

## • 实验研究 •

# 地塞米松血管内支架影响内膜增生的实验研究

徐仲英

**【摘要】** 目的 检验地塞米松(DXM)释放血管内支架(简称 DXM 支架)是否能有效防止 PTA 术后由于内膜增生造成的血管狭窄。方法 以 Strecker 支架为基础,可以降解多聚物(DL-PLA)为载体制作而成的地塞米松药物支架,植入 14 只狗的一侧股动脉,另一侧植入裸支架作为对照。分别在植入后 3、6、9、12、24 周行 DSA 造影随访,且部分取材进行组织学观察。结果 3 周造影显示,4 个 DXM 支架完全阻塞,余 10 个 DXM 支架开通;随访 DSA 表明,DXM 支架管腔狭窄率明显低于对照组;组织学观察,DXM 支架内膜增生明显低于对照组( $P < 0.05$ )。结论 与裸支架对比,DXM 支架能明显减少新生内膜增生。

**【关键词】** 地塞米松;支架;血管内

**Experimental study of vascular intimal hyperplasia with the influence of polymer coated dexamethasone (DXM)-releasing stent** XU Zhongying Fuwai Cardiovascular Hospital, Cardiovascular Institute, CAMC PUMC Beijing 100035

**【Abstract】 Objective** Polymer-coated, dexamethasone (DXM)-releasing stents were tested in order to assess the efficacy of DXM released locally for the prevention of vascular restenosis due to intimal hyperplasia. **Methods** Strecker stents coated with a biodegradable membrane containing DXM were implanted percutaneously into the femoral artery in 14 dogs. The contralateral artery received a conventional non-coated stent serving as control. The drugs were eluted by degradation of the carrier membrane. Follow-up intraarterial digital subtraction angiography (DSA) was obtained at 3, 6, 9, 12 and 24 weeks with subsequent autopsies. Specimens for gross and microscopic pathology were obtained together with histomorphometry performed. **Results** Four of 14 DXM-coated stents showed thrombotic occlusion within the first 3 weeks while ten DXM-coated stents remained patent. Follow-up DSA of DXM-coated stents showed a significantly wider lumen than the non-coated stents. Morphometry revealed less intimal hyperplasia over DXM-coated stents than over non-coated stents ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** DXM-coated stents reduce neointimal hyperplasia in dogs when compared with non-coated stents.

**【Key words】** Dexamethasone; Stent, intravascular

经皮穿刺血管腔内成形术(PTA)在细小血管狭窄、阻塞性病变(如冠状动脉、股、腘动脉)是一种有效疗法。但中远期的再狭窄率为 40% 左右。血管内支架(intravascular stent)能改善最初由于血管弹性回缩,夹层而所致的急性阻塞,提高成功率,但远期的再狭窄率也高达 50% 左右。至今为止,尚未发现确切、有效的方法,防止介入治疗后血管内膜增生所致的再狭窄。已有各种药物在实验及临床应用,但亦未能获得理想的效果。我们研究一种药物释放

血管支架,这种支架被植入血管内后,药物能在血管局部缓慢释放,以抑制血管内膜增生。本文旨在检验这种支架能否真正减少血管内膜增生,而降低血管再狭窄率。

## 材料和方法

### 一、药物支架

药物支架基于 Strecker 支架,利用可以降解的多聚物(Polyactide DL-PLA)作为载体(基质)制作而成,用物理方法将药物溶解在基质中,将多聚物均匀覆盖在支架上,厚度为 150 $\mu$ m,多聚物与药物比例为 84:16,药物含量为 4mg/cm,支架可扩张直径为

5~6mm, 长度为 2cm。体外实验证明, 药物支架有很多好的柔软性、可塑性, 支架扩张后未发现多聚物被膜断裂、脱落现象。生化检测证明 20% 药物在 24h 内释放, 余下部分约在 40d 左右完全释放。

## 二、动物试验

实验在 14 只健康杂种狗进行, 体重为 17~18kg。支架植入狗的股动脉, 一侧为药物支架, 另一侧为裸支架作为对照组。另外 2 只狗一侧植入不含药物的被膜支架, 而另一侧植入裸支架, 以检验血管组织对多聚物的反应。

经外科手术方法暴露颈总动脉, 送入 11F 60cm 长导管(COOK 公司), 首先行主动脉及髂动脉造影, 以确定血管支架植入血管部位及大小。药物支架植入前放入温度为 30~38℃ 含 10 000 单位肝素的 0.9% 氯化钠溶液中浸泡 5~6min, 使药物支架变柔软, 容易塑形, 然后固定在球囊上 (Olber 球囊, Boston Scientific 公司), 球囊直径为 6mm, 长度为 2cm。在标志引导下, 支架被植入股动脉中段。植入后行造影, 每例造影取 3 个体位, 分别为: 后前位 (AP), 左前斜位 30° (LAO 30°) 和右前斜位 30° (RAO 30°)。操作完成后, 行颈动脉缝合术, 并关闭伤口, 将动物送到饲养房。

## 三、药物

在血管支架植入前 2d, 动物给予 100mg 阿司匹林, 支架植入手术中给予 3 500~5 000U 肝素 (200U/kg), 另外动物接受 100 万 U 青霉素, 以预防感染。如发生血管痉挛, 再给予血管扩张药。血管支架植入后, 继续给予 3×5 000U 肝素 (皮下注射) 和阿司匹林 100mg 持续 3 周。

## 四、造影随访及血管支架取材

动物进行临床观察及造影随访, 临床上主要观察动物一般情况及动脉搏动情况, 随访造影在支架植入后第 3、6、9、12、24 周进行 (分别是 11、8、4、4 和 4 只狗)。造影体位同前, 每 1 个体位分别在支架近端、中段、远端测量血管直径, 通过血管支架近端或远端正常段血管直径对比, 计算出血管狭窄率。而平均狭窄率是 3 个不同体位狭窄率的均值。部分狗在造影后, 取材进行组织学检查, 取材时间为 1 周 1 只, 3 周 2 只, 6 周 2 只, 12 周 4 只, 24 周 5 只。

取材后包含血管支架的组织立即放在 5% 福尔马林溶液中浸泡 24h, 然后仔细的抽出支架金属导丝, 经过石蜡包埋, 制成组织切片, 进行 HE (Hematoxylineosin) 和 EVG (Elastica Van Gieson) 组织染色。显微镜下观察仍分为 3 个部分, 支架中段、近端

和远端。平均中膜、内膜厚度是这 3 个部位所获得的均值。

## 五、统计学分析

造影和显微镜下所获得的结果均取均值及标准差。利用 Wilcoxon 进行显著性检验 ( $P < 0.05$  为有显著性意义)。

## 结 果

技术操作在所有动物均获得成功, 动物存活。1 只狗在术后 1 周死亡, 另外 4 只狗, 观察到药物支架侧股动脉搏动减弱。造影及临床上均未观察到肢体远端栓塞征象。

### 一、造影结果

(一) 不含药物被膜支架 (Placebo coated stent) 和裸支架对照 仅有 2 只狗植入了不含药物被膜支架, 而对侧植入裸支架作为对照。3 周造影被膜支架狭窄率为 ( $18.9 \pm 3.1$ )%, 对照组为 ( $23.7 \pm 0.1$ )%, 6 周造影示, 被膜支架狭窄为 ( $25.7 \pm 2.4$ )% 而对照组为 ( $27.8 \pm 2.4$ )%。

(二) DXM 支架和裸支架对照 支架植入前血管造影显示血管直径为 ( $5.5 \pm 0.2$ ) mm, 支架植入后立即造影显示血管直径在 DXM 支架和对照组无明显差异, 所有裸支架及 10 个 DXM 支架在其后的随访造影中保持血管开通。

3 周造影证实, 4 个 DXM 支架由于血栓形成而造成血管完全阻塞, 其中 2 只动物是由于出血并发症而停用抗凝药物。这 4 个 DXM 支架不包括在其后的统计资料分析中。

3 周造影证实 DXM 支架组血栓形成发生率明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。由于内膜增生所致血管狭窄, 3 周 DXM 支架狭窄率 ( $10.0 \pm 8.6$ )%, 轻度高于对照组 ( $7.4 \pm 10.4$ )%, 6 周 DXM 支架狭窄率为 ( $18.2 \pm 12.9$ )%, 对照组为 ( $24.8 \pm 13.8$ )%, 随时间推移, 对照组血管狭窄率程度逐渐加重, 而 DXM 组未见明显变化。9、12、24 周 DXM 支架狭窄率分别为: ( $17.7 \pm 5.7$ )%、( $17.0 \pm 12.2$ )% 和 ( $22.0 \pm 5.4$ )%, 而对照组在相应时间段血管狭窄分别为 ( $29.3 \pm 2.5$ )%、( $23.1 \pm 15.6$ )% 和 ( $31.0 \pm 11.7$ )%。

从造影结果能看出, DXM 狭窄率明显低于对照组, 狭窄率 6、9、12、24 周分别减少了 27%、40%、26% 和 29%。

### 二、肉眼及显微镜下观察

(一) 肉眼观察 DXM 被膜支架组: 植入后 1 周, 被膜支架被一层很薄纤维组织覆盖, 多聚物仍清

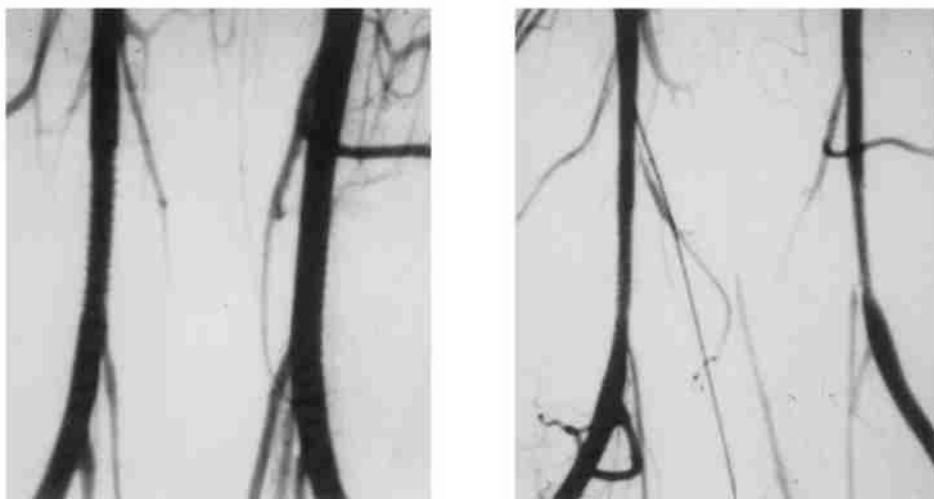


图 1 血管支架植入后 3 周后造影显示(图左), 右侧 DXM 支架管腔轻度狭窄, 是由于支架被膜遇血液膨胀降解所致。左侧裸支架也显现轻度狭窄, 但较 DXM 支架轻。24 周造影(图右)显示, 右侧 DXM 支架轻度狭窄, 左侧为重度狭窄

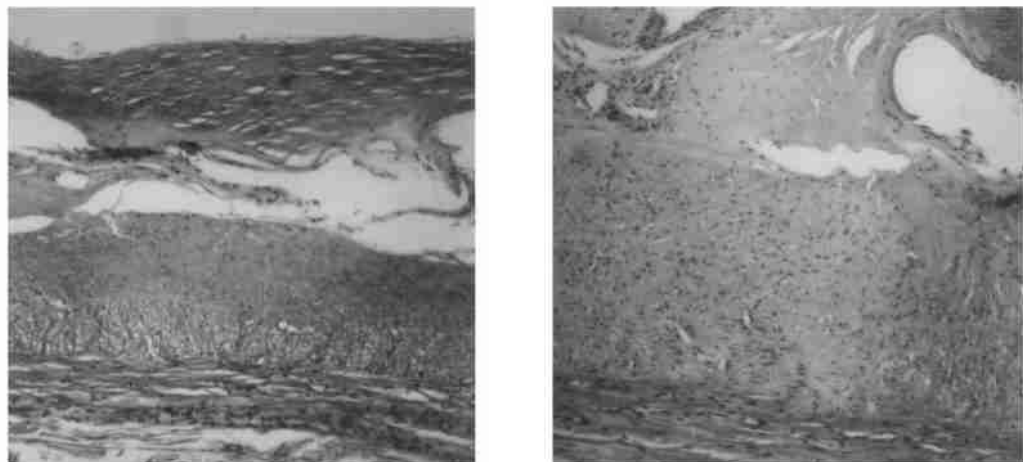


图 2 DXM 支架(左)和裸支架(右)显微镜下观察: 标本为同一只狗, 支架植入后 24 周, 在 DXM 支架内膜增生明显低于对照组, 但中膜萎缩较对照组稍重

晰可见, 其表面光滑、完整, 未见脱落及断裂。在 3 周以后呈现不同程度内膜增厚, 内膜表面光滑, 未见附壁血栓, 支架与正常血管间交界明显, 随时间推移, 内膜进一步增厚。一部分 DXM 支架能观察内膜呈小丘状增生。所有 DXM 支架和对照组血管周围炎症不明显。

(二) 裸支架组 所有裸支架保持开通, 未见血栓形成, 从 3 周到 24 周所有支架都显现由于内膜增生而不同程度的管腔狭窄。

(三) 不含药物被膜支架组 2 个不含药物被膜支架分别在第 6 周和 12 周取材, 支架完全被包埋在新生内膜下, 管腔狭窄, 未见附壁血栓。

(四) 显微镜下观察 所有的被膜支架及裸支架, 都达到内弹力层, 由于植入时机机械压迫作用, 可观察到部分内弹力层断层, 伴有内膜内出血现象。由于化学染色的原因, 多聚物在光学显微镜下未能观察到。在植入 1 周后标本显示正常的血管结构,

未见新生内膜, 植入 3~6 周后, 观察到新生内膜, 主要由含有丰富细胞的纤维组织组成, 所有支架都存在中膜轻度萎缩。炎症反应在 DXM 支架组和对照组都存在, 但在 DXM 组更加严重。随时间推移, 内膜增生加重, 晚期内膜增生中细胞成分减少, 纤维化加重, 逐渐变成纤维瘢痕组织。

### 三、显微镜下测量结果

(一) DXM 支架与裸支架 新生内膜厚度: 在 3、6、12 和 24 周 DXM 支架新生内膜厚度分别为:  $170\mu\text{m}$ 、 $199\mu\text{m}$ 、 $181\mu\text{m}$  和  $183\mu\text{m}$ , 而裸支架组在相应时间段新生内膜分别为:  $213\mu\text{m}$ 、 $259\mu\text{m}$ 、 $262\mu\text{m}$  和  $263\mu\text{m}$ 。与裸支架组对比, DXM 支架新生内膜明显小于对照组 ( $Wilcoxon\ test\ P < 0.05$ )。在第 3 周减少了 26%, 在第 6、12 和 24 周新生内膜分别减少了 23%、31% 和 30%。

中膜厚度: 在 DXM 支架平均中膜厚度第 3 周为  $246\mu\text{m}$ , 第 6、12 和 24 周分别为  $199\mu\text{m}$ 、 $236\mu\text{m}$  和

116.9 $\mu\text{m}$ , 裸支架在第 3、6、12 和 24 周中膜厚度为: 261 $\mu\text{m}$ 、241 $\mu\text{m}$ 、181 $\mu\text{m}$  和 299 $\mu\text{m}$  两组无显著性差异。

(二) 不含药物被膜支架与裸支架 在不含药物被膜支架中平均内膜厚度为 258.8 $\mu\text{m}$ , 中膜厚度为 251.3 $\mu\text{m}$ , 而对照组内膜厚度为 278.5 $\mu\text{m}$ , 中膜厚度为 265.2 $\mu\text{m}$ 。

## 讨 论

早期血管内血栓形成所致的血管急性阻塞, 可以通过血小板抑制剂或抗凝药物预防, 但对于内膜增生所致的介入治疗后再狭窄, 缺少有效的预防措施。虽然许多药物在实验室中细胞环境被证明能有效抑制细胞增生, 但在临床上未能达到理想的效果, 当然包括地塞米松这类药物。

地塞米松是一种类固醇药物, 临床上被用来抗炎及抗纤维化, 在细胞环境下, 证明其有明显的抑制人类平滑肌细胞的增生, 地塞米松通过抑制 PTA 术后血管局部炎症反应, 而减少血小板内膜增生, 抑制白细胞在局部的粘连、聚集, 减少血小板生长因子 (PDGF) 的释放, 通过抑制细胞因子 IL-1 $\beta$ , 抑制核蛋白生成, 而核蛋白是细胞生长不可缺少部分, 从而使细胞生长停滞, 抑制成纤维细胞和巨噬细胞连接铁蛋白, 而影响细胞外基质的合成。

在动物实验中, 氢化考的松能抑制动脉粥样斑块的形成, 可以通过术前、术后肌肉注射大剂量的地塞米松减少内膜增生, 而另一方面长期应用氢化考的松在小白鼠能促进动脉粥样硬化的形成, 这些相互矛盾的结果似乎反映在所应用的剂量上。动物实验中, 可以使用不同剂量的氢化考的松, 而在临床应用中, 全身用药的剂量和时间都因为这类药物的不良反应而受到限制。局部在血管和血管壁内使用 DXM 支架得出不同的结果, 用手术方法在血管周围留置含 DXM 多聚物, 能减少周围组织炎症反应, 减少瘢痕组织形成, 但不能影响内膜增生。而在小白鼠颈动脉内膜损伤模型中, 血管外膜下应用 DXM, 能明显抑制的内膜增生。

我们的结果说明, 药物被膜支架似乎有血栓形成的危险性, 这是由于被膜支架表面不光滑, 更容易引起血小板聚集和产生涡流。因此术后需要抗凝治疗, 但在我们不含药物的被膜支架并未发生血栓。所以根据我们现有的资料并不能排除 DXM 支架高的血栓形成发生率可能是由于地塞米松与多聚物结合所产生的, 这需进一步的研究。

我们在造影和显微镜下测量结果都表明, DXM 支架能有效地减少新生内膜增生, 与对照组对比, DXM 支架减少新生内膜厚度约 33%, 其结果优于其他在血管周围局部用药的动物实验结果, 这可能归于我们在局部所用高浓度的药物支架。

本实验结果表明 DXM 支架有明显的抑制新生内膜增生, 但也可能是由于支架基质多聚物作为被膜起一屏障作用, 而阻止中膜平滑肌细胞向内膜迁移。虽然本研究中不含药物被膜支架, 内膜增生比 DXM 支架更明显, 本实验没有证明这一假设, 并且临床上应用被膜支架也未能降低血管再狭窄率。

本实验的限制是没有测量 DXM 支架血浆及组织内浓度。目前仅仅是从体外实验所获得药物的释放曲线。体外实验证明大约一半的药物释放在血液中, 一半的药物停留在血管组织内, 除此以外本实验是利用正常狗血管模型, 狗在血管损伤过程中, 生理及病理反应, 更类似人类。但实验的结果是否能反应临床应用结果, 进一步的研究需要在血管狭窄动物模型上应用。

## 参 考 文 献

1. Voisard R, Seitzer U, Baur R, et al. Corticosteroids agents inhibit proliferation of smooth muscle cell from human atherosclerotic arteries in vitro. *Int J Cardiol*, 1994, 43: 257-267.
2. Pepine C J, Hirshfeld J W, Macdonald R G, et al. A controlled trial of corticosteroids to prevent restenosis after coronary angioplasty. *Circulation*, 1990, 1753-1761.
3. Villa AE, Guzman LA, Chen W, et al. Local delivery of dexamethasone for prevention of neointimal proliferation in a rat model of balloon angioplasty. *J Clin Invest*, 1994, 93: 1243-1249.
4. Cronstein BN, Kimmel SC, Levin RI, et al. A mechanism for the antiinflammatory effects of corticosteroids: the glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial leukocyte adhesion molecule 1 and intercellular adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 89: 1991-1995.
5. Libby P, Hansson GK. Involvement of the immune system in human atherosclerosis. *Lab Invest*, 1990, 64: 5-15.
6. 16, Jonat C, Rahmsdorf HJ, Park KK, et al. Antitumor promotion and antiinflammation: down modulation of AP-1 (Fox/jun) activity by glucocorticoid hormone. *Cell*, 1990, 62: 1189-1204.
7. Welgus HG, Campbell EJ, Cury JD, et al. Neutral metalloproteinases produced by human macrophages: enzyme profile, regulation and expression during cellular development. *J Clin Invest*, 1990, 86: 1492-1502.
8. Lincoff A M, Furst JG, Ellis S G, et al. Sustained local drug delivery by a novel intravascular eluting stent to prevent restenosis in the porcine coronary artery. *JACC*, 1994, 23, suppl A (Abstract) 18A.

(收稿日期: 2000-01-26)