

·实验研究 Experimental research·

镁合金血管支架置入后内膜增生特点

夏永辉, 任 玲, 徐 克, 李卫校, 毕永华, 谭丽丽, 陈姗姗

【摘要】 目的 观察和评价 AZ31 镁合金血管支架置入后的内膜增生情况。**方法** 将 24 枚采用激光雕刻制成的 AZ31 镁合金支架置入 12 只 Beagle 犬的双侧髂外动脉内, 按支架置入术后时间将动物分为 1、3、6 个月三组, 每组 4 只。在相应时间点取支架段血管进行 HE 染色, 观察镁合金支架置入后内膜增厚程度、新生内膜成分及形态特点。**结果** AZ31 镁合金支架置入术后 1、3、6 个月均产生了较明显的内膜增生, 内膜-中膜比值分别为 1.17 ± 0.06 、 1.64 ± 0.09 、 0.91 ± 0.05 , 相比 1 个月和 6 个月, 术后 3 个月时内膜增生最为明显 ($P < 0.05$), 且内膜增厚以支架支撑杆周围为著, 新生内膜主要成分为排列紊乱的血管平滑肌细胞及细胞外基质, 在置入术后早期可见少量的炎性细胞。**结论** 虽然 AZ31 镁合金血管支架具有可降解性, 但其置入后仍出现不同程度内膜增生, 且以 3 个月时最为明显。

【关键词】 内膜增生; 再狭窄; 支架; 镁合金

中图分类号: R543 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2014)-02-0132-04

Characteristics of neointima proliferation after AZ31 magnesium stent implantation XIA Yong-hui, REN Ling, XU Ke, LI Wei-xiao, BI Yong-hua, TAN Li-li, CHEN Shan-shan. Department of Radiology, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: XU Ke, E-mail: cjr.xuke@vip.163.com

【Abstract】 Objective To observe and evaluate the characteristics of neointima proliferation after implantation of AZ31 magnesium stent. **Methods** Under fluoroscopic guidance a total of 24 AZ31 magnesium stents were implanted in bilateral external iliac arteries of 12 beagles. The animals were randomly and equally divided into 3 groups according to the postoperative time (1, 3 and 6 months after stent implantation). Stent segments of the arteries were removed at 1, 3 and 6 months respectively. Cross-sections with 10 – 15 μm thickness were prepared by a cutting grinding system for hard specimens. The sections were stained by haematoxylin-eosin staining for computer-assisted histomorphometric analyses. Intima-to-media ratio was used to evaluate neointima proliferation. All quantitative measurements were reported as mean \pm SD, and comparisons between the same values at different time points were performed with a 2-tailed paired t-test. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant. **Results** Neointima hyperplasia which caused in-stent stenosis was found in all beagles of the three groups, which was more significant in the areas surrounding the stent struts in 3 months group when compared with that of one month or 6 months group ($P < 0.05$). The neointima was composed of vascular smooth muscle cell in tangle array and extracellular matrix, and mild inflammatory response was only seen in surrounding area of the struts at one month and 3 months groups. **Conclusion** As foreign bodies are similar to non-biodegradable stents, the AZ31 magnesium stents can also induce neointimal proliferation before total degradation, leading to in-stent lumen loss, and the proliferation is most significant at 3 months after stent implantation. (J Intervent Radiol, 2014, 23: 132-135)

【Key words】 neointima proliferation; restenosis; stent; magnesium

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81171443)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2014.02.012

作者单位: 110016 沈阳 中国医科大学附属第一医院放射科(夏永辉、任 玲、徐 克、李卫校、毕永华); 中国科学院金属研究所(谭丽丽、陈姗姗)

通信作者: 徐 克 E-mail: cjr.xuke@vip.163.com

血管支架内再狭窄 (in-stent restenosis, ISR) 主要由血管内膜过度增生引起^[1], 是影响支架植入术中、远期疗效的最主要因素, 大样本多中心研究表明, 传统的金属裸支架中、远期 ISR 可高达 38% ~ 41%^[2-3]。因此, 如何减轻支架植入后内膜增生程度

是控制 ISR 的关键。在 2006 年美国心脏病学会高峰论坛上,与会专家们一致认为可降解支架有望减轻支架对血管内膜的刺激作用从而降低 ISR,可能成为今后血管支架的发展方向。本研究将可降解的 AZ31 镁合金支架置入犬的外周动脉内,通过组织病理学方法观察新生内膜增生情况,探讨可降解支架置入后血管内膜的增生规律。

1 材料和方法

1.1 实验动物

清洁级成年雄性 Beagle 犬 12 只,体重 12.5 ~ 15.3 kg,平均 13.6 kg,购自中国医科大学实验动物中心。动物的饲养和操作遵循美国国家卫生研究院 1996 年发表的“Guide for the Care and Use of

Laboratory Animals”中的标准。

1.2 实验器材和设备

采用激光雕刻技术制备的 AZ31 镁合金支架 24 枚,规格为 6 mm × 20 mm,表面经过氟化处理以增强耐腐蚀性,由中国科学院金属研究所提供。支架预装于 6 mm × 40 mm 球囊导管,采用球囊扩张式释放(图 1)。球囊导管购自常州久虹医疗器械有限公司。介入治疗器材及设备:10 F 动脉鞘,0.035 英寸黑泥鳅导丝,血管穿刺针,血管造影手术包。西门子 ARCADIS Varic 多功能 C 形臂,Exakt 硬组织切磨系统(中国医科大学附属第一医院介入实验室)。动物麻醉剂:速眠新 II 及 3%戊巴比妥钠,由中国医科大学局部解剖学教研室提供。

1.3 操作方法

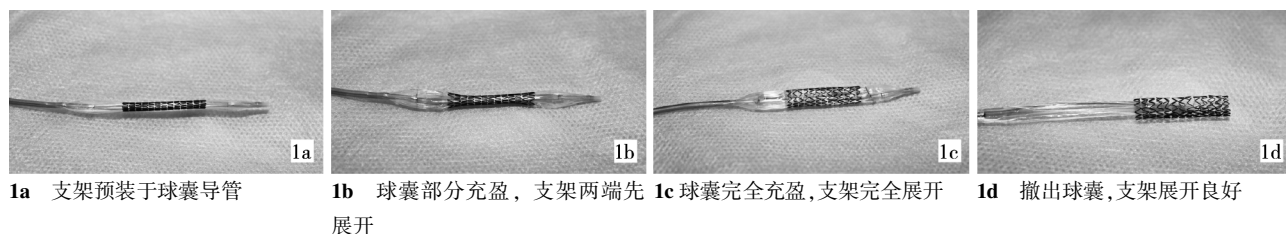


图 1 AZ31 镁合金支架的球囊扩张式释放过程

速眠新 II (0.1 ml/kg)联合 3%戊巴比妥钠(1 ml/kg)^[4]肌肉注射麻醉动物,备皮、消毒,铺无菌手术巾,自股动脉搏动点处切开皮肤 5 cm,钝性分离肌层,解剖暴露双侧股动脉,直视下以改良 Seldinger 技术穿刺股动脉,置入 10 F 动脉鞘,送入 Pigtail 造影导管置于腹主动脉末端行双髂动脉造影,进行髂外动脉定位及管径评估,于双侧髂外动脉内各置

入 1 枚 6 mm × 20 mm 球囊扩张式 AZ31 镁合金支架,支架置入后再次造影评价有无急性血栓形成(图 2)。术毕拔管,动脉穿刺点以 5-0 血管缝合线闭合,再缝合肌层及皮肤。肌内注射青霉素钠 160 万 u 预防性抗炎。术后动物分笼饲养,禁食、水 12 h,每日喂食阿司匹林 100 mg 抗血小板,持续 1 周。

AZ31 镁合金支架在体内的降解时间约为

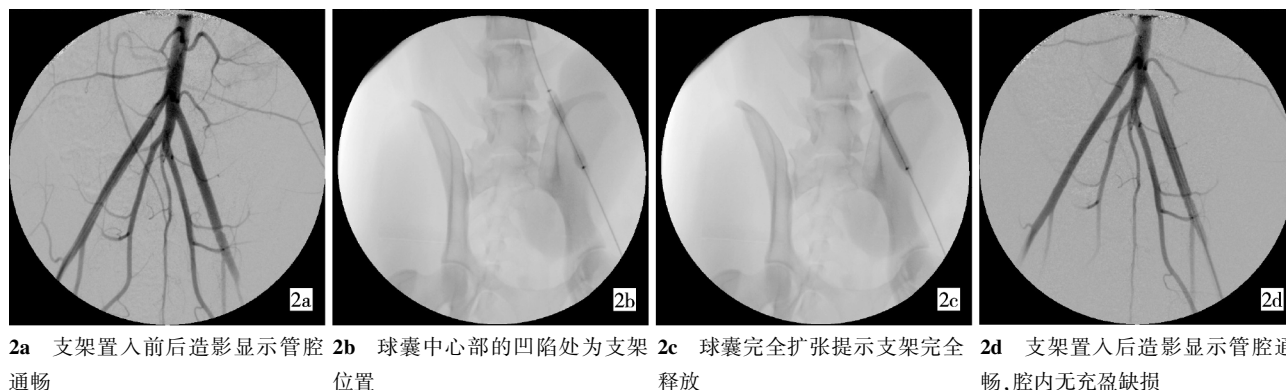


图 2 AZ31 镁合金支架置入犬双侧髂外动脉

104.5 d^[5],故在支架置入后 1、3、6 个月分别取 4 只动物支架段血管进行 HE 染色,显微镜下观察镁合金支架置入后对新生内膜增生的影响。重点观察新生内膜的组成及形态,测量支架段血管新生内膜厚度以及中膜厚度,计算内膜-中膜厚度比值以评价

新生内膜增生程度^[6-7]。支架段血管采用硬组织切磨系统制备病理切片。

1.4 统计学方法

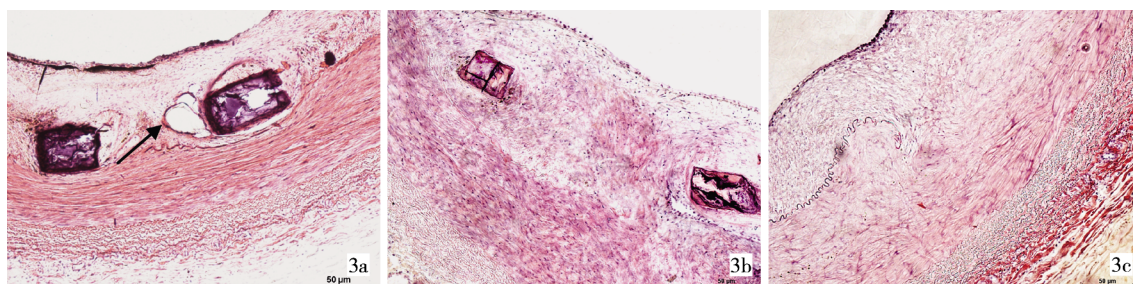
计量数据采用均值 ± 标准差表示,两组计量数据间差异采用 *t* 检验,设 95%可信区间。 $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

24 枚镁合金支架成功置入 12 只犬的双侧髂外动脉内, 术后即刻血管造影无支架内急性血栓形成, 支架置入后无动物死亡。在支架置入后 1 个月, 新生内膜已完全覆盖支架表面, 并出现过度增生情况。术后 1、3、6 个月, 内膜-中膜厚度比值分别为 1.17 ± 0.06 、 1.64 ± 0.09 、 0.91 ± 0.05 , 术后 3 个月内膜增生程度明显高于 1 个月与 6 个月, 差异有统计

学意义($P < 0.05$); 1 个月与 6 个月间差异无统计学意义($P > 0.05$)。血管新生内膜的主要成分为血管平滑肌细胞及细胞外基质, 与中膜内的血管平滑肌细胞相比, 新生内膜中的血管平滑肌细胞分布较为无序, 通过断裂的内弹力板与中膜内的血管平滑肌细胞相延续。支架置入后 1 个月和 3 个月, 在支架杆周围可见少量炎性细胞, 主要为淋巴细胞和单核-巨噬细胞, 在支架置入后 6 个月, 支架完全降解消失, 炎性细胞亦随之消失。在支架置入后早期(1 个月), 支架支撑杆周围可见少量空泡样改变(图3)。



3a 支架置入后 1 个月组织切片显示支 3b 术后 3 个月新生内膜进一步增厚, 支 3c 术后 6 个月支架完全降解, 新生内膜
架内新生内膜增厚, 支架杆周围可见空泡 架杆出现明显降解, 体积减小(HE, $\times 100$) 增厚程度有所减轻(HE, $\times 100$)
样改变(箭头, HE, $\times 100$)

图 3 AZ31 镁合金支架置入后内膜增生

3 讨论

近年来, 生物惰性材料如不锈钢、镍钛合金等制成的血管支架置入后长期留置于血管内可产生持续的机械性刺激作用, 易引起 ISR, 有学者提出采用镁合金等可降解金属材料制成血管支架的设想。普遍认为与传统的金属支架相比, 镁合金支架具有能与传统支架相媲美的力学性能, 支撑力可达到 $(92 \pm 4) \text{ kPa}$ ^[5], 能对抗支架置入术后早期弹性回缩, 快速内皮化, 且致血栓性低^[8]。虽然具备上述优势, 但评价镁合金支架置入后疗效的主要指标仍是血管内膜增生引起的 ISR 程度。早在 2003 年, Heublein 等^[9]将含有 2% 铝及 1% 稀土金属的 AE21 镁合金材料制成 20 枚血管支架, 置入 11 头家猪的冠状动脉内, 在术后 10、35、56 d 分别对支架段血管进行血管造影及病理分析, 结果在支架置入术后 10、35 d 发现了较明显的内膜增生, 并导致约 40% 的管腔丢失。在外周动脉方面, Bosiers 等^[10]将 Biotronik AG 公司研制的 WE43 镁合金支架置入 60 名受试者的膝下动脉, 6 个月的血管造影显示总体通畅率为 31.8%, 低于单纯行经皮球囊扩张成形术组, 说明镁合金裸支架与传统裸支架一样在置入后可能会引起血管内膜过度增生, 最终导致 ISR 发生。

本研究采用 AZ31 镁合金材料制成的血管支架进行犬外周动脉置入实验, 以观察置入后的血管内膜增生规律。我们发现 AZ31 镁合金支架置入后 1 个月即已产生较为明显的血管内膜增生, 术后 3 个月时最为明显, 表明镁合金支架虽然具有可降解性, 但仍然无法回避其作为金属材质在体内的异物刺激性问题。尤其是在 3 个月时, 随着支架降解程度的增加, 支架表面变得更加不平整甚至有部分金属颗粒脱落, 更刺激了血管平滑肌细胞的增殖, 从而产生了更厚的血管新生内膜层。支架的置入及降解还引起了轻度的炎性反应, 炎性细胞主要分布在支架杆的周围, 多为淋巴细胞及单核-巨噬细胞, 这种炎性细胞的聚集可能与支架降解过程中表面的平整度变差有关。Slottow 等^[11]将镁合金支架置入猪的冠状动脉内, 在支架置入早期也发现此类炎性反应。局部的炎性反应在内膜增生过程中可能亦起到一定的促进作用。由于镁合金材料在降解过程中会产生一定量的气体^[12-13], 本研究发现部分支架杆周围的空泡样改变可能是支架完全内皮化后镁合金降解产生的气体不能及时吸收聚集所致, 而此类空泡是否对血管内膜增生产生影响尚未可知。支架置入后 6 个月, 镁合金基材完全降解消失, 消除了对内膜的持续刺激作用, 血管新生内膜发生重塑, 厚

度有所降低。传统金属裸支架置入血管后 24 h, 血管平滑肌细胞开始增生, 4 周左右最为活跃, 并持续 3 个月^[14]。本实验结果显示, AZ31 镁合金支架置入后的新生内膜增生规律与传统的金属裸支架类似。在镁合金支架置入后 6 个月, 支架完全降解消失, 内膜增厚程度出现了一定的减轻, 这可能与支架的机械性刺激作用消除后血管正性重塑有关。由此可见可降解支架在置入早期与传统裸支架相比并无明显的优越性, 但在支架完全降解后, 由于刺激因素消失导致血管的过度修复作用减弱, 内膜增厚亦随之减轻, 这又体现了可降解理念的先进性。欧阳墉等^[15]认为, 目前镁合金支架降解过快而过早地失去了径向支撑力, 可能不足以对抗早期的弹性回缩, 另外降解的金属离子在体内局部积存可能也会产生不利的影响, 这些缺点都有待于克服。

综上所述, AZ31 镁合金支架虽然能在 3 ~ 6 个月内完全降解, 但在其存留于血管壁时仍能引起较为明显的内膜增生, 在支架降解后新生内膜具有一定的重塑能力使内膜增生出现一定程度减轻。因此, 如何降低可降解支架对血管内膜增生的刺激作用将成为今后研究的重要方向。本研究结果仅说明 AZ31 镁合金支架对血管内膜增生的影响, 而制备镁合金支架的基材包括多种型号, 如 AZ31、AZ21、WE43、AE21、AM60 等, 因此本研究具有一定的局限性, 仍需更多研究进一步探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Erne P, Schier M, Resink TJ. The road to bioabsorbable stents: reaching clinical reality? [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2006, 29: 11 - 16.
- [2] Alfonso F, Pérez - Vizcayno MJ, Hernandez R, et al. Sirolimus-eluting stents versus bare - metal stents in patients with in-stent restenosis: results of a pooled analysis of two randomized studies [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2008, 72: 459 - 467.
- [3] Agostoni P, Valgimigli M, Biondi - Zoccai GG, et al. Clinical effectiveness of bare - metal stenting compared with balloon angioplasty in total coronary occlusions: insights from a systematic overview of randomized trials in light of the drug - eluting stent era[J]. *Am Heart J*, 2006, 151: 682 - 689.
- [4] 高天舒, 邹飞燕, 唐运莲, 等. 速眠新复合麻醉对外科手术实验用犬的效果观察 [J]. *中国比较医学杂志*, 2006, 16: 339 - 340.
- [5] 李海伟, 徐 克, 杨 柯, 等. 可降解 AZ31 镁合金支架在兔腹主动脉的降解性能研究 [J]. *介入放射学杂志*, 2010, 19: 315 - 317.
- [6] Sinnaeve P, Chiche JD, Gillijns H, et al. Overexpression of a constitutively active protein kinase G mutant reduces neointima formation and in - stent restenosis [J]. *Circulation*, 2002, 105: 2911 - 2916.
- [7] Lee BH, Nam HY, Kwon T, et al. Paclitaxel-coated expanded polytetrafluoroethylene haemodialysis grafts inhibit neointimal hyperplasia in porcine model of graft stenosis [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21: 2432 - 2438.
- [8] Di Mario C, Griffiths H, Goktekin O, et al. Drug - eluting bioabsorbable Magnesium stent [J]. *J Interv Cardiol*, 2004, 17: 391 - 395.
- [9] Heublein B, Rohde R, Kaese V, et al. Biocorrosion of Magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology? [J]. *Heart*, 2003, 89: 651 - 656.
- [10] Bosiers M, Peeters P, D'Archambeau O, et al. AMS INSIGHT-absorbable metal stent implantation for treatment of below-the-knee critical limb ischemia: 6-month analysis [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2009, 32: 424 - 435.
- [11] Slottow TL, Pakala R, Okabe T, et al. Optical coherence tomography and intravascular ultrasound imaging of bioabsorbable Magnesium stent degradation in porcine coronary arteries[J]. *Cardiovasc Revasc Med*, 2008, 9: 248 - 254.
- [12] Zhang S, Zhang X, Zhao C, et al. Research on an Mg-Zn alloy as a degradable biomaterial [J]. *Acta Biomater*, 2010, 6: 626 - 640.
- [13] Aghion E, Levy G, Ovadia S. In vivo behavior of biodegradable Mg-Nd-Y-Zr-Ca alloy [J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2012, 23: 805 - 812.
- [14] Farb A, Heller PF, Shroff S, et al. Pathological analysis of local delivery of paclitaxel via a polymer-coated stent[J]. *Circulation*, 2001, 104: 473 - 479.
- [15] 欧阳墉, 张学军, 欧阳雪晖. 管腔内支架研究和开发的现状及展望[J]. *介入放射学杂志*, 2013, 22: 441 - 446.

(收稿日期: 2013-07-11)

(本文编辑: 侯虹鲁)