

加热对血管平滑肌细胞的影响实验研究

史欢欢^{1,2}, 余海霞^{1,2}, 赵凌云¹, 王晓文¹, 高福平¹, 张晓东¹, 可大年³, 唐劲天¹

1. 清华大学工程物理系; 粒子技术与辐射成像教育部重点实验室, 北京 100084
2. 北京中医药大学中药学院生物制药系, 北京 100102
3. 北京迈迪顶峰医疗科技有限公司, 北京 101312

摘要 为支架磁感应热疗预防和治疗 PTCA 术后血管再狭窄提供基础研究数据, 对临床常用的 316L 型不锈钢冠脉支架进行磁感应诱导升温, 探讨加热对兔血管平滑肌细胞 (VSMCs) 的增殖、迁移、凋亡及周期的影响。将平滑肌细胞置于恒温水浴槽中, 待其达到预定温度 (43、47°C) 后持续 10min, 观察细胞形态变化, 采用 MTT 法检测加热对血管平滑肌细胞增殖活性的影响, 流式细胞术检测 VSMC 细胞周期和细胞凋亡, 划痕实验检测加热对细胞迁移能力的影响, 免疫细胞化学法检测不同温度作用后血管平滑肌细胞中增殖细胞核抗原 (PCNA) 的表达。结果发现, 支架在交变磁场下可以升温至热疗所需温度, 加热后细胞增殖受到了显著抑制, 43°C 组细胞存活率为 (83.23±2.87)%, 47°C 组细胞存活率仅为 (37.58±0.78)%。细胞的凋亡率显著增加, 47°C 组细胞凋亡率为 (87.37±2.95)%, 与对照组相比具有极显著差异, 而 43°C 组的凋亡率为 (6.00±0.26)%, 与对照组相比无统计学差异。细胞周期也受到抑制, 被阻滞在 S 期。加热后随着时间的推移, 47°C 组细胞的迁移能力受到显著抑制, 而加热对 43°C 组细胞的迁移能力无显著影响。免疫细胞化学检测显示, 随着温度的升高, PCNA 的表达受到明显抑制。研究表明, 临床常用冠脉支架在交变磁场下升温可行。加热显著抑制了细胞的增殖并促进了细胞凋亡, 使细胞周期阻滞在 S 期, 且抑制了细胞的迁移。加热能显著抑制细胞 PCNA 的表达, 这些可能是加热抑制细胞增殖和迁移、促进凋亡的机制之一。

关键词 热疗; 平滑肌细胞; 细胞增殖; 增殖细胞核抗原; 免疫细胞化学

中图分类号 R318.08

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2010)18-0041-06

Effects of Heating on Vascular Smooth Muscle Cells

SHI Huanhuan^{1,2}, YU Haixia^{1,2}, ZHAO Lingyun¹, WANG Xiaowen¹, GAO Fuping¹, ZHANG Xiaodong¹, KE Danian³, TANG Jintian¹

1. Key Laboratory of Particle & Radiation Imaging, Ministry of Education; Department of Engineering Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China
2. Department of Biopharmaceuticals, School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China
3. Beijing MED Zenith Medical Scientific Co. Ltd., Beijing 101312, China

Abstract The aim of this study is to provide some basic research data for magnetic stent hyperthermia for restenosis prevention and treatment after PTCA induced heat of the 316L stainless steel stent with the Alternating Magnetic Field (AMF). The effects of heating on the proliferation, migration, apoptosis and cell cycle of rabbit vascular smooth muscle cells are also studied. VSMCs were incubated at 43°C, 47°C or 37°C (control) in temperature-controlled water baths. The cell viability, apoptosis rate, cell cycle rate, cell migration and expression of PCNA protein were measured by MTT assay, flow cytometry, scratch assay and immunocytochemistry, respectively, after the therapy. Results show that heating of coronary stent could be induced by the alternating magnetic field. The proliferation of VSMCs was significantly inhibited by hyperthermia. The cell viability of the 43°C group was (83.23±2.87)%, while that of the 47°C group was only (37.58±0.78)%. The apoptosis rate of the 47°C group (87.37±2.95)% was significantly higher than that of the control group, while that of the 43°C

收稿日期: 2009-12-25; 修回日期: 2010-06-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30571779, 10775085); 清华-裕元医学科学研究基金项目; 北京市科委项目 (Z07000200540704); 中国博士后科学基金特别资助项目 (200801091)

作者简介: 史欢欢, 硕士研究生, 研究方向为生物医学工程, 电子信箱: shihuanhuan_2004@163.com; 唐劲天 (通信作者, 中国科协所属全国学会个人会员登记号: S090800253M, E190003065S), 教授, 研究方向为肿瘤学, 电子信箱: tangjt@mail.tsinghua.edu.cn

group saw no statistically significant difference compared with that of the control group. The cell cycle was arrested in S phase. After hyperthermia, the cell migration of the 47°C group was significantly suppressed, but it had no influence on the cells of the 43°C group. The expression of PCNA was decreased with the temperature of the bath. All above results suggest that the coronary stents can be heated by the alternating magnetic field. Hyperthermia can depress cell viability and induce VSMCs cell apoptosis. Also it can arrest the cell cycle in S phase and suppress the VSMCs cell migration. The expression of PCNA was reduced by hyperthermia, which may serve as the mechanism of the inhibition of hyperthermia on the proliferation and migration of VSMCs, and the promotion of VSMCs apoptosis.

Keywords thermotherapy; vascular smooth muscle cell; cell proliferation; proliferating cell nuclear antigen; immunocytochemistry

0 引言

冠状动脉粥样硬化性心脏病是引起人类死亡的重要原因之一,目前全世界每年大约有超过 200 万的冠心病病人需要进行经皮穿刺冠状动脉成形术 (Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty, PTCA)。由于具有微创、高效、安全、迅速等优势,PTCA (主要包括单纯球囊扩张术和冠脉支架术)成为冠心病介入治疗的首选治疗手段,并取得了良好的临床治疗效果。然而,PTCA 尚存在一些亟待解决的问题,如支架植入后 3~6 个月,缘于血管平滑肌细胞的增殖、迁移引起的再狭窄(发生率 30%~50%甚至更高)^[1-2],严重影响了 PTCA 的中、远期治疗效果,阻碍了 PTCA 的发展。因此,预防和治疗 PTCA 术后血管再狭窄成为冠心病介入治疗研究的重要内容。

血管平滑肌细胞 (Vascular Smooth Muscle Cells, VSMC) 的异常增殖在动脉粥样硬化、冠状动脉搭桥及冠状动脉支架内再狭窄等的发生中起重要作用^[3-4],抑制 VSMC 的增殖成为治疗再狭窄的重要环节。目前临床防治再狭窄主要采用药物洗脱支架并辅以药物治疗等,但存在很多问题,支架携带抑制平滑肌细胞增殖的药物(如紫杉醇^[5]、雷帕霉素等)可降低再狭窄的发生,但效果尚不能令人满意,此外,药物洗脱支架的安全问题仍存在争议^[6-8]。因此,寻找更为安全、有效的抑制平滑肌细胞增殖并诱导其凋亡、降低再狭窄的发生率的新方法是目前研究的热门课题。

近年来,热疗的效果得到了医学界的普遍认可,加热治疗肿瘤、前列腺增生等已被广泛研究和应用,效果令人满意。加热治疗可以通过热能使受热的细胞发生凋亡或细胞凝固性坏死,从而达到治疗过度增生组织的目的^[9]。磁感应热疗(或称磁诱导热疗)是近年来发展的一种物理加温治疗的新方法,定位于治疗区域内的铁磁性介质在外部交变磁场感应下升温而使局部快速形成靶向高温区,使治疗区域内的细胞增殖受到抑制或诱导细胞凋亡。然而,迄今为止,热疗的优势仅体现在恶性肿瘤的治疗上,在冠心病的治疗中,鲜有加热治疗的报道。由于心脏支架多以不锈钢、镍、铬等合金材料构成,因此具备在交变磁场下感应升温的条件。本研究探索加热对血管平滑肌细胞的作用,为体外加热已植入的冠脉支架治疗再狭窄提供基础研究数据。

1 材料与方 法

1.1 细胞株和细胞培养

兔 VSMC 购自北京协和细胞资源中心;VSMCs 贴壁生长

于 DMEM 培养基中(内含 10% (V/V)胎牛血清,青霉素、链霉素各 100U/mL),于 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养,隔日换液,处于对数生长期时传代继续培养。

1.2 材料和试剂

DMEM 培养基、胰酶购自美国 Gibco 公司,胎牛血清(FBS)购自美国 Hyclone 公司,细胞凋亡试剂盒和细胞周期试剂盒由南京凯基试剂公司提供。青霉素钠、链霉素系华北制药股份有限公司产品,HEPES、MTT 购自美国 Sigma 公司。鼠抗增殖细胞核抗原单克隆抗体、二步法试剂盒、二氨基联苯胺盐酸盐(Diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术公司。

1.3 主要设备

超净工作台购自新加坡 ESCO 公司,CO₂ 恒温培养箱为美国 Forma 公司产品,Model 680 型酶联免疫检测仪为美国 Bio-Rad 公司产品,流式细胞仪为美国 BD 公司产品,DK-8D 型电热恒温水槽购自上海一恒科技有限公司,316L 不锈钢支架由上海微创公司惠赠,分体式高频感应加热机由深圳市双平电源技术有限公司提供,恒温循环水浴机购自 Boekel 公司,铜-康铜热电偶购自美国 Physitemp 公司,温度显示设备为 4 通道毫伏计,由北京昆仑天辰仪表科技有限公司提供。自制恒温水浴夹套。

1.4 实验方法

1.4.1 316L 不锈钢支架在不同电流强度下的升温情况

恒温夹套与循环水浴连接并将夹套内环境温度控制在 37°C,将夹套置于磁场线圈中,并将 316L 不锈钢心脏支架置于恒温夹套内。调节磁场参数,记录支架在不同电流强度下的升温情况^[10]。

1.4.2 加热处理的温度、时间和方式

根据文献^[11]和预实验,分别选取 37、43、47°C,将对数生长期 VSMCs 置电热恒温水槽中加热 10min,培养瓶中达到预定温度后开始计时。加热处理后换液,放回培养箱中培养。

1.4.3 MTT 法检测细胞增殖

分别收集各温度处理组的细胞。用胰酶消化离心,制成细胞悬液,调整细胞浓度为 $2.5 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$,按照 200 μL /孔加入 96 孔板,每实验浓度设复孔 10 个,并置于 5% CO₂、37°C 的培养箱中;培养 24h 后,每孔加入 20 μL MTT (5g/L),继续培养 4h,除去上清液,加入 150 μL 二甲基亚砜(DMSO)溶解,轻微振荡 10min 使沉淀完全溶解,用酶联免疫仪在 490nm 波长处检测各孔吸光度值。

1.4.4 流式细胞术检测细胞凋亡

将加热后的细胞置于培养箱内继续培养 24h 后,用不含 EDTA 的胰酶消化细胞并调整细胞浓度为 $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 。取 1mL 细胞 1000r/min 4℃离心 10min,弃上清;加入 1mL 4℃的磷酸缓冲液轻轻振荡使细胞悬浮,1000r/min 4℃离心 10min 后弃上清,重复本步骤 3 次;将细胞悬浮置于 250 μL 的结合缓冲液中,取 100 μL 细胞悬液于 5mL 流式管中,加入 5 μL 荧光素标记膜联蛋白 V (Annexin V-FITC)、5 μL 碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI),混匀后室温避光孵育 15min,在 1h 内用流式细胞仪进行细胞凋亡检测。

1.4.5 流式细胞术检测细胞周期

将培养 24h 的细胞用不含 EDTA 的胰酶消化,离心,75%乙醇固定,打散,-20℃保存过夜。次日,将 75%乙醇固定的细胞悬液低速离心 (800r/min)8min 后,弃上清液,PBS 清洗 2 遍,加入 RNase A,使其最终质量浓度为 0.25mg/mL,37℃温浴 30min,加碘化丙啶至其最终浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$,4℃暗处作用 30min,300 目尼龙网过滤,调整细胞浓度为 $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$,检测细胞周期的变化。

1.4.6 划痕实验检测加热对细胞迁移能力的影响

将细胞接种于培养皿中,待其长至对数生长期时,用 200 μL 无菌枪头划线,置于恒温水槽中加热 10min,换用不含血清的培养基继续培养,在不同时间观察并拍照,保存。

1.4.7 免疫细胞化学法检测细胞中增殖细胞核抗原蛋白表达

将细胞按 1×10^4 个/孔接种于放有盖玻片的 6 孔板以制作细胞爬片,细胞铺满盖玻片 80%~90%时,置于恒温水浴槽中加热(温度与时间条件同 1.4.6 节),24h 后采用二步法免疫检测试剂盒,按说明书操作,当细胞核出现淡黄至棕黄色,判断其为阳性。

1.5 统计分析

实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 统计软件处理数据,采用单因素方差分析、SNK 检验进行差异的统计学处理。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义, $P < 0.01$ 表示具有极显著差异。

2 结果与分析

2.1 316L 不锈钢支架在不同电流强度下的升温情况

图 1 为临床常用的 316L 型不锈钢心脏支架升温曲线图。37℃ 恒温条件下,支架长轴顺磁场方向保持不变,设定不同磁场电流。5mT 磁场强度 (100A) 时,稳定温度 (42.9 ± 0.125)℃;8mT 磁场强度 (200A) 时,稳定温度 (51.8 ± 0.046)℃;11mT 磁场强度 (300A) 时,稳定温度 (76.9 ± 0.084)℃。由此可见,临床常用的支架可以满足热疗温度的需要。

2.2 加热对兔 VSMC 增殖的抑制作用

图 2 为 MTT 实验结果,43℃组和 47℃组热疗后细胞继续培养 24h,其增殖均受到抑制,43℃组细胞存活率为 ($83.23\% \pm 2.87$)%,而 47℃组仅为 (37.58 ± 0.78)%,与 37℃组相比均具有极显著差异 ($P < 0.01$)。

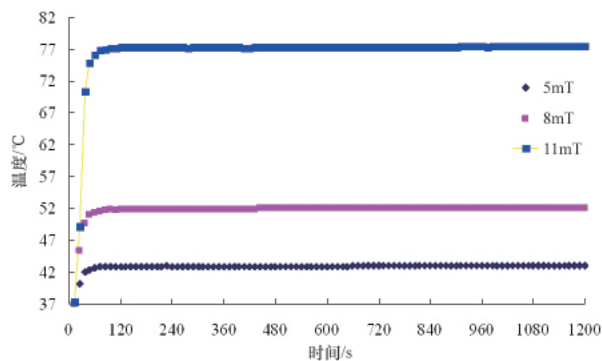


图 1 316L 不锈钢支架在不同磁场强度下的升温曲线

Fig. 1 Temperatures of 316L stainless steel stent under different magnetic field intensities

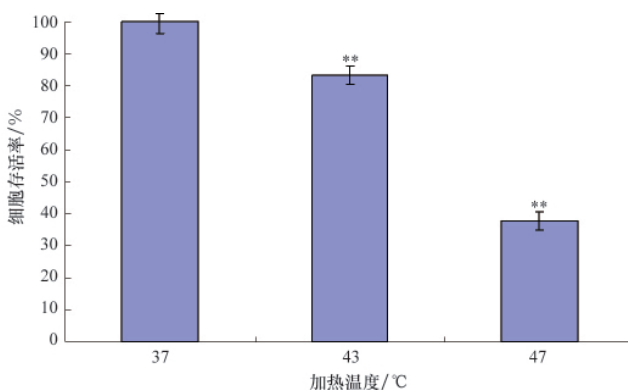


图 2 加热对兔 VSMCs 增殖及活力的影响

Fig. 2 Effect of heating on VSMCs proliferation and cell viability

注:**,与对照组相比有极显著差异 ($P < 0.01$)。

Notes: **, significant differences at $P < 0.01$ compared with the control group.

2.3 加热对兔 VSMC 细胞凋亡的影响

热疗后继续在 CO_2 培养箱中培养 24h,流式细胞术检测各组细胞凋亡结果如图 3 所示,各组细胞凋亡百分率见表 1,对照组 (37℃) 细胞凋亡率为 (4.93 ± 1.16)%,43℃组细胞凋亡率为 (6.00 ± 0.26)%,47℃组细胞凋亡率为 (87.37 ± 2.95)%,经统计分析可知,47℃组细胞凋亡率与对照组相比有极显著差异 ($P < 0.01$),而 43℃组与对照组间无差异。

表 1 VSMC 细胞凋亡率变化 ($n=3$)

Table 1 VSMCs cell apoptosis rate ($n=3$)

组别	凋亡率/%
对照组	4.93 \pm 1.16
43℃组	6.00 \pm 0.26
47℃组	87.37 \pm 2.95**

注:**,与对照组相比有极显著差异 ($P < 0.01$)。

Notes: **, significant differences at $P < 0.01$ compared with the control group.



图3 加热对兔 VSMCs 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of heating on VSMCs cell apoptosis

2.4 加热对兔 VSMC 细胞周期的影响

细胞周期检测结果如表 2 所示。

43°C组细胞周期分布与对照组相比无差异,47°C组与对照组相比 G0/G1 期和 G2/M 期细胞数明显减少,S 期细胞数明显增多,呈显著性差异。结果显示经过处理后的 VSMC 细胞周期被阻滞在 S 期。

2.5 加热对兔 VSMC 细胞迁移能力的影响

划痕实验结果如图 4 所示。加热后 12h 对照组和 43°C热疗组细胞开始向划痕区域迁移,47°C热疗组细胞呈圆形或椭圆形回缩,并有大量细胞脱落。随时间推移,对照组和 43°C热疗组迁移细胞的数量增加,47°C热疗组细胞皱缩变圆及脱落的细胞增多。表明 47°C热疗显著抑制细胞迁移。

表 2 VSMC 细胞周期各期百分率 (n=3)

Table 2 VSMCs cell cycle rate (n=3)

组别	细胞周期百分率/%		
	G0/G1	S	G2/M
对照组	90.165±0.955	6.050±0.608	3.785±0.346
43°C	88.340±0.608	7.105±0.431	4.555±0.177*
47°C	82.765±0.799**	15.685±1.294**	1.55±0.495**

注:*,与对照组相比有统计学差异(P<0.05);**表示组与对照组相比有极显著差异(P<0.01)。

Notes: *, significant differences at P<0.05 compared with the control group; **, significant differences at P<0.01 compared with the control group.

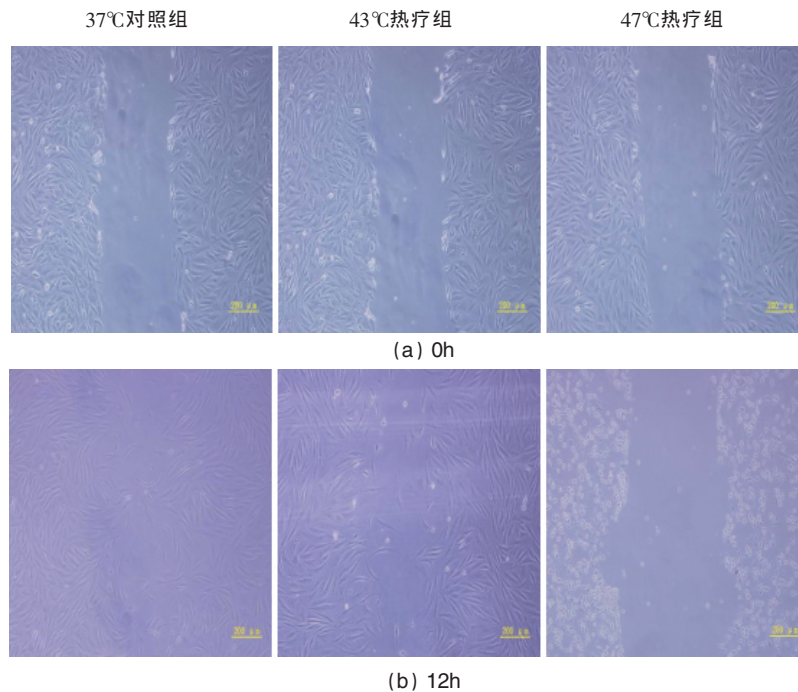


图4 加热对兔 VSMCs 细胞迁移的影响

Fig. 4 Effect of heating on VSMCs cell migration

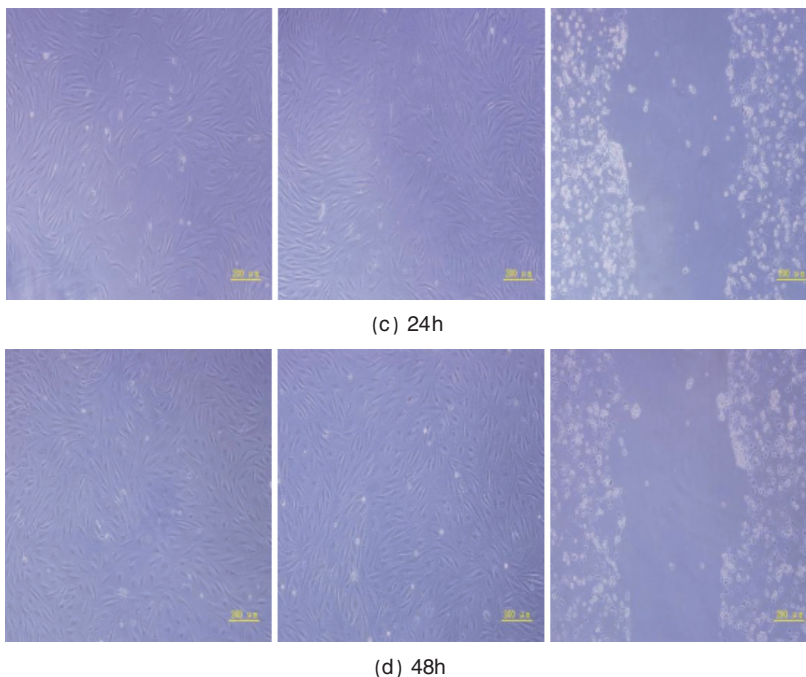


图 4 加热对兔 VSMCs 细胞迁移的影响 (续)

Fig. 4 Effect of heating on VSMCs cell migration (continued)

2.6 加热对兔血管平滑肌细胞 PCNA 表达的影响

PCNA 表达于细胞核中, 由图 5 可以看出, 随着温度升

高, 细胞的 PCNA 表达受到了显著的影响, 其阳性率的表达明显降低, 说明 VSMC 的增殖受到了显著抑制。

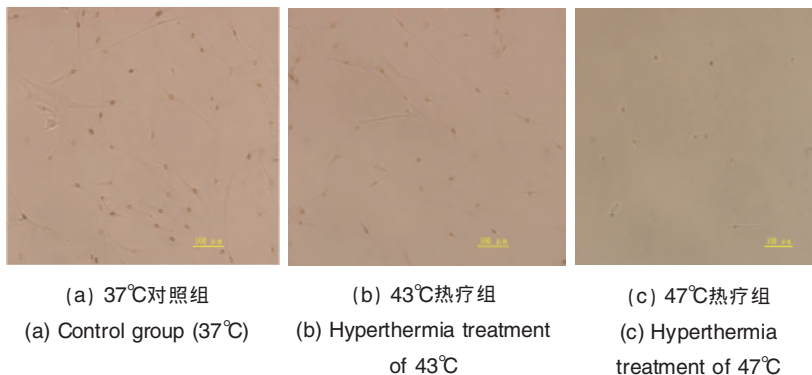


图 5 加热抑制了 VSMCs PCNA 的表达 (免疫细胞化学法, DAB 染色)

Fig. 5 Hyperthermia inhibit the expression of PCNA in VSMCs (ICC, DAB)

3 讨论

将加热用于解决支架植入后血管再狭窄的实验曾有一些报道, Camille 等^[12]报道了热疗预防血管再狭窄和血管内膜增生的动物实验结果。采用射频加热的方式, 对兔髂动脉植入支架的同时, 进行不同温度的热处理, 研究表明, 对支架部位进行 50°C 左右的热处理可以有效地抑制血管再狭窄的形成, 但过高温度 (80~100°C) 会引起血管内血栓的形成。目前的研究大多是通过超声或射频等加热方式对置入的支架进行加热, 采用交变磁场诱导支架升温预防再狭窄仅作为一种设想被提出, 尚未开展实验研究。本实验中采用交变磁场诱导支架升温发现, 支架在磁场下可升温至临床所需的温度, 并且加以恒定电流一段时间后温度达到稳定。如果改进支架的材料, 使其具有特定的居里点, 可根据临床需要进行选择, 进

而在磁诱导热疗时更便于进行温度控制。由此可见, 采用交变磁场诱导植入的支架升温以预防再狭窄这一方法极具可行性。

VSMC 的增殖是血管成形术后再狭窄的病理特征, 故 VSMC 增殖的调节是再狭窄的研究焦点之一^[1-2]。本实验针对 PTCA 术后的冠脉再狭窄现象, 采用水浴加热 VSMC, 观察热疗对 VSMC 的影响, 结果显示, 加热能抑制 VSMC 的增殖并诱导细胞凋亡。从实验结果看, 47°C 时诱导细胞凋亡最明显, 凋亡率达 (87.37±2.95)%, 而 43°C 时对细胞凋亡无明显影响。Li 等^[13]取兔主动脉细胞原代培养, 纯化平滑肌细胞, 在不同温度下, 对平滑肌细胞进行不同温度的水浴加热 10min, 在原代培养的 SMC 中观察到, 加热会导致平滑肌细胞的生长改变, 平滑肌细胞对热的反应采取 3 种形式, 在 <44°C 时, 细胞生长

未受到明显影响;在 44~50℃时,细胞以圆形或椭圆型回缩,细胞呈串珠样改变为主,脱落的细胞也未失去活力(不被台盼蓝染色);>50℃时细胞呈边缘翘起并以片状脱落,脱落的细胞均失去活力。从细胞的形态学观察看本实验结果与 Li 等的实验结果基本一致。

正常情况下,VSMC 处于静止期,即细胞循环的 G₀ 期,呈现低水平的增殖活性。支架植入引起血管的损伤,循环的有丝分裂原和血小板、内皮细胞、平滑肌细胞等细胞释放各种因子导致细胞增殖,使平滑肌细胞进入细胞循环,发生细胞增殖、迁移以及细胞外基质和胶原的合成,这些导致了新生内膜的形成从而引起支架内的再狭窄。本实验结果显示,47℃热疗抑制了处于增殖状态的 VSMC 的 DNA 合成,使其停止在 S 期,即 DNA 合成期。

VSMC 的迁移也是形成再狭窄的原因之一。VSMC 是血管壁的主要成分,正常情况下位于血管中膜层,是血管中层唯一的细胞成分。VSMC 的异常增殖及由中膜迁移到内膜下间隙是动脉粥样硬化形成、高血压和血管再狭窄等疾病的共同发病基础之一^[14]。因此,抑制 VSMC 的迁移也成为研究的热点。本实验采用划痕法检测加热对 VSMC 迁移能力的影响。结果发现高温显著抑制了 VSMC 的迁移。表明热疗不仅可以抑制 VSMC 的增殖,还能抑制其迁移。

PCNA 又称周期蛋白,是一种与细胞增殖周期有关的核内糖蛋白,作为 DNA 聚合酶的重要辅助蛋白直接参与细胞增殖过程中的 DNA 复制,其表达与细胞增殖活性有关,已成为评价细胞增殖状态的一项客观指标。细胞处于静止状态时 PCNA 含量相当少,G₁ 晚期开始明显增加,S 期达到高峰,G₂ 期和 M 期迅速下降。因此,其表达可反映细胞增殖活跃程度。检测血管平滑肌细胞中 PCNA 的表达对揭示细胞增殖活性有重要意义。本实验结果显示高温明显抑制 PCNA 蛋白的表达,与 MTT 结果一致,提示这可能是高温对 VSMC 增殖的抑制作用的机制之一。

目前临床上多采用药物洗脱支架来防治再狭窄,药物洗脱支架是一个双刃剑,再狭窄是对支架损伤血管部位创伤愈合的过度反应,但是内皮再生却是正常创伤愈合过程中必需的。药物洗脱支架不仅抑制了再狭窄,也抑制了内皮再生。抑制平滑肌细胞的增殖而不影响内皮再生是理想的药物洗脱支架,但目前的技术还难以达到。因此,寻求一种既能抑制平滑肌细胞增殖又不影响内皮化的方法是目前防治再狭窄的难点。Koji 等^[15]采用鼠的平滑肌细胞和牛的内皮细胞进行了体外的加热实验。结果发现,43℃加热 2h 可有效地抑制处于对数生长期的平滑肌细胞的增殖,而对于处于静止期的细胞无影响,同时,研究结果表明加热对牛内皮细胞的增殖没有影响。目前,有关加热对内皮细胞影响的实验研究正在本实验室开展。

4 结论

采用交变磁场诱导冠脉支架升温,用 MTT、流式细胞术、

划痕法和免疫细胞化学方法检测了加热对兔 SMC 增殖及凋亡的影响,研究发现,临床常用冠脉支架在交变磁场下升温可行。加热显著抑制了细胞的增殖并促进了细胞凋亡,使细胞周期阻滞在 S 期,且抑制了细胞的迁移。加热能显著抑制细胞 PCNA 的表达,这些可能是加热抑制细胞增殖和迁移、促进凋亡的机制之一。此研究结果对临床应用抑制血管再狭窄具有一定的指导意义。

参考文献 (References)

- [1] Inoue T, Node K. Molecular basis of restenosis and novel issues of drug-eluting stents[J]. *Circulation Journal*, 2009, 73(4): 615-621.
- [2] Costa M, Simon D. Molecular basis of restenosis and drug-eluting stents [J]. *Circulation*, 2005, 111: 2257-2273.
- [3] Lusis A J. Atherosclerosis[J]. *Nature*, 2000, 407(6801): 233-241.
- [4] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature*, 2002, 420 (6917): 868-874.
- [5] Wiskirchen J, Schöber W, Scharf N, et al. The effect of paclitaxel on the three phases of restenosis, smooth muscle cell proliferation, migration, and matrix formation: An *in vitro* study [J]. *Invest Radiol*, 2004, 39(9): 565-571.
- [6] Lüscher T F, Steffel J, Eberli F R, et al. Drug-eluting stent and coronary thrombosis: Biological mechanisms and clinical implications[J]. *Circulation*, 2007, 115(8): 1051-1058.
- [7] Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K, et al. Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stent in routine clinical practice: Data from a large two-institutional cohort study[J]. *The Lancet*. 2007, 369(9562): 667-678.
- [8] Shuchman M. Debating the risks of drug-eluting stents[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2007, 356(4): 325-328.
- [9] 王锐, 赵凌云, 刘继光, 等. 磁感应靶向热疗抑制冠状动脉支架置入后再狭窄的可能性研究[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(13): 2539-2543.
Wang Rui, Zhao Lingyun, Liu Jiguang, et al. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2009, 13(13): 2539-2543.
- [10] Floren M G, Günther R W, Schmitz-Rode T. Noninvasive inductive stent heating: Alternative approach to prevent in-stent restenosis? [J]. *Invest Radiol*, 2004, 39(5): 264-270.
- [11] 李春江, 李耀平, 刘健, 等. 加热对血管平滑肌细胞影响的实验研究 [J]. *航空航天医药*, 2001, 12(1): 67-72.
Li Chunjiang, Li Yaoping, Liu Jian, et al. *Aerospace Medicine*, 2001, 12(1): 67-72.
- [12] Camille B, Eric D, Faouzi A, et al. Effect of local heating on restenosis and in-stent neointimal hyperplasia in the atherosclerotic rabbit model: A dose-ranging study[J]. *European Heart Journal*, 2008, 29: 402-412.
- [13] Li C J, Zheng Y F, Zhao L C. Heating NiTi stent in magnetic fields and the thermal effect on smooth muscle cells[J]. *Key Engineering Materials*, 2005, 288-289: 579-582.
- [14] Liuzzo G. Atherosclerosis: an inflammatory disease[J]. *Rays*, 2001, 26(4): 221-230.
- [15] Koji O, Sadatoshi B, Shuichi H, et al. Hyperthermia at 43°C for 2h inhibits the proliferation of vascular smooth muscle cells, but not endothelial cells[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2002, 34(9): 1205-1215.

(责任编辑 王芷)