

研究报告

3-羟基丁酸与 3-羟基己酸共聚酯在心血管组织工程中的应用

吴松¹, 刘迎龙¹, 崔彬¹, 唐跃¹, 王强¹, 曲向华², 陈国强²

1 中国医学科学院心血管病研究所、北京协和医学院阜外心血管病医院 小儿心脏外科中心, 北京 100037

2 清华大学生物系微生物研究室, 北京 100084

摘要: 为了研究可降解聚合材料 3-羟基丁酸与 3-羟基己酸共聚酯 (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate, PHBHHx) 的血管内生物相容性, 采用脱细胞羊肺动脉为支架, 以 PHBHHx 涂层, 构建复合补片 (Hybrid patch), 植入 New Zealand 兔腹主动脉内 (12 只), 以脱细胞未涂层羊肺动脉片 (Uncoated patch) 做为对照 (12 只)。分别于术后第 1、4 和 12 周处死动物, 取出移植补片进行组织学、免疫荧光染色、扫描电镜和钙含量测定。结果表明: hybrid patch 管腔面光滑无血栓, 内膜增生适度, 再细胞化完全; 免疫荧光染色检测, 新生内膜组织中类内皮细胞呈 CD31 阳性反应, 单层连续排列, 间质细胞呈现 SMA 阳性反应; 钙含量测定, hybrid patch 明显低于 uncoated patch ($P < 0.05$)。由此认为: PHBHHx 的血管内生物相容性满意, 是心血管组织工程较为理想的腔内涂层材料。

关键词: 脱细胞异种血管, 3-羟基丁酸与 3-羟基己酸共聚酯 (PHBHHx), 血管内生物相容性, 心血管组织工程

Intravascular Biocompatibility of Decellularized Xenogenic Vascular Scaffolds/PHBHHx Hybrid Material for Cardiovascular Tissue Engineering

Song Wu¹, Yinglong Liu¹, Bin Cui¹, Yue Tang¹, Qiang Wang¹, Xianghua Qu², and Guoqiang Chen²

1 Department of Cardiovascular Surgery, Cardiovascular Institute & Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Beijing 100037, China

2 Department of Biological Science and Biotechnology, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract: Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate, PHBHHx) has superior mechanical and biocompatibility that may enable it to meet cardiovascular tissue engineering applications. We developed hybrid materials based on decellularized xenogenic vascular scaffolds that were coated with PHBHHx to investigate the intravascular biocompatibility. The hybrid patches were implanted in the rabbit abdominal aorta (hybrid patch, $n=12$). Only decellularized xenogenic vascular scaffolds were implanted without coating as control (uncoated patch, $n=12$). The patches were explanted and examined histologically, and biochemically at 1, 4 and 12 weeks after the surgery. The hybrid patches maintained original shapes, covered by confluent layer of cells and had less calcification than uncoated control. The results indicated that PHBHHx coating reduced calcification, promoted the repopulation of hybrid patch with recipients cells. In conclusion, PHBHHx showed remarkable intravascular biocompatibility and would benefit endothelialization which would be a useful candidate for lumen of cardiovascular tissue engineering.

Keywords: decellularized xenogenic vascular matrix scaffolds, poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate, PHBHHx), intravascular biocompatibility, cardiovascular tissue engineering

Received: August 9, 2007; **Accepted:** October 9, 2007

Corresponding author: Yinglong Liu. Tel: +86-10-88398496; Fax: +86-10-68332747; E-mail: drwusong@gmail.com

可降解聚合材料 3-羟基丁酸与 3-羟基己酸共聚酯 (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate, PHBHHx), 是近年来发现的由细菌胞内合成的一种新型聚羟基脂肪酸酯(Polyhydroxyalkanoate, PHA)共聚物, 由于其具有良好的机械性能、生物可降解性以及生物相容性, 应用前景被普遍看好^[1-8]。本研究以脱细胞的羊肺动脉为支架, 用可降解聚合材料 PHBHHx 涂层, 构建复合补片(Hybrid patch), 将其植入兔腹主动脉内, 进行小动物血管内生物相容性和抗血栓性, 为将 PHBHHx 这种新型可降解聚合材料用于心血管组织工程提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 羊肺动脉取材

选取宰杀后 30 min 内的绵羊(30~35 kg)心脏, 无菌状态下分离主肺动脉, 清除肺动脉外膜及脂肪, 生理盐水冲洗。

1.2 羊肺动脉脱细胞

羊肺动脉置于含 0.05% trypsin/EDTA(Gibico), 脱氧核糖核酸裂解酶 1.5×10^5 IU/L(DNAase I, Sigma)和核糖核酸裂解酶 100 mg/L(RNase A, Sigma)的溶液中, 37°C 持续振荡 24 h。再置于 PBS 液中, 37°C 持续振荡 24 h。脱细胞成功标志以组织学检查(Hematoxylin & eosin staining, HE)和扫描电镜(JBM5200 型扫描电镜, 日本)来确定^[9,10]。

1.3 Hybrid patch 的构建

称取相应质量的 PHBHHx(广东生物技术发展公司江门中心)粉末, 加入氯仿, 60°C 搅拌加热, 回流 60 min, 制成 1%、3%和 5%三种浓度的 PHBHHx 溶液。将脱细胞羊肺动脉, 置于梯度浓度的 PHBHHx 溶液中, 37°C 充分振荡, 每个浓度 0.5 h, 进行涂层。再进行 24 h 的溶剂挥发, 最后用 PBS 水化, 完成 hybrid patch 的构建^[11]。使用扫描电镜观察 hybrid patch 的涂层情况。

1.4 外科植入技术

New Zealand 白兔 24 只 (体重 2.0~2.5 kg), 随机分成未涂层脱细胞羊肺动脉补片(uncoated patch)和复合补片(Hybrid patch)组, 每组 12 只。混合麻醉剂(846 合剂和氯胺酮注射液)0.08 mL/kg 肌肉注射, 经

耳缘静脉给肝素(2.0 mg/kg)。下腹部正中切口, 肾动脉下方游离腹主动脉约 1.5~2.0 cm, 哈巴狗血管夹阻断, 纵向切开腹主动脉长约 5.0 mm, 将相应大小补片(8.0 mm × 4.0 mm), 用 7/0 prolene 连续缝合, 做腹主动脉补片植入^[12,13]。青霉素 20 万单位/d 肌注, 连续 3 d。于术后第 1、4 和 12 周处死动物, 将包括补片在内的一段腹主动脉取下, 同时留取血标本。

1.5 观察指标

1.5.1 血沉测定和外周血细胞计数

1.5.2 HE 和弹力染色

观察移植补片炎症细胞浸润、新生内膜和受体自体细胞化情况

1.5.3 免疫荧光染色

鉴定移植补片管腔面新生内膜内皮细胞和间质中的血管平滑肌细胞, 一抗是单克隆鼠抗人 CD31 抗体(Dako, clone Nr.JC70A)和单克隆鼠抗人平滑肌 actin(SMA)抗体 (Dako, clone Nr.1A4), 二抗为罗丹明标记的羊抗小鼠 IgG 抗体(北京中杉金桥生物公司)

1.5.4 超微结果观察

扫描电镜观察移植补片表面情况。

1.5.5 补片钙含量测定

火焰原子吸收光谱法(日立 Z-8000 原子吸收分光光度计)进行移植补片钙含量测定。

1.6 统计学分析

连续变量用平均值 ± 单倍标准差表示, 以 SAS8.0 对数据进行统计学分析, 多组均数比较使用成组设计的方差分析(One-Way ANOVA)。取 $\alpha=0.05$ 作为检验水准。

2 结果

2.1 羊肺动脉脱细胞评价

脱去羊肺动脉血管的全部细胞成分, 完整保留细胞外基质, 弹力纤维和胶原纤维的结构完整(图 1, 图 2)。

2.2 PHBHHx 涂层情况

扫描电镜观察: 涂层材料 PHBHHx 均匀涂层于脱细胞的羊肺动脉, 形成具有丰富孔隙且相对光滑的表面(图 3)。

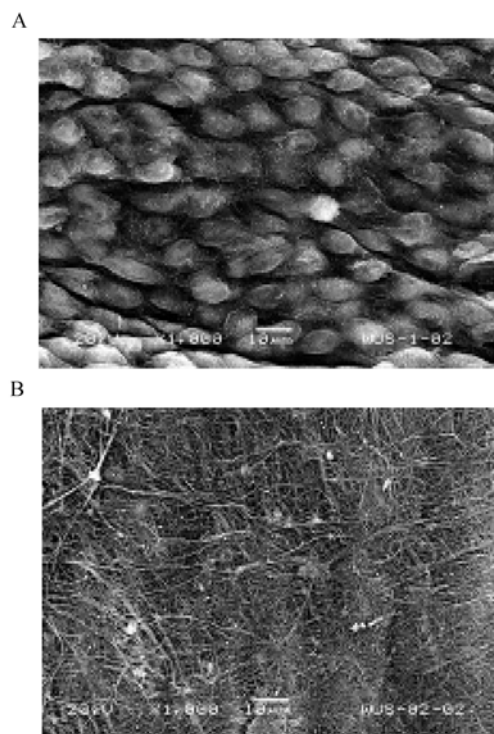


图 1 羊肺动脉脱细胞前后(A/B)扫描电镜($\times 1,000$)

Fig. 1 Scanning electron microscopy (SEM, $\times 1000$) of the sheep pulmonary artery(A)/after enzymatic decellularization(B)

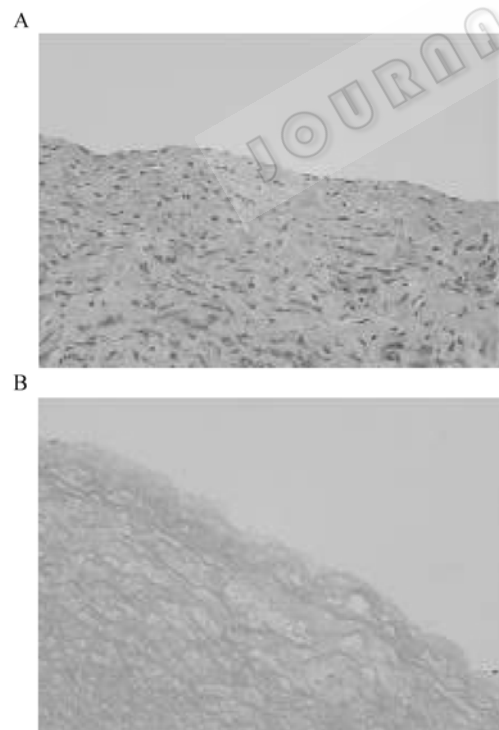


图 2 羊肺动脉脱细胞前后(A/B)/Hematoxylin & eosin stain ($\times 400$)

Fig. 2 Cross sections (Hematoxylin & eosin staining, $\times 40$) of sheep pulmonary artery(A)/after enzymatic decellularization(B)

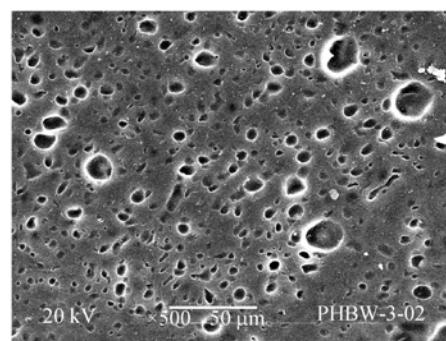


图 3 Hybrid patch 扫描电镜($\times 1000$)

Fig. 3 Sheep pulmonary artery after coating with PHBHHx

2.3 大体标本情况

两种血管补片和腹主动脉融为一体, 没有周围组织化脓、坏死和肿瘤产生的迹象。hybrid patch 血管腔面表面光滑, 没有血栓形成; uncoated patch 血管腔面表面不光滑, 有附壁血栓(图 4)。

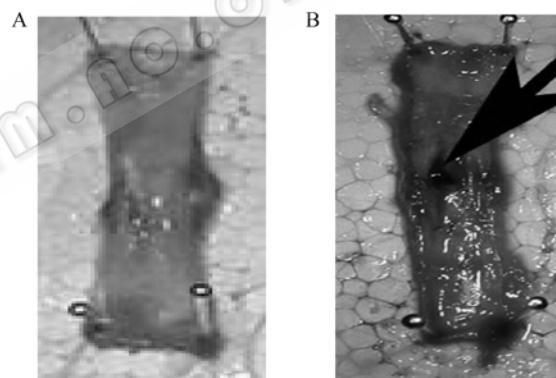


图 4 Hybrid patch 移植术后 12 周(A) uncoated patch 补片植入术后 12 周(B)

Fig. 4 Gross morphology of explanted hybrid(A)/uncoated patch(B) 12 weeks after surgery

2.4 组织学检查

术后早期, 两种血管补片周围出现纤维囊, 囊壁主要由淋巴细胞、增生的毛细血管和纤维细胞构成。术后 12 周, 纤维囊变薄, 未见异物巨噬细胞浸润。uncoated patch 血管腔面新生内膜增生明显; hybrid patch 血管腔面新生内膜增生适度, 内皮细胞单层排列, 完整连续, 间质细胞增生活跃(图 5, 图 6)。

2.5 免疫荧光染色检测

术后 12 周, hybrid patch 新生内膜表面细胞呈 CD31 阳性反应, 沿血管腔面呈单层连续性分布(图 7A); 补片分间质细胞呈 SMA 阳性反应(图 7B)。uncoated patch 新生内膜表面细胞 CD31 呈阳性反应的细胞, 沿腔面呈局灶性分布(图 8A); 补片部分间

质细胞呈 SMA 阳性反应(图 8B)。

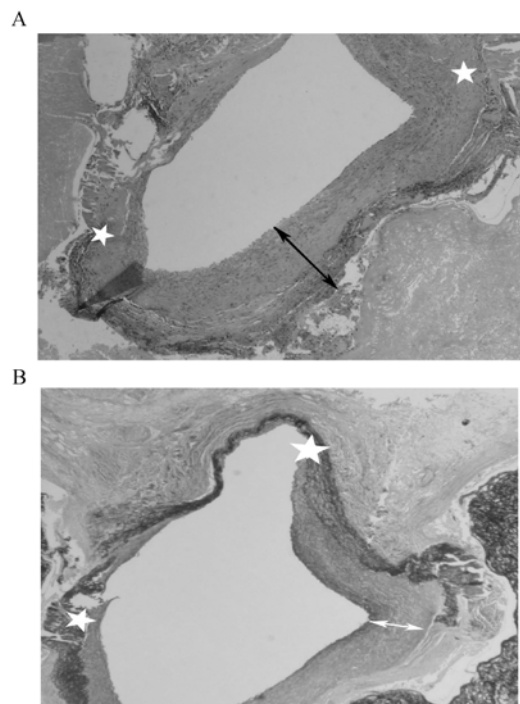


图 5 Hybrid patch 补片植入术后 12 周 Hematoxylin & eosin staining(A)/弹力染色(B)($\times 40$)

Fig. 5 Histology of explanted hybrid patch 12 weeks after surgery (HE stain, $\times 40$)(A)/elastic staining(B)

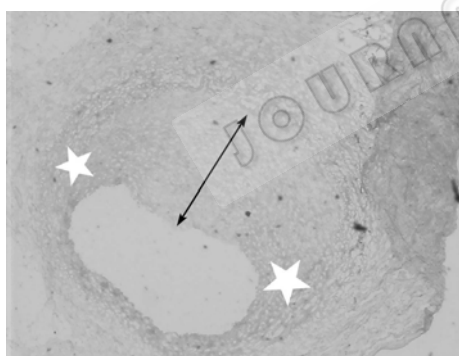


图 6 Uncoated patch 补片植入术后 12 周 Hematoxylin & eosin staining ($\times 40$)

Fig. 6 Histology of explanted uncoated patch 12 weeks after surgery (HE stain, $\times 40$)

2.6 血细胞计数和血沉测定

hybrid patch 和 uncoated patch 在植入早期, 都导致白细胞计数的增加和血沉的增快。随着植入时间的延长, 两种补片在上述指标方面都逐渐下降, 没有显著的区别(表 1, $P>0.1$)。

2.7 扫描电镜

术后 12 周, uncoated patch 表面粗糙不光滑, 可见胶原和弹力纤维暴露(图 9A)。hybrid patch 表面光滑, 表面被完整连续的新生内膜覆盖, 形态学上与

内皮细胞类似(图 9B)。

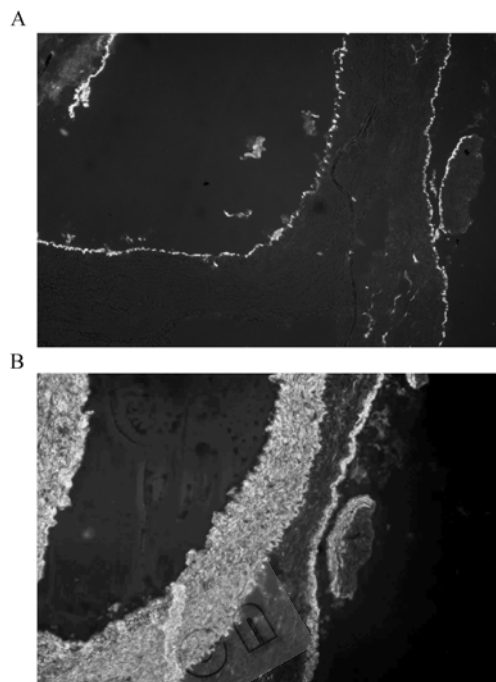


图 7 Hybrid patch 补片植入术后 12 周 CD31 相关抗原免疫荧光染色(rhodamine-labeled, $\times 100$)(A)/SMA 相关抗原免疫荧光染色(B)

Fig. 7 Immunofluorescence staining of CD31 (rhodamine-labeled, $\times 100$)(A)/SMA (B) of explanted hybrid patch 12 weeks after surgery

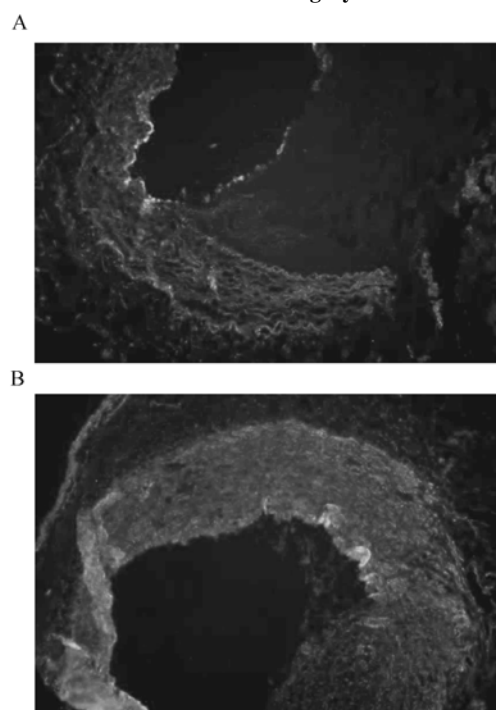


图 8 Uncoated patch 补片植入术后 12 周 CD31 相关抗原免疫荧光染色(rhodamine-labeled, $\times 100$)(A)/SMA 相关抗原免疫荧光染色(B)

Fig. 8 Immunofluorescence staining of CD31 (rhodamine-labeled, $\times 100$) of explanted uncoated patch(A)/SMA(B) 12 weeks after surgery

表 1 术后不同时期 hybrid patch 和 uncoated patch 两组 WBC 和 ESR 变化

Table 1 WBC of the peripheral blood, and ESR in rabbit model

	Time /weeks	WBC/ ($\times 10^9$ /L)	ESR/ (mm/h)
Hybrid patch	1	12.5 \pm 1.5	6.0 \pm 0.85
	4	8.6 \pm 1.0	4.6 \pm 0.9
	12	7.5 \pm 1.8	3.5 \pm 1.0
Uncoated patch	1	13.0 \pm 2.0	6.2 \pm 1.0
	4	7.8 \pm 2.2	4.5 \pm 1.2
	12	8.5 \pm 1.3	4.0 \pm 0.8

Note: $P>0.1$

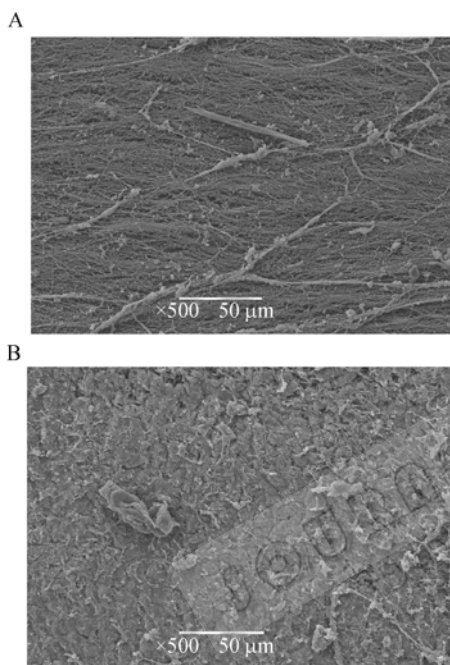


图 9 Uncoated patch(A)/hybrid patch(B)移植术后 12 周扫描电镜($\times 500$)

Fig. 9 Scanning electron microscopy (SEM, $\times 500$) of the explanted uncoated patch(A)/hybrid patch(B) 12 weeks after surgery

2.8 钙含量测定

术后 12 周, hybrid patch 的钙含量明显低于 uncoated patch, 统计学意义显著(表 2)。

表 2 Hybrid patch 和 uncoated patch 移植术后 12 周钙含量测定 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

Table 2 Calcium content of hybrid /uncoated patch by atomic absorption spectrometry 12 weeks after implantation ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

Patch	Calcium content/ ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
hybrid patch	0.35 \pm 0.29*
uncoated patch	1.24 \pm 0.92

Note: * $P<0.05$, hybrid patch versus uncoated patch

3 讨论

生物可降解聚合材料是组织工程学材料研究中最有前途的领域, 常用的有: 聚乙二醇酸(Polyglycolic acid, PGA)、多聚乳酸(Polylactic acid, PLA)、聚乳酸/聚羟基乙酸共聚物(Polyacti/glycolic acid compolymer, PLGA)、聚乙醇酸(Poly-1-lactic acid, PLLA)和聚羟基丁酸(Polyhydroxyalkanoates, PHAs)等^[14-16]。目前存在的缺点和不足: (1) 合成材料厚度大、僵硬、可塑性差, 要制成近似天然血管或瓣膜的三维结构, 工艺上有一定的困难。(2) 聚合材料的可控性降解也是个棘手的问题, 因为它的降解需要巨噬细胞参与和炎症反应的破坏, 以及自体组织的替代。在心血管系统, 由于还不能有效地控制机体对外源性异物的炎症反应, 多数情况下的转归是形成纤维化瘢痕, 这将影响血管或瓣膜的形态和功能。

3-羟基丁酸与 3-羟基己酸共聚酯(PHBHHx)是近年来发现的在细菌胞内合成的一种新型聚羟基脂肪酸酯(Polyhydroxyalkanoates, PHAs)共聚物。体外研究表明, PHBHHx 对于小鼠成纤维细胞、兔软骨细胞和血管平滑肌细胞、人骨髓干细胞和血管内皮细胞都有良好的生物相容性, 表现出了很强的生物相容性。溶血试验表明 PHBHHx 可以减少溶血的发生; 将其与富含血小板的血浆接触, 血小板的黏附率在所评价的多种可降解材料中最低, 优于 PLA 和 PHB 等; 体内植入后炎症反应轻微^[1], 是近年来颇受关注的生物可降解材料。由于它出色的细胞相容性和生物力学表现, 因此有可能被用于心血管组织工程^[1-8]。到目前为止, 还没有关于 PHBHHx 血管内生物相容性的研究报告。要将其用于心血管组织工程中, 必须首先对它在体的血管内相容性进行研究。

高分子聚合物材料不适合直接用做血管补片, 特别是在动脉系统, 常因吻合口出血而导致试验失败。因此我们设计了厚度和兔腹主动脉壁比较接近的羊肺动脉血管, 经过脱细胞处理后, 作为支架材料, 以 PHBHHx 涂层, 构建 hybrid patch, 移植到兔腹主动脉上, 观察涂层材料的血管内生物相容性。将脱细胞的同种或者异种血管、心脏瓣膜支架植入体内接受细胞化, 是心血管组织工程研究的常用方法^[17-19], 它能提供自然血管或瓣膜的形态结构。对

人类而言, 同种材料来源有限, 而异种材料来源广泛, 极具吸引力。内皮细胞是心血管组织中抗原性最强的细胞成分, 间质细胞和细胞外基质的抗原性则较弱。去掉所有细胞成分, 可以显著降低异种心血管组织或器官的免疫原性, 减轻移植后免疫反应和钙化、毁损。脱细胞法主要包括离子(Sodium-dodecyl-sulfate, SDS)、非离子(Triton-X100, sodium-deoxycholate)去污剂法, 以及 trypsin / EDTA 消化法等^[20-25]。trypsin / EDTA 联合蛋白酶抑制剂 DNase I 和 RNase A, 可以分解细胞外基质中残存的 DNA 和 RNA。同时加入抑肽酶和 EDTA, 可抑制细胞破坏时释放的蛋白酶对细胞外基质支架中胶原和弹性蛋白的水解作用, 使胶原纤维和弹性纤维的三维网状结构完整保留。

脱细胞后的细胞外基质可活化血小板, 胶原暴露能直接诱导血小板而导致血栓形成^[26-28]。hybrid patch 采用脱细胞处理的异种血管作为支架材料, 用可降解聚合材料涂层, 结合了自然血管和可降解聚合材料的优点: 自然血管的形态和结构特点; 可降解涂层材料 PHBHHx 覆盖在裸露的胶原和弹力纤维上, 可抵挡移植后的免疫排斥反应, 减少血栓形成和钙化; 涂层材料有利于受体细胞的生长和黏附, 可发挥其抗血栓性和生物相容性; 涂层材料均匀涂布, 附着牢固且表面富于孔隙, 具有宏观光滑、微相分离结构特点。对于心血管组织工程而言, 植入材料的表面只有这样才能具备较好的血液相容性, 而 hybrid patch 符合这样的要求。

Hybrid patch 植入体内后, 依靠受体自体细胞化, 在 patch 表面形成受体自体结构, 随着可降解材料的逐步降解吸收, 受体细胞产生新的细胞外基质, 从而达到自我修复和塑形的目的, 实现比较完全的再血管化, 从而延长使用寿命。由于 PHBHHx 材料本身具有抗血栓形成和对宿主细胞特别是内皮细胞有良好的相容性和引导性, 使 hybrid patch 管腔面易被宿主自体细胞化, 内皮细胞完整连续。此外, 涂层材料 PHBHHx 覆盖了裸露的胶原和弹力纤维, 避免了血小板激活和血栓的凝集。hybrid patch 抗钙化作用的可能原因有: 一方面完全的内皮细胞化对抗血栓抗钙化具有重要作用; 另一方面, 由于可降解材料 PHBHHx 的涂层, 保护了细胞外基质, 使其免于遭受移植早期受体体液免疫的作用。有资料表明,

PHBHHx 体内降解包括水解, 酶解, 细菌降解等。降解产物 3-羟基丁酸是人体内血液内本身固有的成分, 不会引起生理反应, 其最终经酮醇解为二氧化碳和水。研究推测 PHA 体内的完全吸收需 4~6 个月, 可以满足受体细胞化的时间跨度要求^[1-8]。

据此认为, PHBHHx 的血管内生物相容性满意, 不论是单独作为心血管组织工程的膜性材料和还是作为复合血管或瓣膜的腔内涂层材料, 都具有广泛的应用前景。

REFERENCES

- [1] Qu XH, Wu Q, Zhang KY, *et al.* *In vivo* studies of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) based polymers: biodegradation and tissue reactions. *Biomaterials*, 2006, **27**(19): 3540-3548.
- [2] Qu XH, Wu Q, Liang J, *et al.* Effect of 3-hydroxyhexanoate content in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) on in vitro growth and differentiation of smooth muscle cells. *Biomaterials*, 2006, **27**(15): 2944-2950.
- [3] Sun J, Dai Z, Zhao Y, *et al.* *In vitro* effect of oligo-hydroxyalkanoates on the growth of mouse fibroblast cell line L929. *Biomaterials*, 2007, **28**(27): 3896-3903.
- [4] Wang YW, Mo WK, Yao HL, *et al.* Biodegradation studies of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). *Polym Degrad Stability*, 2004, **85**(3): 815-822.
- [5] Zhao K, Deng Y, Chun JC, *et al.* Polyhydroxyalkanoate (PHA) scaffolds with good mechanical properties and biocompatibility. *Biomaterials*, 2003, **24**(6): 1041-1045.
- [6] Wang YW, Wu Q, Chen GQ. Reduced mouse cell growth by increased hydrophilicity of microbial polyhydroxyalkanoates via hyaluronan coating. *Biomaterials*, 2003, **24**(25): 4621-4629.
- [7] Yang M, Zhu S, Chen Y, *et al.* Studies on bone marrow stromal cells affinity of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). *Biomaterials*, 2004, **25**(7-8): 1365-1373.
- [8] Qu XH, Wu Q. Enhanced vascular-related cellular affinity on surface modified copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyhexanoate (PHBHHx). *Biomaterials*, 2005, **26**(34): 6991-7001.
- [9] Kim WG, Park JK, Lee WY, *et al.* Tissue-engineered heart valve leaflets: an effective method of obtaining acellularized valve xenografts. *Int J Artif Organs*, 2002, **25**(8): 791-797.
- [10] Grauss RW, Hazekamp MG, Oppenhuizen F, *et al.* Histological evaluation of decellularised porcine aortic valves: matrix changes due to different decellularisation methods. *Eur J Cardiothorac Surgery*, 2005, **27**(4): 566-571.
- [11] Stamm C, Khosravi A, Grabow N, *et al.* Biomatrix/Polymer composite material for heart valve tissue engineering. *Ann Thorac Surg*, 2004, **78**(6): 2084-2093.

- [12] Santilli SM, Wernsing SE, Lee ES. Transarterial wall oxygen gradients at a prosthetic vascular graft to artery anastomosis in the rabbit. *J Vasc Surg*, 2000, **31**(6): 1229–1239.
- [13] Ducasse E, Cosset JM, Eschwege F, *et al.* External beam ionizing radiation for inhibition of myointimal hyperplasia after dilatation and anastomoses: Experimental models and results. *Ann Vasc Surg*, 2004, **18**(1): 108–114.
- [14] Williams SF, Martin DP, Horowitz DM, *et al.* PHA applications: addressing the price performance issue I. Tissue engineering. *Int J Biol Macromol*, 1999, **25**(1-3): 111–121.
- [15] Martin DP, Williams SF. Medical applications of poly-4-hydroxybutyrate: a strong flexible absorbable biomaterial. *Biochem Eng J*, 2003, **16**(5): 97–105.
- [16] Volova TG, Shishatskaya EI, Sevastianov V, *et al.* Results of biomedical investigations of PHB and PHB/PHV fibers. *Biochem Eng J*, 2003, **16**(7): 125–133.
- [17] Steinhoff G, Stock U, Karim N, *et al.* Tissue engineering of pulmonary heart valves on allogenic acellular matrix conduits: *in vivo* restoration of valve tissue. *Circulation*, 2000, **102**(19 suppl 3): III50–III55.
- [18] Schenke-Layland K, Optiz F, Gross M, *et al.* Complete dynamic repopulation of decellularized heart valves by application of defined physical signals_an *in vitro* study. *Cardiovasc Res*, 2003, **60**(3): 497–509.
- [19] Dohmen PM, Ozaki S, Yperman J, *et al.* Lack of calcification of tissue engineered heart valves in juvenile sheep. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 2001, **13**(4 suppl 1): 93–98.
- [20] Grauss RW, Hazekamp MG, Van Vliet S, *et al.* Decellularization of aortic valve allografts reduces leaflet destruction and extracellular matrix remodeling. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, **126**(6): 2003–2010.
- [21] Booth C, Korossis SA, Wilcox HE, *et al.* Tissue engineering of cardiac valve prostheses I: development and histological characterization of an acellular porcine scaffold. *J Heart Valve Dis*, 2002, **11**(4): 457–462.
- [22] Dohmen PM, Ozaki S, Verbeken E, *et al.* Tissue engineering of an auto-xenograft pulmonary heart valve. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*, 2002, **10**(1): 25–30.
- [23] Bader A, Schilling T, Teebken OE, *et al.* Tissue engineering of heart valves-human endothelial cell seeding of detergent acellularized porcine valves. *Eur J Cardiothorac Surg*, 1998, **14**(3): 279–284.
- [24] Cebotari S, Mertsching H, Kallenbach K, *et al.* Construction of autologous human heart valves based on an acellular allograft matrix. *Circulation*, 2002, **106**(12 Suppl 1): I63–I68.
- [25] Kasimir MT, Rieder E, Seebacher G, *et al.* Comparison of different decellularization procedures of porcine heart valves. *Int J Artif Organs*, 2003, **26**(5): 421–427.
- [26] Kasimir MT, Weigel G, Sharma J, *et al.* The decellularized porcine heart valve matrix in tissue engineering: platelet adhesion and activation. *Thromb Haemost*, 2005; **94**(3): 562–567.
- [27] Kasimir MT, Rieder E, Seebacher G, *et al.* Decellularization does not eliminate thrombogenicity and inflammatory stimulation in tissue-engineered porcine heart valves. *J Heart Valve Dis*, 2006, **15**(2): 278–286.
- [28] Erdbrugger W, Konertz W, Dohmen PM, *et al.* Decellularized xenogenic heart valves reveal remodeling and growth potential *in vivo*. *Tissue Eng*, 2006, **12**(8): 2059–2068.

防癌细胞扩散的两项成果

癌细胞是正常细胞因某种因素(如内因的细胞 DNA 异化等和外因的致癌物诱发)而造成的恶果。一旦在机体内扩散而又未来得及有效遏制,无疑对机体的安全构成严重威胁。防止癌细胞扩散是战胜癌症极为重要的一步,也是一个重要难题。国内外对癌细胞扩散的研究格外活跃。有两项成果值得注意:一、RNA 可阻断癌细胞扩散:英国牛津大学研究人员发现利用 RNA 分子能够阻断肿瘤细胞中刺激癌细胞扩散的危险基因,从而为至于癌症带来新希望。即使用 RNA 分子直接影响二氢叶酸还原酶基因(DHFR)实现突变。该酶是在肿瘤细胞中刺激癌细胞迅速扩散的基本物质,当其基因实现突变后,快速分裂的癌细胞将因缺乏基因化学物质胸腺嘧啶而被饿死。德国一家大学医院研究人员通过老鼠实验采用类似方法,即使用少量 RNA 分子压制肿瘤中的 TGF- β 的基因,以此遏制老鼠大脑中的肿瘤。实验结果表明,得不到 TGF- β 保护的肿瘤细胞被彻底分解了。二、一种蛋白质组织癌细胞扩散:英国癌症研究机构伦敦研究所研究人员发现一种“TES”的蛋白质,能阻止大量存在于癌细胞中一种名为“Mena”的蛋白质二发回作用。“TES”可以将自己黏合在“Mena”上,使其不能和另一种特殊物质反映,从而导致“Mena”失效,则无法帮助癌细胞从肿瘤中扩散到别处,但是由于肿瘤中“Mena”的含量很大,所以通常“TES”还不能完全阻止癌细胞扩散而起作用。还有待进一步研究“TES”蛋白质更有力地阻止癌细胞扩散的效能,或探究其与其他物质分子联合二更有效控制“Mena”的破坏作用。

总之,癌细胞转移或扩散无疑给治疗带来种种困难,深入研究肿瘤癌细胞扩散机制,或许有可能找到防止癌细胞扩散更为理想、有效的方法,均有待研究者的创新性的努力。

(柯为)