

炎症反应在动脉粥样硬化发病学中的作用

Jianglin Fan and Teruo Watanabe

(日本筑波大学心血管病实验室)

王燕 翻译, 杨永宗 审校

(南华大学心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

动脉粥样硬化及其并发症是西方国家和日本最常见的死亡原因。在过去十年中, 尽管出现了几种学说或假说, 但没有一种能够完整地解释动脉粥样硬化发病机制的全过程, 因此疾病与多种危险因素有关。不仅如此, 现在还有一种被普遍接受的观点认为动脉粥样硬化是一种特殊的慢性炎症过程, 这种炎症过程源于血浆脂蛋白、细胞组分(单核/巨噬细胞、T淋巴细胞、内皮细胞和平滑肌细胞)与动脉壁细胞外基质间的相互作用。组织学观察发现, 从动脉粥样硬化早期病变(脂纹)到复合病变具有慢性炎症的所有特征。现已证明, 致动脉粥样硬化形成的脂蛋白, 如氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)、脂蛋白残粒(β -VLDL)和脂蛋白(a)在促炎反应中有重要作用, 而抗动脉粥样硬化脂蛋白, 即高密度脂蛋白(HDL)却具有抗炎反应的功能。用胆固醇饲养的动物做的实验发现, 动脉粥样硬化形成过程中发生在其动脉壁上的最早的病理改变是单核细胞和淋巴细胞粘附到内皮细胞上, 随后迁移入内膜。现已证明, 这些早期事件是由血中高浓度的致动脉粥样硬化脂蛋白所激发, 并受到动脉壁中炎性因子(如粘附分子和细胞因子)的调节。遗传修饰实验动物的发展(转基因和基因敲除鼠、转基因兔)为精确研究单个候选基因及研究病变形成和发展的因果关系提供了有效的方法。本文对近年来有关动脉粥样硬化中炎性过程的临床及实验研究做一综述。特别是我们要对致动脉粥样硬化性脂蛋白在炎性反应与高胆固醇血症相关中的作用机制进行研究, 明确动脉粥样硬化过程中致炎性反应的分子机制, 可以帮助我们在未来控制、治疗和预防动脉粥样硬化中发展新策略。

1 动脉粥样硬化的早期变化

动脉粥样硬化早期病变的一个特点是, 荷脂细胞在内皮下堆积, 即脂纹或脂斑。对人的动脉粥样硬化病变或胆固醇饲养动物的大量研究显示, 负载脂质的细胞主要是血液中的单核细胞, 继之分化成巨噬细胞。这些巨噬细胞吞噬大量的脂质堆积在内膜下呈泡沫状, 称为泡沫细胞。巨噬细胞表面有大量清道夫受体可以介导脂质(主要是氧化型低密度脂蛋白)入胞。在动脉粥样硬化病变中常能检测到低密度脂蛋白(LDL)(尤其是小颗粒致密 LDL)、脂蛋白残粒(β -VLDL, 可在

III型高脂血症和胆固醇饲养的动物体内检测到)和脂蛋白(a), 现在认为当血中这三种脂蛋白升高时有致动脉粥样硬化作用, 这些脂蛋白堆积在内膜下被化学修饰(如氧化), 进而导致一系列的生物学反应。尽管脂蛋白(a)也存在于病变中, 但与 ox-LDL 相比, 后者与病变中泡沫细胞形成关系更密切。脂蛋白(a)更倾向与细胞外基质结合。脂蛋白(a)的生物学功能及其在病变发展中的作用目前还不十分清楚, 但是最近我们实验室用载脂蛋白(a)转基因兔做的试验显示, 脂蛋白(a)在病变形成过程中可能是作为促炎性介质起作用。另外, 在病变的泡沫细胞和巨噬细胞散在分布有 T 淋巴细胞, 电子显微镜观察人类动脉粥样硬化病变发现, 活化状态的 T 淋巴细胞(当 T 淋巴细胞释放 II 类主要组织相容性复合物抗原时)和巨噬细胞之间有密切的相互作用关系。我们用高脂血症鼠做的实验证明, 在病变形成初期(高胆固醇喂养 2 周)T 细胞占优势, 随着病变的发展逐渐变成以单核细胞浸润为主。因此, 我们可以认为 T 淋巴细胞可能是通过释放多种细胞活素来参与病变的发展。免疫组化研究也显示在病变发展的各期中都可发现大量的源于不同血管细胞的细胞活素。其中最值得注意的细胞因子之一就是 T 淋巴细胞分泌的 γ 干扰素(INF- γ), 它在泡沫细胞形成过程中具有多种作用, 调节平滑肌细胞增殖, 并通过调节间质金属蛋白酶的生成来影响斑块稳定性(见后)。总而言之, 这些发现提示细胞介导的免疫机制可能与动脉粥样硬化的发病机制有关。

2 动脉粥样硬化的激发和进展的机制

由于人类的病变发展多要经历几十年, 所以胆固醇喂饲动物已经广泛用于研究动脉粥样硬化的早期事件。从十九世纪八十年代以来, 利用胆固醇喂饲动物做的大量的研究(也包括我们自己的)显示, 发生在模型动物动脉壁上最早的病理改变之一是单核细胞粘附到内皮细胞上, 这是利用电子显微镜和免疫组织化学方法观测到的。内皮细胞上有许多粘附分子可以引发单核细胞的粘附, 如血管细胞粘附分子 1 (VCAM-1)、细胞间粘附分子 1(ICAM-1)、P 选择素(P-selectin)和 E 选择素(E-selectin)。增加这些分子的表达会促进单核细胞和 T 淋巴细胞粘附到内皮细胞及动脉壁上。体外实验发现提高致动脉粥样硬化脂蛋白[ox-LDL 和脂蛋白(a)]水平可以使粘附分子表达增高, 给高脂血症动物注射特异性抗体

阻抑粘附分子的表达后,观察到内皮下细胞明显减少了。粘附分子与病变形成早期关系密切,支持这一观点的直接证据来自于几项利用遗传修饰鼠做的实验研究,这些动物天生缺乏这些分子。Cybulsky 和他的同事构建了 VCAM-14D/4D 基因敲除鼠,并拿它和缺失 ICAM-1 鼠相比做的实验显示,在动脉粥样硬化形成中促使单核细胞粘附到内皮细胞上,VCAM 比 ICAM-1 的作用更强。

单核细胞和 T 淋巴细胞粘附到动脉壁上后迁移入内皮下,随后分化并转化成巨噬细胞和泡沫细胞。这种迁移被存在于内皮的一种生物反应介质所诱导,这种生物反应介质称之为化学趋化剂(chemoattractant)。体外试验中已证明几种候选化学趋化剂具有这方面的功能,所有候选化学趋化剂必须符合两个条件,即存在于内膜并特异性针对单核细胞或 T 淋巴细胞起化学趋化剂的作用。过去的 20 年间,已证明有许多化学趋化剂具有诱导单核细胞趋化作用,包括 ox-LDL、脂蛋白(a)、细胞活素[单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、白细胞介素 1(IL)和肿瘤坏死因子 α (TNF α)]和降解的胶原蛋白及弹性蛋白。在迄今为止所有报道的介质中,MCP-1 和 Lyso-PC (ox-LDL 的一种组分)可能是病变里最重要最有特点的化学趋化剂。早期病变中就可以发现 MCP-1,并且内皮细胞和巨噬细胞可以释放 MCP-1, MCP-1 的功能实现依赖于单核细胞表面有其特异性受体 CCR-2 存在。缺乏 MCP-1 蛋白或其受体 CCR-2 可观察到载脂蛋白 E 基因敲除鼠的动脉粥样硬化病变明显减少,提示 MCP-1 是单核细胞在内膜下聚集的一个关键性介质,当研究发现缺乏 CCR-2 鼠对结核(另一种慢性炎症)的易感性增强时,这一观点被进一步证实。最近, Yamashita 等应用特异性 CCR-2 受体抑制剂 propagermanium 处理载脂蛋白 E 缺失鼠,可以通过抑制巨噬细胞浸润来减少动脉粥样硬化病变。ox-LDL 不仅是一种单核细胞的化学趋化剂,而且可以抑制巨噬细胞迁移,尽管这一现象的机制尚不完全清楚,但是 ox-LDL 的这一双重作用有助于解释为什么巨噬细胞或泡沫细胞不能再返回到血液循环。这些发现指导我们今后的以治疗冠心病或预防动脉粥样硬化为目的的实验,可以针对粘附分子或单核/巨噬细胞的化学趋化剂用药。

3 斑块稳定性和炎症反应

典型的动脉粥样硬化斑块(又称为粥瘤或纤维斑块)包含有一脂质或坏死组织的核心,上覆一层纤维帽(由平滑肌细胞和细胞外基质构成)。纤维帽边缘被称为“肩部”,多包含有巨噬细胞源性泡沫细胞和 T 淋巴细胞,通常认为这些成分能决定斑块的稳定性。从形态学及与临床相关性上来讲,动脉粥样硬化病变基本上分为稳定斑块和不稳定斑块(又称易破性斑块),稳定斑块脂质坏死核心小,其纤维帽较厚(由较多的平滑肌细胞和细胞外基质构成)。不稳定斑块常包含有一大的脂质坏死核心,其纤维帽较薄,并含有大量的炎症细胞,尤其在肩部。从形态学上讲,稳定斑块主要会引起血管狭窄和阻塞;无论其大小,不稳定斑块往往会带来严重的后果,导致急性冠状动脉综合征,因为它易破裂或导致血栓形成。斑块破裂的机制不十分清楚,但是巨噬细胞和 T 淋巴

细胞的聚集可能与此有很大的关系,因为巨噬细胞可以释放基质金属蛋白酶(MMP),后者可以破坏薄层纤维帽并促使斑块破裂。病变中有几种细胞活素如 TNF、IL-1 和 MG-CSF,可能也会使 MMP 表达增高。另外,T 淋巴细胞和巨噬细胞之间有密切的交互作用,也可能引起巨噬细胞源性 MMP 生成增多。T 淋巴细胞上的 CD-40 配体可以与巨噬细胞上的 CD-40 受体结合,这一过程可以诱导 MMP 合成。T 淋巴细胞还可以通过释放 INF- γ 来影响斑块稳定性,INF- γ 可以抑制平滑肌细胞增殖和基质生成。这对将来进一步临床试验,给 CHD 病人应用 MMP 抑制剂观察其是否能降低斑块破裂的危险性是很重要的。

4 脂蛋白和炎症

如上所述,既然认为动脉粥样硬化是一种特殊类型的慢性炎症,那么确认与动脉粥样硬化有关的炎症分子就是至关重要的。血浆胆固醇与动脉粥样硬化的因果关系已毋庸置疑,因而,我们应该清楚哪一种胆固醇或脂蛋白是坏的或者说是致动脉粥样硬化的。所有的致动脉粥样硬化脂蛋白一旦在内膜中蓄积,就可能引起直接的或间接的促炎反应,表 1 总结了 ox-LDL 作为一种炎症介质在动脉粥样硬化中的潜在作用。如前文所提及的,ox-LDL 可以诱导粘附分子在内皮细胞上表达并引发单核细胞向内膜迁移,另外,ox-LDL 可以引发其它血管细胞产生许多炎症介质(如内皮素 1),从而导致动脉壁上发生各种炎症反应。我们实验室应用载脂蛋白 E 基因敲除鼠证明,长期慢性给予内皮素 1 A/B 受体拮抗剂 SB209670 会导致动脉粥样硬化病变明显减少,并不受血浆胆固醇浓度的影响。因而与降脂药(如他汀类)一样,将来在治疗动脉粥样硬化时应用抗炎剂可能是有益的。除 ox-LDL 外,脂蛋白(a)等其它致动脉粥样硬化脂蛋白,可能也会通过诱导内皮细胞上粘附因子表达导致炎症反应及单核细胞趋化和平滑肌细胞增殖。我们最近的一项应用表达人类载脂蛋白(a)的转基因兔的研究显示,与对照组相比,脂蛋白(a)可以加重缺少内生性载脂蛋白(a)的转基因兔大动脉的动脉粥样硬化病变。其病变以细胞增殖为特征,并常有脂蛋白(a)沉积。我们最初假设脂蛋白(a)除了可以促使平滑肌细胞增殖外,还可以刺激平滑肌细胞退行性变,并且发现大量的内膜细胞与 SMemb 结合,SMemb 是一种单克隆抗体,它可以阻抑平滑肌肌球蛋白重链异构重组。此外,脂蛋白(a)还可以通过促进血浆纤溶酶原激活物-1 生成而抑制纤溶活性。最近,我们利用 WHHL 转基因兔做的实验发现脂蛋白(a)可以加重动脉粥样硬化程度及血管钙化。这些结果进一步证明,致动脉粥样硬化性脂蛋白通过诱导慢性炎症反应,在动脉粥样硬化病变形成中产生不同的影响。重要的是,这些脂蛋白可以促使血管细胞通生成细胞活素,并通过自分泌和旁分泌引起炎症反应,在病变形成过程中导致一恶性循环。与之相比,HDL(一种抗动脉粥样硬化脂蛋白)作为一种抗炎性分子,可以通过胆固醇逆转运来抗动脉粥样硬化。HDL 具有几种有益的功能(表 2),并且针对提高 HDL 浓度的治疗可能为今后治疗动脉粥样硬化开辟广阔的前景。

表 1. 氧化型低密度脂蛋白致动脉粥样硬化的可能机制

影响结果	可能机制
单核细胞粘附到内皮细胞↑	促使内皮细胞细胞上粘附分子表达增高
单核细胞和 T 淋巴细胞趋化现象↑	诱导 MCP-1 产生;直接作为化学趋化剂起作用
清道夫受体 A 和 CD36↑	活化 AP-1 和其他转录因子
泡沫细胞形成↑	通过清道夫受体介导的 ox-LDL 吸收增加
诱导促炎基因	活化核因子 κB 和 AP-1, 并促使 cAMP↑
促使细胞死亡	促使细胞凋亡和胆固醇结晶形成
血栓形成↑	诱导组织因子, 增加血小板聚集
削弱血管功能	抑制内皮素 1 和 NO 的作用
斑块破裂↑	增加 MMP 生成

表 2. 高密度脂蛋白抗动脉粥样硬化的可能机制

影响结果	可能机制
病变形成↓	胆固醇逆转运
单核细胞粘附到内皮细胞↓	抑制粘附分子和细胞活素的生成
血栓形成↓	调整内皮抗氧化性能及纤溶酶原活性
抗氧化作用↑	调节对氧磷酶
细胞死亡↓	抑制细胞凋亡
细胞增殖↓	抑制平滑肌细胞增殖

5 前景

最近十年中,血管生物学的长足发展使我们能够更好地理解血管细胞对炎性刺激的反应。血管细胞和脂质代谢异

常在炎症和动脉粥样硬化有很大的作用。现已清楚多数血管炎性反应是通过核因子 B 系统调控的。此外,已经证明 PPAR(类固醇激素核受体)作为配体活化转录因子可以控制血管壁上一些基因的表达。搞清楚这些现象的分子机制不但可以洞察动脉粥样硬化的发病机理,而且有助于我们为将来动脉粥样硬化的治疗提供新的治疗策略。与此相关,确定怎样控制动脉粥样硬化病变形成和发展中的炎症过程是很重要的,并且可以确认抗炎剂是否有临床应用价值。病变中巨噬细胞源泡沫细胞将成为将来治疗干涉的目标。目前,虽然治疗高胆固醇血症的病人仍然是主要的临床治疗任务,但是应用各种抗炎剂抑制炎性反应也许能防止斑块破裂并减少心肌梗死的发生。在今后的几年中,随着动脉粥样硬化和脂质代谢异常的分子机制的阐明,新的抗炎剂可能会发展为治疗动脉粥样硬化硬化的手段。

(此文编辑 胡必利)

·资料·

我刊被数据库和文摘杂志收录情况

美国化学文献社《Chemical Abstracts, CA》(《化学文摘》);

俄罗斯科技情报所《Abstract Journal, AJ》(《文摘杂志》);

科技部中国科技信息研究所《中国科技论文统计源期刊》;《万方数据数字化期刊》;《中国科技核心期刊》;

中国科学院文献信息中心《中国科学引文数据库》来源期刊;

中国科协学会学术部《中国学术期刊文摘》;

科技部西南信息中心《中文科技期刊数据库》;

中国科学文献计量评价研究中心等部门《中国

学术期刊综合评价数据库》统计源期刊

中国学术期刊(光盘版)电子杂志社《中国学术期刊(光盘版)》、《中国期刊信息与知识数据库》、《中国期刊全文数据库》全文收录;

中国医学科学院医学信息研究所《中国生物医学文献光盘数据库》、《中文科技资料目录(生物医学)》收录;

解放军医学图书馆《中文生物医学期刊数据库》收录;

《中国医学文摘》;

《中国药学文摘》;

《中国生物学文摘》。