人工血管组织再生的细胞来源

吴依璠[†], 智登科[†], Adam C. MIDGLEY, 赵强, 孔德领^{*}, 王恺^{*}

南开大学生命科学学院, 生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071

[†] 同等贡献

^{*} 联系人, E-mail: kongdeling@nankai.edu.cn; wkcs424@163.com

收稿日期: 2019-07-23; 接受日期: 2019-08-09; 网络版发表日期: 2019-09-17

国家自然科学基金(批准号: 81530059, 81772000)和天津市自然科学基金(批准号: 18JCZDJC37600)资助

摘要 小口径人工血管的研发已成为近些年的研究热点. 理想的人工血管能够募集自体细胞参与血管组织再生, 以实现小口径人工血管的长期通畅. 基于小口径人工血管的国内外研究动态, 本文详述了参与血管再生的细胞来源以及细胞种类. 目前, 公认的细胞来源主要包括吻合端天然血管、循环血液中的细胞和人工血管外围/外周组织; 参与血管再生的细胞种类主要包括血管细胞、干/祖细胞、炎症细胞和外源种植细胞等. 最后对募集宿主细胞的技术手段以及目前研究的局限性进行了讨论.

关键词 小口径人工血管, 组织再生, 细胞来源

人工血管替换手术常被用于治疗心血管疾病. 目前, 使用聚苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)、膨体聚四氟乙烯(expanded polytetrafluoroethylene, ePTFE)等材料制备的大口径(口径 ≥ 6 mm)人工血管已作为产品广泛用于主动脉疾病的治疗. 小口径血管(口径 < 6 mm)由于处于高张力、低血流的特殊状态, 使用上述两种材料制成的小口径人工血管移植后均有很高的失败率, 主要表现为血栓形成和内膜增生, 限制了其临床应用^[1]. 然而, 外周病变动脉替换、晚期肾病患者透析造瘘、心脏冠脉搭桥等均需要使用小口径人工血管. 可见临床上对小口径人工血管有着巨大的需求. 但是, 国内外尚无可以使用的小口径人工血管产品. 因此, 众多学者开始研究可再生的小口径人工血管, 力求通过血管组织的再生实现血管材料的长

期通畅, 以满足临床需求. 研究表明, 人工血管的快速内皮化可以有效地抑制急性血栓和内膜增生, 良好的细胞浸润和平滑肌再生可以降低钙化的风险, 一氧化氮合酶型内皮细胞的覆盖和平滑肌细胞的表型重塑是再生血管组织具有生理功能的重要标志^[2]. 由此可见, 细胞在人工血管的组织再生中具有重要的作用.

近年来的研究表明, 人工血管在不同动物模型中均能够动员自体细胞参与血管组织再生, 形成具有一定生理功能的新生血管^[2-4]. 但是, 参与血管组织再生的细胞来源和种类尚不明确, 存在多种理论^[5](表1). 人工血管植入体内后, 会接触到天然血管、循环的血液以及血管外围组织, 因此有学者指出相邻血管中的血管细胞是再生过程中的主要贡献者^[6]; 也有学者认为血液循环中的内皮祖细胞是新生内皮的主要来源^[7-13];

引用格式: 吴依璠, 智登科, Adam C. Midgley, 等. 人工血管组织再生的细胞来源. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 1100–1108
Wu Y F, Zhi D K, Adam C M, et al. The cell source in tissue regeneration of vascular grafts (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 1100–1108, doi: 10.1360/SSV-2019-0156

表 1 参与血管组织再生的细胞来源、细胞类型、迁移方式以及贡献比率

Table 1 Cell sources, cell types, migration patterns and contribution rates involved in vascular tissue regeneration

细胞来源位置	细胞类型	迁移方式	贡献比率
吻合端天然血管 ^[6]	内皮细胞 ^[6] 平滑肌细胞 ^[6]	沿血管方向迁移	50% ^[6]
血液循环 ^[7-13]	内皮祖细胞 ^[7-10] 血管干细胞 ^[12,13]	细胞黏附	90% ^[9]
血管外围组织 ^[14-25]	血管外膜干细胞 ^[14-19] 巨噬细胞 ^[20-25]	细胞透壁迁移	80% ^[16]

同时, 血管外围组织, 比如血管外膜层, 也被认为是再生内皮和平滑肌的细胞来源之一^[14-25]。此外, 诸如炎症细胞、干/祖细胞等细胞种类也引起了学者的广泛关注. 本文在前人的研究基础上, 简述了血管组织再生中的细胞来源和种类, 并对目前研究的局限性进行简要讨论.

1 细胞来源位置

目前主要存在三种细胞来源理论, 分别是移植吻合端天然血管细胞迁移、血液循环细胞黏附与分化和血管外围/外周细胞透壁迁移^[26].

1.1 吻合端天然血管

人工血管植入后, 相邻天然血管中的血管细胞会由移植吻合端增殖、迁移至人工血管, 参与组织再生. Breuer课题组^[6]将一段雄性小鼠的下腔静脉(inferior vena cava, IVC)与组织工程人工血管(tissue engineering vascular graft, TEVG)吻合起来制备成复合人工血管, 随后植入到雌性小鼠体内(图1). 6个月后取材发现, 再生血管中的内皮细胞和平滑肌细胞检测到了Y染色体, 尤其是靠近雄性小鼠IVC吻合处的再生组织中有93%的细胞中存在Y染色体. 虽然吻合端细胞来源理论在小鼠血管移植模型中得以证明, 但人和小鼠存在着较大的差异. 临床上应用的人工血管的长度远大于10 cm, 而且临床数据显示, 人工血管移植多年后, 内皮细胞仅能覆盖距吻合端1~2 cm处^[27]. 因此, 吻合端天然血管细胞迁移对于植入人体内的人工血管的再生贡献十分有限.

1.2 血液循环

循环血液中的干细胞会黏附到血管内腔, 随后增

图 1 复合人工血管Y染色体分布示意图^[6]

Figure 1 Schematic diagram of Y chromosome distribution in composite vascular grafts^[6]

殖、迁移、分化成为不同的血管细胞, 促进血管再生. 骨髓来源的间充质干细胞一度被认为是新生内膜中平滑肌细胞的主要来源^[12], 但近期的研究结果发现, 该细胞主要是通过旁分泌作用来影响人工血管的再生. 另外, 很多学者认为, 血液循环中的内皮祖细胞是血管损伤后内皮细胞再生的主要来源^[8], 甚至还能通过内皮细胞间充质转分化参与平滑肌层的再生^[28]. 为了探究血液来源细胞的作用, Talacua等人^[9]制备了一种复合人工血管, 将ePTFE人工血管与雄性动脉缝合到一起连接在聚己内酯(polycaprolactone, PCL)血管两端, 植入到雌性大鼠体内(图2). ePTFE人工血管能够阻碍来源于相邻雄性动脉的细胞参与PCL血管再生; 同时实验人员还将ePTFE致密膜包裹在PCL血管外侧, 以阻碍来源于外周组织的细胞迁移, 进而突出来源于血液循环中的细胞参与血管再生的作用. 实验结果显示, 在移植初期ePTFE致密膜的包裹抑制了细胞浸润, 但随着时间的延长, 仍然可以实现内皮层的完整再生. 该实验证明, 大鼠血液循环中的细胞参与了人工血管的组织再生. 但临床上需要血管移植的病人大都患有糖尿病、高血脂等疾病, 血液循环中的细胞数量减少, 活力降低^[29], 因此来源于血液循环的细胞对人体内的血管再生的贡献还有待商榷.

图2 复合人工血管示意图^[9]

Figure 2 Schematic diagram of a composite vascular graft^[9]

1.3 血管外围组织

血管外围/周组织中的血管外膜干细胞和毛细血管会透过人工血管的管壁, 浸润到血管支架内部促进血管再生. 血管外膜干细胞能够分化为血管细胞参与组织再生, 毛细血管的浸润有利于人工血管内皮层再生, 来源于外围组织的细胞在较长人工血管的再生过程中发挥了重要的作用. Pennel等人^[16]将两根长为4.5 cm的致密ePTFE人工血管分别连接于高孔隙率的聚氨酯(polyurethane, PU)血管两端, 随后将总长度为10 cm的复合人工血管盘成环形, 植入大鼠腹主动脉. 利用该方法, 吻合处细胞需要迁移4.5 cm才能到达PU人工血管. 另外, 研究人员通过在PU血管外层实施不同的包裹来探究外周组织来源细胞对人工血管再生的影响. 未包裹组(controls grafts, CG)能够允许外周组织细胞向内生长; 包裹ePTFE组(wrap graft, WG)虽然抑制细胞迁移, 但细胞之间还能够进行物质交换, 细胞分泌的活性物质仍然能够通过透壁血管壁发挥作用; 外部涂有聚氨酯密封胶组(sealed graft, SG)完全阻止了任何形式的细胞透壁行为. 体内移植12周后结果表明, 未包裹CG组的通畅率为75%, 内皮覆盖率为80%; 包裹WG组通畅率为83%, 内皮覆盖率只有16%; 包裹SG组的通畅率为0%. 此外, 在未包裹组的血管内腔还发现了毛细血管浸润位点, 在此处有内皮细胞的再生. 该实验证实, 人工血管的再生大部分依赖于外周组织细胞与毛细血管的浸润.

本课题组^[17]的一项研究发现, 一个由7个氨基酸构成的多肽(7 A, MHSPGAD)能够动员血管外膜干细胞, 并且促进其分化为内皮细胞, 加速人工血管的内皮化. 为了进一步阐明再生内皮细胞的来源, 研究人员制备了一种双层结构的静电纺丝人工血管, 其内层为粗纤维的大孔结构, 外层为细纤维的致密结构, 可

以有效阻挡外周组织来源的细胞(图3). 发现致密外层的加入有效地阻止了血管外膜干细胞的浸润, 同时也显著地降低了血管材料的内皮化进程, 该结果表明参与内皮再生的血管外膜干细胞主要来源于外周组织. 本课题组^[18]随后制备了4种不同结构的PCL静电纺丝人工血管, 分别为粗纤维、细纤维、外粗内细和外细内粗, 植入大鼠的颈动脉进行体内再生分析. 该实验进一步证明, 来源于外周组织的血管外膜干细胞对人工血管的再生具有重要作用.

2 参与人工血管再生的细胞种类

人工血管植入体内后, 会募集大量的细胞浸润到血管壁内, 在血管组织重构中发挥重要的作用. 研究这些细胞的种类和作用机制, 能够为新一代组织工程人工血管的设计提供新的思路. 目前, 炎症细胞和干/祖细胞是研究者关注的焦点.

2.1 炎症细胞

炎症反应是生物材料植入体内后引起的常见反应, 巨噬细胞是参与该反应的关键细胞^[20,21]. 有文献表明, 支架材料的本体性质和结构会影响巨噬细胞的表型^[21,22], 但其内在机制还有待深入的研究. Breuer课题组^[23]将聚羟基乙酸/聚丙交酯-己内酯(polyglycolic acid/poly(L-lactide-co-caprolactone), PGA/PLCL)人工血管分别移植到野生型C57BL/6和免疫缺陷型SCID/bg小鼠的下腔静脉. 6周后, 植入SCID/bg小鼠体内的人工血管全部通畅. 然而, 移植到C57BL/6小鼠中的人工血管, 在2周后就有80%发生了由内膜增生引起的管腔狭窄, 在移植10周后, 管腔进一步狭窄. 内膜增生往往发生在巨噬细胞浸润的高峰期, 并且与M1型到M2型巨噬细胞的表型转换有关, 促炎M1型巨噬细胞的浸

图 3 双层PCL人工血管示意图^[18]

Figure 3 Illustration of the bi-layered PCL vascular graft^[18]

润, 更容易引发管腔狭窄. 如果有大量的巨噬细胞进入到支架内部, 新生组织就会过度生长; 如果少量的巨噬细胞浸润到支架内部, 则不会形成新生组织. 然而在人工血管的再生过程中, 新生组织的形成是十分必要的, 因此, 适度的巨噬细胞浸润对于组织再生会起到积极的促进作用. 本课题组^[24]的研究也表明, 粗丝大孔PCL人工血管植入大鼠腹主动脉之后, 巨噬细胞浸润促进了人工血管新生和功能形成(图4). Bowlin课题组^[13]发现, 其他炎症细胞, 如作为生物材料植入后的第一响应者的中性粒细胞, 可以通过分泌细胞因子和释放胞外诱捕网, 调节组织再生.

对于炎症细胞的研究, 不能只局限于表型鉴定等表面现象, 还应当利用多种先进分析技术, 比如蛋白质组学和基因组学等, 区分和鉴定炎症细胞分泌的不同活性因子在组织再生中的具体作用.

2.2 干/祖细胞

血管干细胞是一种成体干细胞, 其首要任务就是形成血管并且参与血管损伤后的修复过程. 研究发现, 这些干细胞已经成为人工血管体内再生的潜在细胞来源, 它们能够迁移、增殖并且分化为不同的成体细胞, 包括内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞, 在血管重构过程中发挥着积极的作用. 血管干细胞主要存在于血液循环和血管组织中. Sata等人^[10]发现, 骨髓来源的c-Kit⁺/Sca-1⁺/Lin⁻造血干细胞, 不仅能分化为血红细胞, 还能分化为平滑肌细胞和内皮细胞, 有助于血管重构. 血液循环中的内皮祖细胞能够促进血管新生和内皮修复^[11], 目前被广泛接纳的内皮祖细胞为CD34⁺/KDR⁺/CD133⁺细胞, 当其分化为内皮细胞后, CD133表达量降低, CD31和vWF表达增加^[19]. 此外, 血管组织也相当于一个干细胞库, 存在大量的内皮祖细胞、

平滑肌祖细胞、间充质干细胞和血管外膜干细胞等. 目前, 血管外膜干细胞也成为人工血管组织再生的研究热点. Hu等人^[30]首次提出在血管外膜中存在大量非骨髓来源的Sca-1⁺, c-Kit⁺, CD34⁺和Flk⁺的血管干细胞, 其中Sca-1⁺血管外膜干细胞能够分化为内皮细胞和平滑肌细胞, 促进人工血管的体内再生^[15,17].

然而, 关于干细胞参与血管组织再生的观点还存在着一定的争议. 一个原因是干细胞数量较少, 在血管再生过程中的贡献有待进一步证实; 二是由于干细胞的定义、分化和示踪方法还存在较大的争议.

2.3 种植细胞

移植前预先种植在人工血管上的细胞也会参与血管组织再生. 相比于无细胞人工血管, 预先种有细胞的人工血管具有更好的生物相容性, 移植后体内通畅性和组织再生效果更佳. Nieponice等人^[31]将肌肉来源的干细胞种植到弹性聚氨酯(poly(etherurethane urea), PEUU)人工血管上进行大鼠腹主动脉移植. 结果显示, 干细胞种植将8周通畅率由10%(1/10)提升至65%(11/17). Hibino等人^[32]将骨髓来源的单核细胞(bone marrow mononuclear cells, BMCs)种植到PGA人工血管上, 移植到小鼠的下腔静脉. 两周后, 未种植细胞组有80%的人工血管发生堵塞, 细胞种植组的堵塞率仅为20%. 以上实验表明, 种植细胞能够提高人工血管在体内的通畅率. 为了揭示种植细胞调控血管再生的作用机制, Breuer课题组^[25]将人骨髓来源的单核细胞(hBMCs)种植到PGA人工血管, 并且移植到小鼠体内, 令人惊讶的是, 移植一周后种植细胞全部消失, 但种植细胞的人工血管中有更多的宿主细胞浸润, 通过深入研究发现, 种植的hBMCs通过释放单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)来

募集宿主免疫细胞促进血管组织再生(图5).

当然, 外源种植细胞有可能存活于人工血管中, 并通过分化成血管细胞参与血管组织再生. 遗传谱系示踪技术能够更精确地追踪种植细胞在体内移植后的命运, 但目前此方法在人工血管再生中的应用较少.

3 募集宿主细胞的方法

前文中提到, 宿主细胞浸润不仅能够提高人工血管的通畅率, 同时也能加速内皮化和平滑肌细胞再生. 因此, 研究者通过对人工血管进行结构设计 with 功能修饰以促进宿主细胞的浸润, 加速血管组织再生.

3.1 结构调控

人工血管的孔结构是影响细胞浸润的关键因素,

相互连通的孔结构能够促进外周组织细胞的跨壁浸润, 加速组织再生. 一般来讲, 支架的孔径至少要达到 $10\text{ }\mu\text{m}$ 以上才能促进细胞向支架内部的迁移, 孔径增加有利于促进细胞浸润^[33]. 但是, 过大的孔径则会导致人工血管移植后出现渗血. 此外, 材料孔径大小还能调控巨噬细胞的极化行为, 直径为 $25\sim 40\text{ }\mu\text{m}$ 的孔结构能够诱导巨噬细胞向促组织再生M2型极化^[22]. 因此, 在人工血管结构设计中, 孔径的设计是十分重要的. 本课题组^[24]通过静电纺丝技术分别制备了细纤维(纤维直径 $(0.69\pm 0.54)\text{ }\mu\text{m}$, 纤维孔径 $(4.66\pm 1.53)\text{ }\mu\text{m}$)和粗纤维(纤维直径 $(5.59\pm 0.67)\text{ }\mu\text{m}$, 纤维孔径 $(40.88\pm 13.67)\text{ }\mu\text{m}$)结构的PCL人工血管, 并且植入大鼠腹主动脉进行体内评价. 结果表明, 细纤维血管组细胞浸润较差, 血管组织再生不佳; 粗纤维血管组的大孔结构显著地促进了细胞浸润、毛细血管形成和血管组织

图 4 巨噬细胞参与人工血管再生示意图^[24]

Figure 4 Illustration of macrophages involved in vascular graft regeneration^[24]

图 5 人骨髓来源的单核细胞接种生物可降解支架的血管再生示意图^[25]

Figure 5 Schematic diagram of vascular regeneration of hBMC-seeded biodegradable scaffolds^[25]

的再生. 另外, 大孔结构还促进了巨噬细胞向M2型极化(图6). 本课题组^[34]通过电喷聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)微球致孔技术, 制备中层致孔的三层结构血管支架(内层致密纤维、中层疏松纤维、外层致密纤维). 兔颈动脉移植实验表明, 该血管材料的中层致孔层能够有效促进巨噬细胞浸润, 并通过分泌MCP-1和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)促进血管组织再生.

3.2 活性因子负载

除结构设计外, 学者们对人工血管进行活性物质的装载, 比如药物、细胞因子、抗体、多肽等, 募集各类细胞浸润到材料内部, 参与组织再生. 先前的研究表明, 将CD34^[35], CD133^[36]等抗体固定在血管材料表面, 捕捉血液循环中的内皮祖细胞, 使其黏附到血管内腔, 能够有效加速内皮层再生. Talacua等人^[9]将MCP-1负载到PCL/纤维蛋白复合人工血管中, 移植到动物体内后, 可以实现MCP-1的原位释放. 缓释的MCP-1能够募集炎症细胞浸润到支架内部, 促进新生组织的形成. Li课题组^[37]将基质衍生因子(stromal cell derived factor-1 α , SDF-1 α)固定到肝素化的小口径人工血管上, 促进内皮祖细胞黏附和增殖, 提高了远期通畅率. 本课题组^[15]近期的一项研究表明, Dkk3蛋白能够在体外结合Sca-1⁺血管外膜干细胞表面受体CXCR7,

进而激活下游相关信号通路, 促进干细胞迁移. 在此基础上, 研究人员利用乳液静电纺丝技术, 将Dkk3蛋白负载到胶原纤维上, 并通过对纺PCL纤维制备出了负载Dkk3的PCL/胶原复合人工血管(Dkk3-TEVG)作为实验组. Dkk3蛋白可以随着胶原材料的降解被释放出来发挥作用. 不负载Dkk3的复合人工血管(Control-TEVG)和同时负载Dkk3与CXCR7抗体的复合人工血管(Dkk3-CXCR7 Ab-TEVG)作为对照组(图7A). 将上述三组血管分别植入大鼠腹主动脉后发现, 与Control-TEVG组和Dkk3-CXCR7 Ab-TEVG组对比, 负载Dkk3的人工血管壁中募集了大量的Sca-1⁺血管外膜干细胞, 促进了功能型平滑肌的再生(图7B和C).

4 总结

探究参与人工血管再生的细胞来源与细胞种类, 不仅能够揭示血管组织再生机制, 同时能够为人工血管的设计提供新的方法和思路. 然而, 目前关于细胞来源问题还存在较大的争议, 不同的研究模型会得出不同的结论, 而且大部分的研究都是基于小动物模型展开的, 小动物中的各项指标都与人类存在较大的差异, 比如生理环境和可植入血管的长度等^[27], 因此基于大动物和人类展开的临床前和临床试验能够更准确地解释细胞的来源. 另外, 研究中涉及的技术手段也存

图6 粗纤维和细纤维的PCL人工血管体内组织再生示意图^[24]

Figure 6 Schematic of tissue regeneration in thick-fiber and thin-fiber PCL vascular grafts^[24]

图 7 Dkk3促进Sca-1⁺血管外膜干细胞浸润^[15]. A: 三种人工血管示意图; B: Sca-1⁺细胞免疫荧光染色照片; C: 血管壁内细胞数量统计

Figure 7 Dkk3 increases Sca-1⁺ adventitia stem cell infiltration^[15]. A: Schematic illustration of 3 types of PCL grafts. B: Representative immunofluorescence images of Sca-1⁺ cells. C: Quantification of Sca-1⁺ cells infiltration into vascular wall

在一定的局限, 目前应用最广泛的细胞种类的鉴定手段为免疫组化染色等, 未来应当利用谱系示踪等更为

先进的技术来表征参与人工血管再生的细胞的种类与命运.

参考文献

- 1 Drews J D, Miyachi H, Shinoka T. Tissue-engineered vascular grafts for congenital cardiac disease: Clinical experience and current status. *Trends Cardiovas Med*, 2017, 27: 521–531
- 2 Wu W, Allen R A, Wang Y. Fast-degrading elastomer enables rapid remodeling of a cell-free synthetic graft into a neoartery. *Nat Med*, 2012, 18: 1148–1153
- 3 Mrówczyński W, Mugnai D, de Valence S, et al. Porcine carotid artery replacement with biodegradable electrospun poly-e-caprolactone vascular prosthesis. *J Vasc Surg*, 2014, 59: 210–219
- 4 Zhu M, Wu Y, Li W, et al. Biodegradable and elastomeric vascular grafts enable vascular remodeling. *Biomaterials*, 2018, 183: 306–318
- 5 Cleary M A, Geiger E, Grady C, et al. Vascular tissue engineering: The next generation. *Trends Mol Med*, 2012, 18: 394–404
- 6 Hibino N, Villalona G, Pietris N, et al. Tissue-engineered vascular grafts form neovessels that arise from regeneration of the adjacent blood vessel. *Faseb J*, 2011, 25: 2731–2739
- 7 Hur J, Yoon C H, Kim H S, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovasclogenesis. *Arterioscl Throm Vas*, 2004, 24: 288–293
- 8 Iwakura A, Luedemann C, Shastry S, et al. Estrogen-mediated, endothelial nitric oxide synthase-dependent mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells contributes to reendothelialization after arterial injury. *Circulation*, 2003, 108: 3115–3121
- 9 Talacua H, Smits A I P M, Muylaert D E P, et al. *In situ* tissue engineering of functional small-diameter blood vessels by host circulating cells only. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21: 2583–2594
- 10 Sata M, Saiura A, Kunisato A, et al. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nat Med*, 2002, 8: 403–409

- 11 Zampetaki A, Kirton J P, Xu Q. Vascular repair by endothelial progenitor cells. *Cardiovasc Res*, 2008, 78: 413–421
- 12 Enomoto S, Sumi M, Kajimoto K, et al. Long-term patency of small-diameter vascular graft made from fibroin, a silk-based biodegradable material. *J Vasc Surg*, 2010, 51: 155–164
- 13 Fetz A E, Neeli I, Rodriguez I A, et al. Electrospun template architecture and composition regulate neutrophil NETosis *in vitro* and *in vivo*. *Tissue Eng Part A*, 2017, 23: 1054–1063
- 14 Majesky M W, Horita H, Ostriker A, et al. Differentiated smooth muscle cells generate a subpopulation of resident vascular progenitor cells in the adventitia regulated by Klf4. *Circ Res*, 2017, 120: 296–311
- 15 Issa Bhaloo S, Wu Y, Le Bras A, et al. Binding of dickkopf-3 to CXCR7 enhances vascular progenitor cell migration and degradable graft regeneration. *Circ Res*, 2018, 123: 451–466
- 16 Pennel T, Bezuidenhout D, Koehne J, et al. Transmural capillary ingrowth is essential for confluent vascular graft healing. *Acta Biomater*, 2018, 65: 237–247
- 17 Pan Y, Yang J, Wei Y, et al. Histone deacetylase 7-derived peptides play a vital role in vascular repair and regeneration. *Adv Sci*, 2018, 5: 1800006
- 18 Liu J, Qin Y, Wu Y, et al. The surrounding tissue contributes to smooth muscle cells' regeneration and vascularization of small diameter vascular grafts. *Biomater Sci*, 2019, 7: 914–925
- 19 Fadini G P, Losordo D, Dimmeler S. Critical reevaluation of endothelial progenitor cell phenotypes for therapeutic and diagnostic use. *Circ Res*, 2012, 110: 624–637
- 20 Brown B N, Sicari B M, Badylak S F. Rethinking regenerative medicine: A macrophage-centered approach. *Front Immunol*, 2014, 5: 510
- 21 Greisler H P, Dennis J W, Endean E D, et al. Macrophage/biomaterial interactions: The stimulation of endothelialization. *J Vasc Surg*, 1989, 9: 588–593
- 22 Madden L R, Mortisen D J, Sussman E M, et al. Proangiogenic scaffolds as functional templates for cardiac tissue engineering. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 15211–15216
- 23 Roh J D, Nelson G N, Brennan M P, et al. Small-diameter biodegradable scaffolds for functional vascular tissue engineering in the mouse model. *Biomaterials*, 2008, 29: 1454–1463
- 24 Wang Z, Cui Y, Wang J, et al. The effect of thick fibers and large pores of electrospun poly(ϵ -caprolactone) vascular grafts on macrophage polarization and arterial regeneration. *Biomaterials*, 2014, 35: 5700–5710
- 25 Roh J D, Sawh-Martinez R, Brennan M P, et al. Tissue-engineered vascular grafts transform into mature blood vessels via an inflammation-mediated process of vascular remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 4669–4674
- 26 Stowell C E T, Wang Y. Quickening: Translational design of resorbable synthetic vascular grafts. *Biomaterials*, 2018, 173: 71–86
- 27 Zilla P, Bezuidenhout D, Human P. Prosthetic vascular grafts: Wrong models, wrong questions and no healing. *Biomaterials*, 2007, 28: 5009–5027
- 28 Díez M, Musri M M, Ferrer E, et al. Endothelial progenitor cells undergo an endothelial-to-mesenchymal transition-like process mediated by TGF β RI. *Cardiovasc Res*, 2010, 88: 502–511
- 29 Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*, 2001, 89: e1–e7
- 30 Hu Y, Zhang Z, Torsney E, et al. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice. *J Clin Invest*, 2004, 113: 1258–1265
- 31 Nieponice A, Soletti L, Guan J, et al. *In vivo* assessment of a tissue-engineered vascular graft combining a biodegradable elastomeric scaffold and muscle-derived stem cells in a rat model. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16: 1215–1223
- 32 Hibino N, Yi T, Duncan D R, et al. A critical role for macrophages in neovessel formation and the development of stenosis in tissue-engineered vascular grafts. *Faseb J*, 2011, 25: 4253–4263
- 33 Miller K S, Khosravi R, Breuer C K, et al. A hypothesis-driven parametric study of effects of polymeric scaffold properties on tissue engineered neovessel formation. *Acta Biomater*, 2015, 11: 283–294
- 34 Wang K, Zheng W, Pan Y, et al. Three-layered PCL grafts promoted vascular regeneration in a rabbit carotid artery model. *Macromol Biosci*, 2016, 16: 608–618
- 35 Rotmans J I, Heyligers J M M, Verhagen H J M, et al. *In vivo* cell seeding with anti-CD34 antibodies successfully accelerates endothelialization

- but stimulates intimal hyperplasia in porcine arteriovenous expanded polytetrafluoroethylene grafts. *Circulation*, 2005, 112: 12–18
- 36 Lu S, Zhang P, Sun X, et al. Synthetic ePTFE grafts coated with an anti-CD133 antibody-functionalized heparin/collagen multilayer with rapid *in vivo* endothelialization properties. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, 5: 7360–7369
- 37 Yu J, Wang A, Tang Z, et al. The effect of stromal cell-derived factor-1 α /heparin coating of biodegradable vascular grafts on the recruitment of both endothelial and smooth muscle progenitor cells for accelerated regeneration. *Biomaterials*, 2012, 33: 8062–8074

The cell source in tissue regeneration of vascular grafts

WU YiFan, ZHI DengKe, Adam C. MIDGLEY, ZHAO Qiang, KONG DeLing & WANG Kai

Key Laboratory of Bioactive Materials, Ministry of Education, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

The development of small-diameter artificial vascular grafts has become a research hotspot in recent years. To achieve long-term patency, an ideal vascular graft should have the capacity to recruit host cells to participate in vascular tissue regeneration. Based on previous research, we provide detailed descriptions of the cell sources and cell types involved in vascular graft regeneration. Methodology to determine host cell infiltration and the limitations of current techniques are also discussed.

small-diameter vascular graft, tissue regeneration, cell source

doi: [10.1360/SSV-2019-0156](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2019-0156)