

BMP4 在合并糖尿病的冠状动脉旁路移植术患者原位静脉桥病变中的作用*

张洪伟, 古 君, 张尔永, 郭应强, 武 忠, 千昌平, 范康钧, 肖正华, 胡 佳[△]

四川大学华西医院 心脏大血管外科 (成都 610041)

【摘要】 目的 观察合并糖尿病的冠状动脉旁路移植术(CABG)患者大隐静脉的形态学变化以及骨形态发生蛋白-4(BMP4)在其管壁中的表达与分布情况,初步探讨 BMP4 在合并糖尿病患者 CABG 术后静脉桥病变进展中的潜在作用。方法 前瞻性配对纳入 2013 年 1 月至 2014 年 12 月于我院接受 CABG 的 40 例血糖正常患者和 40 例合并 2 型糖尿病的患者,并根据糖尿病患者是否需胰岛素治疗分为非胰岛素依赖组($n=24$)和胰岛素依赖组($n=16$)。应用 HE 染色测算各组患者静脉桥血管壁的形态学参数,Western blot 和免疫组化技术观察 BMP4 在各组患者静脉管壁中的表达及分布情况。结果 糖尿病患者大隐静脉内膜和中膜增生较非糖尿病患者显著。免疫组化显示 BMP4 主要表达于静脉中膜平滑肌细胞,而 BMP4 表达量在糖尿病患者大隐静脉管壁内较非糖尿病患者增高($P<0.05$)。糖尿病患者静脉桥中 BMP4 的表达量与其内膜厚度($r=0.655, P<0.01$)、内膜面积($r=0.684, P<0.01$)、中膜厚度($r=0.642, P<0.01$)、中膜面积($r=0.692, P<0.01$)均呈明显正相关。结论 合并糖尿病的 CABG 患者大隐静脉内膜和中膜增生程度与管壁内 BMP4 高表达中度相关,而 BMP4 可能在此类患者静脉桥加速失效进程中发挥了重要的促进作用。以 BMP4 为靶点的治疗策略是否有助于改善糖尿病患者 CABG 术后静脉桥通畅率值得深入研究。

【关键词】 骨形态发生蛋白-4 糖尿病 大隐静脉 冠状动脉旁路移植术

The Association Between Bone Morphogenic Protein-4 and *in-situ* Saphenous Vein Graft Pathology in Diabetic Patients Undergoing Coronary Revascularization ZHANG Hong-wei, GU Jun, ZHANG Er-yong, GUO Ying-qiang, WU Zhong, GAN Chang-ping, FAN Kang-jun, XIAO Zheng-hua, HU Jia[△]. Department of Cardiovascular Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

[△] Corresponding author, E-mail: humanjia@msn.com

【Abstract】 **Objective** This study was designed to assess the expression levels of bone morphogenic protein-4 (BMP4) in saphenous veins harvested from diabetic patients undergoing coronary artery bypass grafting (CABG), and to investigate its association with *in-situ* morphological and pathological changes within the venous wall. **Methods** From January 2013 to December 2014, forty patients with type 2 diabetes mellitus (DM) and risk factors matched non-DM controls ($n=40$) were enrolled prospectively. Of the 40 DM patients, 24 had noninsulin-dependent diabetes (NIDDM) and the remaining 16 had insulin-dependent diabetes (IDM). Segments of saphenous vein without surgical dilatation from these 80 patients were obtained. Vessel wall characteristics were evaluated by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the expression and distribution of BMP4 was assessed by Western blot assay and immunohistochemistry analysis. **Results** The intimal and medial thickness of the saphenous veins harvested from DM patients were higher than those from non-DM controls. Compared with non-DM patients, the expression level of BMP4 was significantly elevated in diabetic veins ($P<0.05$), and BMP4 was highly expressed in smooth muscle cells located in the medial layer. Moreover, the expression levels of BMP4 in diabetic veins were significantly correlated with intimal thickness ($r=0.655, P<0.01$), intimal area ($r=0.684, P<0.01$), medial thickness ($r=0.642, P<0.01$) and medial area ($r=0.692, P<0.01$). **Conclusion** The pre-existing intimal and medial hyperplasia were significantly correlated with the high expression levels of BMP4 in saphenous veins harvested from diabetic patients, implying a potential role of BMP4 in the progression of vein graft stenotic diseases in this cohort of post-CABG patients. Future studies were warranted in investigating novel therapeutic strategy targeting at BMP4 for improving long-term vein graft patency.

【Key words】 Bone morphogenic protein-4 Diabetes Saphenous vein grafts Coronary artery bypass grafting

* 国家自然科学基金(No. 81300155, No. 81470481)资助

[△] 通信作者, E-mail: humanjia@msn.com

冠状动脉旁路移植术 (coronary artery bypass grafting, CABG) 是治疗合并糖尿病 (diabetic mellitus, DM) 的冠脉多支病变患者的理想方法^[1]。自体大隐静脉作为 CABG 主要的桥血管材料被广泛应用于临床^[2], 但其远期通畅率欠佳, 严重影响手术疗效。据报道, 25% 的静脉桥在术后 12~18 个月失效^[2-3], 约 50% 的静脉桥在术后 10 年内完全闭塞^[1-3]。对于合并有 DM 的 CABG 术后患者, 其术后远期静脉桥失效率显著高于同期手术的非糖尿病 (non-diabetic mellitus, non-DM) 患者^[2]。我们前期研究发现, 骨形态发生蛋白-4 (bone morphogenic protein-4, BMP4) 与 DM 患者大隐静脉内皮细胞功能障碍密切相关^[4-5], 但 BMP4 与高糖环境下静脉管壁内结构细胞病理改变的联系鲜见报道。本研究旨在通过分析合并 DM 的 CABG 患者原位大隐静脉桥血管的形态学变化以及 BMP4 在静脉管壁中的表达与分布情况, 初步探讨 BMP4 在此类患者术后静脉桥狭窄性病变进展中的潜在作用。

1 材料和方法

1.1 临床资料

按照美国糖尿病学会 2 型 DM 诊断标准^[6], 前瞻性纳入 2013 年 1 月至 2014 年 12 月间于我院行

择期 CABG 的 DM 患者 40 例, 并按性别、(年龄±5) 岁、体质量指数±10%、血脂、高血压、吸烟史的配对条件和 1:1 频数匹配同期行 CABG 的 non-DM 患者 ($n=40$)。此外, 根据 DM 患者中胰岛素治疗情况^[7]将其分为胰岛素依赖糖尿病亚组 (insulin-dependent diabetes, IDM, $n=16$) 和非胰岛素依赖糖尿病亚组 (noninsulin-dependent diabetes, NIDM, $n=24$)。患者围术期详细资料见表 1。DM 患者的空腹血糖水平及糖化血红蛋白 (HbA1c) 均较 Non-DM 患者高, 且差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。余变量两组间差异无统计学意义。本研究经四川大学华西医院伦理委员会批准实施 (No. 2014129), 所有患者术前均签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 静脉桥血管采集和制备 术中采用无接触技术直视下游离大隐静脉, 截取远心端 2 cm 未扩张的静脉作为标本, 去除血管外脂肪及结缔组织后置于低温无菌磷酸盐缓冲液 (PBS, pH=7.4) 中清洗, 血管标本一段存入体积分数 4% 甲醛溶液固定, 另一段置于 -196 °C 液氮冷冻保存后送回实验室。

1.2.2 Western blot 分析 BMP4 表达水平差异 用 RIPA 裂解液提取静脉组织总蛋白, 7 000×g 离心 10 min 后取上清, 用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度。

表 1 患者围手术期临床资料

Table 1 Baseline and perioperative characteristics of patients

Variable	Non-DM group ($n=40$)	DM group		
		Total ($n=40$)	NIDM ($n=24$)	IDM ($n=16$)
Age/yr.	62±13.36	61±12.65	61±10.01	61±16.20
Male/case (%)	25 (62.5)	25 (62.5)	15 (62.5)	10 (62.5)
Body mass index/(kg/m ²)	24.22±3.57	24.76±3.53	23.90±3.11	24.81±2.20
NYHA functional class	2.23±0.50	2.30±0.47	2.29±0.46	2.33±0.52
Unstable angina/case (%)	23 (57.5)	31 (77.5)	18 (75.0)	13 (81.3)
Previous MI/case (%)	12 (30.0)	22 (55.0)	14 (58.3)	8 (50.0)
Previous PCI/case (%)	11 (27.5)	13 (32.5)	8 (33.3)	5 (31.3)
LV end diastolic diameter/mm	48.18±8.32	47.35±8.47	45.56±9.11	49.06±7.12
LV ejection fraction/%	61.54±8.59	60.43±8.59	60.63±8.03	60.14±9.62
Fasting glucose/(mmol/L)	5.27±0.89	7.49±1.69*	7.26±1.68*	7.83±1.70*
HbA1c/%	5.74±0.65	7.12±1.13*	6.98±1.15*	7.35±1.09*
Total cholesterol/(mmol/L)	4.02±0.70	4.23±0.74	4.18±0.74	4.31±0.75
Triglyceride/(mmo/L)	1.73±0.58	2.17±0.76	2.09±0.71	2.30±0.83
High density lipoprotein/(mmol/L)	1.19±0.35	0.93±0.38	0.97±0.34	0.87±0.43
Low density lipoprotein/(mmol/L)	2.13±0.59	2.36±0.61	2.34±0.60	2.40±0.65
Current smoker/case (%)	9 (22.5)	5 (12.5)	4 (16.7)	1 (6.3)
Hypertension/case (%)#	21 (52.5)	23 (57.5)	13 (54.2)	10 (62.5)
Chronic renal failure/case (%)	1 (2.5)	3 (7.5)	1 (4.2)	2 (12.5)
COPD/case (%)	3 (7.5)	2 (5.0)	1 (4.2)	1 (6.3)

Systolic pressure≥140 mmHg and/or diastolic pressure≥90 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa); NYHA: New York Heart Association; MI: Myocardial infarction; PCI: Percutaneous coronary intervention; LV: Left ventricular; HbA1c: Glycosylated hemoglobin A1c; COPD: Chronic obstructive pulmonary disease; DM: Diabetic mellitus; Non-DM: Non-diabetic mellitus; NIDM: Noninsulin-dependent diabetes; IDM: Insulin-dependent diabetes. * $P<0.05$, vs. Non-DM group

取 50 μg 样品上层, 80 g/L SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、100 mA 稳流转膜过夜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h 后加入兔抗人 BMP4 抗体 (1 : 1 000 稀释) (美国 Abcam 公司), 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。洗膜后加入山羊抗兔 HRP-IgG (1 : 4 000), 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h, 洗膜后加入显影剂, 在暗室中显影, 底片经扫描仪透扫后凝胶分析软件分析, 结果以 BMP4 与甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 光密度的比值表示其相对表达量。

1.2.3 组织学检查

1.2.3.1 切片 将经体积分数 4% 甲醛溶液固定的静脉标本经乙醇梯度脱水、石蜡包埋后, 同段静脉取间隔相等的 3 处制备成 5 μm 厚度的血管断面切片。切片分别进行苏木精-伊红 (HE) 染色及免疫组织化学技术检测, 使用 OLYMPUS BX51 光学显微镜采集图像, 采用盲法由两名病理科医生测量相关指标。

1.2.3.2 常规 HE 染色分析大隐静脉管壁形态 石蜡切片经烘烤脱蜡、降梯度乙醇水化、苏木素染色 10 min、流水冲洗、0.5% 伊红染色 5 min、升梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封固。采图后应用 Image pro plus 软件测量每组静脉的内膜面积、中膜面积、内膜厚度和中膜厚度, 同段血管 3 处横断面测量均值为该段静脉形态学参数。

1.2.3.3 免疫组化技术 (SP 法) 分析大隐静脉中 BMP4 的表达 静脉石蜡切片脱蜡至水, 3% 过氧化氢淬灭内源性过氧化物酶 20 min, 0.01% PBS 洗涤 5 min \times 3 次, 进口羊血清工作液 (北京中杉金桥公司) 封闭 30 min, 1 : 100 BMP4 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBS 洗涤 5 min \times 4 次, 羊抗兔二抗试剂盒在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30 min, PBS 洗涤 5 min \times 3 次, 辣根酶标记

链霉卵白素工作液 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 洗涤 5 min \times 3 次, 二氨基联苯胺在显微镜下控制染色, 水洗, 苏木素复染细胞核, 流水冲洗, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 中性快干胶封片。在每张免疫染色切片中随机选择 4 个不重叠的高倍显微视野 (400 倍), 通过计算 BMP4 表达阳性的中膜平滑肌细胞 (smooth muscle cells, SMCs) 的比率 (SMCs-BMP4 阳性数 / SMCs 总数 \times 100%) 来间接反映各组患者静脉血管壁中 BMP4 表达的差异^[8]。

1.3 统计学方法

所有计量资料数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组数据比较前行方差齐性检验 (如方差不齐则先行变量变换), 再行方差分析或 t 检验; 计数资料的构成差异比较采用 χ^2 检验; 形态学参数为非正态分布, 采用 Mann-Whitney U 检验。采用 Pearson's χ^2 法分析 DM 患者静脉管壁中 BMP4 含量与其形态参数的相关性。 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 大隐静脉管壁形态学分析

由表 2 和图 1 可见, non-DM 组患者静脉内膜连续完整, 内弹力层皱褶规律, 中层胶原及弹力纤维排列致密; NIDM 组患者静脉内膜稍厚, 中膜弹力纤维排列紊乱; IDM 组患者静脉内膜皱褶, 中膜增厚明显, 肌纤维排列稀疏、断裂, 血管组织间隙增大 (显微镜放大 200 倍, 虚线处为中膜与外膜及内膜的边界)。DM 组患者的静脉血管壁中、内膜厚度及面积均明显高于 non-DM 组患者静脉血管相应形态学参数。此外, DM 患者中 IDM 亚组患者的静脉管壁中、内膜增殖性病理改变较 NIDM 亚组显著。

2.2 BMP4 蛋白在静脉管壁内的表达

表 2 各组患者静脉血管形态学参数

Table 2 Venous wall characteristics of patients in each group

Variable	Non-DM group ($n=40$)	DM group		
		Total ($n=40$)	NIDM ($n=24$)	IDM ($n=16$)
Intimal thickness/ μm	31.69 \pm 9.03	44.28 \pm 10.54*	40.71 \pm 9.84*	49.61 \pm 9.48*·#
Medial thickness/ μm	223.58 \pm 32.65	277.13 \pm 36.58*	262.79 \pm 33.16*	298.47 \pm 30.37*·#
Intimal area/ mm^2	0.096 \pm 0.014	0.122 \pm 0.016*	0.115 \pm 0.015*	0.131 \pm 0.013*·#
Medial area/ mm^2	0.392 \pm 0.106	0.488 \pm 0.105*	0.465 \pm 0.104*	0.521 \pm 0.088*·#

* $P < 0.05$, vs. non-DM group; # $P < 0.05$, vs. NIDM group

由图 2 可见, BMP4 蛋白在 DM 组患者静脉管壁内表达量明显高于 non-DM 组, 其内参灰度比值在 non-DM、NIDM 和 IDM 组中分别为 1.0 \pm 0.18, 2.11 \pm 0.23 和 2.72 \pm 0.27 ($P < 0.05$)。此外, 免疫组化染色分析发现 BMP4 蛋白在中膜 SMCs 中阳

性表达明显, 其中 BMP4 表达阳性的 SMCs 比例在 IDM 患者组中高于 NIDM 组患者 [(45.79 \pm 4.06)% vs. (26.25 \pm 3.14)%], $P < 0.05$, 而在 non-DM 患者组中 BMP4 表达阳性的 SMCs 仅为 (5.87 \pm 1.12)% (图 3)。

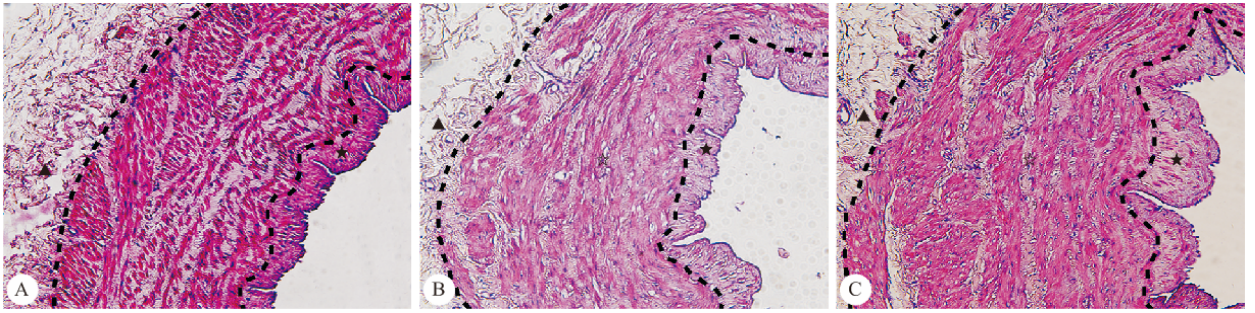


图 1 各组患者静脉管壁形态学分析。HE ×200

Fig 1 Venous wall morphology of patients in each group. HE ×200

A: Non-DM group; B: NIDM group; C: IDM group. ▲ Adventitia; ☆ Tunica media vasorum; ★ Tunica intima vasorum

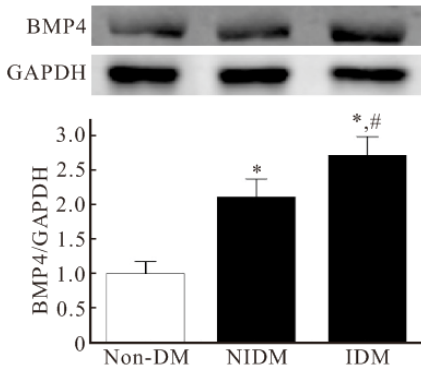


图 2 Western blot 检测 BMP4 在各组患者静脉管壁内的表达

Fig 2 The BMP4 expression of venous wall in each group by Western blot

* $P < 0.05$, vs. non-DM; # $P < 0.05$, vs. NIDM

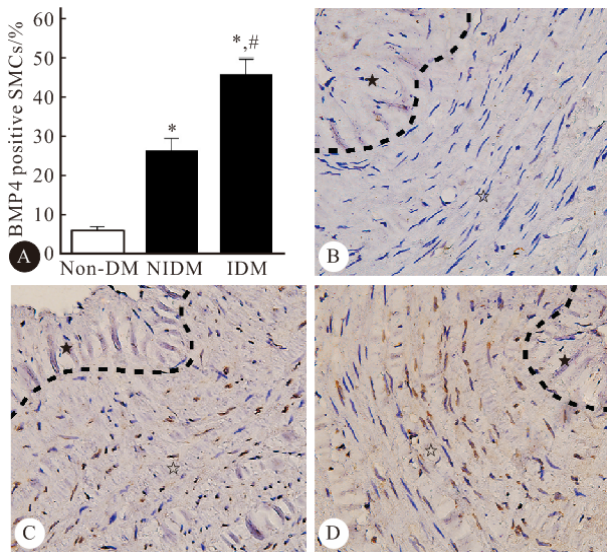


图 3 BMP4 在各组患者静脉管壁内的表达。SP ×400

Fig 3 The BMP4 expression of venous wall in each group of patients. SP ×400

A: The expression levels of BMP4 positive SMCs in venous wall; B: Non-DM group; C: NIDM group; D: IDM group. * $P < 0.05$, vs. non-DM; # $P < 0.05$, vs. NIDM. ▲, ☆, ★ denote the same in fig 1

2.3 BMP4 含量与静脉管壁形态参数的相关性

由图 4 可见,DM 患者中,静脉管壁内 BMP4 含量与血管内膜厚度($r=0.655, P < 0.01$)、中膜厚度($r=0.642, P < 0.01$)、内膜面积($r=0.684, P < 0.01$)和中膜面积($r=0.692, P < 0.01$)均呈明显的正相关。

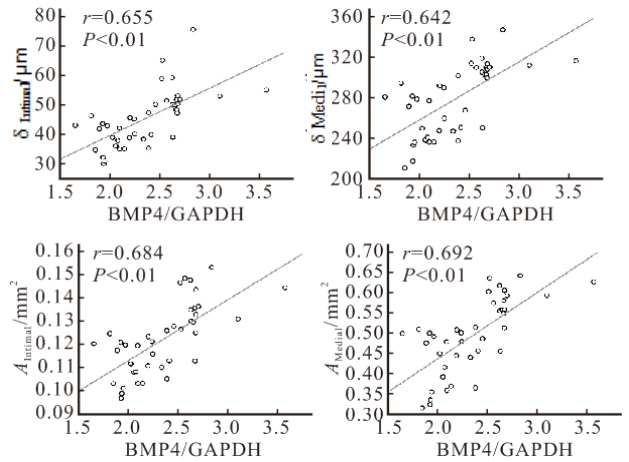


图 4 BMP4 含量与静脉管壁形态参数的相关性分析

Fig 4 Correlation between BMP4 expression and venous wall morphological changes

3 讨论

为有效降低 DM 患者 CABG 术后静脉桥再狭窄发生率,当前众多研究均关注于改进术中桥血管获取和靶血管吻合技术、优化术后药物治疗方案和严格控制血糖等方面^[9]。然而,关于此类患者术前静脉桥血管原位病变与其术后通畅率的潜在联系并采取针对性措施的研究鲜有报道^[4-5]。本研究中,我们发现 DM 患者大隐静脉内膜和中膜较 non-DM 患者明显增厚,且管壁增厚程度与血管组织内 BMP4 的高表达中度相关。既往研究已证实^[10-11],

CABG 术前桥血管中膜及新生内膜增生是静脉桥术后管腔内进行性狭窄加剧的独立危险因素。因此,研究 BMP4 与合并 DM 的患者 CABG 术前大隐静脉桥管壁内病理增殖性改变的潜在联系,对于理解此类患者静脉桥加速失效的潜在机制和探索相关治疗靶点具有重要意义。

相较于口服降糖药物治疗的患者,1DM 患者往往具有更长的病程和更严重的胰岛素抵抗,且后者对我国糖尿病人群中普遍欠缺的自我血糖监测能力更为倚重^[12]。所以,在本组 DM 患者中,我们观察到 1DM 亚组 HbA1c 水平有高于 NIDM 亚组的趋势。前期研究发现^[4],在不同条件培养下的人脐静脉内皮细胞中 BMP4 的表达水平呈糖浓度依赖型升高。此外,在一系列 DM 患者及动物模型研究中均证实,高血糖水平可通过晚期糖基化终末产物以及氧自由基等活性因子促进血管组织内 BMP4 表达^[4,13-14]。同样本研究中,我们也发现 non-DM、NIDM 及 1DM 3 组患者中静脉管壁内 BMP4 含量逐渐增加,并与其 HbA1c 测值升高趋势一致。这些结果表明,CABG 患者原位静脉桥管壁内 BMP4 的高表达与其既往血糖水平升高密切相关。

近年研究发现^[15-16],BMP4 表达上调与动脉管壁内结构细胞增殖关系密切。在大鼠肺动脉高压模型中^[15],血清 BMP4 表达水平的增加会刺激肺动脉中层 SMCs 由收缩表型向合成表型转化,继而促使 SMCs 增殖迁移^[16]。与此类似,RICHES 等^[17]发现 DM 患者大隐静脉中膜的 SMCs 表型转化是此类患者静脉桥增殖重构进程加速的基础,SMCs 从血管中膜向内膜增殖、迁移及合成大量细胞外基质,导致血管顺应性降低及血管壁增厚。在本研究中,BMP4 主要表达在 DM 患者大隐静脉中膜的 SMCs 胞浆中,且 DM 组两个亚组的静脉中膜均表现出不同程度的弹力纤维排列紊乱、平滑肌纤维稀疏、血管组织间隙增大,导致 DM 组静脉管壁中膜及内膜较 non-DM 组明显增厚,且管壁增厚程度与 BMP4 的表达量呈正相关。因此,我们推测 BMP4 可能通过诱导 DM 患者术前静脉管壁中膜 SMCs 的增殖迁移,促使静脉桥中膜及内膜发生增厚,导致静脉桥在 CABG 术后动脉化进程中更易于发生管腔狭窄。

本研究纳入对象为单中心患者,样本量偏小;BMP4 高表达水平与 DM 患者原位静脉桥病理改变的一致性仅为观察性结果,尚缺乏机制性研究证据支持其因果联系。此外,BMP4 在 DM 患者冠脉术

后静脉桥增殖重构进程中的潜在作用仍有待长期随访观察予以证实。

综上所述,合并 DM 的 CABG 患者大隐静脉内膜和中膜增生程度与管壁内 BMP4 高表达中度相关,而 BMP4 可能在此类患者静脉桥加速失效进程中发挥了重要的促进作用。以 BMP4 为靶点的治疗策略是否有助于改善 DM 患者 CABG 术后静脉桥通畅率值得深入研究。

参 考 文 献

- [1] PARK SJ, AHN JM, KIM YH, *et al.* Trial of everolimus-eluting stents or bypass surgery for coronary disease. *N Engl J Med*,2015,372(13):1204-1212.
- [2] HESS CN, LOPES RD, GIBSON CM, *et al.* Saphenous vein graft failure after coronary artery bypass surgery: insights from PREVENT IV. *Circulation*,2014,130(17):1445-1451.
- [3] GARATTI A, CASTELVECCHIO S, CANZIANI A, *et al.* Long-term results of sequential vein coronary artery bypass grafting compared with totally arterial myocardial revascularization: a propensity score-matched follow-up study. *Eur J Cardiothorac Surg*,2014,46(6):1006-1013.
- [4] HU J, LIU J, HUANG Y, *et al.* Bone morphogenetic protein-4 contributes to venous endothelial dysfunction in diabetic patients undergoing coronary revascularization. *Ann Thorac Surg*,2013,95(4):1331-1339.
- [5] HU J, ZHAO JJ. Bone morphogenetic protein-4: a potential novel target for preventing vein graft failure in coronary revascularization. *Med Hypotheses*,2013,81(6):1025-1028.
- [6] American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*,2015,38(Suppl):S8-S16.
- [7] SUZUKI T, ASAI T, NOTA H, *et al.* Similar outcome in insulin-dependent and noninsulin-dependent diabetic patients after off-pump coronary artery bypass grafting with multiple skeletonized arterial conduits. *Ann Thorac Surg*, 2015, 99(5):1562-1567.
- [8] GEORGE SJ, WAN S, HU J, *et al.* Sustained reduction of vein graft neointima formation by *ex vivo* TIMP-3 gene therapy. *Circulation*,2011,124(11 Suppl):S135-S142.
- [9] IQBAL J, ZHANG YJ, HOLMES DR, *et al.* Optimal medical therapy improves clinical outcomes in patients undergoing revascularization with percutaneous coronary intervention or coronary artery bypass grafting: insights from the Synergy Between Percutaneous Coronary Intervention with TAXUS and Cardiac Surgery (SYNTAX) trial at the 5-year follow-up. *Circulation*,2015,131(14):1269-1277.
- [10] PEREK B, MALINSKA A, STEFANIAK S, *et al.* Predictive factors of late venous (下转第 754 页)

- [6] 唐 振, 周 英, 李明霞. 早产儿喂养不耐受临床特征分析. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(8): 627-630.
- [7] 朱绪亮, 杨嘉琛, 张 俊, 等. 早产儿喂养不耐受的发病率和临床特征分析. 延安大学学报(医学科学版), 2013, 11(1): 36-37.
- [8] 卢 明, 郑艳平. 早产儿喂养不耐受的临床特征及影响因素研究. 中国现代医药杂志, 2013, 15(9): 77-78.
- [9] 徐 婧, 黄润中, 黄建伟, 等. 早产儿喂养不耐受的危险因素分析. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(8): 586-588.
- [10] 马彩婷. 早产儿喂养不耐受的临床特征及影响因素研究. 临床合理用药, 2013, 6(2C): 6-7.
- [11] 杨 坤, 张玉霞. 早产儿喂养不耐受的影响因素分析. 中国实用医药, 2015, 10(4): 240.
- [12] 余章斌, 韩树萍, 陈玉林, 等. 我国早产儿喂养不耐受危险因素的 Meta 分析. 中国新生儿科杂志, 2010, 25(6): 346-350.
- [13] MEIER PP, ENGLSROM JL, PATEL AL, *et al.* Improving the use of human milk during and after the NICU stay. *Clin Perinatol*, 2010, 37(1): 217-245.
- [14] 冯 琪. 促进住院早产儿母乳喂养. 中国新生儿科杂志, 2011, 26(3): 145-147.
- [15] JADCHERLA SR, DAIL J, MALKAR MB, *et al.* Impact of process optimization and quality improvement measures on neonatal feeding outcomes at an all-referral neonatal intensive care unit. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2016, 40(5): 646-655.
- [16] 林明珠, 古爱香, 陈丽梅, 等. 非合并症早产儿喂养困难的护理研究. 中国实用护理杂志, 2010, 26(11): 38-39.

(2015-12-21 收稿, 2016-04-07 修回)

编辑 吕 熙

(上接第 742 页)

- aortocoronary graft failure: ultrastructural studies. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70628 [2015-08-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3734237/>. doi: 10.1371/journal.pone.0070628.
- [11] KON ZN, WHITE C, KWON MH, *et al.* The role of preexisting pathology in the development of neointimal hyperplasia in coronary artery bypass grafts. *J Surg Res*, 2007, 142(2): 351-356.
- [12] 高蕾莉, 纪立农, 陆菊明, 等. 2009~2012 年我国 2 型糖尿病患者药物治疗与血糖控制状况调查. 中国糖尿病杂志, 2014, 22(7): 594-598.
- [13] KIM MK, JANG EH, HONG OK, *et al.* Changes in serum levels of bone morphogenetic protein 4 and inflammatory cytokines after bariatric surgery in severely obese Korean patients with type 2 diabetes. *Int J Endocrinol*, 2013(2013): 681205 [2015-04-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3792548/>. doi: 10.1155/2013/681205.
- [14] MA M, GUO X, CHANG Y, *et al.* Advanced glycation end products promote proliferation and suppress autophagy via reduction of Cathepsin D in rat vascular smooth muscle cells. *Mol Cell Biochem*, 2015, 403(1/2): 73-83.
- [15] YANG J, LI X, AL-LAMKI RS, *et al.* Smad-dependent and smad-independent induction of id1 by prostacyclin analogues inhibits proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells *in vitro* and *in vivo*. *Circ Res*, 2010, 107(2): 252-262.
- [16] DAVIS-DUSENBERY BN, CHAN MC, RENO KE, *et al.* Down-regulation of Kruppel-like factor-4 (KLF4) by microRNA-143/145 is critical for modulation of vascular smooth muscle cell phenotype by transforming growth factor-beta and bone morphogenetic protein 4. *J Biol Chem*, 2011, 286(32): 28097-28110.
- [17] RICHES K, ALSHANWANI AR, WARBURTON P, *et al.* Elevated expression levels of miR-143/5 in saphenous vein smooth muscle cells from patients with type 2 diabetes drive persistent changes in phenotype and function. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 74(100): 240-250.

(2015-10-11 收稿, 2016-03-02 修回)

编辑 汤 洁