

小肠黏膜下层覆膜支架促进经颈静脉肝内门腔静脉分流道内皮化的有效性**

王晓白, 曹广劼, 张红, 张艳

Efficacy of small intestinal submucosa covered stent in promoting endothelialization in transjugular intrahepatic portosystemic shunt

Wang Xiao-bai, Cao Guang-shao, Zhang Hong, Zhang Yan

Abstract

Department of
Interventional
Radiology, First
Affiliated Hospital of
Jinan University,
Guangzhou
510632, Guangdong
Province, China

Wang Xiao-bai★,
Master, Chief
physician,
Department of
Interventional
Radiology, First
Affiliated Hospital of
Jinan University,
Guangzhou
510632, Guangdong
Province, China
xiaobaiwang@
163.com

Supported by: the
Natural Science
Foundation of
Guangdong Province,
No. 2KM04401S*

Received: 2010-04-07
Accepted: 2010-05-08

BACKGROUND: Endothelialization is the aim of preventing restenosis in intravascular stent and transjugular intrahepatic portosystemic shunt (TIPS) stent. It has been suggested that promoting the recovery of function and integrity of endothelial cells is a new strategy for preventing restenosis after the operations.
OBJECTIVE: To investigate the efficacy of endothelialization of the shunts in TIPS by stents covered with small intestinal submucosa (SIS).
METHODS: TIPSS porcine models were established, and the porcine were randomly divided into two groups. In the experimental group monofilament braided nitinol stents covered with SIS were implanted into the shunts. In the control group monofilament braided nitinol naked stents were used. After direct portal phlebography at 2 and 4 week postoperatively, the shunt and the surrounding hepatic tissues were harvested for macroscopical and microscopical observation by scanning electron microscope (SEM).
RESULTS AND CONCLUSION: According to the portal venography 2 weeks after TIPS, 3 and 1 shunts were respectively occluded in control and experimental groups; 4 weeks after TIPS, 4 and 6 shunts were occluded in control and experimental groups, respectively, and the remainders of the shunts exhibited restenosis in different degrees. The restenosis rate was statistically greater in control group than the experimental group ($P < 0.05$). According to the microscopical observation and SEM, compared to the control group, more endothelialization occurred in the shunts of experimental group. Morphous and size of the endotheliocyte in the experimental group was well-distributed and arranging approach the direction of blood flow. Results show that SIS is a feasible biological material which can speed up the endothelialization of the shunts of TIPS, but the stents covered with SIS cannot improve the patency rate of the shunts efficiently.

Wang XB, Cao GS, Zhang H, Zhang Y. Efficacy of small intestinal submucosa covered stent in promoting endothelialization in transjugular intrahepatic portosystemic shunt. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(30): 5626-5630. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 达到支架内腔内皮化是血管支架置入, 也是颈静脉肝内门腔静脉内支架分流防治再狭窄的目标, 有学者已提议将促使内皮细胞功能及完整性的恢复作为预防术后再次狭窄的新策略。
目的: 探讨小肠黏膜下层覆膜支架促进经颈静脉肝内门腔静脉分流后分流道内皮化的有效性。
方法: 建立猪经颈静脉肝内门腔静脉分流模型, 以数字表法随机分成 2 组, 实验组将外覆小肠黏膜下层膜单丝编织网络型镍钛记忆合金支架置入肝内分流道, 对照组植入单丝编织网络型镍钛记忆合金支架。术后 2, 4 周于直接门脉造影复查后, 获取支架内及周围肝组织, 行大体、病理组织形态学及扫描电子显微镜检查。
结果与结论: 术后 2 周造影复查示对照组、实验组分流道分别闭塞 3, 1 只, 术后 4 周分别闭塞 4, 6 只, 其余均不同程度狭窄, 对照组血管再狭窄率高于实验组 ($P < 0.05$)。病理及显微镜检查结果显示, 实验组内皮化程度较对照组高, 且实验组内皮细胞形态、大小均匀, 排列接近血流方向。结果证实小肠黏膜下层是一种可行的加快颈静脉肝内门腔静脉分流后分流道内皮化的生物材料, 但小肠黏膜下层覆膜支架未能明显提高颈静脉肝内门腔静脉分流道的通畅率。
关键词: 颈静脉肝内门腔静脉分流; 再狭窄; 小肠黏膜下层; 内皮化; 植入物; 基础实验
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.30.028

王晓白, 曹广劼, 张红, 张艳. 小肠黏膜下层覆膜支架促进经颈静脉肝内门腔静脉分流道内皮化的有效性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(30):5626-5630. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

暨南大学附属第一
医院介入与血
管外科, 广东省广
州市 510632

王晓白★, 男,
1957 年生, 江苏
省徐州市人, 汉
族, 1989 年暨南
大学毕业, 硕士,
主任医师, 主要从
事介入放射学研
究。
xiaobaiwang@
163.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:1673-8225
(2010)30-05626-05

收稿日期: 2010-04-07
修回日期: 2010-05-08
(20100407019/GW A)

0 引言

经颈静脉肝内门腔静脉分流(transjugular intrahepatic portosystemic shunt, TIPS)后分流道再狭窄与血管内支架置入后再狭窄的病理特点类似, 只不过TIPS在肝脏中开通的是无内皮细胞的血管性通道, 肝脏对其反应类似于内皮细胞剥脱后的血管反应, 通道内内皮细胞和平滑肌细胞原型间充质细胞发生作用, 分泌胶

原基质从而影响着平滑肌细胞的活动。所以TIPS分流道内表面内皮化速度会更慢, 相关研究发现: 术后1周分流道内表面可见散在的内皮细胞, 3周后内皮细胞可完全覆盖分流道内表面, 形成光滑连续的内皮细胞层, 与其下方的新生肉芽组织共同构成假性内膜, 光滑连续的内皮细胞层可能阻止平滑肌细胞增生^[1]。因此分流道表面内皮结构及功能恢复越早, 假性内膜增生程度越轻, 分流道越通畅。

从对血管再狭窄的认识以及大量TIPS相关

研究的结果, 滕皋军等^[2]推测: TIPS后支架内内皮细胞可能分泌多种因子调节平滑肌细胞的生长, 调节细胞外胶原基质的合成, 阻止假性内膜的过度增生; 完整连续的内皮细胞层可以阻止血栓形成, 避免由于血栓因素造成的一系列后果^[3-4]。因此, 希望达到支架内腔内皮化是血管支架置入, 也是TIPS防治再狭窄的目标, Losordo等^[5]已提议将促使内皮细胞功能及完整性的恢复作为预防术后再次狭窄的新策略。

本实验率先在国内结合体内组织工程技术将小肠黏膜下层膜应用于促进TIPS分流道内皮化的研究中。

1 材料和方法

设计: 异体量性对照动物实验。

时间及地点: 于2005-08/2009-09在暨南大学医学院动物实验中心完成。

材料: 3个月 $\pm$ 7 d 龄健康长白系普通家猪24只, 雌性11只, 雄性13只, 体重24.9(22~27) kg, 购自广州市白云新市石马实验动物场, 以数字表法随机分成两组: 对照组($n=8$)采用6~65 mm单丝编织网络型镍钛记忆合金支架(北京市有研亿金新材料股份有限公司), 实验组($n=16$)采用同样支架外覆小肠黏膜下层膜(四川大学华西医院生物治疗国家重点实验室·干细胞与组织工程研究室), 其中一端固定, 另一端开放不固定并保留约1.0 cm长裸支架。实验过程中对动物处置符合动物伦理学标准。

其他器材包括: TIPS Puncture Set (30° curved)肝穿装置(德国OptiMed公司)、150 cm和260 cm 0.035"“黑泥鳅”导丝、5F Cobra造影导管、6~40 mm球囊扩张导管等。

实验方法:

猪TIPS模型建立: 肌注氯胺酮、安定、3%戊巴比妥钠及阿托品联合麻醉。经耳缘静脉注入肝素40 mg (5 000 U)肝素化后外科分离右颈静脉, 直视下行颈内静脉穿刺, 置入10F金属鞘, 引入造影导管选择肝静脉造影。然后沿导丝送入TIPS Puncture Set肝穿套针至下腔静脉, 选择接近分叉部的肝内门脉1级或2级分支行经肝静脉门静脉穿刺。

穿刺成功后, 引入造影导管行门静脉造影并测量门静脉压力。置入球囊导管扩张穿刺路径两三次后将支架置入肝内分流道, 支架覆膜段位于肝静脉内, 尽量保证支架覆盖整个分流道特别是肝静脉端分流道内表面, 必要时置入第2个支架。术后再行门脉造影观察分流道通畅情况, 见图1。

术毕, 关闭切口, 肌肉注射先锋V 2.0 g预防感染。术后给予3 d抗凝药物, 即将阿司匹林肠溶片碾碎后掺入饲料内喂养, 200 mg/次, 1次/d。

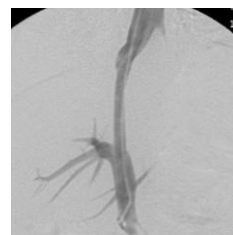


Figure 1 Shunt was unobstructed, and the inferior vena cava developed a good image through phlebography immediately after operation

图1 支架置入后造影示 TIPS 分流道通畅, 下腔静脉显影良好

术后门脉造影复查: 按照实验计划, 分别于术后第2, 4周处死前行直接门静脉造影并测量门静脉压力。

病理标本制作: 处死后, 游离出肝脏, 以生理盐水反复冲洗肝内分流道, 观察分流道内有无新生内膜组织增生、有无血栓及胆汁染色等。切取自门脉端至肝静脉或下腔静脉段的分流道部及其周围约2.0 cm肝组织, 放入体积分数10%中性甲醛液中固定至少24 h。然后按门静脉端、肝实质段和肝静脉端三段将分流道横行切开, 用镊子小心取出支架丝后制作病理切片, 每个部位至少取3张切片, 行苏木精-伊红染色。选取两组中未完全闭塞的分流道内表面组织及周围增生组织, 分别迅速切成大小约4 mm $\times$ 4 mm $\times$ 4 mm、2 mm $\times$ 2 mm $\times$ 2 mm组织块, 立即放入2.5%戊二醛液中固定, 以备行扫描电子显微镜观察, 观察分流道内表面内皮细胞形态、大小及内皮化是否完全等, 定量观察内皮细胞分布情况即内皮细胞指数, 即每个标本随机计数6个高倍视野(HPF, $\times 3\ 000$)下内皮细胞数。

主要观察指标: 观察两组猪TIPSS后2, 4周分流道造影情况, 分流道支架内及周围肝组织的组织学及病理学变化。

设计、实施、评估者: 实验设计为第一作者, 实施为第二、三、四作者、评估为第一作者及本校病理学专家, 均经过正规培训, 采用盲法评估。

2 结果

2.1 实验模型的建立情况 24只TIPS模型均成功建立, 8只置入裸支架, 16只置入小肠黏膜下层覆膜支架。分流道建立在右肝静脉至门脉分叉处16只, 右肝静脉至门脉左支6只, 右肝静脉至门脉右支2只。其中实验组1只由于释放的支架位置过低, 遂再次置入另一支架将分流道完全覆盖。术毕即刻造影示各例分流道内血流均通畅。其中1只于预实验时麻醉过程中追加麻醉药物过量而死亡, 术后所有猪均未发生感染, 无死亡。

2.2 血管造影检测结果 对照组术后2周造影测量分流道内径由术后即刻(5.7 $\pm$ 0.2) mm降至(2.7 $\pm$ 0.1) mm

($P=0.005$), 术后4周完全闭塞。实验组术后2周造影测量分流道内径由术后即刻(5.6 ± 0.1) mm降至(3.5 ± 0.2) mm ($P=0.013$), 术后4周降至(1.7 ± 0.3) mm ($P=0.000$); 术后2周造影所测内径高于对照组($P=0.036$)。

2.3 大体标本观察结果 术后2周, 对照组2只狭窄, 2只闭塞, 狭窄者表现为分流道内覆盖一层较厚的白色增生组织, 表面不光滑, 可见血栓颗粒等, 其下方支架显示不清, 以肝实质段狭窄为著, 闭塞者可见TIPS分流道内充满白色增生组织。术后4周, 4只分流道均闭塞。

实验组术后2周, 完全通畅2只, 表现为分流道内支架表面覆盖一层连续、菲薄的白色内膜组织, 表面光滑, 未见血栓颗粒及胆汁染色, 其下方支架显示清晰, 内膜与支架结合松散易脱落, 见图2。



Figure 2 Experimental group displayed a layer of thin white hyperplastic tissue in internal surface of the shunt 2 weeks after operation

图2 实验组术后2周分流道内表面可见一层薄薄的白色增生组织

狭窄5只, 表现为分流道内支架覆盖一层白色增生组织, 表面可见散在血栓颗粒, 未见胆汁染色, 以肝实质段狭窄最为严重; 闭塞1只, 表现为肝静脉段、肝实质段分流道内充满黑色血栓, 门静脉段分流道内充满白色增生组织, 支架外周围一层增生纤维组织, 此例术中因支架移位导致支架位置较低而未将肝静脉段分流道完全覆盖, 遂经右颈内静脉再次植入另一支架并与第一个支架相互重叠。术后4周, 狭窄3只, 表现为分流道内表面覆盖厚度不均的白色增生组织, 支架金属丝被完全覆盖, 未见血栓颗粒及胆汁染色, 见图3; 闭塞5只, 与对照组闭塞分流道不同的是闭塞分流道尚有残留空腔, 大小不一, 内腔表面比较光滑。



Figure 3 Experimental group displayed a layer of thick white hyperplastic tissue in the transection of the shunt, and the surface was slick 4 weeks after operation

图3 实验组术后4周横断面见分流道内覆盖一层厚厚的白色增生组织, 表面光滑

2.4 光镜学检查结果 对照组术后2周, 狭窄分流道表面散在分布少量内皮细胞, 形态、大小、排列欠规则, 见图4, 其余闭塞分流道未见内皮细胞。



Figure 4 Control group: endotheliocyte in the surface of the shunt which had an immature morphous and irregular arrangement 2 weeks after operation (Hematoxylin-eosin staining, x1 000)

图4 对照组术后2周分流道表面内皮细胞稀少, 形态幼稚, 排列不规则(苏木精-伊红染色, $\times 1\,000$)

实验组术后2周, 狭窄分流道表面均散在分布少量内皮细胞, 形态、大小、排列较对照组规则, 术后4周, 狭窄分流道表面内皮化程度更高, 形态更成熟, 见图5; 实验组内膜组织增生、血栓形成、炎症反应、胆管增生等均较对照组轻。

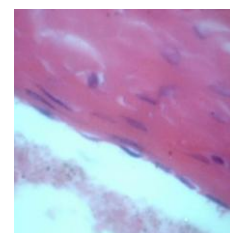
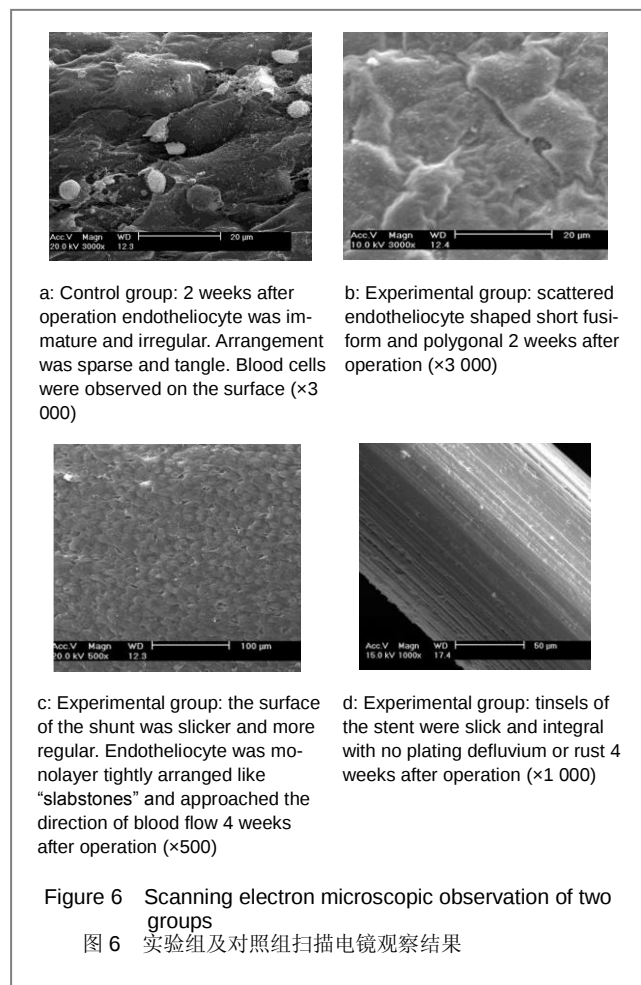


Figure 5 Experimental group: a layer of fairly mature endotheliocyte and corpuscular thrombus adhering on the surface of the shunt 4 weeks after operation (Hematoxylin-eosin staining, x1 000)

图5 实验组术后4周分流道表面可见一层较成熟的内皮细胞及血栓颗粒黏附(苏木精-伊红染色, $\times 1\,000$)

2.5 扫描电镜观察结果 术后2周对照组狭窄分流道表面不光整, 表面可见大量血细胞或血栓颗粒附着, 仅可见少量内皮细胞, 细胞边缘不圆滑, 形态细长、幼稚或不规则, 大小不一, 排列稀疏、杂乱(图6a)。术后2周实验分流到表面组较对照组光整, 内皮细胞散在分布, 细胞呈扁平短梭形或多角形, 大小较对照组规则(图6b)。术后4周实验组分流道表面更加光整, 未见明显血细胞聚集和血栓附着, 内皮细胞核更加圆隆、饱满, 排列较前规整、紧密, 更接近血流方向, 细胞单层排列呈“铺路石”状, 排列间隙明显缩小, 少部分可见重叠覆盖生长, 内皮细胞还未完全成熟(图6c)。还可观察到支架金属丝表面光滑完整, 未见镀层脱落、生锈腐蚀等(图6d)。通过计数内皮细胞指数知, 对照组术后2周内皮细胞指数为(4.00 ± 1.41)个/HPF, 实验组为(8.25 ± 1.49)个/HPF, 两者相比差异有显著性意义($P=0.001$), 术后4

周对照组分流道完全闭塞无法观察内皮细胞, 实验组则增至 (18.33 ± 2.08) 个/HPF, 比术后2周明显增加 ($P=0.000$)。



3 讨论

目前旨在促进分流道表面内皮化的各种覆膜支架不断涌现, 自1995年有研究将四氟乙烯(PTFE)覆膜支架应用于TIPS中, 迄今为止, 已有PTFE、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、硅酮等覆膜支架应用于TIPS实验研究及临床治疗中^[6]。但覆膜材料大部分是人工合成材料, 未能从根本上解决TIPS分流道再狭窄问题, 目前只有Hiraki等^[7]将新型生物材料小肠黏膜下层应用于TIPS分流道再狭窄的防治研究中。本实验结合体内组织工程技术, 在国内率先利用小肠黏膜下层膜可以提供内皮细胞生长环境和生长空间的特性, 在猪肝实质内置入小肠黏膜下层覆膜支架。较Hiraki改进了小肠黏膜下层覆膜支架, 将小肠黏膜下层膜单端间断缝合在裸支架外表面, 减少了小肠黏膜下层膜皱缩、破碎的机会, 简化了制作过程, 设立了裸支架组进行随机对照研究, 并增加了随访观察时间点及组织形态学观察手段, 对更多的相关指标进行详细的定量分析等, 从而为更好地预防分流道再

狭窄提供实验依据及新的提示。

本实验结果显示实验组术后2周分流道内表面内皮细胞指数高于对照组 ($P < 0.05$), 且术后4周实验组内皮细胞指数更高; 电镜下观察实验组内皮细胞形态、大小均匀, 排列接近血流方向。由此可推断出: TIPS分流道开通后2周已出现内皮细胞修复, 内皮细胞的移行与血流方向有关, 顺流方向的移动明显快于其他方向; 内皮细胞与分流道假性内膜形成有着极其密切的关系, 当内皮细胞修复障碍时, 假性内膜过度增生严重, 易导致TIPS分流道狭窄甚至闭塞, 而分流道表面内皮细胞结构及功能恢复越早, 假性内膜增生的程度也就越轻, 分流道也就越通畅。小肠黏膜下层促进内皮化的效应可能与其独特的成分、结构、生物特性有关。小肠黏膜下层置入宿主体内后, 能迅速诱导细胞浸润, 刺激血管生成和宿主细胞的长入和分化, 产生的再生组织在结构和功能上均与原有组织相似, 即部位特异的组织再生^[8-9], 其确切机制不清楚^[10], 本实验认为可能与以下因素有关: ①小肠黏膜下层是一种不含细胞的细胞外基质材料, 胶原占其干重的90%, 研究表明小肠黏膜下层的主要成分I、III型纤维胶原蛋白可诱导内皮细胞增生, 且仅增生融合成单层^[11], 小肠黏膜下层还存在纤维素连接蛋白和成纤维细胞生长因子2、血管内皮细胞生长因子等活性物质^[8,12-13], 既可以刺激毛细血管内皮细胞的增殖和迁移, 同时又具有促进内皮细胞行为分化的作用。Badylack等^[14]在体外实验中证实了I型胶原、IV型胶原、纤维结合素及纤维黏连蛋白材料等对内皮细胞具有强大的附着力。张开刚等^[15]在超微结构上也证实了小肠黏膜下层更有利于血管内皮细胞的生长。②小肠黏膜下层呈现天然的三维空间, 使之与组织细胞间存在良好的界面关系, 可以提供内皮细胞良好的生长环境和生长空间, 与自然衍生物和合成聚合物相比, 小肠黏膜下层还具备聚集组织内细胞, 支撑组织结构和调节细胞表型的功能^[16-17], 并可定位、传送特定宿主细胞和生物活性因子到所需部位, 以及调整构建基质三维结构, 为细胞生长、繁殖、分化提供近似体内组织发育的细胞外基质支架条件^[18-19], 并很快与宿主结合, 促进组织的功能修复, 其合理的渗透性可以为内皮细胞生长提供足够营养又不引起膜下积液。Badylack等^[20]将人微血管内皮细胞与多种细胞一起培养, 发现成纤维细胞株和角化细胞等在小肠黏膜下层上增殖并迁移至小肠黏膜下层中, 而人血管内皮细胞则在小肠黏膜下层表面生长, 从而证实小肠黏膜下层能够促进细胞分化, 调整组织结构能力。③小肠黏膜下层膜的机械阻隔作用可以阻止胆汁漏对内皮细胞生长的不利作用。④小肠黏膜下层较好的组织相容性、无抗原性及抗微生物性, 可有效减少炎症反应、血栓形成几率, 加快内皮细胞生长。

至于内皮细胞和平滑肌细胞的来源目前观点尚未

统一。Ducion^[21]认为内皮细胞来源有3种可能：来源于假性内膜成肌纤维细胞的分化；来源于临近门静脉或肝静脉血管内皮细胞的迁移；来源于肝窦。Sanyal等^[22-23]认为TIPS内皮细胞来源于肝窦内皮细胞，其特性不同于血管内皮细胞。平滑肌细胞的原型间充质细胞可能有两个来源：肝血管平滑肌细胞的迁移或肝星形细胞的转化^[24-25]。Pokrajaca等^[26]认为平滑肌细胞可能源于肝星形细胞的转化，由邻近肝组织迁移而来，但尚不清楚多远距离的细胞可以迁移过来，增生细胞的迁移距离可能是假性内膜增生与血管成形术后内膜增生的一个重要区别。

本实验结果显示小肠黏膜下层具有一定促进内皮化、加快内皮功能恢复的作用，并且支架表面早期内皮化能够抑制平滑肌细胞增殖迁移，从而证实小肠黏膜下层是一种可行的加快TIPS后分流道内皮化的生物材料，在预防TIPS后分流道再狭窄方面具有广阔的前景。但小肠黏膜下层覆膜支架未能明显提高TIPS分流道的通畅率，可能是多方面因素造成的，如支架的异物反应、胆汁漏、炎症反应、小肠黏膜下层膜与与支架的结合方式等，所以联合其他预防TIPS后分流道再狭窄的方法如基因治疗、药物包膜支架、干细胞捕捉支架、生物可降解支架等仍是下一步研究的重点。

4 参考文献

- [1] Sanyal A, Mirshahi F. Endothelial cells lining transjugular intrahepatic portosystemic shunts originate in hepatic sinusoids: implications for pseudointimal hyperplasia. *Hepatology*.1999;29(3):710-718.
- [2] Teng GJ, Xu K. Jieru Fangshexue Zazhi.2005;14(1):87-91. 滕皋军,徐克.TIPS再狭窄的研究现状和进展[J].介入放射学杂志,2005,14(1):87-91.
- [3] Schneider DB,Dichek DA. Intravascular Stent Endothelialization—A Goal Worth Pursuing. *Circulation*.1997;95:308-310.
- [4] Thompson MM,Budd JS,Eady SL,et al. Platelet deposition after angioplasty is abolished by restoration of the endothelial cell monolayer. *J Vase Surg*.1994;19:478-486.
- [5] Losordo DW,Isener JM,Diaz LJ. Endothelial recovery: the next target in restenosis prevention. *Circulation*.2003;107:2635-2637.
- [6] Cao GS, Wang XB. Jieru Fangshexue Zazhi.2008;17(9):670-674. 曹广劼,王晓白.覆膜支架防治TIPS分流道再狭窄的研究进展[J].介入放射学杂志,2008,17(9):670-674.
- [7] Hiraki T, Pavcnik D, Uchida BT, et al. Small intestinal submucosa sandwich Zilver stent-grafts for TIPS:Experimental pilot study in swine. *Minim Invasive Ther Allied Technol*. 2005;14(1):32-38.
- [8] Hodde JP, Record RD, Liang HA, et al. Vascular endothelial growth factor in porcine-derived extracellular matrix. *Endothelium*. 2001;8(1):11-24.
- [9] Chen MK, Badylak SF. Small bowel tissue engineering using small intestinal submucosa as a scaffold. *J Surg Res*.2001; 99(2):352-358.
- [10] McPherson TB, Badylak SF. Characterization of fibronectin derived from porcine small intestinal submucosa. *Tissue Eng*. 1998;4(1): 75-81.
- [11] Luo JC, Yang ZM, Guowai Yixue: Shengwu Yixue Gongchengxue Fence.2005;25(1):52-55. 罗静聪,杨志明.小肠黏膜下层在组织修复中的应用[J].国外医学:生物医学工程分册,2005,25(1):52-55.
- [12] Hurst RE, Bonner RB. Mapping of the distribution of significant proteins and proteoglycans in small intestinal submucosa by fluorescence microscopy. *J Biomater Sci Polym Ed*. 2001;12(11):1267-1279.
- [13] Voytik-Harbin SL, Brightman AO, Kraine MR, et al. Identification of extractable growth factors from small intestinal submucosa. *J Cell Biochem*. 1997;67(4): 478-491.
- [14] Badylak S, Liang A, Record R, et al. Endothelial cell adherence to small intestinal submucosa: an acellular bioscaffold. *Biomaterials*. 1999;20(23-23):2257-2263.

- [15] Zhang KG,Zeng BF,Zeng CQ.Shanghai Jiaotong Daxue Xuebao: Yixueban.2006; 26(2):113-116. 张开刚,曾炳芳,张长青.组织工程骨膜成骨的构建及血管化超微结构的观察[J].上海交通大学学报:医学版,2006,26(2):113-116.
- [16] Kim BS, Mooney DJ. Development of biocompatible synthetic extracellular matrixes for tissue engineering. *Trends Biotechnol*. 1998;16(5): 224-230.
- [17] Alberts B, Bray D, Lewis J, et al. Biomaterials for tissue engineering[A]. In: Alberts B, Bray D, Lewis J et al eds. *Molecular biology of the cell*. New York: Garland, 1994: 971-995.
- [18] Kropp BP, Rippey MK, Badylak SF, et al. Regenerative urinary bladder augmentation using small intestine submucosa: urodynamic and histologic assessment in long-term canine bladder augmentations. *J Urol*.1996;155(6): 2098-2104.
- [19] Vaught ID, Kropp BP, Sawyer BD, et al. Detrusor regeneration in the rat using porcine small intestine submucosal grafts: functional innervation and receptor. *J Urol*.1996;155(1): 374-378.
- [20] Badylak S, Record R, Lindberg R,et al. Small intestinal submucosa: a substrate for in vitro cell growth. *J Biomater Sci Polymer Edn*.1998;9(8):863-878.
- [21] Ducion H. El-Khoury J,Rousseau H,et al. Histopathologic Analysis of Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunts. *Hepatology*. 1997;25(5):1064-1069.
- [22] Sanyal AJ, Contos MJ, Yager D, et al. Development of pseudointima and stenosis after transjugular intrahepatic portosystemic shunts:characterization of cell phenotype and function. *Hepatology*.1998;28(1):22-32.
- [23] Sanyal A,Mirshahi F. Endothelial cells lining transjugular intrahepatic portosystemic shunts originate in hepatic sinusoids:implications for pseudointimal hyperplasia. *Hepatology*. 1999;29(3):710-718.
- [24] Teng GJ. Bettmann MA,Hoopers PJ,et al. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in a porcine model:histologic characteristics at the early stage. *Acad Radiol*.1998;5(8):547-555.
- [25] Saxon RR,Mendel-Hartvig J,Corless CL,et al. Bile duct injury as a major cause of stenosis and occlusion in transjugular intrahepatic portosystemic shunts: comparative histopathologic analysis in humans and swine. *J Vasc Interv Radiol*.1996;7(4):487-497.
- [26] Pokrajaca B,Cejnab M, Kettenbach J,et al. Intraluminal 192Ir brachytherapy following transjugular intrahepatic portosystemic shunt revision Long-term results and radiotherapy parameters. *Cardiovasc Radiat Med*. 2001;2(3):133-137.

来自本文课题的更多信息—

基金资助: 广东省自然科学基金(2KM04401S), 课题名称: 介入导入及可降解支架防治支架内再狭窄的研究。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

课题的创新点: 实验研究结合体内组织工程技术, 创新性地提供内皮细胞生长环境和生长空间的新型优质生物材料小肠黏膜下层膜应用于经颈静脉肝内门腔静脉分流道再狭窄的研究中, 从分子水平进一步研究经颈静脉肝内门腔静脉分流道再狭窄的病因、病理生理机制及其影响因素。

课题评估的“金标准”: 本课题指标评价的金标准包括: 组织形态学、病理学及影像学评价。

设计或课题的偏倚与不足: 实验直接将经颈静脉肝内门腔静脉内分流支架置入家猪肝组织内, 这与临床上肝硬化患者经颈静脉肝内门腔静脉分流后引起的再狭窄有一定差距, 实验中使用的支架较大, 对周围肝组织造成一定损失, 可能掩盖部分实验现象; 另外本实验小肠黏膜下层覆膜支架制作较粗糙, 尽管本实验结果显示小肠黏膜下层有一定的促内皮化作用, 但这仅为一个初步实验结果, 尚有许多问题需要进一步解决。

提供临床借鉴的价值: 结果显示小肠黏膜下层具有一定促进内皮化、加快内皮功能恢复的作用, 并且支架表面早期内皮化能够抑制平滑肌细胞增殖迁移, 从而证实小肠黏膜下层是一种可行的加快经颈静脉肝内门腔静脉分流后分流道内皮化的生物材料, 为新型支架研制以改善临床上经颈静脉肝内门腔静脉分流后分流道再狭窄提供了一些新思路。