

中文題目：幹細胞因子(stem cell factor)在骨髓幹細胞所導致的血管新內皮層增生扮演了極重要的角色

英文題目：Stem cell factor plays a critical role in neointimal formation by bone marrow derived progenitor cells

作者：王兆弘 郭李堂 王詩儀 鄔美雲 程文俊

服務單位：財團法人基隆長庚紀念醫院心臟內科

前言：血管再狹窄是目前無論是氣球擴張術或血管繞道手術後所遇到的最大問題。過去幾十年來認為它的發生是因血管壁受到刺激而經由當地細胞所產生增生的一種現象。然而近年來的研究發現骨髓幹細胞有相當程度的貢獻到血管再狹窄的形成。C-Kit 是骨髓幹細胞的標記之一，我們在本研究中使用小鼠股動脈血管整形術的動物模式發現 C-Kit receptor tyrosine kinase 活化後導致的一連串細胞內訊息傳遞在整個骨髓幹細胞貢獻到血管再狹窄的機轉上扮演重要的角色。此受器與其受器接受質(Ligand) “幹細胞因子”之間的互動與發生血管再狹窄之間的相關性便是本研究的精髓所在。

材料及方法：在小鼠股動脈實驗所使用的小鼠種類包括了野生種(wild type 129S6 及 C57 BL/6)、MMP-9 缺損(MMP-9 -/-)、C-Kit 受器缺損(C-Kit mutation)及幹細胞因子缺損(SCF mutation)小鼠。此動物模式乃是將一螺旋導線(直徑 0.38 毫米)放入股動脈且深達臍股動脈，以達到血管整型之效。在術後不同時間點，我們取下股動脈，並加以固定及免疫螢光染色分析。偵測抗原所使用的抗體包括 SCF、C-Kit、VWF、 α -SMA、MMP-9、CD45、G-CSF 及 Ki-67。eGFP (enhanced green fluorescent protein)基因轉殖小鼠因其全身細胞皆發綠螢光，故用於本實驗中眾多 in vitro 及 in vivo 實驗。為了在正常老鼠身上標記來自骨髓的細胞，我們也將 eGFP 小鼠的全骨髓移殖到經放射線照射後的小鼠。幹細胞自骨髓移行到週邊血的程度是用流式細胞儀來評估的。MMP-9 的活性是以 Gelatin zymography 來定量。血中 SCF、G-CSF 及 PDGF-BB 的濃度變化則是以 ELISA 來測量。另外，純化好的幹細胞也用於對 fibronectin 的黏附性實驗及與平滑肌細胞的混合培養實驗(Co-Culture)。西方點墨法則是用來定量平滑肌細胞因應不同刺激表現 SCF 的程度。最後，我們也使用了一種 C-Kit tyrosine kinase 的抑制劑，叫做 Gleevec 給小鼠吃來測試 C-Kit 與 SCF 的互動在整個動物實體上扮演的角色。

結果：在血管整形術後，在受傷的血管區域大量的表現了幹細胞因子，同時伴隨著有大量帶有 MMP-9 酵素的細胞聚集於此。這些 MMP-9 酵素絕大多數是活化型的，它們可以切斷幹細胞因子與幹細胞因子表現細胞之間的鍵結，並形成游離態的幹細胞因子，這些上升的血中幹細胞因子濃度刺激了骨髓中帶 C-Kit 標記的幹細胞移行到體循環中，並且經由 C-Kit 與幹細胞因子之間的互動關係，這些幹細胞便被吸引到大量表現幹細胞因

子的受傷血管部位進行修復動作。我們發現有 $58\pm 12\%$ 的新生內皮層細胞是來自於骨髓。除此之外，*in-vitro* 的實驗顯示幹細胞因子也可刺激幹細胞分化為血管平滑肌細胞。從基因突變小鼠的實驗證實，C-Kit 缺損和幹細胞因子缺損的小鼠相當明顯的缺乏形成血管新內皮層的能力；另外，從使用 Gleevec 的實驗也顯示，經由抑制 C-Kit tyrosine kinase 的活性可有效減少骨髓幹細胞對血管新內皮層形成的貢獻。

結論：幹細胞因子與 C-Kit receptor 之間的互動在骨髓幹細胞貢獻到血管新內皮層增生的整個機轉上扮演了極重要的關鍵性角色。調控這個系統的活性應該是將來控制血管新內皮層形成以及減少血管再狹窄的一項新方法。