和rhG-CSF组两组间比较无显著差别(P>0.05)联合组分别与辛伐他汀组、rhG-CSF组比较血管内膜增生更少,具有显著性(P<0.01,P<0.01)。结论:本实验研究发现辛伐他汀可促进损伤内膜修复及预防血管再狭窄,长期服用可以增加外周血CD34⁺细胞;rhG-CSF可明显增加外周血CD34⁺细胞及预防血管在狭窄;辛伐他汀与rhG-CSF联合用药可明显增加外周血CD34⁺细胞,加速内皮修复与预防再狭窄,较单一用药具有更好的疗效。

关键词 辛伐他汀 重组人粒细胞集落刺激因子 CD34⁺细胞 血管再狭窄 内膜修复

中图分类号 Q95-3 R654.3 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2011) 13-2427-05

Effects of Simvastatin and rhG-CSF on Endothelium Repair in Balloon-Injured Common Carotid Artery of Rabbits

TIAN Guang-Lei, JIANG Xiao-Kui¹, HOU Mei-Hua², SAI Li-mu³, GE Xiao-Hu^{3△}

(1 Medical College of SHI HEZI University, SHIHEZI, China, 832002;

2 Department of Vascular Surgery, Xinjiang Uigur Autonomous Region People's Hospital, Uigur, China, 830001;

3 Department of Respiratory Medicine, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region, Uigur, China, 830000)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of simvastatin and recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF) on the changes in vessel wall and peripheral blood CD34⁺ content after rabbit carotid artery intima injury. **Methods:** 48 male New Zealand white rabbits were randomly divided into four groups: single injury group, simvastatin group, rhG-CSF group and combined with simvastatin and rhG-CSF group (combined group). After injury the left common carotid artery intima balloon-catheter, simvastatin 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ was pushed into stomach in the simvastatin group, and rhG-CSF 100μg·d⁻¹ was given via subcutaneous injection in rhG-CSF group and combined group, 2ml venous blood was drawn at pre 1d, after 7d, 14d, 21d, 28d each group, then CD34⁺ cell levels in peripheral blood were analyzed by flow cytometry, 4 weeks later all animals were killed. The specimens of artery tissue were dyed by elastic fibers staining and HE staining, and the changing of intimal thickness, medial thickness, lumen area (S), intimal area (Si), medial area (Sm) and the Si / Sm ratio was evaluated. **Results:** ① The preoperative peripheral blood CD34⁺ cells in 4 groups had no significant difference (P>0.05); After 7d, peripheral blood CD34⁺ cells in each group was the highest, then decreased gradually, but peripheral blood CD34⁺ cells at 28d was still higher than the preoperative levels; The mean density of CD34⁺ cells at pre 1d, after 7d, 14d, 21d, 28d in rhG-CSF group and combination group was higher than the single injury group (P<0.01, P<0.01); There was no discrepancy between the simvastatin group and the single injury group at after 7d and after 14d (P>0.05), while there was significant difference between the simvastatin group and the single injury group at 21d and at 28d (P<0.05) ② Compared with the single injury group, Si/Sm of simvastatin group, rhG-CSF group and combination group significantly reduced (P<0.05); there was no discrepancy between simvastatin group and rhG-CSF group (P>0.05); Compared with the simvastatin group and rhG-CSF group, combination group had less intimal hyperplasia (P<0.01, P<0.01). **Conclusion:** Simvastatin could promote injured intimal repair and prevent restenosis. Long-term use of simvastatin can increase the peripheral blood CD34⁺ cells; rhG-CSF significantly increases the peripheral blood CD34⁺ cells and prevents stenosis; Simvastatin and rhG-CSF combination therapy significantly increases the peripheral blood CD34⁺ cells, accelerates endothelial repair and prevents restenosis, compared with single drug there is better efficacy.

Key words: Simvastatin; Recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF); CD34⁺ cells; Restenosis; Intimal repair

Chinese Library Classification (CLC): Q95-3 R654.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273 (2011) 13-2427-05

作者简介 田广磊 (1984), 男, 硕士研究生, 研究方向为血管外科, 电话: 18999876732, E-mail: 881303tgl@163.com

△通讯作者 戈小虎, E-mail: gexiaohu-xj@sohu.com

(收稿日期: 2011-03-02 接受日期: 2011-03-27)

前言

血管外科是一门年轻的学科,目前血管外科技术的发展热点及重点是血管介入治疗技术,经导管介入治疗是当前及将来一段时间内治疗冠脉综合症、各类血管瘤、动静脉内漏,动脉血栓等疾病的主要方法。随着介入技术的发展,导致血管内膜损伤及再狭窄的发生率居高不下,据统计,临床介入后支架内再狭窄率为 15%-60%,随着时间的延长,狭窄率逐渐增高^[1]。大量研究提示血管内膜损伤及局部平滑肌移位增生与血管再狭窄密切相关,为更好的促进血管内膜修复及预防再狭窄,本实验通过建立兔颈总动脉内膜损伤模型,观察辛伐他汀及重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)在动脉内膜损伤后对血管内膜修复的影响,为今后临床上各种介入治疗中出现明确内膜损伤、动静脉急性栓塞取栓术后及血管移植术后等患者行药物治疗或骨髓动员提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 试剂

辛伐他汀片(杭州默沙东制药有限公司) 重组人粒细胞集落刺激因子注射液(北京双鹭药业股份有限公司) 弹力纤维染色试剂(EVG法;许可证号 20010407,珠海贝索生物技术有限公司) ;Anti-CD34/FITC(上海华壹生物科技有限公司)

1.2 实验动物及分组

新西兰大白兔 48 只(新疆实验动物研究中心,动物生产许可证号 SCXK(新) 2003-0002 实验动物使用许可证号 SYXK(新) 2003-0003),雄性,年龄 16 周 -18 周,体重 2.5 kg±0.5kg,体重均衡(见图 1-1),随机均分为:单纯损伤组、辛伐他汀组、rhG-CSF 组及辛伐他汀和 rhG-CSF 联合组(简称联合组),每组 12 只。

1.3 建立颈总动脉内膜损伤模型

术前 4h 禁食水,称重,以 3%戊巴比妥钠行耳缘静脉注射麻醉(用量 30mg/kg,总量前 2/3 快速静推,后 1/3 缓慢注射,观察兔子呼吸、心率、兔角膜反射、肌肉紧张度及有无躁动等情况),直至出现兔头部开始下垂,呼吸减慢,睫毛反射减弱,角膜反射减弱,肌肉完全松弛,无躁动时,提示进入麻醉状态,停止推注,术中根据兔角膜反射用戊巴比妥钠腹腔注射维持麻醉状态,兔仰卧于手术台,固定四肢及头部(以细绳固定门齿,使头部后仰同时固定,以剪刀行颈部备皮,用 2.5%的碘伏消毒,铺无菌洞巾,手术刀沿颈部正中纵行切口,于甲状软骨上方水平暴露并游离左颈总动脉(Common Carotid Artery,CCA)、左颈内动脉(Internal Carotid Artery,ICA)和左颈外动脉(External Carotid Artery,ECA),在 CCA 距 ICA、ECA 分叉约 2cm 处及 ICA 起

始处用动脉夹临时夹闭,在暴露的 ECA 距 CCA 分叉约 1cm 处用动脉夹临时夹闭,自耳缘静脉注射肝素钠 200IU/kg,5min 后沿颈外动脉血管前壁剪一“V”形小切口,插 1。5x25mm 的 PTCA 球囊导管至颈总动脉内约 5cm,连接手推式压力泵,注入肝素生理盐水,然后将气囊充气,压力维持在 2-3 个大气压(具体压力根据操作中回拉时有明显阻力感,又可以拉动球囊为宜),直视下可见被球囊扩张的血管局部明显膨隆,机械扩张右 CCA,重复 3 次,每次 30s,间歇 60s,每次抽空压力泵使球囊内成负压后再重复回拉,最终造成右 CCA 内膜剥脱及机械损伤,撤出导管,结扎颈外动脉,恢复血流,分层缝合伤口,术后常规青霉素抗菌治疗。

1.4 干预药物的应用

参考相关文献,rhG-CSF 组与联合组术前一周给予 rhG-CSF(100μg/ 日 皮下注射),其余两组给予同体积生理盐水注射;术后第 2 天对辛伐他汀组及联合组开始辛伐他汀干预,剂量设为 10mg / kg / d,经口灌入,疗程由术后第 2 天至第 28 天,其余两组给予同体积生理盐水灌胃。

1.5 标本采集、检测及组织化学染色

每组分别于术前 1d、术后 7d、14d、21d、28d 抽取静脉血 2ml,应用流式细胞仪测定外周血中 CD34⁺ 细胞含量。

术后第四周(实验观察结束日),取损伤段血管,10%福尔马林液固定液固定 24h,石蜡包埋,弹力纤维染色 + 苏木素染色操作均按试剂盒提供的操作规程执行,光学显微镜下观察拍照,弹力纤维染色(EVG 法) 弹力纤维染蓝黑色,胶原纤维呈红色,肌纤维、红细胞呈黄色,计算机图像分析系统分析计算内膜厚度、中膜厚度、管腔面积(S)、内膜面积(tunica intima,以下简称 Si),指血管腔内缘到内弹力板之间的面积;中膜面积(tunica media,以下简称 Sm),指内外弹力板之间的面积;为减少中膜初始面积差异对结果的影响,采用 Si/Sm 比值表示内膜增生程度,以评价血管再狭窄。

1.6 统计方法

采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析(ANOVA),P<0.05 为差异有统计学意义,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 动物一般情况

单因素方差分析结果 F=0.599,P=0.619,组间均数的差异无统计学意义,各组动物体重之间的无显著性差异,动物体重均衡,预实验准备充分,各组动物在手术后伤口无明显感染,实验过程中无死亡,见表 1。

表 1 各组实验动物体重的比较($\bar{g}, \bar{x} \pm s$)
Table 1 Weight of experimental animals in each group($\bar{g}, \bar{x} \pm s$)

Group	N	Weight (g)
Single injury group	12	2768.30± 105.39
Simvastatin group	12	2731.70± 36.64
rhG-CSF group	12	2771.70± 112.24
Combined group	12	2762.90± 94.55

2.2 CD34⁺ 细胞含量的测定

对数据行单因素方差分析, 各组术前 1d 外周血中 CD34⁺ 细胞含量相比差异无统计学意义 (F=0.212,P=0.888) 术后 7d、14d、21d、28d 与分别术前 1d 相比外周血 CD34⁺ 细胞含量有显著性 (P<0.01) 各组实验动物外周血中 CD34⁺ 细胞含量术后均出现增高, 术后 7d 时达到峰值, 后缓慢下降, 28d 较低, 但仍高于术前含量, 术后各组 CD34⁺ 细胞平均含量变化趋势 联合组>rhG-CSF 组>辛伐他汀组>单纯损伤组; 术后 7d 时各组

间两两比较 辛伐他汀组外周血中 CD34⁺ 细胞含量与单纯损伤组相比无显著差异 (0.371± 0.033 比 0.348± 0.036,P=0.394) , 其余各组间两两比较 (P<0.01) , 有统计学意义 术后 14d 时各组间两两比较 辛伐他汀组外周血中 CD34⁺ 细胞含量与单纯损伤组相比无显著差异 (0.343± 0.041 比 0.318± 0.018,P=0.232) , 其余各组间两两比较 (P<0.01) , 有统计学意义 术后 21d 及 28d 时各组间两两比较 (P<0.01) , 有统计学意义, 见表 2。

表 2 不同时间各组外周血 CD34⁺ 细胞含量的测定 (% , $\bar{x} \pm s$)

Table 2 The levels of peripheral blood CD34⁺ cells in each group at different time (% , $\bar{x} \pm s$)

	Single injury group	Simvastatin group	rhG-CSF group	Combined group
1d before surgery	0.199± 0.042	0.210± 0.045	0.200± 0.033	0.206± 0.032
7d after surgery	0.348± 0.036*	0.371± 0.033*a	0.740± 0.108*b	0.822± 0.060*b
14d after surgery	0.318± 0.018*	0.343± 0.041*a	0.681± 0.081*b	0.761± 0.041*b
21d after surgery	0.289± 0.021*	0.324± 0.040*b	0.593± 0.062*b	0.668± 0.030*b
28d after surgery	0.236± 0.023*	0.269± 0.028*b	0.477± 0.052*b	0.528± 0.039*b

Note: * P<0.01 VS 1d before surgery; a P>0.05 VS single injury group; b P<0.01 VS single injury group

2.3 各组实验动脉内膜厚度、中膜厚度、内膜面积(Si)、中膜面积(Sm)及 Si/Sm 的测定

2.3.1 各组实验动脉内膜厚度、中膜厚度结果 各组实验动脉内膜厚度、中膜厚度测定结果见表 3, 对数据行单因素方差分析, 各组动脉内膜厚度与正常动脉内膜厚度相比有显著差异

(F=777.81,P=0.00) , 各组动脉中膜厚度与正常动脉内膜厚度相比无显著差异 (F=1.06,P=0.375) 各组间动脉内膜厚度两两比较 辛伐他汀组与 rhG-CSF 组相比无显著差异 (49.58± 1.93 比 50.92± 2.47,P=0.221) , 其余各组间两两比较 (P<0.01) , 有统计学意义。

表 3 各组兔颈总动脉内膜厚度及中膜的测定 (um, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 The thickness of intima and media of the rabbit carotid artery (um, $\bar{x} \pm s$)

	n	Intimal thickness (um)	Medial thickness (um)
Normal arteries	6	8.67± 1.52	57.27± 8.81
Single injury group	12	83.08± 3.65*	57.92± 3.40a
Simvastatin group	12	49.58± 1.93*	59.17± 2.72a
rhG-CSF group	12	50.92± 2.47*△	57.75± 1.82a
Combined group	12	32.25± 2.14*	57.33± 2.42a

2.3.2 各组实验动物内膜面积(Si)、中膜面积(Sm)及 Si/Sm 各组实验动物内膜面积(Si)、中膜面积(Sm)及 Si/Sm 的测定见表 4, 排除中膜起始面积的不同造成结果的误差, 仅对 Si/Sm 数据行单因素方差分析, 各组动脉 Si/Sm 间比较有显著差异 (F=292.

27,P<0.01) 洛组间 Si/Sm 值两两比较 辛伐他汀组与 rhG-CSF 组相比无显著差异 (0.733± 0.035 比 0.776± 0.043,P=0.078) 。 其余各组间两两比较 (P<0.01) , 有统计学意义。

表 4 各组颈动脉内膜、中膜面积及其比值的测定 ($\bar{x} \pm s$, n=12)

Table 4 The area of intima and Media and the ratio of Si / Sm ($\bar{x} \pm s$, n=12)

	Intimal area (Si,mm ²)	Medial area (Sm,mm ²)	Si / Sm
Single injury group	0.178± 0.010	0.149± 0.012	1.194± 0.089
Simvastatin group	0.119± 0.007	0.162± 0.010	0.733± 0.035*
rhG-CSF group	0.123± 0.009	0.161± 0.008	0.776± 0.043*a
Combined group	0.088± 0.008	0.173± 0.009	0.512± 0.048*

Note: * P<0.05 VS single injury group; a P>0.05 VS simvastatin group

2.4 观察光镜下兔颈总动脉血管壁的形态学变化

光镜下正常血管壁:内膜光滑完整,内膜和中膜以波浪状完整连续的内弹力板为界,中膜与外膜之间以外弹力板为界,内膜、中膜和外膜分界清楚,内膜为单层扁平状内皮细胞及其基质,中膜含大量平滑肌纤维和弹性纤维,平滑肌细胞呈长梭形,以管腔为中心呈同心圆排列,约4-6层,外膜富含胶原结缔组织,含有大量成纤维细胞。

弹力纤维染色可见动脉球囊损伤后内膜明显增厚,增生内膜中可见内皮细胞排列紊乱,大量胶原纤维及少量弹性纤维(弹力纤维染蓝黑色,胶原纤维呈红色,肌纤维、红细胞呈黄

色)。HE染色血管三层结构分界不清楚,高倍镜下隐约可见动脉内弹力膜,结合弹力纤维染色分层定位,可见新生内膜由大量的胞外基质、血管平滑肌细胞构成,偶可见泡沫细胞、巨噬细胞和淋巴细胞,①单纯损伤组内膜增生明显,高倍镜下可见10-12层内皮细胞,排列紊乱,伴有大量胶原纤维及少量弹性纤维,偶伴有粥样斑块形成;②辛伐他汀组及rhG-CSF组增生内膜较单纯损伤组略少,约6-8层内皮细胞不规则排列,伴有大量胶原纤维及少量弹性纤维;③联合组增生内膜较少,3层内皮细胞一下,伴有少量胶原纤维。

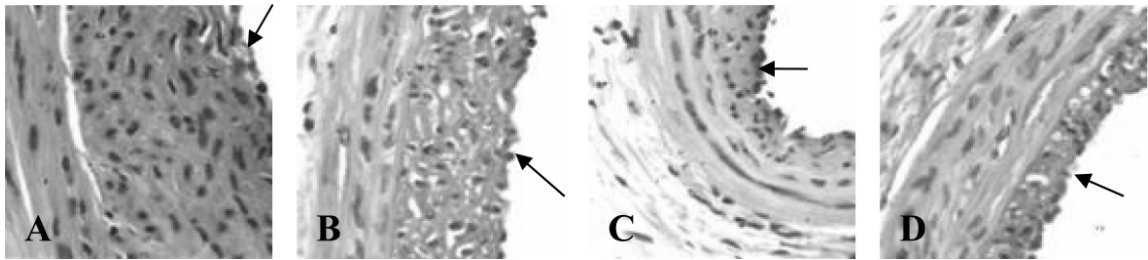


图1 A:单纯损伤组血管内膜×200 B:辛伐他汀组血管内膜×200 C:rhG-CSF组血管内膜×200 D:联合组血管内膜×200

Fig.1 A:The intima of single injury group; B:The intima of simvastatin group; C: The intima of rhG-CSF group; D:The intima of combined group

3 讨论

据统计,临床介入后血管总再狭窄率为15%-60%,临床研究发现经皮球囊冠状动脉腔内成形术(Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty,PTCA)术后6个月内再狭窄高达30-50%,下肢静脉旁路移植术后1年内40%的移植静脉发生狭窄或闭塞,冠脉搭桥术后1年内移植静脉的狭窄率高达75%以上^[2],临床上介入后支架内再狭窄(Internal Stent Restenosis,ISR)发生率为20%-30%,现代研究认为再狭窄的本质是机体对血管损伤的一种过度愈合反应,是一系列炎性物质和生长因子介导的复杂生物过程,包括血栓形成、内膜增殖及血管重塑。动脉内膜损伤后再狭窄的病理机制尚未完全清楚,但最近研究发现血管内膜损伤后中膜平滑肌向内膜迁移增殖而导致新内膜过度增生是最主要的机制^[3,4]。

传统观念认为内膜修复只能依靠损伤血管内膜邻近的内皮细胞分化、增殖参与损伤处内皮细胞再生。然而 Sahara A 等发现纯化的分化抗原(cluster of differentiation) CD34⁺造血干细胞(Hemopoietic stem cell, HSC)能在体外分化为有内皮细胞表型的细胞,称其为血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs),它可进一步分化为内皮细胞^[5]。

研究证实骨髓是修复损伤血管的细胞库,其在血管修复和维持内皮功能完整中具有重要作用,干细胞是一群较原始的细胞,具有极强的自我更新能力及多项分化潜能。从胚胎发生学来看 EPCs 和 HSC 共同来源于中胚层的一种祖先细胞—造血血管母细胞,造血血管母细胞在卵黄囊血岛中分化,周边的细胞分化为扁平的内皮祖细胞,中央部分的细胞则分化为造血干细胞^[6]。新生血管中25%的内皮细胞是由内皮祖细胞(EPCs)分化而来的^[7],EPCs不仅参与人胚胎血管生成,同时也参与出生后血管新生和内皮损伤后的修复过程;在血管内皮损伤后,EPCs能归巢至损伤血管内皮局部,加快损伤血管再内皮化,抑

制病理性新生内膜形成,在血管内皮损伤修复中起着重要作用。目前 EPCs 在成体中主要存在于骨髓、脐血、脾脏和外周血等组织,在骨髓中 EPCs 表达 CD133,CD34,VEGFR-2,而循环中的 EPCs 表达 CD34,VEGFR-2,CD31 及内皮钙黏蛋白等^[8],因而检测外周血中 CD34⁺细胞含量可间接反映外周血中 EPCs 的含量。药物动员 EPCs 简单易行、安全有效,Takahashi T 等研究表明粒-巨噬细胞集落刺激因子(Granulocyte-macrophage Colony-stimulating Factor,GM-CSF)可明显增加外周血中内皮祖细胞的数量,促进受损内皮的修复,改善内皮细胞功能^[9]。国内有研究重组人 G-CSF 在不同时间相对内皮前体细胞的动员作用,发现 rhG-CSF 对 EPCs 有显著而持续的动员作用^[10]。重组人粒细胞集落刺激因子可促进大鼠血管损伤后外周血中 CD34⁺细胞表达及血管内膜再内皮化,抑制新生内膜增生^[11]。

研究发现 3-羟基 3-甲基戊二酰辅酶 A(Hydroxy-methyl-glutaryl coenzyme A,HMG-coA)还原酶抑制剂(他汀类药物)具有独立于降脂作用的多方面效应,即所谓他汀类药物的“多向性效应”^[12,13]。Assmus B 等用阿托伐他汀和美伐他汀与人循环中内皮祖细胞体外共同培养,发现阿托伐他汀与美伐他汀均能促进内皮祖细胞的增殖,并且老化细胞的相对数量和绝对数量均下降^[14]。研究表明辛伐他汀显著提高了外周血内皮祖细胞数量、粘附能力,并抑制其凋亡^[15]。Schömig K 等在急性心肌梗死的患者中观察到,外周血循环内皮祖细胞数量与是否使用他汀类药物呈正相关^[16]。Landmesser U 在慢性心力衰竭的患者中也观察到,辛伐他汀 10mg/d 治疗 4 周后,从外周血分离培养的内皮祖细胞的数量明显增加^[17]。各种组织来源内皮祖细胞体外分离培养与鉴定是目前基础研究的重点与热点,但是仍不成熟,需用各种诱导剂诱导分化,与内源性内皮祖细胞相比,培养的内皮祖细胞生存微环境与人体造血及循环系统的微环境差别很大,目前临床应用较少。因此应用药物骨髓动员 EPCs 进入外周血,同时结合他汀类药物促进骨髓及外周血中 EPCs 增

殖与分化,并减少其凋亡,在临床应用上也将是一种更简单、快速的方法。

为了更好的预防术后血管再狭窄,本实验通过建立兔颈总动脉球囊损伤模型,术后给予辛伐他汀及重组人粒细胞集落刺激因子(rhG-CSF)药物干预治疗,来探讨辛伐他汀及rhG-CSF在动脉内膜损伤后内膜修复的影响,结果发现辛伐他汀可促进损伤内膜修复及预防血管再狭窄,长期服用可以增加外周血CD34⁺细胞;rhG-CSF可明显增加外周血CD34⁺细胞及预防血管在狭窄;辛伐他汀与rhG-CSF联合用药可明显增加外周血CD34⁺细胞、加速内皮修复与预防再狭窄,较单一用药具有更好的疗效。

参考文献(References)

- [1] Fattori R, Piva T. Drug-eluting stents in vascular intervention [J]. Lancet, 2003, 361: 247-249
- [2] Keith C, Ozaki MD. Cytokines and the Early Vein Graft-Strategies to Enhance Durability[J]. J Vasc Surg, 2007, 45: 92-98
- [3] 刘丽, 黄从新. 冠状动脉支架术后再狭窄 [J]. 武汉大学学报, 2007, 28(3): 404-408
- [4] Palmaz JC, Hunter G, Carson SN, et al. Postoperative carotid restenosis is due to neointimal fibromuscular hyperplasia: clinical, angiographic and pathological findings[J]. Radiology, 1983, 148: 699-702
- [5] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. Science, 1997, 275 (5302): 964-967
- [6] Bertolini F, Mancuso P, Gobbi A, et al. The thin red line: Angiogenesis in normal and malignant hematopoiesis [J]. Exp Hematol, 2000, 28(9): 993-1000
- [7] Zeng L, Xiao Q, Margariti A, et al. HDAC3 is crucial in shear and

VEGF-induced stem cell differentiation toward endothelial cells [J]. Cell Bio, 2006, 174 (7): 1059-1069

- [8] Torsney E, Mandal K, Halliday A, et al. Characterisation of progenitor cells in human atherosclerotic vessels [J]. Atherosclerosis, 2007, 191(2): 259-264
- [9] Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia and Cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization [J]. Nat Med, 1999, 5: 434-438
- [10] 王改玲, 肖传实, 邱龄, 等. 粒细胞集落刺激因子对内皮前体细胞的动员 [J]. 医学研究生学报, 2006, 19 (4): 3342-3371
- [11] 吴俊, 陈绍良. 重组人粒细胞集落刺激因子修复大鼠动脉损伤 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11 (2): 4630-4633
- [12] Maron DJ, Fazio S, Linton MF. Current perspectives on statins [J]. Circulation, 2000, 101: 207-213
- [13] Fox A, Smythe J, Fisher N, et al. Mobilization of endothelial progenitor cells into the circulation in burned patients [J]. Br J Surg, 2008, 95 (2): 244-251
- [14] Assmus B, Urbich C, Aicher A, et al. HMG-CoA reductase inhibitors reduce senescence and increase proliferation of endothelial progenitor cells via regulation of cell cycle regulatory genes [J]. Circ Res, 2003, 92: 1049-1055
- [15] 周亚林, 杨乃全. 辛伐他汀影响内皮祖细胞数量、粘附及凋亡的研究 [J]. 徐州医学院学报, 2009, 29 (2): 86-88
- [16] Schömig K, Busch G, Steppich B, et al. Interleukin-8 is associated with circulating CD133⁺ progenitor cells in acute myocardial infarction [J]. Eur Heart J, 2006, 27: 1032-1037
- [17] Landmesser U, Bahlmann F, Mueller M, et al. Simvastatin versus ezetimibe pleiotropic and lipid-lowering effects on endothelial function in humans [J]. Circulation, 2005, 111: 2356-2363

(上接第 2446 页)

- [7] Liu Y, Simsek E, Norton P, et al. The role of the downstream signal sequences in the maturation of the HBV middle surface glycoprotein: Development of a novel therapeutic vaccine candidate [J]. Virology, 2007, 365(1): 10-19
- [8] Xing Y, Huang Z, Lin Y, et al. The ability of Hepatitis B surface antigen DNA vaccine to elicit cell-mediated immune responses, but not antibody responses, was affected by the deglycosylation of S antigen [J]. Vaccine, 2008, 26(40): 5145-5152
- [9] Werr M, Prange R. Role for calnexin and N-linked glycosylation in the assembly and secretion of hepatitis B virus middle envelope protein particles [J]. Journal of virology, 1998, 72: 778-782
- [10] Ito K, Qin Y, Guarnieri M, et al. Impairment of Hepatitis B Virus Virion Secretion by Single-Amino-Acid Substitutions in the Small Envelope Protein and Rescue by a Novel Glycosylation Site [J]. J Virol, 2010, 84(24): 12850-12861
- [11] Schmitt S, Glebe D, Alving K, et al. Analysis of the pre-S2 N- and O-linked glycans of the M surface protein from human hepatitis B virus [J]. The Journal of biological chemistry, 1999, 274: 11945-11957
- [12] Arnold JN, Wormald MR, Sim RB, et al. The impact of glycosylation on the biological function and structure of human immunoglobulins.

Annual review of immunology, 2007, 25: 21-50

- [13] Lu X, Lu Y, Geschwindt R, et al. Hepatitis B virus MHBs antigen is selectively sensitive to glucosidase-mediated processing in the endoplasmic reticulum [J]. DNA and cell biology, 2001, 20: 647-656
- [14] Abdel-Motal UM, Guay HM, Wigglesworth K, et al. Immunogenicity of influenza virus vaccine is increased by anti-gal-mediated targeting to antigen-presenting cells [J]. Journal of virology, 2007, 81: 9131-9141
- [15] Liu M, Chen H, Luo F, et al. Deletion of N-glycosylation sites of hepatitis C virus envelope protein E1 enhances specific cellular and humoral immune responses [J]. Vaccine, 2007, 25: 6572-6580
- [16] Rush C, Mitchell T, Garside P. Efficient priming of CD4⁺ and CD8⁺ T cells by DNA vaccination depends on appropriate targeting of sufficient levels of immunologically relevant antigen to appropriate processing pathways [J]. Journal of immunology, 2002, 169: 4951-4960
- [17] Wang JC, Livingstone AM. Cutting edge: CD4⁺ T cell help can be essential for primary CD8⁺ T cell responses in vivo [J]. Journal of immunology, 2003, 171: 6339-6343
- [18] Karpinska E, Wawrzynowicz SM, Chosia M, et al. Hepatitis B core antigen in liver tissue from HBs-positive, HBe-negative patients [J]. Hepatogastroenterology, 2004, 51: 709-712