

# Ang-1 模拟肽协同血管内皮生长因子对心肌梗死大鼠心脏功能的影响

王军珂<sup>1</sup> 宋思奇<sup>2</sup> 施春英<sup>2</sup> 于忠祥<sup>3</sup>

(1 青岛大学医学部, 山东 青岛 266071; 2 青岛大学基础医学院; 3 青岛大学附属青岛市海慈医院(青岛市中医院)心脏中心)

**[摘要]** 目的 观察心脏细胞外基质(c-ECM)结合胶原靶向血管内皮生长因子(CBD-VEGF)和 Ang-1 模拟肽(AMP)对心肌梗死大鼠心脏功能的影响。方法 对 AMP 行 MTT 体外人脐静脉内皮细胞(HUVEC)活性试验及对修饰了 Biotin 的 AMP(Bio-AMP)进行与 c-ECM 的结合试验。将 SD 大鼠行左前降支结扎构建心肌梗死模型,然后随机分为 PBS 组(A 组)、c-ECM/CBD-VEGF 组(B 组)和 CBD-VEGF/c-ECM/AMP 组(C 组),每组 4 只,分别于梗死部位注射 PBS、CBD-VEGF/c-ECM 和 CBD-VEGF/c-ECM/AMP 进行治疗。3 个月后采用超声心动图评价 3 组大鼠的心脏功能,采用免疫荧光染色方法检测 3 组大鼠心肌梗死区域血管数量、vWF 阳性面积比和 ZO1 阳性面积比。结果 MTT 试验检测结果显示,AMP 和 Ang-1 具有相似的促进 HUVEC 增殖的能力;结合实验结果显示,Bio-AMP 可以连接在 c-ECM 上。处理 3 个月后,C 组大鼠术后心脏射血分数(EF)显著高于 A 组和 B 组( $t=7.794, 3.613, P<0.05$ )。大鼠心肌梗死区域免疫荧光染色显示,C 组血管数量和 vWF 阳性面积比高于 A 组( $t=4.950, 22.390, P<0.05$ ),并且 C 组 vWF 阳性面积比显著高于 B 组( $t=11.400, P<0.05$ )。C 组和 B 组的 ZO1 阳性面积比明显高于 A 组( $t=13.290, 4.328, P<0.05$ ),C 组的 ZO1 阳性面积比明显高于 B 组( $t=8.243, P<0.05$ )。结论 将本研究合成的 CBD-VEGF/c-ECM/AMP 水凝胶注射于大鼠心肌梗死区域后具有促进大鼠心脏功能恢复和促进心肌梗死后血管再生及细胞连接的作用。

**[关键词]** 心肌梗死;脱细胞细胞外基质;血管内皮生长因子;Ang-1 模拟肽;射血分数;大鼠, *Sprague-Dawley*

**[中图分类号]** R542.22

**[文献标志码]** A

**EFFECTS OF Ang-1 MIMICKING PEPTIDE IN SYNERGY WITH VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR ON CARDIAC FUNCTION IN RATS WITH MYOCARDIAL INFARCTION** WANG Junke, SONG Siqi, SHI Chunying, YU Zhongxiang (Faculty of Medicine, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the effects of cardiac extracellular matrix (c-ECM) combined with collagen-binding vascular endothelial growth factor (CBD-VEGF) and Ang-1 mimicking peptide (AMP) on cardiac function in rats with myocardial infarction (MI). **Methods** MTT assay was used to measure the activity of AMP in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) *in vitro*, and the binding of Biotin-modified AMP (Bio-AMP) to c-ECM was tested. A myocardial infarction model was established by ligation of the left anterior descending artery in SD rats. The rats were randomly divided into PBS group (group A), c-ECM/CBD-VEGF group (group B), and CBD-VEGF/c-ECM/AMP group (group C), with four rats in each group. The rats were treated by injection of PBS, CBD-VEGF/c-ECM, or CBD-VEGF/c-ECM/AMP at the infarct site. After 3 months of treatment, echocardiography was used to evaluate the cardiac function of rats in the three groups. Immunofluorescence staining was used to determine the number of blood vessels as well as the ratios of vWF positive area and ZO1 positive area in the myocardial infarction area. **Results** MTT assay showed that AMP and Ang-1 had similar ability to promote the proliferation of HUVECs. The binding experiment showed that Bio-AMP could be attached to c-ECM. After 3 months of treatment, the ejection fraction was significantly higher in group C than in group A and group B ( $t=7.794, 3.613, P<0.05$ ). Immunofluorescence staining showed that the number of blood vessels and the ratio of vWF positive area were significantly higher in group C than in group A ( $t=4.950, 22.390, P<0.05$ ), and the ratio of vWF positive area was significantly higher in group C than in group B ( $t=11.400, P<0.05$ ). The ZO1 positive area ratio was significantly higher in group C and group B than in group A ( $t=13.290, 4.328, P<0.05$ ). The ZO1 positive area ratio was significantly higher in group C than in group B ( $t=8.243, P<0.05$ ). **Conclusion** Injection of the CBD-VEGF/c-ECM/AMP hydrogel synthesized in this study at the myocardial infarction area can promote the recovery of cardiac function and enhance angiogenesis and cell connection in rats after myocardial infarction.

**[KEY WORDS]** Myocardial infarction; Decellularized extracellular matrix; Vascular endothelial growth factor; Ang-1 mimicking peptide; Ejection fraction; Rats, *Sprague-Dawley*

**[收稿日期]** 2023-02-18; **[修订日期]** 2023-04-08

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(31670989)

**[通讯作者]** 于忠祥, Email: 15908925888@163.com; 施春英,

Email: schy1116@163.com

缺血性心脏病是全球范围内导致患者死亡的主要原因之一。在心肌缺血期间,局部的血液供应不

足会导致心肌细胞死亡和病理性重塑,进一步发展心力衰竭<sup>[1]</sup>。促血管生成治疗是指通过形成新生血管恢复缺血心肌的血液供应<sup>[2-4]</sup>。血管内皮生长因子(VEGF)是最重要的促血管生成因子之一,能够诱导体内新生血管的生长。然而在临床试验中发现,中低剂量的 VEGF 重组蛋白给药后由于其快速扩散不能在心肌梗死区域形成足够的有效浓度<sup>[5-8]</sup>。而高剂量的 VEGF 重组蛋白虽然有效却可能会引起患者严重的不良反应<sup>[9-10]</sup>。VEGF 主要作用于新生血管网形成早期,而血管生成素-1(Ang-1)在后期能够募集血管周细胞和平滑肌细胞,因此 Ang-1 能够有效促进血管的成熟<sup>[11]</sup>。Ang-1 模拟肽(AMP)为一段来源于 Ang-1 的特异性短肽 QHREDGS,可模拟 Ang-1 的活性,在体内及体外均具有与 Ang-1 相似的促血管形成的能力,可以抑制心肌细胞和间充质干细胞的凋亡<sup>[12-14]</sup>。因此,AMP 可模拟 Ang-1 的功能,在血管生成的过程中发挥与 VEGF 协同的作用。为了提高 VEGF 在缺血区的有效浓度,本研究使用可以与细胞外基质-胶原特异性结合的 CBD-VEGF 重组蛋白,以心脏细胞外基质(c-ECM)水凝胶作为生物支架,将 CBD-VEGF 以及 AMP 结合在 c-ECM 上,以构建 CBD-VEGF/c-ECM/AMP 水凝胶,将该水凝胶注射到大鼠心肌梗死模型梗死区域后,观察其对大鼠心脏功能的影响,以期能够为缺血性心脏病的治疗提供新方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

人脐静脉内皮细胞(HUVEC)和猪心脏由青岛大学基础医学院人体解剖与组织胚胎学实验室提供;8~10 周龄 SD 雄性大鼠共 12 只,体质量 200~260 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。AMP、Bio-AMP(修饰了 Biotin 的 AMP)购于生工生物工程(上海)股份有限公司;噻唑蓝(MTT)购于美国 Sigma 公司; $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)抗体、血管性血友病因子(vWF)抗体、胞质紧密粘连蛋白 1(ZO1)抗体购于英国 Abcam 公司。

### 1.2 c-ECM 的制备

将猪心脏切成小块,交替使用高渗/低渗 NaCl、胰蛋白酶、Triton-X-100 以及 SDS 溶液进行处理,去除心肌细胞,对脱细胞组织进行冷冻干燥后,获得 c-ECM,扫描电子显微镜下观察显示其结构空隙较大,可以被用于后续实验。将 c-ECM 研磨成细粉后置于胃蛋白酶和 HCl 混合溶液中,搅拌 48 h,与

NaOH 和 PBS 在 4 °C 下混合,然后于 37 °C 下反应 30 min,得到 c-ECM 水凝胶。

### 1.3 MTT 试验检测不同浓度的 AMP 和 Ang-1 对 HUVEC 活性的影响

取处于对数生长期 HUVEC 细胞,以 5 000 个/孔的密度接种于 48 孔板中,加入含有体积分数 0.10 胎牛血清的 DMEM 培养液。培养 8 h 以后,分别加入连续浓度梯度(0、25、50、100 nmol/L)的 Ang-1 和连续浓度梯度(0、25、50、100 nmol/L)的 AMP,置于细胞培养箱中培养 3 d,每个浓度设置 3 个复孔。取出 48 孔板,去除培养液,每孔加入 20  $\mu$ L 的 MTT,37 °C 下培养 4 h,吸出 MTT,再加入 150  $\mu$ L 二甲基亚砷,采用酶标仪测量波长 490 nm 处吸光度值,以吸光度值表示 HUVEC 活性。

### 1.4 Bio-AMP 和 c-ECM 结合实验

向 96 孔板中每孔加入 c-ECM 水凝胶 100  $\mu$ L,用 pH 为 8.0 含 4 mmol/L EDTA 的 PBS 洗涤 3 次后,每孔再加入配好的 Traut(2.5 g/L)试剂 100  $\mu$ L,室温反应 2 h,生成 Traut-c-ECM 凝胶复合物。在另一个 96 孔板中分别加入 0、25、50、100  $\mu$ mol/L 浓度梯度的 Bio-AMP,每孔 100  $\mu$ L,加入过量的 Sulfo-SMCC 室温反应 1 h,生成 Bio-AMP-Sulfo-SMCC 复合物。将上面生成的不同浓度 Bio-AMP-Sulfo-SMCC 复合物与 Traut-c-ECM 凝胶复合物混合后,室温孵育 1 h,作为实验组;同时将 0、25、50、100  $\mu$ mol/L 浓度梯度的 BSA 加入过量的 Sulfo-SMCC 中室温孵育 1 h,并与 Traut-c-ECM 凝胶复合物混合,室温孵育 1 h,为对照组。将 5% 的 BSA 溶液分别加入实验组和对照组中,室温封闭 1 h,再分别加入 S-AP,每孔 100  $\mu$ L,37 °C 下 100 r/min 反应 2 h。随后加入 P-NPP 室温反应 15 min,反应完毕后加 100  $\mu$ L 的 NaOH 溶液 0.2 mol/L 终止反应。用酶标仪测定波长 405 nm 处的吸光度值,对照组和实验组与 c-ECM 的结合力以吸光度值表示。每个浓度均设置 3 个复孔,结果取均值。

### 1.5 大鼠的分组及处理

大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后,常规手术找到冠状动脉左前降支,用 6-0 丝线结扎左前降支,构建心肌梗死模型。将模型构建成功的大鼠随机分为 PBS 组(A 组)、c-ECM/CBD-VEGF 组(B 组)和 CBD-VEGF/c-ECM/AMP 组(C 组),每组 4 只。A 组:将 100  $\mu$ L 的 PBS 溶液经心外膜注射到大鼠梗死部位;B 组:将 10  $\mu$ g CBD-VEGF 直接连接在 c-ECM 水凝胶上,后经心外膜注射到大

鼠梗死部位;C组:先将 10  $\mu\text{g}$  CBD-VEGF 直接连接在 c-ECM 水凝胶上,再通过化学交联剂与 10  $\mu\text{g}$  AMP 交联,然后经心外膜注射到大鼠梗死部位。最后 3 组大鼠均清除胸腔内积血并放置留置针,防止气胸,将胸壁逐层缝合消毒。用留置针抽吸胸腔内的气体和液体,之后取出留置针。术后连续 3 d 每只大鼠肌肉注射青霉素(160 万单位)和卡洛芬(2 mg/kg)。

### 1.6 超声检测各组大鼠的心脏功能

各组大鼠均于治疗后 3 个月时全身麻醉,经胸超声心动图进行检测。采用 EchoPacTM 软件对数据进行定量分析。以左心室射血分数(EF)为评价大鼠心脏功能的指标。

### 1.7 免疫荧光染色

将全麻的各组大鼠脱颈处死后,从心尖处注射生理盐水冲洗心脏后,取出心脏分离出心肌梗死的区域,切成碎块,固定于 40 g/L 多聚甲醛中 24 h,蔗糖脱水后 OCT 包埋,制备 5  $\mu\text{m}$  厚冰冻切片。分别用  $\alpha$ -SMA 抗体(1:400 稀释)、vWF 抗体(1:800 稀释)、ZO1 抗体(1:200 稀释)对切片进行染色后,置于荧光显微镜下观察、拍照,采用 Image J 软件进行数据处理,分别计算血管数量( $\alpha$ -SMA 抗体标记的数量)、vWF 阳性面积比和 ZO1 阳性面积比。

### 1.8 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计学分析。所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组比较采用两独立样本  $t$  检验;多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- $t$  检验,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同浓度的 AMP 和 Ang-1 对 HUVEC 活性的影响

在 AMP 和 Ang-1 浓度均为 0 nmol/L 时 HUVEC 的吸光度值分别为  $0.32 \pm 0.04$ 、 $0.40 \pm 0.02$ ,均为 25 nmol/L 的浓度时 HUVEC 的吸光度值分别为  $0.48 \pm 0.06$ 、 $0.55 \pm 0.04$ ,均为 50 nmol/L 的浓度时 HUVEC 的吸光度值分别为  $0.49 \pm 0.02$  和  $0.53 \pm 0.06$ ,均为 100 nmol/L 浓度时 HUVEC 的吸光度值分别为  $0.47 \pm 0.02$ 、 $0.45 \pm 0.01$ ,各处理浓度的吸光度值比较无显著差异( $P > 0.05$ )。

### 2.2 Bio-AMP 与 c-ECM 的结合力检测

结合实验检测结果显示,对照组中不同浓度的 BSA 与 c-ECM 的结合力比较均无显著性差异( $P >$

$0.05$ );在实验组中,随着 Bio-AMP 浓度升高,BSA 与 c-ECM 结合力逐渐升高( $F = 19.050, P < 0.05$ );组间比较显示,在 BSA 和 Bio-AMP 浓度均为 0.5、1.0 g/L 时,对照组和实验组的 BSA 与 c-ECM 的结合力比较差异具有显著意义( $t = 5.041, 5.148, P < 0.05$ ),在 BSA 和 Bio-AMP 浓度均为 0、0.25 g/L 时两组比较差异无显著性( $P > 0.05$ )。见表 1。

### 2.3 各组大鼠心脏功能比较

各组大鼠均处理 3 个月以后,心脏超声心动图检测结果显示,A~C 组的 EF 值分别为( $67.93 \pm 3.17$ )%、( $75.70 \pm 4.37$ )%和( $85.47 \pm 3.20$ )%,3 组间比较差异有显著性( $F = 23.610, P < 0.05$ ),组间两两比较差异均有显著性( $t = 2.855 \sim 7.794, P < 0.05$ )。

### 2.4 各组大鼠心肌梗死区域相关指标的比较

各组大鼠处理 3 个月后,免疫荧光染色检测结果显示,3 组大鼠心肌梗死区域的血管数量、vWF 阳性面积比和 ZO1 阳性面积比进行比较差异均有显著性( $F = 13.360 \sim 223.300, P < 0.05$ ),组间两两比较,心肌梗死区域 vWF 阳性面积比和 ZO1 阳性面积比差异均有显著性( $t = 4.328 \sim 22.390, P < 0.05$ ),血管数量方面进行比较,B组、C组与 A 组之间具有显著差异( $t = 3.500, 4.950, P < 0.05$ ),B组与 C 组无显著差异( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 1 BSA、Bio-AMP 与 c-ECM 的结合力比较( $n = 3, \bar{x} \pm s$ )

分组	0 g/L	0.25 g/L	0.5 g/L	1.0 g/L
对照组	$0.20 \pm 0.02$	$0.20 \pm 0.03$	$0.23 \pm 0.05$	$0.25 \pm 0.04$
实验组	$0.19 \pm 0.02$	$0.26 \pm 0.07$	$0.40 \pm 0.03$	$0.46 \pm 0.06$

表 2 3 组大鼠心肌梗死区域相关指标比较( $n = 4, \bar{x} \pm s$ )

分组	血管数量(个)	vWF 阳性面积比(X/%)	ZO1 阳性面积比(X/%)
A 组	$1.67 \pm 0.58$	$0.35 \pm 0.07$	$1.85 \pm 0.05$
B 组	$4.00 \pm 1.00$	$1.05 \pm 0.12$	$2.80 \pm 0.38$
C 组	$6.33 \pm 1.53$	$2.19 \pm 0.13$	$5.86 \pm 0.52$

## 3 讨论

全球人群中心血管系统疾病的发病率和死亡率逐年增高,其中心肌梗死和心力衰竭是死亡的主要原因之一<sup>[15]</sup>。虽然心肌梗死患者初次经皮冠状动脉介入治疗提高了早期生存率,但其 5 年生存率仅为 50%<sup>[3]</sup>。近年来,各种促血管生成的生长因子被广泛应用于缺血性心脏病的治疗<sup>[2,16]</sup>。然而,其疗效并不是很理想,可能因为这些研究只是以单个生长因子为研究对象,而忽略了其他生长因子的相互

影响,例如 Ang-1、血小板衍生生长因子等生长因子联合使用对稳定新生血管具有协同作用<sup>[17-18]</sup>。因此,多种因子联合使用的效果可能要优于单一生长因子的使用。

本研究生成的 c-ECM 水凝胶经扫描电子显微镜观察显示,其结构空隙较大,可以为内皮细胞的迁移、增生以及新生血管网的形成提供足够的空间支持,可以用于后续实验。本研究是以 c-ECM 水凝胶作为基质,并结合 CBD-VEGF 和 AMP,检测 CBD-VEGF/c-ECM/AMP 水凝胶对心肌梗死大鼠心脏功能的影响。目前治疗缺血性心脏病中常使用的生物材料有纤维蛋白<sup>[19]</sup>、透明质酸<sup>[20]</sup>、基质胶<sup>[21]</sup>、海藻酸盐<sup>[22]</sup>、壳聚糖<sup>[23]</sup>、自组装肽<sup>[24]</sup>、微球<sup>[25]</sup>等,这些生物材料本身也具有促进血管再生和心脏功能恢复的能力<sup>[26]</sup>。c-ECM 是通过脱细胞处理去除原有的心肌细胞组分,留下心脏组织细胞外基质的三维结构和关键的信号分子,这对于心脏组织工程发挥着重要的作用<sup>[27]</sup>。另外,c-ECM 具有可生物降解性、生物相容性和低免疫原性等优点<sup>[28]</sup>。在包括大鼠和猪的心肌梗死模型在内的多种体内模型中,注射 c-ECM 水凝胶后能够促进新生血管形成,保护心肌细胞,并且恢复心脏功能<sup>[29-31]</sup>。因此,本研究使用 c-ECM 作为生物支架携带 VEGF 和 AMP。

本研究通过 MTT 实验检测不同浓度的 AMP、Ang-1 对 HUVEC 活性的影响,其结果表明合成的 AMP 和 Ang-1 具有相似促进 HUVEC 增殖的能力,因此将 AMP 用于后续实验,可以保证实验效果。为了检测设计的 Bio-AMP 和 c-ECM 的结合能力,本研究使用 Traut 试剂与 c-ECM 交联,Sulfo-SMCC 和 Bio-AMP 化学交联,进而将 Bio-AMP 结合在 c-ECM 上,结果显示 Bio-AMP 与 c-ECM 的结合力较强,可以用于后续实验。以往研究表明,重组 VEGF 蛋白或 VEGF 基因治疗心肌缺血以后,可以增强缺血心肌侧支循环的血流量,并且改善心脏功能<sup>[6,32-33]</sup>。但是这种疗法的安全性还有待进一步提高,因为高剂量的 VEGF 有导致血管瘤形成的风险,并且 VEGF 的扩散也可能会引起其他严重不良反应。ZHANG 等<sup>[34]</sup>成功制备了一种由 VEGF 和 CBD 组成的融合蛋白 CBD-VEGF,并且实验证明融合蛋白 CBD-VEGF 能稳定地与 I 型胶原结合并维持 VEGF 的活性。而且 CBD-VEGF 能够聚集在梗死区域,保持 CBD-VEGF 的局部有效浓度,改善大鼠心肌梗死之后的心脏功能。另外,REIS 等<sup>[35]</sup>首次证明了 QHREDGS 多肽(即 AMP)修饰的水凝胶

可以显著改善心肌梗死后心脏功能。因此本研究把 CBD-VEGF 加载到 c-ECM 水凝胶上,并且通过化学交联将 AMP 连接在 c-ECM 水凝胶上,将其注射在大鼠心肌梗死的部位。为了评估大鼠心肌梗死区域血管生成的情况,本研究通过 vWF、 $\alpha$ -SMA 检测了心肌梗死区域血管新生状况,检测的结果显示,与 CBD-VEGF/c-ECM 进行比较,CBD-VEGF/c-ECM/AMP 能够显著促进更多的血管生成,并且心脏功能明显改善,提示 VEGF 和 AMP 在促进大鼠心肌梗死治疗中具有协同作用。紧密连接或闭合带可在上皮细胞和内皮细胞之间形成一个连续的屏障,能够阻断顶端和基底外侧细胞表面之间跨膜蛋白的运动<sup>[36]</sup>。ZO1 是一种接头蛋白,可将闭合蛋白和密封蛋白等跨膜连接蛋白结合到肌动蛋白细胞骨架上面<sup>[37]</sup>。因此 ZO1 对紧密连接的形成发挥不可或缺的作用。为了检测大鼠心肌梗死区域细胞之间的连接情况,本研究通过 ZO1 抗体对 ZO1 也进行了检测,其结果显示,心肌梗死模型大鼠经 CBD-VEGF/c-ECM/AMP 治疗以后,ZO1 阳性面积比显著高于经 CBD-VEGF/c-ECM 治疗大鼠,提示相较于 CBD-VEGF/c-ECM,CBD-VEGF/c-ECM/AMP 能够形成更多的细胞连接。

综上所述,本研究合成了 CBD-VEGF/c-ECM/AMP 水凝胶,该水凝胶通过心外膜注射到心肌梗死区域后可以显著促进心肌梗死区域血管再生,增强细胞之间的连接,并可促进心肌梗死后心脏功能的恢复,可能为临床上缺血性心脏病患者的治疗提供新的可能。

**伦理批准和动物权利声明:**本研究涉及的动物实验均已通过青岛大学医学部伦理委员会的审核批准(文件号 QDU-AEC-2023-365)。所有实验过程均遵照动物使用和护理指南的条例进行。

**作者声明:**王军珂、宋思奇、施春英、于忠祥参与了研究设计;王军珂、施春英、于忠祥参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

## [参考文献]

- [1] FRANTZ S, HUNDERTMARK M J, SCHULZ-MENGER J, et al. Left ventricular remodelling post-myocardial infarction: Pathophysiology, imaging, and novel therapies[J]. Eur Heart J, 2022,43(27):2549-2561.
- [2] COCHAIN C, CHANNON K M, SILVESTRE J S. Angiogenesis in the infarcted myocardium[J]. Antioxid Redox Signal, 2013,18(9):1100-1113.
- [3] DEVEZA L, CHOI J, YANG F. Therapeutic angiogenesis for treating cardiovascular diseases[J]. Theranostics, 2012,2(8):

801-814.

- [4] SEGERS V F, LEE R T. Protein therapeutics for cardiac regeneration after myocardial infarction[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2010,3(5):469-477.
- [5] JACQUIER A, HIGGINS C B, MARTIN A J, et al. Injection of adeno-associated viral vector encoding vascular endothelial growth factor gene in infarcted swine myocardium; MR measurements of left ventricular function and strain[J]. *Radiology*, 2007,245(1):196-205.
- [6] LOPEZ J J, LAHAM R J, STAMLER A, et al. VEGF administration in chronic myocardial ischemia in pigs[J]. *Cardiovasc Res*, 1998,40(2):272-281.
- [7] HENDEL R C, HENRY T D, ROCHA-SINGH K, et al. Effect of intracoronary recombinant human vascular endothelial growth factor on myocardial perfusion; Evidence for a dose-dependent effect[J]. *Circulation*, 2000,101(2):118-121.
- [8] HENRY T D, ANNEX B H, MCKENDALL G R, et al. The VIVA trial; Vascular endothelial growth factor in ischemia for vascular angiogenesis[J]. *Circulation*, 2003,107(10):1359-1365.
- [9] LEE R J, SPRINGER M L, BLANCO-BOSE W E, et al. VEGF gene delivery to myocardium; Deleterious effects of unregulated expression[J]. *Circulation*, 2000,102(8):898-901.
- [10] MATSUNO H, KOZAWA O, YOSHIMI N, et al. Lack of alpha2-antiplasmin promotes pulmonary heart failure via over-release of VEGF after acute myocardial infarction[J]. *Blood*, 2002,100(7):2487-2493.
- [11] RUFAlHAH A J, JOHARI N A, VAIBAVI S R, et al. Dual delivery of VEGF and ANG-1 in ischemic hearts using an injectable hydrogel[J]. *Acta Biomater*, 2017,48:58-67.
- [12] DANG L T, FERIC N T, LASCHINGER C, et al. Inhibition of apoptosis in human induced pluripotent stem cells during expansion in a defined culture using angiopoietin-1 derived peptide QHREDGS[J]. *Biomaterials*, 2014,35(27):7786-7799.
- [13] MIKLAS J W, DALLABRIDA S M, REIS L A, et al. QHREDGS enhances tube formation, metabolism and survival of endothelial cells in collagen-chitosan hydrogels[J]. *PLoS One*, 2013,8(8):e72956.
- [14] MANDLA S, DAVENPORT HUYER L, WANG Y F, et al. Macrophage polarization with angiopoietin-1 peptide QHREDGS[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2019,5(9):4542-4550.
- [15] BENJAMIN E J, MUNTNER P, ALONSO A, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: A report from the American heart association[J]. *Circulation*, 2019,139(10):e56-e528.
- [16] FORMIGA F R, TAMAYO E, SIMÓN-YARZA T, et al. Angiogenic therapy for cardiac repair based on protein delivery systems[J]. *Heart Fail Rev*, 2012,17(3):449-473.
- [17] CHEN F M, ZHANG M, WU Z F. Toward delivery of multiple growth factors in tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2010,31(24):6279-6308.
- [18] CARMELIET P, JAIN R K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis[J]. *Nature*, 2011,473(7347):298-307.
- [19] HUANG N F, YU J, SIEVERS R, et al. Injectable biopolymers enhance angiogenesis after myocardial infarction[J]. *Tissue Eng*, 2005,11(11-12):1860-1866.
- [20] IFKOVITS J L, TOUS E, MINAKAWA M, et al. Injectable hydrogel properties influence infarct expansion and extent of postinfarction left ventricular remodeling in an ovine model[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010,107(25):11507-11512.
- [21] OU L L, LI W Z, ZHANG Y, et al. Intracardiac injection of matrigel induces stem cell recruitment and improves cardiac functions in a rat myocardial infarction model[J]. *J Cell Mol Med*, 2011,15(6):1310-1318.
- [22] LEOR J, TUVIA S, GUETTA V, et al. Intracoronary injection of *in situ* forming alginate hydrogel reverses left ventricular remodeling after myocardial infarction in Swine[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009,54(11):1014-1023.
- [23] TALLAWI M, ROSELLINI E, BARBANI N, et al. Strategies for the chemical and biological functionalization of scaffolds for cardiac tissue engineering; A review[J]. *J R Soc Interface*, 2015,12(108):20150254.
- [24] KIM J H, JUNG Y, KIM S H, et al. The enhancement of mature vessel formation and cardiac function in infarcted hearts using dual growth factor delivery with self-assembling peptides[J]. *Biomaterials*, 2011,32(26):6080-6088.
- [25] CHAPPELL J C, SONG J, BURKE C W, et al. Targeted delivery of nanoparticles bearing fibroblast growth factor-2 by ultrasonic microbubble destruction for therapeutic arteriogenesis [J]. *Small*, 2008,4(10):1769-1777.
- [26] DOGAN A, ESER ELCIN A, MURAT ELCIN Y. Translational applications of tissue engineering in cardiovascular medicine[J]. *Curr Pharm Des*, 2017,23(6):903-914.
- [27] FENG M M, LIU X Y, HOU X L, et al. Specific angiogenic peptide binding with injectable cardiac ECM collagen gel promotes the recovery of myocardial infarction in rat[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2020,108(9):1881-1889.
- [28] EFRAIM Y, SARIG H, COHEN ANAVY N, et al. Biohybrid cardiac ECM-based hydrogels improve long term cardiac function post myocardial infarction[J]. *Acta Biomater*, 2017,50:220-233.
- [29] SPANG M T, CHRISTMAN K L. Extracellular matrix hydrogel therapies: *In vivo* applications and development [J]. *Acta Biomater*, 2018,68:1-14.
- [30] SINGELYN J M, SUNDARAMURTHY P, JOHNSON T D, et al. Catheter-deliverable hydrogel derived from decellularized ventricular extracellular matrix increases endogenous cardiomyocytes and preserves cardiac function post-myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012,59(8):751-763.
- [31] DIAZ M D, TRAN E, SPANG M, et al. Injectable myocardial matrix hydrogel mitigates negative left ventricular remodeling in a chronic myocardial infarction model [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2021,6(4):350-361.

芳、毛成刚、郭兴青、曲政海参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

[1] 蔡利红,李双双,屈春燕,等. 儿童肺炎后发生塑性性支气管炎的临床特征性表现及支气管镜诊治价值[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2020,35(21):1638-1642.

[2] 辛毅,王郁,刘靖,等. 儿童肺炎致塑性性支气管炎 36 例[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015,30(22):1746-1747.

[3] 焦安夏,马渝燕,饶小春,等. 儿童肺炎支原体肺炎细菌性肺炎所致塑性性支气管炎 15 例临床分析[J]. 中国循证儿科杂志, 2010,5(4):294-298.

[4] 李小乐,郭伟,董汉权,等. 儿童塑性性支气管炎 30 例临床分析[J]. 广西医学, 2016,38(9):1239-1241,1244.

[5] 中华医学会儿科学分会呼吸组. 儿童肺炎支原体肺炎诊治专家共识(2015 年版)[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015,30(17):1304-1308.

[6] 国家卫生健康委员会人才交流服务中心,儿科呼吸内镜诊疗技术专家组,中国医师协会儿科医师分会内镜专业委员会等. 中国儿科可弯曲支气管镜术指南(2018 年版)[J]. 中华实用儿科临床杂志,2018,33(13): 983-989.

[7] RUBIN B K. Plastic Bronchitis[J].Clin Chest Med,2016,37(3):405-408.

[8] 金蓉,杨雪,胡素娟,等. 乙酰半胱氨酸雾化吸入并阿奇霉素治疗儿童支原体肺炎的效果[J]. 精准医学杂志, 2018,33(5): 451-453.

[9] JASINOVIC T, KOZAK F K, MOXHAM J P, et al. Casting a look at pediatric plastic bronchitis[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2015,79(10):1658-1661.

[10] 张嵘,王婷,戴鹤,等. 肺炎支原体感染致塑性性支气管炎的临床特征及危险因素分析[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2021,36(11):811-816.

[11] 吴会芳,张景丽,刘晓娟,等. 支气管镜治疗儿童肺炎支原体肺炎临床观察及黏液栓形成的危险因素[J]. 国际呼吸杂志, 2021(12):908-913.

[12] 郭永盛,邹映雪,翟嘉,等. 73 例儿童 I 型塑性性支气管炎临床

特征分析[J]. 天津医科大学学报, 2017,23(5):422-425.

[13] 翟嘉,邹映雪,张文双,等. 儿童塑性性支气管炎 53 例临床回顾分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2016,31(3):211-214.

[14] SEO Y H, KIM J S, SEO S C, et al. Predictive value of C-reactive protein in response to macrolides in children with macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. Korean J Pediatr, 2014,57(4):186-192.

[15] ZHANG Y Y, ZHOU Y L, LI S X, et al. The clinical characteristics and predictors of refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia in children[J]. PLoS One, 2016,11(5):e0156465.

[16] “D-二聚体检测”急诊临床应用专家共识组.“D-二聚体检测”急诊临床应用专家共识[J].中华急诊医学杂志, 2013,22(8): 827-836.

[17] 邱立东,黄华泥,徐五星. 降钙素原、白细胞介素-6、超敏 C 反应蛋白联合检测在诊断小儿肺炎中的应用价值[J]. 实用临床医药杂志, 2018,22(19):140-142.

[18] WEISEL J W, LITVINOV R I. Fibrin formation, structure and properties[J]. Subcell Biochem, 2017,82:405-456.

[19] SEEAR M, HUI H, MAGEE F, et al. Bronchial casts in children: A proposed classification based on nine cases and a review of the literature[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1997, 155(1):364-370.

[20] HEATH L, LING S, RACZ J, et al. Prospective, longitudinal study of plastic bronchitis cast pathology and responsiveness to tissue plasminogen activator[J]. Pediatr Cardiol, 2011,32(8): 1182-1189.

[21] RACZ J, MANE G, FORD M, et al. Immunophenotyping and protein profiling of Fontan-associated plastic bronchitis airway casts[J]. Ann Am Thorac Soc, 2013,10(2):98-107.

[22] PETREY A C, DE LA MOTTE C A. Hyaluronan in inflammatory bowel disease: Cross-linking inflammation and coagulation[J]. Matrix Biol, 2019,78:314-323.

[23] CHO A, MCKELVEY K J, LEE A, et al. The intertwined fates of inflammation and coagulation in glioma[J]. Mamm Genome, 2018,29(11-12):806-816.

(本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 304 页)

[32] SATO K, WU T, LAHAM R J, et al. Efficacy of intracoronary or intravenous VEGF165 in a pig model of chronic myocardial ischemia[J]. J Am Coll Cardiol, 2001,37(2):616-623.

[33] BANAI S, JAKLITSCH M T, SHOU M, et al. Angiogenic-induced enhancement of collateral blood flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs[J]. Circulation, 1994,89(5):2183-2189.

[34] ZHANG J, DING L, ZHAO Y N, et al. Collagen-targeting vascular endothelial growth factor improves cardiac performance after myocardial infarction[J]. Circulation, 2009,119(13):1776-1784.

[35] REIS L A, CHIU L L, WU J, et al. Hydrogels with integrin-binding angiopoietin-1-derived peptide, QHREDGS, for treatment of acute myocardial infarction[J]. Circ Heart Fail, 2015, 8(2):333-341.

[36] SHIN K, FOGG V C, MARGOLIS B. Tight junctions and cell polarity[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2006,22:207-235.

[37] HERNANDEZ S, CHAVEZ MUNGUIA B, GONZALEZ-MARISCAL L. ZO-2 silencing in epithelial cells perturbs the gate and fence function of tight junctions and leads to an atypical monolayer architecture[J]. Exp Cell Res, 2007,313(8): 1533-1547.

(本文编辑 耿波 厉建强)