

动脉粥样硬化和再狭窄中平滑肌细胞凋亡

李东宝 综述, 沈潞华¹, 谢苗荣¹ 审校

(滨州市中心医院心内科, 山东省滨州市 251700; 1. 首都医科大学附属北京友谊医院心内科, 北京 100050)

[主题词] 细胞凋亡; 再狭窄; 生长因子; 动脉粥样硬化

[摘要] 细胞凋亡调节着人体生理和病理方面的细胞数目的平衡, 其对动脉粥样硬化和再狭窄过程的发生发展具有重要影响, 细胞凋亡有多种诱发因素和基因调控机制, 其中生长因子是最重要的调节因素之一。

[中图分类号] R543. 5

[文献标识码] A

在真核多细胞生物中, 细胞数目控制是通过细胞分裂、增殖、细胞主动死亡之间的动态平衡实现的, 这种平衡对生物体的发育和正常结构与功能的保持有重要意义。细胞凋亡同细胞分化一样是普遍存在的一种生物现象, 是贯穿于机体整个生命活动过程的基本生理机制, 它调节着机体细胞增殖与更新间的平衡, 维持组织器官正常生理功能及细胞数量的稳定。某些致病因子可使细胞凋亡的基因调控失常, 致使细胞凋亡减弱或增强, 从而破坏了机体细胞的自稳态, 最终表现为疾病的发生。

1 动脉粥样硬化中的细胞凋亡和增殖

粥样斑块发生发展的全过程都与细胞的凋亡有关。Geng 等^[1]用末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP- 生物素平移末端标记(terminal deoxynucleotidyl transferase- mediated dUTP- biotin nick end labeling, TUNEL) 检测人粥样硬化的冠状动脉和颈动脉发现, 病变内膜中 TUNEL 阳性细胞数(34% ±

6%) 明显高于无病变的内膜(8% ±3%)。动脉粥样硬化斑块中可检出一种寡核苷酸片断, 而无粥样硬化血管, 则未检出这种片断。Han 等^[2]观察了 35 例粥样硬化冠状动脉标本, 其中 25 例有凋亡细胞。并将粥样斑块分为三区: 富含巨噬细胞区、富含星形平滑肌细胞区(又称粘液瘤区)及富含胶原区(也称硬化区)。其中硬化区 TUNEL 细胞占 10%, 粘液区占 15%, 富含巨噬细胞区占 40%。提示凋亡的细胞主要是巨噬细胞和平滑肌细胞。Isner 等^[3]发现, 人原发粥样硬化标本中冠状动脉凋亡细胞检出率为 29%, 周围动脉为 43%。Bennett 等^[4]发现, 体外培养成人粥样硬化标本中的平滑肌细胞比正常动脉的平滑肌细胞有更高的凋亡率。体外培养正常动脉的平滑肌细胞仅在去血清生长因子后发生凋亡, 而粥样斑块中的平滑肌细胞在高血清状态下也发生凋亡, 去除血清后凋亡加剧。Heggi 等^[5]发现, 人粥样病变的脂质核心周边有泡沫细胞坏死和凋亡, 脂质核心内有细胞核残余物, 提示脂质核心的形成可能与凋亡有关。

2 再狭窄过程中的细胞凋亡和增殖

郭远林等^[6]在家兔颈总动脉内皮剥脱术的模型上发现, TUNEL 阳性细胞主要分布于新生内膜层, 尤以腔面为多, 周

[作者简介] 李东宝, 男, 1970 年 2 月出生, 山东省惠民县人, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事动脉粥样硬化的病因和发病机制及血脂代谢异常的研究。

围无炎症反应,增殖细胞核抗原阳性细胞主要分布在新内膜层,但近内膜弹力膜附近的中膜有时也有分布。凋亡指数在术后逐渐增高,14 天时达高峰,28 天时降低,但仍高于第 9 天,增殖指数也呈类似的变化趋势,说明细胞凋亡与增生共同调节着损伤动脉壁的细胞数目。Bochaton-Piallat 等^[7]发现,大鼠主动脉去内皮 15 天后病灶中发现大量凋亡平滑肌细胞,其数量在损伤后 20 天达最多,到 45 天损伤处内皮重新愈合时凋亡细胞随之消失。再狭窄病变中凋亡小体密度与内膜细胞数量呈显著负相关,细胞数较多而凋亡小体较少。Han 等^[2]在大鼠主动脉球囊损伤内膜模型上发现,损伤后第 9 天,无论增殖还是凋亡的细胞数量达峰值,此时凋亡细胞数是增殖细胞数的 75%,此后,凋亡数量逐步大于增殖数量。Clowes 等^[8]发现,大鼠颈动脉球囊损伤后直至 12 周,其血管平滑肌细胞增殖一直处于高水平,如果没有平滑肌细胞死亡存在,到 12 个月时,其平滑肌细胞理论总数应增加 36%,但实际上平滑肌细胞数量从损伤后 2 周就保持恒定。Isner 等^[3]发现,人血管成形术后凋亡细胞的检出率很高,冠状动脉为 86%,周围动脉为 94%。对 56 例原发粥样硬化和再狭窄患者中旋切出的斑块进行观察,结果发现标本中有凋亡现象,其中再狭窄患者较原发粥样硬化患者细胞更易发生凋亡。

可见,细胞凋亡是调节内皮损伤所致内膜增厚演变的一个重要机制。细胞增殖活性越高,则伴随凋亡活性越高,两者的动态平衡才能维持细胞数恒定。如果两者异向变化或虽同向变化但程度不同,则可因细胞数目的增多和减少失衡而导致动脉粥样硬化或再狭窄发生。

3 生长因子与细胞凋亡和增殖

生长因子是一类调节细胞增殖的多肽物质,参与再狭窄和粥样硬化的各个环节,如细胞附着、移行、转化、增殖。大量实验证明,在狭窄形成过程中血管平滑肌细胞增殖和类型转化,取决于多种生长因子的联合作用,其中血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)是促进血管平滑肌细胞增殖的生长因子中最重要的。它是最有力的促有丝分裂原,且有明显的趋化性,可促进平滑肌细胞增殖及向内膜下迁移。

Katayose 等^[9]发现,低氧性肺动脉高压时 PDGF-B 链和 A 链的 RNA 于 24 h 或 56 h 明显升高,缺氧时 PDGF-B 链升高, A 链无变化。Soyombo 等^[10]发现,缺氧可使 PDGF-B 链 mRNA 表达增加。李丰等^[11]发现,缺氧可刺激肺动脉内皮细胞 PDGF 的表达,PDGF 在缺氧引起的肺动脉高压血管构型改建中可能具有重要作用。Walker 等^[12]研究表明,从经球囊导管损伤后动脉内膜的粥样硬化中分离所得的血管平滑肌细胞的增殖速度比未损伤侧平滑肌细胞增殖快得多,并且合成和分泌的 PDGF 样生长因子也比正常侧高 10 倍,用 DNA 分子杂交技术证明,在人粥样硬化中存在 PDGF 基因的较高表达,并可测到 PDGF 的活性。另外,在动脉模型中,给予 PDGF 蛋白或增强 PDGF 在血管壁的表达可引起内膜增生,而在体内抑制 PDGF 活性或抑制 PDGF 受体的合成则可抑制

血管重塑和内膜增厚^[13]。动脉损伤后引起内膜增生的生长因子有防止凋亡形成的作用^[14]。体外培养的平滑肌细胞在低浓度血清时发生的凋亡部分可被胰岛素生长因子或 PDGF 所阻断^[15]。虽然在正常和动脉粥样硬化的动脉壁上都存在胰岛素生长因子和 PDGF,但在动脉粥样硬化的深层区域由于生长因子的浓度很低,故而仍可有凋亡发生。PDGF 是平滑肌细胞的强效存活因子,它能延长细胞的存活时间^[4],这些因子缺乏可导致平滑肌细胞凋亡。

4 血管平滑肌细胞凋亡诱导因素和基因调节机制

在各种细胞凋亡影响因素中,物理化学因素和多种细胞因子调节细胞凋亡的发生^[16]。Geng 等^[17]报道,动脉粥样硬化斑块中巨噬细胞和 T 淋巴细胞由于炎症反应或局部免疫作用产生炎性细胞因子可致血管平滑肌发生凋亡。Carneiro 等^[18]发现,转化生长因子可诱导 FRTL-5 细胞发生凋亡并且伴有 p27 蛋白含量的减少和原癌基因 c-myc 表达的增多。Fukuo 等^[19]发现,气囊损伤和致动脉粥样硬化饮食可使大鼠血管平滑肌细胞因释放高水平的一氧化氮导致自身凋亡。氧化型低密度脂蛋白是众多病因中最重要的因素,它促进血管平滑肌细胞的生长且有细胞素效应。Bjorkeud 等^[20]发现,氧化型低密度脂蛋白可以诱导血管平滑肌细胞凋亡。这种凋亡有助于氧化脂质,并提出氧化型低密度脂蛋白具有双重效应,即具有强烈促细胞生长效应,又有诱导细胞发生凋亡,这主要依据氧化物量的变化而定,少量的氧化型低密度脂蛋白可促进增殖,而长时间大量的氧化型低密度脂蛋白作用于血管平滑肌细胞则导致凋亡,但同时伴有细胞素效应,这种双重效应可解释动脉粥样硬化中局部细胞过量增殖同时伴坏死和凋亡现象。

目前认为细胞在凋亡信号刺激下通过信号通路,使凋亡调节基因表达发生改变,进而在某些离子如钙离子、镁离子参与下激活某些酶而启动细胞凋亡。Bennett 等^[16]证明血管平滑肌细胞发生凋亡主要有 p53 依赖性途径。实验显示,斑块中平滑肌细胞较正常平滑肌细胞的 c-myc 基因表达增高^[21,22],新生内膜的平滑肌细胞也有 c-myc 基因的上调^[23,24],提示斑块内或新生内膜内 c-myc 上调可能有激活 p53 的作用,从而可通过 p53 依赖途径诱导细胞凋亡。

总之,平滑肌细胞的凋亡和增殖通过各种途经影响动脉粥样硬化和再狭窄的发生发展和形成,其中生长因子起到重要的介导作用,因此,对平滑肌细胞的凋亡和增殖的研究有助于揭示粥样硬化和再狭窄的病因和防治方法。

参考文献

- [1] Geng YJ, Libby P. Evidence of appraisals in advanced humane atheroma colocalization with - 1- converting enzyme [J]. *Am J Pathol*, 1995, **147** (2): 251- 266
- [2] Han DK, Haudenschild CC, Hong MK, et al. Evidence for apoptosis in human atherogenesis and in a rat vascular injury model [J]. *Am J Pathol*, 1995, **147** (2): 267- 277
- [3] Isner JM, Kearney M, Bortman S, et al. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis [J]. *Circulation*, 1995, **91** (7): 2

- 703- 711
- [4] Bennett MR, Evan GI, Schwatz SM. Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived from normal vessels and coronary atherosclerotic plaque [J]. *J Clin Invest*, 1995, **95** (9): 2 266- 272
- [5] Heggi L, Skepper JN, Cary NR, et al. Foam cell apoptosis and the development of the lipid core of human atherosclerosis [J]. *Am J Pathol*, 1996, **18** (4): 423- 429
- [6] 郭远林, 任江华, 宋长杰, 等. 家兔颈总动脉内膜剥脱术后细胞凋亡与增殖的动态研究 [J]. *中国介入心脏病学杂志*, 1998, **6** (3): 143- 145
- [7] Bochaton- Piallat ML, Gabbiani, Redard M, et al. Apoptosis participates in cellularity regulation during rat aortic intimal thickening [J]. *Am J Pathol*, 1995, **146** (6): 1 059- 064
- [8] Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury I: smooth muscle growth in the absence of endothelium [J]. *Lab Invest*, 1983, **49** (4): 327- 332
- [9] Katayose D, Ohe M, Yamauchi K, et al. Increased expression of PDGF- A and PDGF- B chain genes in rat lungs with hypoxic pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol*, 1993, **264** (3): L100 - 106
- [10] Soyombo AA, Dicorleto PE. Stable expression of human PDGF- B chain by bovine aortic endothelial cells [J]. *J Bio Chem*, 1994, **269** (26): 17 734- 740
- [11] 李 丰, 车东媛, 刘绍春, 等. 缺氧对肺动脉内皮细胞 PDGF 基因及 PDGF- B 链蛋白表达的影响 [J]. *中华病理学杂志*, 1995, **24** (3): 139- 141
- [12] Walker LN. Production of PDGF like molecules by cultured arterial smooth muscle cells accompanies proliferation after arterial injury [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83** (12): 7 311- 316
- [13] Sires MG, Simons M, Edelman ER. Antisense oligonucleotide inhibition of PDGF- Receptor expression directs suppression of intimal thickening [J]. *Circulation*, 1997, **91** (7): 669- 676
- [14] Gibbons GH, Dzau VJ. Molecular therapies for vascular disease, Science, 1996, **272** (7): 689- 692
- [15] Kondo S, Yin D, Aoki T, et al. Bcl- 2 gene prevents apoptosis of basic fibroblast growth factor- deprived murine aortic endothelial cells [J]. *Exp Cell Res*, 1994, **213** (4): 428- 432
- [16] Bennett MK. Apoptosis of rat vascular smooth muscle cells is regulated by p53 dependent and independent pathway [J]. *Circ Res*, 1995, **77** (2): 266- 273
- [17] Geng YJ, Wu Q, Muszynski M, et al. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induced by in vitro stimulation with interferon tumor necrosis factor and interleukin- 1 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16** (1): 19- 27
- [18] Carneiro C, Alvarez CV, Zalvide J, et al. TGF- action on FRTL- 5 cells provide a model for the physiological regulation of thyroid growth [J]. *Oncogene*, 1998, **16** (8): 1 455- 465
- [19] Fukuo K, Hatas, Suhava T, et al. Nitric oxide induces upregulation of Fas and apoptosis in vascular smooth muscle [J]. *Hypertension*, 1996, **27**: 823- 826
- [20] Bjorkerd BM, Bjorkerd S. Contrary effects of lightly and strongly oxidized LDL with potent promotion of growth apoptosis in arterial smooth muscle cells, macrophages and fibroblasts [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16** (3): 416- 424
- [21] 杨和平, 张 敏. 动脉粥样硬化斑块旁中膜 c- sis, c- myc 基因检测和细胞表型的比较研究 [J]. *中华病理学杂志*, 1992, **21** (6): 349
- [22] Parkes JL. Cultured human atherosclerotic plaque smooth muscles cells retain transforming potential and display enhanced expression of the myc proto- oncogene [J]. *Am J Pathol*, 1991, **138** (4): 765 - 775
- [23] 杨和平. 动脉硬化平滑肌细胞增殖即刻早期基因与 c- sis 基因表达和调控 [J]. *衡阳医学院学报*, 1994, **22**: 89- 129
- [24] Haltgardh- Nilsson A. Endogenous activation of c- myc expression and DNAsynthesis in serum- stanced neonatal rat smooth muscle cells [J]. *Differentiation*, 1993, **52** (2): 161- 168
- (此文 1999- 12- 13 收到, 2000- 06- 13 修回)
- (此文编辑 文玉珊)