维普资讯 http://www.cqvip.com

71-72

人工血管生物化—衬附细胞选择的实验研究

张 平* 毕铁男** 段志泉*

R318.11

提 要 内皮细胞种植已被公认是一种改善小口径人工血管性能的重要方法。本实验对人脐带动静脉内皮细胞进行体外培养，并进一步模拟体内血流情况，对两种细胞的生长、生理特性进行比较研究。结果表明：动脉内皮细胞的贴壁能力及粘附能力均明显优于静脉内皮细胞，其生长潜伏期较静脉内皮细胞短。提示应优先采用动脉内皮细胞作为衬附细胞来源，以加速和提高人工血管的内皮细胞化。

关键词：内皮细胞 人工血管

人工血管生物化

材料与方法

一、脐带动静脉内皮细胞的获取及培养采用改良的 Jaffe 氏法[1]，并进行Ⅷ因子免疫荧光检查。

二、内皮细胞贴壁率的测定：将同浓度的动脉、静脉内皮细胞悬液种植入细胞培养板的不同孔中进行体外培养，分别于接种后 4、12 和 24 小时，各组取 5 孔细胞，吸除培养液，以 0.1%胰蛋白酶彻底消化细胞并计数，按下式

$$\text{贴壁率}=\frac{\text{消化所得细胞数}}{\text{接种活细胞数}}\times 100\%$$

计算贴壁率。

三、按常规法测定生长曲线，用 Maciag 法[2]测定对数生长期群体倍增时间。

四、内皮细胞人工血管粘附率的测定：将同浓度的动静脉内皮细胞分别接种于内径 4mm，长 6cm 的涤沦人工血管，体外培养，在培养的第 3、7 天进行如下实验：模拟人体血流情况，流速为 0.4m/s，作用 30′，记数冲刷掉的细胞数 M_B，再改用 0.1%胰蛋白酶，37℃下作用 15′，记下人工血管内剩余细胞数 M_S，记算内皮细胞的粘附率

$$R=\frac{M_B}{M_S+M_B}\times 100\%。$$

结 果

一、内皮细胞贴壁率见附表。

二、动脉内皮细胞群体倍增时间为 29.07±1.77 小时，而静脉内皮细胞为 27.61±1.45 小时，差异无统计学意义。

附表 动脉和静脉内皮细胞各时相点贴壁率($\bar{x}\pm s$)

分 组	4 小时贴壁率(%)	12 小时贴壁率(%)	24 小时贴壁率(%)
动脉内皮细胞	16.31±2.36**	61.02±4.36**	94.5±2.02*
静脉内皮细胞	10.98±2.13	48.98±3.19	90.14±4.00

注：与静脉内皮细胞比较，**P<0.01，*P<0.05

三、动脉内皮细胞 7 天时粘附率为 94.5±8.1%，静脉内皮细胞为 83.1±4.9%，具有显著性差异(P<0.01)。

* 作者单位：110001 中国医科大学第一临床学院普外三科

** 朝阳市第二医院外科

维普资讯 http://www.cqvip.com

讨 论

一、动脉内皮细胞贴壁能力优于静脉细胞：内皮细胞贴壁能力直接关系到人工血管内皮细胞化的效果。本实验结果，种植后4、12、24小时动脉内皮细胞贴壁率明显高于静脉内皮细胞，说明动脉内皮细胞具有更强的贴壁能力，有利于人工血管内腔的衬附，以形成完整的内皮细胞单层。

从贴壁时间来看，两种内皮细胞均需24小时，才能达到90%以上的细胞贴壁，这提示在进行人工血管衬附细胞时，至少需体外孵育1天以上，以保证血管内皮细胞充分贴壁。

二、动脉内皮细胞先于静脉内皮细胞贴壁生长：动脉内皮细胞生长潜伏期较短，仅为1天左右，而静脉内皮细胞则需2天才能进入对数生长期。说明动脉内皮细胞适应能力较强，恢复较快，能迅速贴壁，并生长繁殖。两种细胞均在经历4—5天对数生长期后，于第7—8天左右达到生长停滞期，提示细胞在人工血管内进行长达1周的体外培养后，将不再增殖，此时应考虑进行血管移植。

三、动脉内皮细胞的抗血流切应力能力优于静脉细胞。本实验结果，动静脉内皮细胞受水流冲击后，人工血管粘附率具有明显差异（$P<0.01$）。说明动脉内皮细胞抗血流切应力能力明显优于静脉内皮细胞。从组内比较来看，动脉内皮细胞粘附率随体外孵育时间延长而提高，其中第7天粘附率明显上升，达到较高水平（动脉内皮细胞93.2±11.2%，静脉内皮细胞85.1±9.1%），这可能与细胞分裂增殖形成内皮细胞单层后，细胞骨架开始分化成熟有关[3]。Zilla指出，贴壁细胞的抗血流切应力能力对人工血管内皮化具有重要影响。因此应优先采用动脉内皮细胞来预衬人工血管，并适当延长体外孵育时间（7—8天），以保证细胞骨架分化成熟，进一步提高内皮细胞的抗血流切应力能力。

参考文献

1. 张宝庚. 中华心血管病杂志，1985，13(1)：32.
2. Maciag T. J Cell Biol，1981，91：420.
3. Schnittler HJ. In：Zilla P，et al. eds. Endothelization of vascular grafts. Basel：Switzerland. karger. 1987，183.
4. Zilla P. Ann Cardiac Surg. 1990，91：99.

（收稿：1997—06—20）

（上接第70页）

识，段与段之间相对无血管为段或叶切除提供理论基础[3]。对于相对局限性脾损伤而切除整个脾脏实为得不偿失。本组27例病人中根据病人的状态以及脾破裂的情况有3例行修补术，9例行脾的叶段切除术，收到了满意疗效。但要注意只有保留脾脏1/3以上，才能确保脾功能[3]。

脾叶、脾段切除术是脾外伤的一种较合理的外科治疗方法，但并不是所有的病人均能实行。脾破裂患者都有不同程度的休克，本组病例就有以上特点。手术的目的是止血，抢救生命。任何保留性手术都会延长手术时间，增加手术难度。为此，对于广泛的脾挫裂伤和全脾碎裂，全身状况不佳，应以病人生命安全为重，断然采用脾切除术以迅速结束手术[4]。本组病人有15例行全脾切除术。

参考文献

1. 吴孟超主编. 腹部外科学. 第1版，上海：上海科学技术文献出版社，1992，526—527.
2. 韩永坚，刘牧之主编. 临床解剖学丛书. 腹、盆部分册. 第1版，北京：人民卫生出版社，1992，323—325.
3. 夏穗生主编. 现代脾脏外科学. 第1版，盐城：江苏科学技术出版社，1990，114—115.
4. 钱礼主编. 现代普通外科. 第1版，杭州：浙江科学技术出版社，1993，478—479.

（收稿：1997—06—20）