

·论著·

主动脉球囊损伤大鼠血浆内皮素及胰岛素样生长因子 - 1 的动态改变

秦玉明,周爱卿,贲晓明,沈捷,梁瑛

[摘要] 目的 探讨内皮素(endothelin, ET)及胰岛素样生长因子-1(insulin like growth factor-1, IGF-1)在先天性血管畸形球囊成形术后再狭窄中的作用。方法 用自制导管制造大鼠血管内皮损伤模型,观察不同时间点受损血管病理改变,同时用放射免疫法测定血浆 ET 及 IGF-1 含量。结果 血管内皮损伤后,随着时间延长,平滑肌细胞大量增殖造成管腔狭窄,而血浆 ET 及 IGF-1 升高明显,各时间点与对照组相比均有显著性差异。且两者具有较好相关性($r = 0.62, P < 0.05$)。结论 ET 与 IGF-1 相互作用促进血管平滑肌增殖,两者共同参与了球囊血管成形术后再狭窄的病理过程。

[关键词] 内皮素;胰岛素样生长因子-1;球囊损伤;大鼠

[中图分类号] R-322 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2000)03-0162-03

Dynamic Changes of IGF-1 and ET in the Development of Restenosis after Balloon Angioplasty in Rats

QIN Yu-Ming, ZHOU Ai-Qing, BEN Xiao-Ming, et al.

Department of Pediatrics, Xinhua Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200092

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of endothelin (ET) and insulin like growth factor-1 (IGF-1) on the development of restenosis after balloon angioplasty. **Methods** Using a catheter to induce the endothelium injury, we created a rat model of aortic endothelium injury. * Pathological changes of the injured aortic endothelium were assessed, and the plasma concentration of ET and IGF-1 were determined with radioimmunoassay. **Results** As demonstrated by pathological examination, aortic injury related restenosis was induced by the proliferation of vascular smooth muscle cells. Plasma concentrations of ET and IGF-1 increased significantly, and there was a significant correlation between ET and IGF-1 at different time points ($r = 0.62, P < 0.05$). **Conclusions** ET and IGF-1, as stimulators of vascular smooth muscle cell proliferation, might participate in the pathological process of restenosis after balloon angioplasty.

[Key words] Endothelin; Insulin like growth factor-1; Aortic endothelium injury; Rat

球囊血管成形术已成功地应用于包括主动脉狭窄、肺动脉狭窄等小儿先天性血管畸形等疾病,但术后再狭窄是影响其成功的主要因素之一,而再狭窄发生的确切机制目前尚未完全清楚。本研究利用自制导管(见图1,封)制造大鼠降主动脉内皮损伤模型,模拟球囊血管成形术后再狭窄的发生过程,检测血浆内皮素(ET)及胰岛素样生长因子-1(IGF-1)

的动态改变以及与病理改变的关系,探讨其在球囊血管成形术后再狭窄形成过程中的意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 Wistar 大鼠,出生 6~7 周,体重 130 g~

[作者简介] 秦玉明,男,1964年出生,医学博士,主治医师。
[作者单位] 200092 上海,上海第二医科大学附属新华医院

150 g,由中国医学科学院上海动物所提供。48只大鼠,随机分成2组,手术组24只,再进一步分为球囊损伤后1 d,5 d,10 d,20 d等4个不同的时间点,每个时间点随机选择6只。假手术组:为平衡实验过程中大鼠体重增加对实验的影响,24只大鼠同样也分为1 d,5 d,10 d,20 d等4个不同的时间点,每个时间点同样也选择6只大鼠作为相同时间点手术组的对照组。

1.2 模型建立

手术组:用5%戊巴比妥钠50 mg/kg腹腔注射麻醉大鼠并固定于手术台上。局部除毛和消毒后,做颈部正中切口,长约0.7 cm,分离左颈总动脉,并剪一小口,将球囊导管从小口向近心端插入,插入时要注意掌握好方向,以防导管进入心脏,操作时手法要轻。当球囊导管经主动脉弓到达降主动脉后,用注射器向导管注入蒸馏水0.15 ml~0.20 ml使球囊充盈,充盈度以顺导管上下移动有一定阻力感为宜,并将球囊在局部上下移动约0.5 cm的范围,共两次。最后抽出球囊中的蒸馏水,撤出导管,结扎左颈总动脉,缝合皮肤切口,局部清洁纱布覆盖,并注意给大鼠保暖,待大鼠清醒后放回笼,普通饲料喂养。

假手术组:麻醉大鼠及分离左颈总动脉同手术组,导管插入至降主动脉,但不使球囊充盈,撤出导管,余处理均同手术组。

1.3 标本留取

同前麻醉大鼠,剖腹,从下腔静脉取血2 ml,EDTA抗凝,离心后取上层血浆,-20℃冷冻保存以备ET及IGF-1的测定。取血后,迅速解剖分离降主动脉,冷生理盐水洗涤,用10%福尔马林溶液固定,石蜡包埋,普通病理切片,行HE染色。

1.4 测定方法

测定IGF-1时,首先用87.5%无水乙醇加2M HCl 12.5 ml作为萃取液,萃取效率约80%,取25 ul萃取上清液为样本,采用放射免疫法测定。IGF-1放免试剂盒由美国Sigma公司提供,ET放免试剂盒由解放军总医院提供,具体操作按说明书。ET最小检测量为30 pg/ml,批内变异系数<4%。IGF-1的最小检测量为5 umol/L,批内变异系数<4.5%。

1.5 结果统计

实验数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,行F,q检验及t检验,并进行直线相关分析,统计过程全部由SAS软件完成。

2 结果

2.1 球囊损伤后血管病理改变

手术组大鼠球囊损伤后第1 d,血管内皮明显受损,部分内皮细胞剥脱,内腔面附着少量红细胞及血小板(见图2,封)。球囊损伤后第5 d,血管内腔面变得进一步粗糙,局部附着较多的炎性细胞(见图3,封)。球囊损伤后第10 d,血管内腔面凹凸不平,平滑肌细胞出现活跃的核分裂现象(见图4,封)。球囊损伤后第20 d,血管损伤局部平滑肌细胞大量增殖,突向管腔并造成管腔狭窄(见图5,封)。假手术组不出现上述改变(见图6,封)。

2.2 血浆 ET 含量变化

手术组球囊损伤后第1 d血浆ET含量即已明显升高,与假手术组相比差异显著, $P < 0.05$ 。伴随血管损伤局部平滑肌细胞的不断增殖及管腔进行性狭窄,血浆ET含量持续升高,在本实验中以球囊损伤后第20 d最为明显。其它各时间点与假手术组相相比均有显著性差异, $P < 0.01$ 。假手术组各时间点之间无显著性差异,见表1。

表1 各时间点血浆 ET 含量 (pg/ml)

Tab 1. The plasma concentration of ET at different time points

组别	鼠数	时间点				不同时间比较 F值
		1 d	5 d	10 d	20 d	
假手术组	24	127.2 ±39	123.6 ±28	138.4 ±31	132.2 ±22	2.13
手术组	24	175.5 ±29	202.6 ±35	336.1 ±72	473.5 ±83	5.83 ³⁾
t值		2.62 ¹⁾	5.20 ²⁾	6.74 ²⁾	7.43 ²⁾	

注:同一时间点两组比较 1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$

不同时间点比较 3) $P < 0.01$

2.3 血浆 IGF-1 含量变化

手术组球囊损伤后血浆IGF-1含量的改变与血浆中ET的改变相类似,即随着实验时间的延长,血浆中IGF-1持续升高,球囊损伤后第20 d达到本次实验的高峰,与假手术组相比差异高度显著, $P < 0.01$ 。其它各时间点与假手术组相相比均有显著性差异。假手术组各时间点之间无显著性差异,见表2。

表2 各时间点血浆 IGF- I 含量 ($\mu\text{mol/L}$)

Tab 2. The plasma concentration of IGF- I at different time points

组别	鼠数	时间点				不同时间比较 F值
		1 d	5 d	10 d	20 d	
假手术组	24	15.7 \pm 3.7	17.7 \pm 7.2	16.7 \pm 4.9	15.4 \pm 4.7	2.32
手术组	24	20.5 \pm 3.8	25.8 \pm 5.3	35.4 \pm 8.6	44.7 \pm 10.1	6.37 ³⁾
t值		2.74 ¹⁾	5.93 ²⁾	7.32 ²⁾	8.44 ²⁾	

注:同一时间点两组比较 1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$;
不同时间点比较 3) $P < 0.01$

2.4 血浆中 ET 与 IGF- I 变化的一致性

统计表明手术组球囊损伤动脉后血浆 ET 与 IGF- I 两者的变化呈明显的直线相关 ($r = 0.62$, $P < 0.05$)。

3 讨论

内皮素主要由血管内皮细胞合成,平滑肌细胞亦有内皮素基因的表达,它主要作为局部激素以自分泌和旁分泌的方式发挥作用。ET 具有强大的收缩血管,促进血管平滑肌细胞增殖、迁移,促进细胞外基质积聚、加速生长因子、粘分子等合成与释放及其调节其它基因表达等多种生物学作用^[1]。本研究发现,球囊损伤后第 1 d,血浆内皮素含量已明显升高,病理显示血管内皮细胞部分剥脱,此与球囊血管成形术后即刻的病理改变极为相似,血浆中升高的内皮素可能来源于受损的血管内皮细胞及平滑肌细胞。随着病程延长,至球囊损伤第 5 d 和第 10 d,血管腔面变得进一步粗糙,平滑肌细胞呈现出活跃的增生象,而此时内皮素含量进一步升高,与假手术组相比差异显著。至球囊损伤第 20 d,平滑肌细胞大量增殖并凸入管腔,造成血管狭窄,血浆内皮素水平升高更加明显。由此可以看出,随着病程进展,血浆内皮素含量与球囊损伤血管平滑肌细胞大量增殖以及血管管腔狭窄呈现出较好的一致性。内皮素促进血管平滑肌细胞的增殖和迁移已得到众多实验支持,将内皮素基因导入培养的血管平滑肌细胞可促进平滑肌细胞的增殖,并可使内皮素分泌量明显增加^[2]。这种促增殖作用可能是通过激活丝裂素活化蛋白激酶 (mitogenic active proteinic kinase MAPK) 从而促进癌基因的表达而实现的^[3]。因此,

内皮素可能是球囊血管成形术后再狭窄形成的重要因素之一。除此之外,内皮素还能与其它细胞因子一道共同影响平滑肌细胞的增殖^[4]。本研究也发现,随着内皮素含量的升高,血浆 IGF- I 含量也逐渐升高,两者具有较好的相关性 ($r = 0.62$, $P < 0.05$)。IGF- I 是由血管内皮细胞和平滑肌细胞合成的单链显性蛋白,在生长的血管,再生的内皮细胞以及血管球囊损伤后的平滑肌细胞中显著升高^[5],这与我们的实验结果相一致,随受损血管平滑肌细胞增殖的不断加剧,血浆中 IGF- I 含量也不断升高,且与内皮素含量有较好的相关性,但两者的确切关系目前尚未见报导。IGF- I 是与胰岛素作用相类似的一类物质,除自身具有刺激内皮细胞迁移,增殖作用外,还可能对包括内皮素在内的其它物质的受体活性和数量发生调节,使得受体介导的缩血管物质的效应发生改变,从而产生内皮素的增敏作用^[6,7],但引起 IGF- I 升高的确切机制尚不清楚。综上所述,内皮素与 IGF- I 相互作用促进血管平滑肌的增殖,两者共同参与了球囊血管成形术后再狭窄的病理过程。

[参 考 文 献]

- [1] Lucla M, Alpert MA, Okunishi H, et al. Proliferation and migration of endothelin cells is promoted by endothelins via activation of ETA receptor [J]. Am J Physiol, 1995, 269 (4): H686 - H695.
- [2] Yanagisawa M. The endothelin system [J]. Circulation, 1994, 89(7): 1320 - 1322.
- [3] Sokolovsky M, Zegher F, Sugiura T, et al. Endothelins and sarafotoxins: physiological regulation, receptor subtypes and transmembrane signaling [J]. Pharmac Ther, 1992, 54 (1): 129 - 143.
- [4] 毕万里, 汤健. 内皮素对心血管系统内血管紧张素释放的影响 [J]. 生理学报, 1994, 42(4): 248 - 253.
- [5] 梁春. 细胞生长因子与血管新生在缺血性心脏病中的研究进展 [J]. 国外医学. 心血管疾病分册, 1998, 25(3): 73 - 76.
- [6] 郁晓红, 卢才义, 王峰, 等. 胰岛素增强内皮素-1 的缩血管作用 [J]. 中华心血管病杂志, 1997, 25(1): 64 - 66.
- [7] Liu JP, Rajah R, Katz L, et al. Mice carrying null mutations of the gene encoding IGF- I and type - I IGF receptor [J]. Cell, 1998, 75(1): 59 - 45.

(收稿日期:1999-09-21 修回日期:2000-03-31)

(本文编辑:吉耕中)

(正文见 162 页)

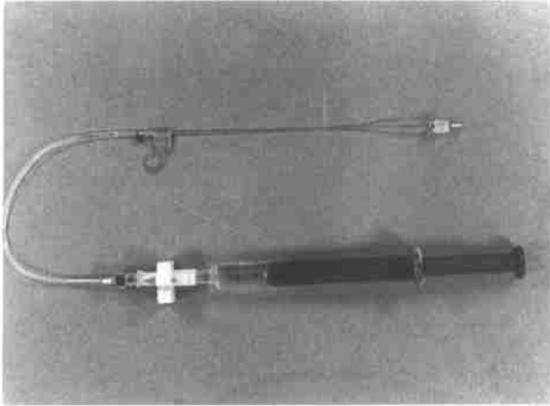


图1 自制动脉损伤球囊导管
Fig1. Aortic endothelium injury catheter

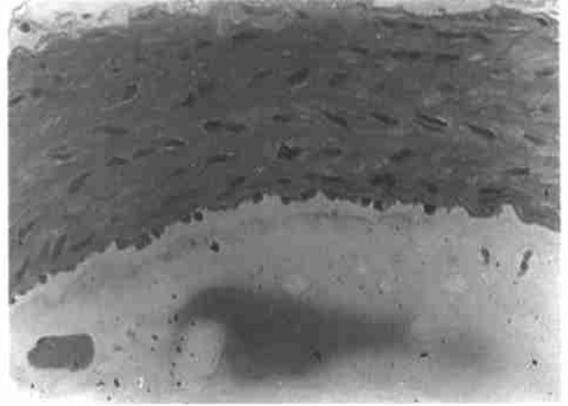


图4 球囊损伤后第 10 d, 平滑肌细胞核分裂 HE × 500
Fig4. Smooth muscle cells nuclear division on the 10th day after ballon injury HE × 500

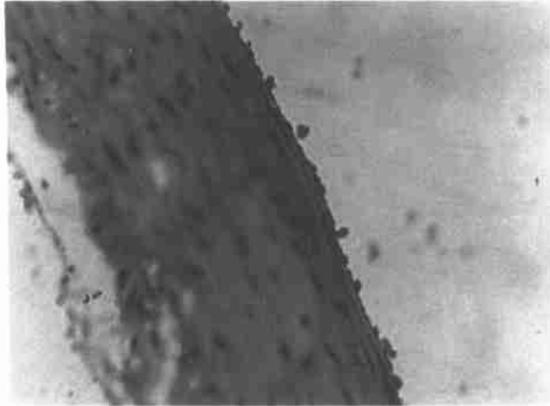


图2 球囊损伤后第 1 d, 血管内皮受损 HE × 500
Fig2. The endothelium injured on the 1st day after balloon injury HE × 500

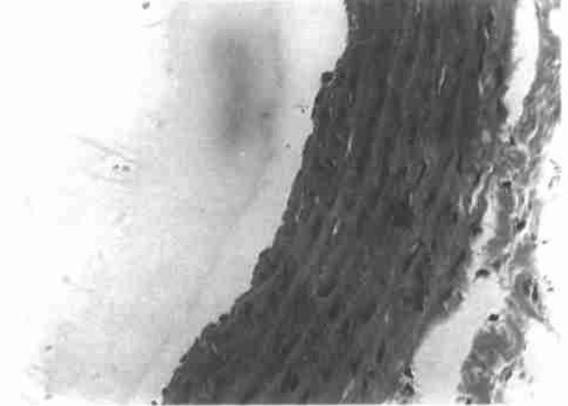


图5 球囊损伤后第 20 d, 平滑肌细胞大量增殖 HE × 500
Fig5. The proliferation of smooth muscle cells on the 20th day after balloon injury HE × 500

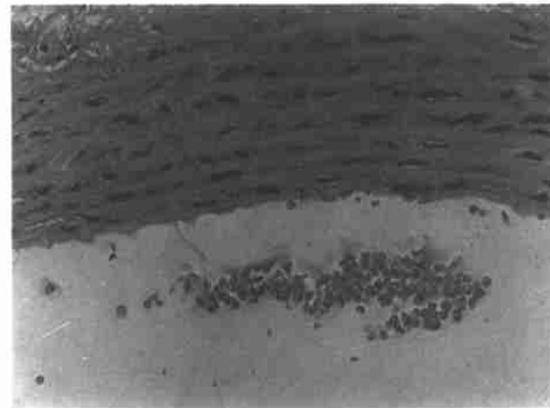


图3 球囊损伤后第 5 d HE × 500
Fig3. The endothelium injured on the fifth day after balloon injury HE × 500

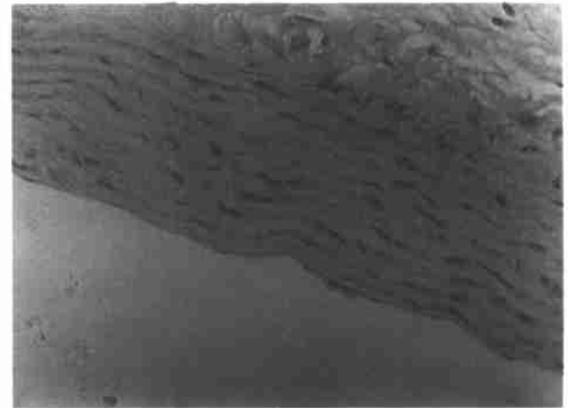


图6 假手术组主动脉血管内皮 HE × 500
Fig6. The sham operation group aortic endothelium HE × 500