

罗格列酮对CD34修饰脱细胞血管支架体内生长的影响*

刘 玉, 张玉海, 师恩祎, 宋来春, 谷天祥

Effect of rosiglitazone on the growth of CD34 modified decellularized vascular scaffold *in vivo*

Liu Yu, Zhang Yu-hai, Shi En-yi, Song Lai-chun, Gu Tian-xiang

Abstract

Department of Cardiac Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Liu Yu★, Master, Physician, Department of Cardiac Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
 anyway911@sina.com

Correspondence to: Gu Tian-xiang, Doctor, Professor, Chief physician, Doctoral supervisor, Department of Cardiac Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
 cmugtx@sina.com

Received: 2011-06-06
 Accepted: 2011-08-10

中国医科大学附属第一医院心脏外科, 辽宁省沈阳市 110001

刘玉★, 男, 1985年生, 山东省潍坊临朐县人, 汉族, 2011年中国医科大学毕业, 硕士, 医师, 主要从事冠心病的基础和临床研究。
 anyway911@sina.com

通讯作者: 谷天祥, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 中国医科大学附属第一医院心脏外科, 辽宁省沈阳市 110001
 cmugtx@sina.com

中图分类号: R318
 文献标识码: B
 文章编号: 1673-8225(2012)03-00438-05

收稿日期: 2011-06-06
 修回日期: 2011-08-10
 (20110406028/W·L)

BACKGROUND: CD34 antibody-modification can promote the re-endothelialization of decellularized vascular scaffold, but it can also increase the intima hyperplasia. Related studies in China confirm that rosiglitazone as a type of peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR- γ) agonist can inhibit the hyperplasia and migration of smooth muscle cells *in vivo* and reduce intima hyperplasia in vascular injury region.

OBJECTIVE: To further verify the effect of rosiglitazone as a type of PPAR- γ agonist on the growth of smooth muscle cells and intima hyperplasia after transplantation of CD34 antibody modified decellularized vascular scaffold *in vivo*.

METHODS: Fresh carotid arteries from rabbits were involved. CD34 antibody was fixed onto the decellularized vascular scaffolds using photochemical coupling to construct modified tissue engineering vascular which were transplanted into the carotid arteries of the experimental rabbits. Oxidation-treated vascular were transplanted into the control group. CD34 antibody modified vascular were transplanted into the CD34 group and rosiglitazone group, besides, the rosiglitazone group were treated with rosiglitazone.

RESULTS AND CONCLUSION: After transplantation of 10 days, there was few endothelial cells in the transplanted vascular of the control group and more endothelial cells in the CD34 group and the rosiglitazone group, and the intima in the CD34 group was thicker than that in the rosiglitazone group. Alpha-smooth muscle actin showed that the smooth muscle cells in the CD34 group are obviously more than that in the rosiglitazone group. At 30 days, the endothelial cells almost overlaid the whole lining endothelium in the CD34 group and the rosiglitazone group, but the number of endothelial cells in the control group was still small. There were much more smooth muscle-like cells and extracellular matrix in the CD34 group. CD34 antibody-modification can promote the re-endothelialization of decellularized vascular, and rosiglitazone can inhibit the hyperplasia of smooth muscle cells and reduce the intima hyperplasia.

Liu Y, Zhang YH, Shi EY, Song LC, Gu TX. Effect of rosiglitazone on the growth of CD34 modified decellularized vascular scaffold *in vivo*. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(3): 438-442.
<http://www.crter.cn> <http://en.zglckf.com>

摘要

背景: 早期研制的脱细胞血管基质支架上预载 CD34⁺抗体会促进其再内皮化, 但同时会加重支架内血管内膜增生。国内外研究证实过氧化物酶增殖体受体 γ 激动剂罗格列酮在体外可抑制平滑肌细胞增生及迁移, 可减少血管损伤处内膜增生。

目的: 进一步验证过氧化物酶增殖体受体 γ 激动剂罗格列酮对 CD34 抗体修饰脱细胞血管支架体内移植后平滑肌细胞生长及内膜增生的影响。

方法: 获取新鲜兔颈动脉, 应用光化学偶联法将 CD34 抗体固定到去细胞光氧化的血管支架上, 构建抗体修饰的组织工程血管。将制备的血管分别移植于实验兔的颈动脉上, 其中对照组予以移植单纯光氧化处理的脱细胞血管, CD34 组予以 CD34 抗体预载的血管, 罗格列酮组移植 CD34 抗体预载的血管并予喂养罗格列酮。

结果与结论: 移植后 10 d: 对照组移植血管内皮样细胞数量稀少, CD34 组和罗格列酮组可见较多的内皮样细胞覆盖; CD34 组血管内膜较罗格列酮组厚, α -SMA 染色显示 CD34 组血管平滑肌细胞数量较后者为多, 其差异有显著性意义。移植后 30 d: CD34 组和罗格列酮组血管内皮样细胞基本覆盖管腔全层, 对照组内皮样细胞数量仍较少; 另外, CD34 组血管内膜及管壁中可见大量的平滑肌样细胞及细胞外基质沉积, 而罗格列酮组血管结构中平滑肌样细胞数量相对较少, 内膜增生亦较轻。提示 CD34 修饰脱细胞血管支架可促进其内皮细胞的增生, 罗格列酮可抑制血管支架中平滑肌细胞的增殖, 减少内膜增生。

关键词: 脱细胞血管基质; CD34; 再内皮化; 罗格列酮; 平滑肌细胞; 内膜增生

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.03.013

刘玉, 张玉海, 师恩祎, 宋来春, 谷天祥. 罗格列酮对 CD34 修饰脱细胞血管支架体内生长的影响[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(3):438-442. <http://www.crter.org> <http://cn.zglckf.com>

0 引言

组织工程血管是目前血管替代物研究的热点之一, 但组织工程血管与其他血管替代材料一样面对远期再狭窄的问题。移植血管材料内皮层的缺失及由于平滑肌细胞增殖及内膜下迁移导致的内膜增生是其再狭窄或闭塞的主要病

理机制^[1-2], 已有相关研究证实在血管材料上预载 CD34 抗体可通过抗原-抗体反应的原理捕获循环中的内皮祖细胞^[3-4], 而内皮祖细胞在一定条件下可进一步分化成为内皮细胞。Wang 等^[5]和 Calnek 等^[6]证实过氧化物酶增殖体受体 (peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs) γ 激动剂罗格列酮可抑制 CD34⁺ 细胞向平滑肌细胞分化及向内膜迁移, 这有利于减

少移植血管的内膜增生从而改善其远期通畅率。本实验拟应用光氧化交联法在脱细胞血管支架上预载CD34抗体, 然后将制备的组织工程血管移植于兔颈动脉并予喂养罗格列酮, 观察其对移植血管再内皮化、平滑肌细胞增生及内膜增生情况的影响并探讨其可能机制。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于 2010-08/12 在中国医科大学中心实验室(BSL-2)完成。

材料: 雄性新西兰大白兔 36 只, 体质量(2.5±0.5) kg, 由中国医科大学实验动物部提供。

试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
Dnase-I 酶、Rnase-A 酶、曲那通 Tritonx-100、0.1%亚甲基蓝	sigma
胰蛋白酶 Trypsin、0.02%EDTA	amresco
SANPAH	美国 Pierce 公司
鼠抗兔 CD34 多克隆抗体	北京博奥森试剂公司
FITC 标记羊抗鼠 IgG 抗体、罗格列酮	葛兰素史克公司
普通光学显微镜(TE-300)	日本 Nikon
LEICA CM 1900 型快速冷冻切片机	德国徕卡公司
Y 射线消毒机	上海科学仪器

实验方法:

抗体修饰组织工程血管的构建:

兔颈动脉的获取: 取雄性新西兰大白兔, 30 g/L 戊巴比妥 1 mL/kg 麻醉, 备皮后常规消毒铺巾, 切开兔颈部皮肤及皮下组织, 钝性分离气管两侧肌肉及相邻组织, 找到两侧兔颈动脉, 向近心端游离至发出该血管的主动脉弓部, 远端游离至第一个主分支处, 相同方法游离另一侧兔颈动脉并获取中间段。

去细胞血管处理方法: 将所取血管修剪外膜组织后剪成 1.0~1.5 cm 长的血管段, 置于 37 °C 水浴恒温振荡箱中(振荡频率: 100 次/min), 按 0.5% TritonX-100 (6 h)→0.25 g/L 胰酶和 0.02%EDTA(体积比为 1:1, 10 min)→30 U/mL 的 DNase-I 酶和 0.3 g/L 的 RNase-A 酶(体积比为 1:1, 6 h)的程序完成脱细胞步骤, 每个脱细胞步骤完成后用无菌 PBS 液漂洗 3 次, 10 min/次, 完成后存放于 4 °C PBS 液(含青霉素和链霉素 100 U/mL)中保存备用。

光氧化处理方法: 血管组织先置于高渗 PBS 液(pH 7.6, 渗透压: 1 749.640 kPa)中浸泡 4 h, 再置于含 0.1 亚甲基蓝的 PBS 液(pH 7.6, 渗透压: 823.360 kPa)中平衡 4 h 后, 500 W 白炽灯照射, 光氧化反应体系控制温度在 14 °C 左右, 光源距离液面 20 cm, 照射过程中连续搅拌, 持续吹入氧气, 以提高 PBS 液内的氧浓度,

并控制反应体系内的 pH 值(pH 7.6), 处理 48 h 后取出血管, 无菌含青霉素和链霉素的 PBS 液反复冲洗后置于体积分数 60%乙醇液中密封保存。处理完成后分别切取一小段脱细胞后及光氧化处理后的血管, 进行苏木精-伊红染色及扫描电镜观察脱细胞是否完全, 胶原纤维及弹力纤维的结构是否完整, 并观察光氧化处理后血管支架中纤维的排列情况。

CD34 抗体的固定: 按 1:20 的摩尔比避光下配制 SANPAH 和 CD34 抗体的混合溶液中, 室温下反应 2 h, 10 000 r/min 离心去除未反应鼠抗兔 CD34 和 SANPAH, 将光氧化处理的脱细胞血管浸入制备好的 CD34 与 SANPAH 的混合液中数秒, 注意血管支架的管腔要张开以充分接触混合液, 室温下自然干燥, 然后用 PBS 振荡漂洗血管支架 6 h(100 次/min)。将构建的血管制备快速冰冻切片, 丙酮固定后滴加 1%BSA-PBS 稀释的 FITC 标记羊抗鼠 IgG(1:100), 荧光显微镜下观察抗体修饰情况。

CD34 抗体修饰血管支架的体内移植及移植后检测:

异体兔颈动脉移植模型的建立: 取雄性新西兰大白兔 24 只, 随机分为 3 组, 每组 8 只。将制备的脱细胞血管支架移植于实验兔的颈动脉上, 其中对照组予以移植单纯光氧化处理的脱细胞血管, CD34 组予以 CD34 抗体修饰的血管, 罗格列酮组移植 CD34 抗体预载的血管并予喂养罗格列酮。动物麻醉后, 如前所述找到左侧兔颈动脉, 于中间段游离 2.5~3.0 cm 长, 应用无损伤血管夹夹闭后切除中间段血管, 用肝素盐水冲走血管内的凝血块。取相应各组保存的异体血管, 应用 9-0 无创缝线间断缝合法将血管端端吻合于血管断端。术后所有动物每日口服华法林 1.25 mg/kg, 并肌注青霉素 80×10⁴ U/只及庆大霉素 8×10⁴ U/只, 共 1 周。另外, 罗格列酮组大白兔术后给予罗格列酮 4 mg/kg 灌胃, 1 次/d, 直到获取标本。

指标检测: 分别于 10 d 和 1 个月取材, 常规麻醉消毒后分离出移植段血管, 两端应用动脉夹夹闭后切取血管支架, 分别剪取适量样本做以下检测: 大体观察、苏木精-伊红染色、内膜厚度测量、扫描电镜观察、 α -SMA 和 VIII 因子免疫组织化学染色, 并应用计算其平均吸光度值(average optical density, AOD), Image ProPlus 图像测量软件测量血管壁内膜厚度、计数血管平滑肌细胞个数, 进行两组间比较。

主要观察指标: ①兔颈动脉去细胞光氧化后大体观察、苏木精-伊红染色观察及扫描电镜观察结果。②移植后标本大体观察、苏木精-伊红染色观察、VIII 因子和 α -SMA 免疫组织化学染色观察及扫描电镜结果。

统计学分析: 应用 SPSS13.0 统计软件包对数据进行处理。计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 四格表资料采用卡方检验, 组间比较采用 *t* 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

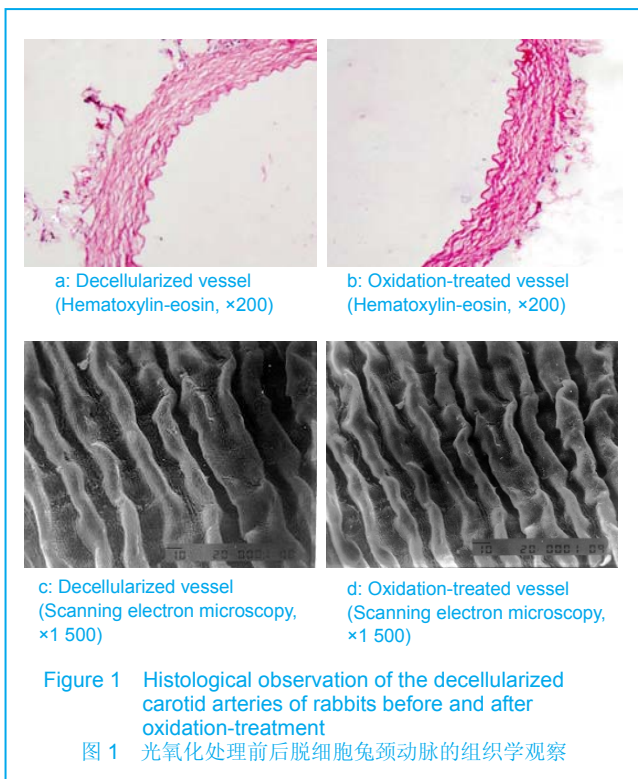
2.1 实验动物数量分析 实验选用大白兔 24 只, 分为 3 组, 无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 兔颈动脉去细胞光氧化后的检测结果

大体结构变化: 正常动脉剥去外膜疏松结缔组织后, 管壁呈乳白色有光泽, 管腔弹性良好无塌陷。经脱细胞处理后, 管壁逐渐变软塌陷, 但弹性保存良好, 浸没于液体时管腔仍然完全张开。去细胞光氧化处理后的血管呈淡蓝色, 质地较柔软, 弹性较好。

苏木精-伊红染色: 未脱细胞的动脉血管壁可见蓝染的细胞颗粒, 管腔内面可见内皮细胞覆盖全层, 中层梭状平滑肌细胞排列规则。脱细胞处理后, 苏木精-伊红染色管壁及管腔面均未见苏木精染色阳性的胞核结构残留, 说明细胞成分脱除彻底, 胶原纤维和弹性纤维保持原来的形态和结构, 呈波浪状, 但排列较疏松, 结构松散, 而经光氧化处理后的血管胶原纤维结构完整, 排列整齐而紧凑见图 1a, b。

SEM 观察结果: SEM 见脱细胞血管中基本无细胞结构残留, 纤维结构保存尚完整但排列疏松。光氧化处理组见纤维结构排列整齐, 较为致密, 见图 1c, d。



2.3 移植后标本检测结果

组织大体观察: 10 d 取材时可以看到移植血管周围粘连较轻, 管腔充盈, 触质软、弹性良好, 颜色浅红。30 d 时可见移植血管表面已有滋养血管生长, 呈鲜红色, 管腔仍通畅。

苏木精-伊红染色结果: 10 d 时, 对照组获取的移植血管内皮样细胞数量稀少、分布零散, 血管壁中平滑肌样细胞亦较少。CD34 组可见较多的内皮样细胞覆盖于血管内腔面, 同时在管腔及管壁结构中可见较多平滑肌细胞生长, 内膜较厚。罗格列酮组血管内皮样细胞数量较多, 管壁中只有散在数个平滑肌样细胞, 内膜较薄。30 d 时, CD34 组和罗格列酮组血管内皮样细胞数量较前明显增多基本覆盖管腔全层, 对照组内皮样细胞数量仍较少, 呈散在分布。另外, CD34 组血管内膜及管壁中可见大量的平滑肌样细胞及细胞外基质沉积导致内膜较厚。其余两组血管结构中平滑肌细胞数量相对较少, 内膜亦较薄, 见表 1。

表 1 CD34 组和罗格列酮组内膜厚度的比较
Table 1 Comparison of intima thickness between the CD34 group and the rosiglitazone group ($\bar{x} \pm s$, mm)

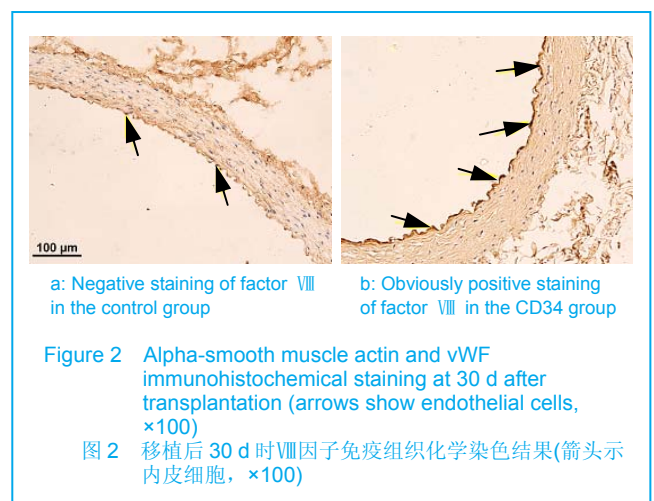
Time (d)	CD34 group	Rosiglitazone group	t	P
10	0.12±0.04	0.11±0.03	1.09	> 0.05
30	0.39±0.11	0.31±0.08	2.41	< 0.05

VIII 因子免疫组织化学染色结果: 10 d 时 CD34 组血管内皮细胞增殖程度明显优于对照组, 其差异有显著性意义, 见表 2。

表 2 对照组及 CD34 组血管壁中 VIII 因子表达平均吸光度值比较
Table 2 Comparison of mean absorbance (A) value of the expression of factor VIII in vessel wall of the CD34 group and the control group ($\bar{x} \pm s$, A)

Time (d)	Control group	CD34 group	t	P
10	5.62±0.86	18.32±1.62	19.50	< 0.01
30	16.03±1.92	38.66±1.75	24.55	< 0.01

30 d 时 CD34 组 VIII 因子阳性染色更加明显, 而对照组血管标本内膜面染色仍不明显, 其差异有显著性意义, 见图 2a, b。



α-SMA 免疫组织化学染色结果: 术后 10 d, CD34 组

血管平滑肌细胞数量较罗格列酮组多, 其差异有显著性意义, 见表 3。

表 3 CD34 组及罗格列酮组血管壁中 α -SMA 表达平均吸光度值比较
Table 3 Comparison of mean absorbance (A) value of the expression of alpha-smooth muscle actin of the CD34 group and the rosiglitazone group (x \pm s, A)

Time (d)	CD34 group	Rosiglitazone group	t	P
10	23.40 \pm 2.61	19.85 \pm 3.22	4.78	< 0.01
30	32.87 \pm 5.63	27.24 \pm 2.81	4.89	< 0.01

术后 30 d 可见 CD34 组血管平滑肌细胞数量多于罗格列酮组, 其差异有显著性意义, 见图 3a, b。

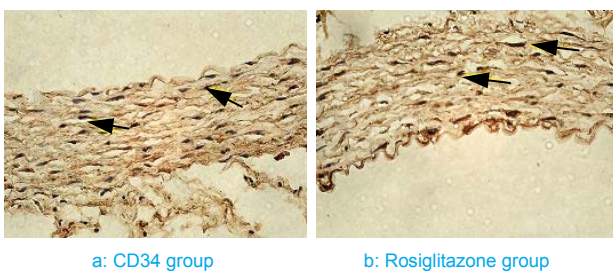
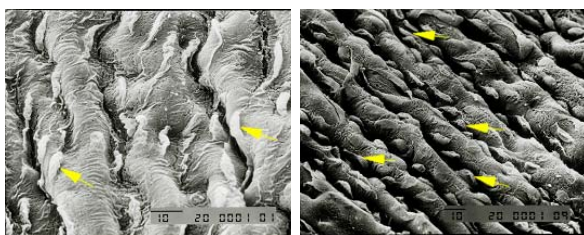


Figure 3 Alpha-smooth muscle actin staining at 30 d after transplantation (arrows show smooth muscle cells, $\times 400$)

图 3 移植后 30 d 时 α -SMA 免疫组织化学染色(箭头示平滑肌细胞, $\times 400$)

扫描电镜结果: 10 d 时, 罗格列酮组和 CD34 组可见内膜面较多的内皮样细胞顺血流方向排列, 但细胞间距较大, 数量尚少, 而对照组只在偶尔的几个高倍镜视野下散在一两个内皮样细胞。30 d 时可见罗格列酮组和 CD34 组内膜面附着较多梭状或长椭圆形细胞且排列紧密、整齐。对照组管腔面可见增厚的纤维素样物质, 细胞数量仍较少。见图 4。



a: Few endothelial cells could be seen in the control group (Scanning electron microscopy, $\times 1 500$)

b: There were much more endothelial cells in the CD34 group (Scanning electron microscopy, $\times 1 000$)

Figure 4 Endothelial cells of the control group and the CD34 group under scanning electron microscopy at 30 d after operation

图 4 移植后 30 d 时扫描电镜下内皮细胞的生长情况

3 讨论

实现人工血管的快速再内皮化可以通过一些内皮

介质如一氧化氮等的作用来防止血管再狭窄的发生。国内赵向东等^[7]曾将 CD34 抗体固定到去细胞光氧化的牛颈静脉上, 并将制备的人工血管移植于犬的右室流出道处, 结果显著促进了人工血管表面的内皮化和新生内膜内毛细血管的形成, 但同时也观察到内膜增生较为显著。2002 年, 美国 Orbus Medical Technologies 公司研制成功的 Genous 生物工程 R 支架就是在不锈钢冠脉支架上涂覆一层含有鼠抗人 CD34 抗体的基质成分。研究证实该种支架可促进内膜损伤处的修复和支架表面的早期内皮化, 并取得了较好的短期临床效果^[8], 然而其 2005 年公布的临床结果显示尽管移植血管有较完整的内皮覆盖, 但血管内膜增生反而加重。考虑 CD34⁺ 细胞可能不具有最佳的内皮分化潜能, 已有报道其可以分化为多种细胞^[9-12], 包括平滑肌细胞, 而平滑肌细胞及其分泌的细胞外基质是增生内膜的主要成分, 若支架捕获的为平滑肌前体细胞则不可避免的诱发内膜增殖。

本实验发现: 修饰 CD34 抗体的血管内膜面在术后早期即有细胞黏附, 而对照组则只有一层增厚的纤维素附着。虽然不能确定这些细胞的性质及分化方向, 但移植后的苏木精-伊红染色和 VIII 因子免疫组织化学的结果显示 CD34 抗体修饰的血管再内皮化程度显著优于对照组, 说明 CD34 抗体的存在对脱细胞血管支架再内皮化具有促进作用, 同时也观察到 CD34 组血管的内膜厚度大于对照组血管, 且其管壁和内膜中可见大量的平滑肌样细胞浸润生长, 这之前研究得到的结果相一致^[7,13]。

平滑肌细胞的增殖和迁移是血管损伤后内膜增生的主要机制^[14-16]。因此, 对抑制血管再狭窄的研究可从抑制平滑肌细胞的分化、增殖和迁移, 促进其凋亡等方面着手。PPARs 是核激素受体家族的转录因子, 其分为以下 3 种亚型: PPAR- α 、PPAR- β/δ 和 PPAR- γ , 其中 PPAR- γ 是多个细胞内信号传导途径的关键因子, 在转录调控中发挥重要作用, 影响细胞的增殖、迁移及分化等多个环节^[17-20]。近年来对 PPAR- γ 激动剂的研究为解决血管替代物的内膜增生再狭窄的问题提供了有力的支持。Phillips 等^[21]的制作大鼠的动脉损伤模型, 发现 PPAR- γ 激动剂罗格列酮减缓了内膜损伤诱导的快速内膜增生。Choi 等^[22]将罗格列酮应用于临床并证实其可以抑制支架植入患者冠状动脉的再狭窄。

实验中, 移植后 10 d 的苏木精-伊红染色及 α -SMA 免疫组织化学染色结果显示: 未给予罗格列酮的 CD34 组血管的管壁及内膜面可见少量平滑肌细胞浸润并生长, 而罗格列酮组血管管壁中平滑肌样细胞数量较少, 但其差异无显著性意义。移植后 30 d 时可见 CD34 组和罗格列酮组血管壁的平滑肌细胞数量均较前增多, 但罗格列酮组平滑肌细胞数量较 CD34 组为少, 其差异具有显著性意义。Law 等^[23]的研究证实 PPAR- γ 激活后可通过以下机制抑制平滑肌细胞增生: 抑制处于静息态的

平滑肌细胞进入增殖周期^[24]; 通过调控 MAPK 途径的信号转导抑制平滑肌细胞的迁移^[25]; 通过减少细胞因子的产生和核转录因子 κB 的表达抑制炎症反应^[26]。Wakino 等^[27]发现 PPAR- γ 激动剂能够抑制 PDGF 和胰岛素诱导的鼠动脉平滑肌的细胞的增殖, 抑制血管平滑肌细胞由细胞周期的 G₁ 期向 S 期的转化。另外, PPAR- γ 激动剂还可通过下调基质金属蛋白酶 9 的表达而抑制其对基底膜和细胞外基质的分解, 最终抑制平滑肌细胞迁移^[28-29]。实验中还发现: 在移植后 10 d 和 30 d, 罗格列酮组移植段的血管内膜厚度均小于 CD34 组, 且其差异具有显著性意义, 这进一步证实了罗格列酮对移植血管平滑肌细胞增生和迁移的抑制作用。

实验将制备的 CD34 抗体预载脱细胞血管基质支架移植于兔颈动脉上, 移植后应用 PPAR- γ 激动剂罗格列酮进行干预, 通过体内实验证实了罗格列酮抑制平滑肌细胞生长及减少内膜增生的作用, 同时进一步证实 CD34 抗体的存在可促进移植血管的早期内皮化。

4 参考文献

- Goetze S, Kim S, Xi XP, et al. Troglitazone inhibits mitogenic signaling by insulin in vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2000;35(5):749-757.
- Goetze S, Kintscher U, Kim S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit nuclear but not cytosolic extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase-regulated steps in vascular smooth muscle cell migration. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001;38(6): 909-921.
- Cao HM, Su H, Wang XH. Zhongguo Bingli Shengli Zazhi. 2007; 23(10):2060-2062. 曹华明, 苏海, 王晓华, 等. CD34 抗体包被支架预防兔损伤动脉支架内狭窄[J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23(10):2060-2062.
- Rotmans JI, Heyligers JM, Verhagen HJ, et al. In vivo cell seeding with anti-CD34 antibodies successfully accelerates endothelialization but stimulates intimal hyperplasia in porcine arteriovenous expanded polytetrafluoroethylene grafts. *Circulation*. 2005;112(1):12-18.
- Wang CH, Ciliberti N, Li SH, et al. Rosiglitazone facilitates angiogenic progenitor cell differentiation toward endothelial lineage: a new paradigm in gliitazone pleiotropy. *Circulation*. 2004;109(11):1392-1400.
- Calnek DS, Mazzella L, Roser S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:52-57.
- Zhao XD, Wu ZS, Hu TH, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng yu Linchuang Kangfu Zazhi. 2008;12(2):281-284. 赵向东, 吴忠仕, 胡铁辉, 等. 去细胞光氧化牛颈静脉血管片内膜光化学接枝 CD34 抗体的制备和初步评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008;12(2):281-284.
- Aoki J, Serruys PW, van Beusekom H, et al. Endothelial progenitor cell capture by stents coated with antibody against CD34: the HEALING-FIM (Healthy Endothelial Accelerated Lining Inhibits Neointimal Growth-First In Man) Registry. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:1574-1579.
- Sata M, Saima A, Kunisato A, et al. Hematopoietic stem cells differentiate into Vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Natmed*. 2002;8(4): 403-409.
- Yang XF, He X, Zhang LH, et al. Directional differentiation of human adipose-derived stem cells into endothelial cells. *Zhonghua Zheng Xing Wai Ke Za Zhi*. 2011;27(1):58-62.
- Peters R, Wolf MJ, van den Broek M, et al. Efficient generation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood in stroma-free liquid culture. *PLoS One*. 2010; 5(12): e15689.
- Guo S, Cheng Y, Ma Y, et al. Endothelial progenitor cells derived from CD34⁺ cells form cooperative vascular networks. *Cell Physiol Biochem*. 2010;26(4-5):679-88.
- Langer HF, von der Ruhr JW, Daub K, et al. Capture of endothelial progenitor cells by a bispecific protein/monoclonal antibody molecule induces reendothelialization of vascular lesions. *J Mol Med*. 2010;88:687-699.
- Walsh K, Smith RC, Kim HS. Vascular cell apoptosis in remodeling, restenosis, and plaque rupture. *Circ Res*. 2000;87: 184-188.
- Cheong A, Li J, Sukumar P, et al. Potent suppression of vascular smooth muscle cell migration and human neointimal hyperplasia by KV1.3 channel blockers. *Cardiovasc Res*. 2011;89(2):282-289.
- Kim HJ, Yoo EK, Kim JY, et al. Protective role of clusterin/apolipoprotein J against neointimal hyperplasia via antiproliferative effect on vascular smooth muscle cells and cytoprotective effect on endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(10):1558-1564.
- Zahradka P, Wright B, Fuerst M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha and gamma ligands differentially affect smooth muscle cell proliferation and migration. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;317(2):651-659.
- Wang CH, Ciliberti N, Li SH, et al. Circulation. Rosiglitazone facilitates angiogenic progenitor cell differentiation toward endothelial lineage: a new paradigm in gliitazone pleiotropy. 2004; 109(11):1392-400.
- Lin Q, Fang LP, Zhou WW, et al. Rosiglitazone inhibits migration, proliferation, and phenotypic differentiation in cultured human lung fibroblasts. *Exp Lung Res*. 2010;36(2):120-128.
- Park S, Lim S, Chang W, et al. The inhibition of insulin-stimulated proliferation of vascular smooth muscle cells by rosiglitazone is mediated by the Akt-mTOR-P70S6K pathway. *Yonsei Med J*. 2008;49(4):592-600.
- Phillips JW, Barringhaus KG, Sanders JM, et al. Rosiglitazone reduces the accelerated neointima formation after arterial injury in a mouse injury model of type 2 diabetes. *Circulation*. 2003;108: 1994-1999.
- Choi D, Kim SK, Choi SH, et al. Preventative effects of rosiglitazone on restenosis after coronary stent implantation in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27:2654-2660.
- Law RE, Goetze S, Xi XP, Jackson S, et al. Expression and function of PPARgamma in rat and human vascular smooth muscle cells. *Circulation*. 2000;101:1311-1318.
- Lim HJ, Lee S, Park JH, et al. PPAR delta agonist L-165041 inhibits rat vascular smooth muscle cell proliferation and migration via inhibition of cell cycle. *Atherosclerosis*. 2009;202(2):446-454.
- Goetze S, Xi XP, Kawano H, et al. PPAR gamma-ligands inhibit migration mediated by multiple chemoattractants in vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1999;33:798-806.
- Jiang C, Ting AT, Seed B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature*. 1998;391: 82-86.
- Wakino S, Kintscher U, Kim S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands inhibit retinoblastoma phosphorylation and G1-S transition in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*. 2000;275:22435-22441.
- Calnek DS, Mazzella L, Roser S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:52-57.
- Lee CS, Kwon YW, Yang HM, et al. New mechanism of rosiglitazone to reduce neointimal hyperplasia: activation of glycogen synthase kinase-3beta followed by inhibition of MMP-9. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29(4):472-479.

来自本文课题的更多信息一

作者贡献: 设计、实施者为第一、二作者, 评估为其余作者。盲法评估。

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。

伦理批准: 实验过程中对动物处置符合 2006 年科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》。

本文创新性: 目前国内外研究罗格列酮对平滑肌细胞增殖和迁移以及其对血管内膜增生情况的影响重在体外实验, 或研究其在血管损伤处对平滑肌细胞生长和内膜增生的影响, 难以排除损伤处血管本身对研究结果的作用。本实验构建兔颈动脉移植模型, 并应用脱细胞血管作为移植血管观察罗格列酮对平滑肌细胞增殖和内膜增生的影响, 具有创新性。