

聚 ϵ -己内酯 (PCL) 小口径人造血管在动物实验中的内皮化研究现状

杨佳丽^a, 陆金燕^a, 张伟宸^a, 邓小燕^{a,b}, 康红艳^{a,b}

(北京航空航天大学 a.生物与医学工程学院, 生物力学与力生物学教育部重点实验室; b.生物医学工程高精尖创新中心, 北京 100083)

摘要:体内植入人造血管后所面临的最严重的问题就是血管内血栓形成。为了解决这一问题,多年来科学界进行各种尝试,然而解决血栓形成使血管保持长期通畅的根本方法是实现内皮化。聚 ϵ -己内酯 [poly (ϵ -caprolactone), PCL] 凭借其可生物降解、成本低、具备良好的力学性能等优势,近年来广泛应用于组织工程支架、药物输送等。主要针对 PCL 小口径人造血管植入不同动物模型后,以及同种动物模型不同植入条件下的内皮化情况展开论述,从动物模型、移植物不同的内皮化方式等角度找到小口径人造血管目前在临床应用中依旧不理想的原因,为以后动物模型的选择提供参考依据。

关键词:聚 ϵ -己内酯; 小口径人造血管; 动物模型; 内皮化

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2021.02.023

Research Status of Endothelialization of Poly (ϵ -caprolactone) Small-Caliber Vascular Graft Implanted in Animals

YANG Jiali^a, LU Jinyan^a, ZHANG Weichen^a, DENG Xiaoyan^{a,b}, KANG Hongyan^{a,b}

(*a. Key Laboratory for Biomechanics and Mechanobiology of Ministry of Education, School of Biological Science & Medical Engineering; b. Beijing Advanced Innovation Center for Biomedical Engineering, Beihang University, Beijing 100083, China*)

Abstract: The most serious problem facing the implantation of vascular graft in the body is the formation of blood clots. In order to solve this problem, various attempts have been made by the scientific community for many years. However, endothelialization is the fundamental method to solve thrombosis and keep vascular graft open for a long time. Poly (ϵ -caprolactone) (PCL) has the advantages of biodegradability, low cost and good mechanical properties. In recent years, it has been widely used as tissue engineering scaffolds, drug deliveries and so on. This article mainly reviews the endothelialization of small-caliber vascular graft based on PCL after implanted in different animal models, as well as the endothelialization of the same animal model but under different implantation conditions, and trying to find the reasons why small-caliber vascular grafts are still not ideal in clinical applications at different angles such as the different animal models and the different way about endothelialization, and provide references for future animal model selection.

Key words: poly (ϵ -caprolactone) (PCL); small-caliber vascular graft; animal models; endothelialization

临床上,使用小口径血管移植物替换小径动脉手术,所面临的主要问题是人造血管植入后腔内血栓形成进而造成的血管堵塞。研究表明,血栓形成及血栓层在人造血管内壁的厚度与血管内的血流动力学特性有关^[1]。Sauvage 等^[2]研究血栓形成与通过人造血管的血流量之间的关系,提出血栓形成的临界血流速度的概念。该临界流速被定义为血栓在人造血管内壁形成并堵塞血管内截面积超过50%的血流速度。当血流速度大于临界流速时,血液流动产生的壁面剪切力会阻止血栓在人造血管内壁形成厚层。这时,人造血管内壁生成的血栓层厚度很薄。而当血流速度小于临界流速时,壁面剪切力很低,血栓会在人造血管内壁越积越厚,最终导致血管的完全堵塞。一方面,小血管流量小,往往低于临界流量;另一方面,小血管内截面积本身就小,故小口径人工血管植入人体后会很快发生急性血栓堵塞失效。这便是为何小口径人工血管至今未获成功的主要原因。

小口径人造血管移植术中,由于自体静脉的局限性,开发可以在体内再生且具有与天然血管相似功能的组织工程化的人造血管具有重要意义。聚 ϵ -己内酯[poly(ϵ -caprolactone), PCL]是通过 ϵ -己内酯单体的开环聚合反应而形成的一种聚酯,可以通过阴/阳离子、配位或自由基聚合机理进行聚合^[3]。PCL在室温和人体温度下呈半结晶状态。PCL已成功应用于生物医学各个领域,包括制作组织工程支架、缝合线,运输药物等^[4]。通过静电纺丝技术制作的PCL组织工程支架,符合血管再生对支架的需求,且具有机械性能较好、成本低、降解缓慢等优势,从而常被用作人造血管的制作材料^[5]。

由于内皮细胞具有防止血液凝固和血栓形成的作用,所以加速内皮化才是解决人造血管内壁血栓形成最根本的方式^[6]。人造血管内皮化的方式主要有两种,一种是内皮细胞体外种植法,即将新鲜获取或经过离体培养的内皮细胞直接种植于人造血管内腔,使之形成理想的内皮层;另一种是现在越来越受到重视的在体内皮化(*in situ* endothelialization)。促进小口径人造血管在体内皮化的方法有很多,包括接枝抗循环内皮细胞/内皮祖细胞膜受体的抗体(如抗CD133、CD34、VEGF-1,2等)、接枝内皮细胞/内皮祖细胞整合素特异性识别

的功能性短肽如精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)、包被磁性分子从而促使内皮祖细胞滞留、包被特异性结合内皮细胞/内皮祖细胞的适体及基因修饰等^[7-11]。

1 PCL小口径人造血管在动物实验中的内皮化研究现状

1.1 动物种类

用来做小口径人造血管移植物动物模型的动物主要有以下几种:犬(颈动脉)^[12-15]、猪(颈动脉、股动脉)^[16-17]、羊(颈动脉)^[18]、兔(颈动脉)^[19-20]、大鼠(腹主动脉)^[21-28]等。在动物水平研究小口径人造血管时,由于使用的动物种类以及动物年龄的不一致,故研究结果会有所不同(见表1)。

1.2 PCL小口径人造血管在健康动物中的内皮化研究现状

1.2.1 犬

犬股动脉的大小、结构和力学特性与人类高度相似,这使得犬成为体内研究长期使用的理想模型^[29]。组织工程的关键因素是创建具有适当降解速率的血管支架,以满足组织生长的需要。聚(L-丙交酯)[poly(L-lactide), PLLA]和PCL具有不同的生物降解速率,且都具有很高的生物相容性^[30]。它们的共聚物聚(L-丙交酯- ϵ -己内酯)[poly(L-lactide-co-epsilon-caprolactone), P(LLA-CL)]的优点是类固醇的渗透率和其本身的降解率都在它们的均聚物之间,且可以通过调节共聚物的组成来控制^[31],有研究表明,电纺制成的P(LLA-CL)可促进内皮细胞和平滑肌细胞的黏附和增殖^[30]。在此基础上,为了改善小口径人造血管的通畅性,Wang等^[12]提出两种方法:一种是使P(LLA-CL)键合具有抗凝作用的肝素,另一种就是在P(LLA-CL)植入到体内前接种犬股静脉处提取的内皮细胞^[12]。该研究小组选用了20只年龄大于3岁的比格犬作为实验动物。实验分为4组(每组5只),分别在比格犬的两侧股动脉植入未接种内皮细胞的、接种内皮细胞的、未接种内皮细胞且肝素键合的、接种内皮细胞且肝素键合的四种经过不同处理的P(LLA-CL)小口径人造血管移植物。植入未做处理P(LLA-CL)的8条股动脉在1周后有7条保持通畅,但通畅率在24周后迅速降至不足15%,只进行内皮细胞接种或肝素处理的支架跟未处理支架相

表1 PCL 小口径人造血管在动物模型中的内皮化情况

Tab.1 Endothelialization of PCL artificial graft transplanted in animal model

实验动物	植入材料	内皮化方式	植入部位及移植物特性	植入时间/周	内皮化情况/通畅率	参考文献
犬	PLLA-CL	在体内皮化	股动脉	24	通畅率;<15%	[12-15]
			移植物内径 4 mm,长 5~6 cm	12	通畅率;12.5%	
	PLLA-CL + Heparin	在体内皮化	股动脉	24	通畅率;37.5%	
			移植物内径 4 mm,长 5~6 cm	12	通畅率;75%	
	PLLA-CL+EC	内皮细胞体外 种植法	股动脉	24	通畅率;66.7%	
			移植物内径 4 mm,长 5~6 cm	12	通畅率;75%	
	PLLA-CL + EC + Heparin	内皮细胞体外 种植法	股动脉	24	通畅率;>85%	
			移植物内径 4 mm,长 5~6 cm			
CS-PCL	在体内皮化	颈动脉	12	通畅率;20%		
CS-PCL + EC	内皮细胞体外 种植法	颈动脉	12	通畅率;100%		
		移植物内径 4 mm,长 4~5 cm				
猪	PCL	在体内皮化	颈动脉	4	通畅率;77.8%	[16]
			移植物内径 4 mm,长 5 cm		内皮化率;86%	
	ePTFE	在体内皮化	颈动脉		4	
羊	PCL/PU (PCL75%)	在体内皮化	颈动脉	36	通畅率;64%	[18]
			移植物内径 5 mm,长约 5 cm		内皮化率;100%	
兔	tPCL	在体内皮化	颈动脉	4	内皮化率:(65.5 \pm 8.2)%	[19-20]
			移植物内径 2.2 mm,长 1 cm		12	
	PCL	在体内皮化	颈动脉	4	内皮化率;<50%	
			移植物内径 2.2 mm,长 1 cm		12	
	RGD-PCL	在体内皮化	颈动脉	2	内皮化率:(27.2 \pm 11.5)%	
			移植物内径 2.2 mm,长 1.5 cm		4	
PCL	在体内皮化	颈动脉	2	内皮化率:(1.8 \pm 1.1)%		
		移植物内径 2.2 mm,长 1.5 cm	4	内皮化率:(11.5 \pm 3.2)%		
大鼠	PCL	在体内皮化	腹主动脉	12	内皮化率;100%	[21-28]
			移植物内径 2 mm,长 1~2 cm			

注:PCL为聚 ϵ -己内酯;PLLA-CL为聚(L-丙交酯)(PLLA)和PCL的共聚物;Heparin为肝素;EC为预先种植的内皮细胞;CS-PCL为聚壳糖/PCL(CS-PCL)共聚物;ePTFE为聚四氟乙烯;PU为聚氨酯;tPCL为具有3层结构的PCL人造血管;RGD为精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸。

比,24周后的通畅率显著提高,但接种内皮细胞(66.7%)比肝素加载(37.5%)的通畅率要好得多,接种了内皮细胞且加载肝素的移植物24周后通畅率超过85%。

Huang等^[13]也对肝素加载和提前种植内皮细胞的方法进行研究,同样选用8只比格犬的两侧股动脉来移植,其中4只的一侧股动脉用来植入肝素加载的P(LLA-CL)移植物,另外4只的一侧股动脉用来植入提前接种了从自身提取的内皮细胞的P(LLA-CL)移植物,8只的另一侧股动脉都植入纯P(LLA-CL)移植物作为对照组,移植物内径4 mm,长5 cm。植入3个月后,实验组通畅率均为75%,对照组仅剩1个保持通畅。取出移植物观察其内

皮化情况,对于负载肝素的移植物,在近端观察到了清晰的内皮细胞单层,但是在移植物中间和远端找不到内皮细胞单层。对于预先内皮化的移植物,内皮细胞生长良好,且细胞覆盖整个腔面,而对照组3个月无内皮细胞生长且管腔堵塞。

同样是以预先接种内皮细胞的小口径人造血管作为研究对象,Zhou等^[14]选用可以通过静电纺丝制造的壳聚糖/PCL[chitosan/poly(ϵ -caprolactone),CS-PCL]共聚物,接种的内皮细胞来源于实验犬的外周血。实验将预先接种内皮细胞的CS-PCL(实验组)和纯CS-PCL(对照组)植入到6只犬的两侧颈动脉中,移植物内径3 mm,长4~5 cm,犬的一侧颈动脉用来植入实验组人造血管,

对侧植入对照组人造血管。12周后,实验组5个移植体都始终保持通畅,而对照组仅有1个,且实验组通过组织学染色观察到了“新血管”的外膜、中层和内皮3层结构,免疫荧光染色也观察到由接种细胞产生的内皮细胞,且结合电镜扫描结果可以看出,管腔内已经覆盖了一层完整的内皮细胞。

综合上述基于以PCL共聚物为材料的犬的小口径人造血管内皮化研究可知,肝素加载和预先内皮化这两种方法,在实验动物犬中都能有效抑制血栓的形成,取得较为满意的效果。从实验的通畅率数据来看,预先接种内皮细胞再植入的人造血管通畅率要远远高于在体内皮化的人造血管,且肝素虽然作为抗凝血剂有助于提高移植体的通畅率(高于在体内皮化),却低于预先接种内皮细胞的人造血管通畅率。对比这些实验结果发现,内皮细胞对于“新血管”再生起着至关重要的作用,防止血栓形成最根本和有效的方法就是实现内皮化。

1.2.2 猪 猪具有类似于人体的解剖结构和生理特性,可被用于短期评估人造血管以及研究血管损伤和再狭窄。猪对大多数移植体都具有免疫反应,生长周期较短,成年猪进行实验时不好处理,故多用猪做评价人造血管短期植入的动物模型^[29]。

Mrówczyński等^[16]提出用可生物降解的材料制作小口径人造血管可能更适合于临床心血管手术中小口径血管移植手术。为此,该小组选用11只雄性猪(land race pigs)作为实验动物,分别在其双侧颈动脉内植入长5 cm、内径4 mm小口径人造血管,其中5只植入可生物降解的PCL小口径人造血管,余下6只作为对照植入不能被生物降解的聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, ePTFE)小口径人造血管。植入1个月后,用超声检测移植体的通畅率,PCL组的通畅率为77.8%,对照组为66.7%。之后对取出的移植体进行组织学染色和形态计数,结果显示PCL移植体的内皮化率为86%,显著高于对照组的58%。同时,对移植体力学性能的检测也表明,可生物降解的小口径电纺PCL移植体具有良好的机械和手术性能。且与ePTFE支架相反,PCL支架中有大量细胞浸润并伴有新血管生成,短期内也并无动脉瘤的形成,可能更加适合于临床小口径人造血管移植。ePTFE的内皮化率与通畅率都要低于PCL人造血管,且细胞浸润PCL要好于ePTFE,说明具有缓慢降解的PCL移植体能为自体血管细胞的募集提供更有利的环境。但该研究未对移植

物通畅率进行长期的检测,而对长期植入后处于不利地位的ePTFE是否会形成急性血栓或堵塞等问题还值得进一步探讨。

1.2.3 羊 羊作为大型动物,具有于人类心血管相似的生理性质,生长周期短,且由于其较长的脖子使其颈动脉可以为人造血管置换提供足够长的长度,后期也可以通过超声轻松检测其通畅性,操作简单。因此,羊适用于做评估人造血管长期植入的动物模型^[29]。

Jirofti等^[18]将具有够高弹性的聚氨酯(polyurethane, PU)和够高机械性能的PCL按不同比例共电纺织制备成PCL/PU复合血管支架,将PCL血管支架、PU血管支架和50%PCL复合血管支架植入大鼠皮下。结果表明,复合支架和纯血管支架都具有血管组织工程应用所需的生物相容性和生物降解性。再通过MTT测定法评估细胞在25%PCL和75%PCL血管支架上细胞附着和生长的能力,将能力较强的75%PCL血管支架植入绵羊的左右颈动脉,人造血管长度约为5 cm,内径5 mm。9个月后,通过多普勒超声和血管造影图像发现,移植体内不存在动脉瘤,且无血栓形成和新内膜增生或闭塞,保持完全通畅。复合血管支架所提供的合适的机械性能和生物学特性以及临床要求,表明它们有作为小直径血管移植体潜力。结合其他动物的实验可以看出,PCL易与其他材料形成复合材料支架,从而更好达到人造血管支架的需求。该研究虽然对不同比例PCL人造血管在细胞层面进行分析,但在动物水平却未能进行更好比较证明细胞水平的结果。

1.2.4 兔 作为最大的小型动物,兔是研究小直径血管移植体的最佳小动物模型,人造血管经常被植入其颈动脉或股动脉,其在血栓形成机制、通畅性和内皮化率方面与人类相似。但是由于兔的大小和其血管生理特性,更适合评估移植体短期植入后的疗效和安全性,很难进行长期的通畅性研究^[29]。

为了实现PCL小口径人造血管的快速内皮化,Zheng等^[19]对常规PCL人造血管进行RGD的功能化修饰,即在电纺制成的PCL人造血管上表面涂层RGD,然后将其植入10只雌性新西兰白兔的右颈动脉,并且设置未修饰的PCL人造血管做同样的植入手术作为对照组($n=10$),分别在植入2周和4周后观察其内皮化情况。结果显示,RGD-PCL在2周内皮化面积达到 $(27.2 \pm 11.5)\%$,4周可以达到

(51.1±6.4)%, 相对于 PCL 组 2 周[(1.8±1.1)%] 和 4 周[(11.5±3.2)%] 内皮化速度要快得多。实验结果表明, RGD 修饰确实有助于改善细胞浸润问题, 但就移植物而言, 相对致密的 PCL 纤维及其缓慢的降解速率会阻碍细胞浸润和平滑肌再生。

通过静电纺丝制备的血管移植物由于其具有较大的表面积以及与其细胞质基质 (extracellular matrix, ECM) 相似的形态, 使其在支持细胞黏附和增殖方面具有优势, 但静电纺丝支架固有的小孔径却会使细胞渗透受阻。针对这一劣势, Wang 等^[20] 提出通过静电纺丝和电喷涂聚环氧乙烷制备具有 3 层结构的 tPCL 移植物来改变。实验小组将 tPCL 人造血管植入 15 只雌性新西兰白兔的颈动脉中, 同时作为对照将仅有致密层的常规 rPCL 同样植入 15 只雌性新西兰白兔的颈动脉中。植入 1 个月后, tPCL 移植物的内皮覆盖率为(65.5±8.2)%, 在植入 3 个月后可达到(83.1±1.6)%, 相比于 rPCL 移植物的内皮化速率要快。且在 3 个月后可观察到 tPCL 移植物的整个腔表面被内皮细胞覆盖, 类似于天然动脉内皮的正常形态特征。然而, 在 rPCL 移植物的中间区域, 仍然有一些细胞正在进行迁移和整合, 表明内皮化不完全。这是因为松散的中间层能够使细胞快速渗透, 包括巨噬细胞的迁移, 然后产生大量的单核细胞趋化和激活因子 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 促进血管再生和重塑, 从而实现快速内皮化, 实验表明这一结构能够有力改善常规 PCL 人造血管由于其致密结构而阻碍细胞浸润的问题。

1.2.5 大鼠 大鼠模型适合用来研究直径为 1~2 mm 小口径动脉移植物, 成本低, 繁殖快, 可以进行高通量实验, 常选用其腹主动脉作为移植部位, 适用于做评估人造血管短期植入的动物模型^[29]。

在大鼠腹主动脉模型中, PCL 移植物 (内径 2 mm, 长 1~2 cm) 在植入 12 周后基本可以实现完全内皮化^[21-23]。虽然伴有内膜增生, 但增生厚度不会超过血管内径 10%, 不会形成阻塞, 新内膜的形成会在植入 18 周后趋于稳定, 且移植物在植入 24 周后仅部分降解, 其缓慢降解也有利于移植物的愈合。但是植入 24 周后, 可观察到新内膜上有部分钙化沉积。尽管如此, 静电纺丝制造的小口径 PCL 血管移植物短期内还是表现出了良好的结构完整性和通畅率。Valence 等^[24] 观察了植入 12、18

个月新血管的情况, 用来做长期植入评估。结果发现, 在植入 12、18 个月后就观察到了细胞退化, 但是在大鼠的整个生命周期中 PCL 移植物都表现出完美的通畅性, 且其一直具备新内膜应有的功能, 同时也证明该移植物在衰老动物模型中也表现良好。

电纺的 PCL 移植物具有较小的孔径, 从而会限制细胞浸润, 进而阻碍新动脉的再生与重塑。针对这一问题, 可以通过改变制作工艺制备大孔径 PCL 人造血管来改进^[25-26]。之后将其植入雄性 SD 大鼠腹主动脉, 植入 3 个月后可以实现人造血管的完全内皮化, 且与上述所述情况相比, 植入 12 个月后新血管并未出现钙化现象, 没有发生不良重塑。因此, 改良的大孔径电纺 PCL 移植物具有作为长期植入材料的潜力。

为了实现小口径人造血管的快速内皮化, 除了对移植物材料的选择, 还可以通过对移植物进行细胞预填充和使用抗血栓类物质来实现^[32-33]。Sevostyanova 等^[27] 通过建立大鼠腹主动脉模型研究被 VEGF 修饰的 PCL 小口径人造血管移植物 (内径 2 mm) 的内皮化情况, 从而探知 VEGF 是否具有加速内皮化的作用。实验同时设置纯 PCL 血管移植物代替大鼠腹主动脉来作为对照组。结果发现, 植入 3 个月后, PCL/VEGF 移植物腔内有成熟内皮细胞, 在 6 个月内形成成熟内皮单层, 有少量未成熟细胞, 而 PCL 移植物 3 个月内在内表面有成熟的内皮细胞出现, 但是 6 个月没有观察到内皮单层的形成。实验结果表明, VEGF 能够促进内皮细胞增加, 并加速移植物内表面细胞单层的形成, 可以加速内皮化。

虽然兔和大鼠的动物模型在短期内内皮化率和通畅率都较为理想, 但由于其体型小以及生理条件的限制, 移植物长度通常都较短且不能做长期观察。尽管大鼠模型中有一个相对其自身的“长期观察”, 但与临床患者的实际情况相差甚远。因此, 若要对基于 PCL 材料的人造血管进行测试是否满足临床需求时, 小型动物的内皮化和通畅率数据可以对材料进行初步的鉴定筛选, 而长期的观察可能就需要其他大型动物来代替。

1.3 病理动物中的内皮化研究现状

糖尿病是目前公认的主要的健康问题。在中国, 50% 以上的糖尿病患者都是因为心血管疾病死亡。长期糖尿病会导致多种系统功能障碍, 包括内皮祖细胞 (endothelial progenitor cell, EPC) 水平降

低、慢性炎症,还会破坏内皮细胞的增殖、迁移及功能,且这些问题都会影响到血管移植后的血管再生问题^[28]。考虑到糖尿病与需要进行血管移植病人的并发症关系,Wang等^[28]建立了2型糖尿病(T2D)的病理大鼠模型,评估被RGD修饰和常规的电纺PCL血管移植物在糖尿病SD大鼠和正常健康SD大鼠的体内性能。实验通过高糖和高脂饮食建立糖尿病2型大鼠模型,实验组分PCL人造血管和RGD-PCL人造血管植入患有糖尿病2型的SD大鼠腹主动脉,对照组则植入健康大鼠腹主动脉。移植物内径2 mm,长1 mm,植入1个月后取出移植物计算其内皮化面积,PCL移植物在糖尿病大鼠和健康大鼠中的内皮化率分别为(24.12±2.15)%和(70.96±12.88)%,RGD-PCL移植物在糖尿病和健康大鼠中的内皮化率分别为(21.96±1.86)%和(74.84±10.57)%。由上述结果可以推断,糖尿病极大限制了移植物的内皮化进程。实验结果也表明,患有糖尿病的大鼠内皮化缓慢,炎症较为严重,并且会出现早期钙化和血小板黏附。由于长期糖尿病中EPC水平的降低,移植物的内皮化过程会缓慢很多,故设计用于改善糖尿病患者内皮化的血管移植物在临床应用中将具有重要意义,而病理模型对于人造血管研发也具有重要性。

2 总结与展望

尽管预先植入内皮细胞的人造血管在犬类动物实验中表现出良好的通畅率,但细胞的体外扩增和种植往往需要花费大量时间,且过程中极易被微生物污染,使得其在临床紧急事件的应用变得不切实际,故在体内皮化也是当前研究的热点。目前,除犬类外其他的健康动物实验(猪、羊、兔、大鼠)都采用在体内皮化方式,并取得较好的内皮化结果,但这往往不能代表临床需求。需要进行人工血管移植的病人,常常是老龄或伴随有高血脂、高血压或糖尿病等其他病症。需接受人工血管移植的病人,他们的心血管系统在某种程度上已经受损,表现出降低的内皮运动能力^[34]、NO分泌紊乱^[35]、炎症因子高表达^[36]等特性。Noishiki等^[37]对1970~2000年人造血管的内皮化进行分析,发现内皮化的程度具有年龄依赖性,上了年纪的狗(>13岁)的内皮化进程相比年轻的狗(<1岁)明显有所延迟。该结果提示,在使用动物模型研究PCL人造血管是否适合于临床手术移植时,不仅要有健康、年轻的动

物模型作为依据,也应该有老龄或病理的动物模型来进行补充,从而在最大程度上验证材料的临床适用性。

参考文献:

- [1] GUIDOIN R, DENG X, MAROIS Y. Failure modes and performance of synthetic, autologous, and endovascular grafts [J]. *Asaio J*, 1997, 43(3): 239-241.
- [2] SAUVAGE LR, WALKER MW, BERGER K, *et al*. Current arterial prostheses. Experimental evaluation by implantation in the carotid and circumflex coronary arteries of the dog [J]. *Arch Surg*, 1979, 114(6): 687-691.
- [3] HOSKINS JN, GRAYSON SM. Synthesis and degradation behavior of cyclic poly (ϵ -caprolactone) [J]. *Macromolecules*, 2009, 42(17): 6406-6413.
- [4] MALIKMAMMADOV E, TANIR TE, KIZILTAY A, *et al*. PCL and PCL-based materials in biomedical applications [J]. *J Biomater*, 2017, 29(7-9): 1-55.
- [5] NOTTELET B, PEKTOK E, MANDRACCHIA D, *et al*. Factorial design optimization and *in vivo* feasibility of poly (ϵ -caprolactone)-micro-and nanofiber-based small diameter vascular grafts [J]. *J Biomed Mater Res*, 2009, 89(4): 865-875.
- [6] STOLTZ JF, BOISSEAU M, MULLER S, *et al*. Hemorheology and vascular endothelial cells [J]. *J Mal Vasc*, 1999, 24(2): 99-109.
- [7] ROTMANS JI, HEYLIERS 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 [J]. *Circulation*. 2005, 112(1): 12-18.
- [8] PISLARU SV, HARBUZARIU A, AGARWAL G, *et al*. Magnetic forces enable rapid endothelialization of synthetic vascular grafts [J]. *Circulation*, 2006, 114(1 Suppl): 1314-1318.
- [9] HOFFMANN J, PAUL A, HARWARDT M, *et al*. Immobilized DNA aptamers used as potent attractors for porcine endothelial precursor cells [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 84(3): 614-621.
- [10] ROTMANS JI, HEYLIERS 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 [J]. *Circulation*, 2005, 112(1): 12-18.
- [11] BLINDT R, VOGT F, ASTAFIEVA I, *et al*. A novel drug-eluting stent coated with an integrin-binding cyclic arg-gly-asp peptide inhibits neointimal hyperplasia by recruiting endothelial progenitor cells [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(9): 1786-1795.
- [12] WANG S, MO X, JIANG, *et al*. Fabrication of small-

- diameter vascular scaffolds by heparin-bonded P(LLA-CL) composite nanofibers to improve graft patency [J]. *Int J Nanomed*, 2013(8): 2131-2139.
- [13] HUANG C, WANG S, QIU L, Heparin loading and pre-endothelialization in enhancing the patency rate of electrospun small-diameter vascular grafts in a canine model [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, 5(6): 2220-2226.
- [14] ZHOU M, QIAO W, LIU Z, *et al.* Development and *in vivo* evaluation of small-diameter vascular grafts engineered by outgrowth endothelial cells and electrospun chitosan/poly (ϵ -caprolactone) nanofibrous scaffolds [J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(1-2): 79-91.
- [15] YOKOTA T, ICHIKAWA H, MATSUMIYA G, *et al.* *In situ* tissue regeneration using a novel tissue-engineered, small-caliber vascular graft without cell seeding [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2008, 136(4): 900-907.
- [16] MRÓWCZYŃSKI, WOJCIECH, MUGNAI, *et al.* Porcine carotid artery replacement with biodegradable electrospun poly- ϵ -caprolactone vascular prosthesis [J]. *J Vasc Surg*, 2014, 59(1): 210-219.
- [17] MAHARA A, SOMEKAWA S, KOBAYASHI N, *et al.* Tissue-engineered acellular small diameter long-bypass grafts with neointima-inducing activity [J]. *Biomaterials*, 2015(58): 54-62.
- [18] NAFISEH J, DAVOD MK, ABDOLREZA S, *et al.* Small-diameter vascular graft using co-electrospun of composite PCL/PU nanofibers [J]. *Biomed Mater*, 2018, 13(5): 055014.
- [19] ZHENG W, WANG Z, SONG L, *et al.* Endothelialization and patency of RGD-functionalized vascular grafts in a rabbit carotid artery model [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(10): 2880-2891.
- [20] WANG K, ZHENG W, PAN Y, *et al.* Three-layered PCL grafts promoted vascular regeneration in a rabbit carotid artery model [J]. *Macromol Biosci*, 2016, 16(4): 608-618.
- [21] VALENCE S, TILLE JC, GILIBERTO JP, *et al.* Advantages of bilayered vascular grafts for surgical applicability and tissue regeneration [J]. *Acta Biomater*, 2012, 8(11): 3914-3920.
- [22] INNOCENTE F, MANDRACCHIA D, PEKTOK E, *et al.* Paclitaxel-eluting biodegradable synthetic vascular prostheses: A step towards reduction of neointima formation? [J]. *Circulation*, 2009, 120(11 Suppl): S37-45.
- [23] PEKTOK E, NOTTELET B, TILLE JC, *et al.* Degradation and healing characteristics of small-diameter poly (ϵ -caprolactone) vascular grafts in the rat systemic arterial circulation [J]. *Circulation*, 2008, 118(24): 2563-2570.
- [24] VALENCE SD, TILLE JC, MUGNAI D, *et al.* Long term performance of polycaprolactone vascular grafts in a rat abdominal aorta replacement model [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(1): 38-47.
- [25] KANG Q, YIFAN W, YIWA P, *et al.* Implantation of electrospun vascular grafts with optimized structure in a rat model [J]. *J Vis Exp*, 2018, doi: 10.3791/57340.
- [36] WANG Z, CUI Y, WANG J, *et al.* The effect of thick fibers and large pores of electrospun poly (ϵ -caprolactone) vascular grafts on macrophage polarization and arterial regeneration [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(22): 5700-5710.
- [27] SEVOSTYANOVA VV, ANTONOVA LV, VELIKANOVA EA, *et al.* Endothelialization of polycaprolactone vascular graft under the action of locally applied vascular endothelial growth factor [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2018, 165(2): 264-268.
- [28] WANG Z, ZHENG W, WU Y, *et al.* Differences in the performance of PCL-based vascular grafts as abdominal aorta substitutes in healthy and diabetic rats [J]. *Biomater Sci*, 2016, 4(10): 1485-1492.
- [29] BYROM MJ, BANNON PG, WHITE GH, *et al.* Animal models for the assessment of novel vascular conduits [J]. *J Vasc Surg*, 2010, 52(1): 176-195.
- [30] MO XM, XU CY, KOTAKI M, *et al.* Electrospun P(LLA-CL) nanofiber: A biomimetic extracellular matrix for smooth muscle cell and endothelial cell proliferation [J]. *Biomaterials*, 2004, 25(10): 1883-1890.
- [31] WEI PY, FU SD, WEI HJ, *et al.* *In vitro* degradation of poly (ϵ -caprolactone), poly (lactide) and their block copolymers: Influence of composition, temperature and morphology [J]. *React Funct Polym*, 1997, 32(2): 161-168.
- [32] LI S, SENGUPTA D, CHIEN S. Vascular tissue engineering: From *in vitro* to *in situ* [J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2013, 6(1): 61-76.
- [33] MELCHIORRI AJ, HIBINO N, FISHER JP. Strategies and techniques to enhance the *in situ* endothelialization of small-diameter biodegradable polymeric vascular grafts [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2013, 19(4): 292-307.
- [34] DAHER J, MARTIN M, ROUSSEAU A, *et al.* Myeloperoxidase oxidized LDL interferes with endothelial cell motility through miR-22 and heme oxygenase 1 induction: Possible involvement in reendothelialization of vascular injuries [J]. *Mediat Inflamm*, 2014, 134635.
- [35] KAWASHIMA S. Malfunction of vascular control in lifestyle-related diseases: Endothelial nitric oxide (NO) synthase/NO system in atherosclerosis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, 96(4): 411-419.
- [36] LIN HL, YEN HW, HSIEH SL, *et al.* Low-dose aspirin ameliorated hyperlipidemia, adhesion molecule, and chemokine production induced by high-fat diet in Sprague-Dawley rats [J]. *Drug Dev Res*, 2014, 75(2): 97-106.
- [37] NOISHIKI Y, YAMANE Y, ICHIKAWA Y, *et al.* Age dependency of neointima formation on vascular prostheses in dogs [J]. *Artif Organs*, 2000, 24(9): 718-728.