

血管内皮祖细胞动员在损伤血管修复中的作用及调控因素

周音频 综述, 黄 岚 审校

(中国人民解放军第三军医大学新桥医院全军心血管内科中心, 重庆市 400037)

[关键词] 病理学与病理生理学; 血管内皮祖细胞在损伤血管修复中的作用; 综述; 内皮祖细胞; 血管损伤; 血管修复

[摘要] 骨髓内皮祖细胞是存在于骨髓的内皮前体细胞, 目前已经证实外周血极少量的血管内皮祖细胞来源于骨髓。骨髓内皮祖细胞受内源性和外源性因素刺激, 可动员而增量进入外周血, 参与血管再生及损伤血管的再内皮化。深入研究内皮祖细胞的动员和调控因素, 探明其在损伤血管修复中的作用, 对治疗以血管内皮损伤为共同特点的疾病具有重要意义。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

动脉粥样硬化、糖尿病、冠心病介入治疗等均可引起血管内皮的损伤, 促进原有病变的进展。如何尽可能恢复损伤血管内皮的结构和功能, 阻断或延缓上述疾病病理过程的演变, 是治疗上述疾病亟待解决的难题。研究证实循环中的内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)可参与血管再生和损伤血管的再内皮化, 本文就此方面内容作一综述。

1 血管内皮祖细胞的特性和生物学功能

血管内皮祖细胞是成熟血管内皮细胞的前体细胞, 属于干细胞群体, 既可自我更新, 又能定向分化为成熟的内皮细胞。在胚胎期, 血管内皮祖细胞来源于血岛, 参与胚胎期的血管新生和血管形成。目前已经证实成年个体仍然存在血管新生和血管形成的过程。有研究发现造血和血管内皮细胞系表达多种相同的标志物如人白细胞分化抗原 34(cluster of differentiation, CD34)、血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2)等, 所以认为它们来源于同一前体细胞^[1]。Peichev 等^[2]进一步用荧光标记的 VEGFR-2(鼠的对应抗原称 fetal liver kinase-1, flk-1)和造血干细胞抗原(AC133)的单克隆抗体行双色流式细胞分析, 发现几乎所有的 CD34+ flk-1+ 细胞均表达 AC133, 体外培养时 CD34+ flk+ AC133+ 细胞逐渐分化为 CD34+ flk+ AC133- 细胞, 后者具有一些成熟内皮细胞的特征, 提示 CD34+ flk+ AC133+ 可代表内皮祖细胞亚群。

有学者从骨髓及外周血中分离到内皮祖细胞, 经体外诱导分化可表达内皮细胞特征性的抗原, 提示内皮祖细胞不但存在于骨髓, 也存在于外周血^[3]。Asahara 等^[4]将内皮细胞特异性启动子调控的表达 β -半乳糖苷酶的小鼠(Tie-2/LacZ)作为骨髓移植供体, 在骨髓移植受体小鼠行肢体缺血和心肌

梗死实验, 针对 β -半乳糖苷酶表达的 X-gal 染色后, 在缺血肢体和心肌梗死周围新生的毛细血管中均发现有 LacZ 阳性的内皮祖细胞存在, 进一步证实成年个体外周血中存在的内皮祖细胞来源于骨髓, 并可参与血管新生和血管形成过程, 对损伤血管的修复和缺血组织侧枝循环的形成发挥重要作用。

2 血管内皮祖细胞在血管损伤修复中的作用及调控因素

骨髓中的内皮祖细胞受各种因素的刺激后向外周血迁移, 增加外周血中内皮祖细胞的数量, 称为内皮祖细胞的动员。研究发现, 在烧伤或冠状动脉旁路手术后 6~12 h 外周血中内皮祖细胞水平增加近 50 倍, 在 48~72 h 后逐渐降至基线水平。在整个病程中, 外周血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)水平也发生了相似的变化, 而且 VEGF 的动态改变与内皮祖细胞的变化具有同样的时相性^[5]。既往研究已经证明 VEGF 有明显改善组织缺血、促进侧枝循环形成的作用。国内王家宁等^[6]用表达 VEGF 基因的质粒对下肢缺血患者进行肌肉注射, 也发现可以明显改善缺血症状和促进侧枝循环。由此认为, 在烧伤、手术、缺血等应激过程中, VEGF 等细胞因子在血中增高, 通过促进骨髓内皮祖细胞向外周血的动员, 使外周血内皮祖细胞水平增加, 可能在加速血管修复、促进新生血管的形成中起重要作用。Asahara 等^[7]用 VEGF 对小鼠进行腹腔注射, 与对照组相比, 注射 VEGF 组外周血内皮祖细胞的数量明显增加, 迁移活性和促血管再生作用明显增强。最近 Schuch 等^[8]通过给小鼠注射 VEGF 拮抗剂内皮他汀(endostatin), 发现内皮他汀可明显减少外周血 flk-1 阳性细胞和循环内皮细胞的数量。由此推断, VEGF 等细胞因子可能通过对骨髓源内皮祖细胞的正性调控, 动员其进入外周血, 并且可能促进其转化为成熟的内皮细胞, 达到促进血管再生和增强血管内皮化的作用。

外周循环中的血管内皮祖细胞不但对内源性因素的动

[收稿日期] 2003-08-31

[修回日期] 2004-01-06

[作者简介] 周音频, 硕士, 主治医师, 主要研究方向为冠心病的基础与临床, E-mail 为 cqzhouyp@sina.com。黄岚, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为冠心病及心血管介入。

员表现正相效应,而且外源性的细胞因子也明显对这种正相效应有促进作用。Takahashi 等^[9]在小鼠和兔的肢体缺血模型中发现肢体缺血可引起内皮祖细胞的动员、增加外周血内皮祖细胞数量,如同时给予粒巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF),则内皮祖细胞数量进一步增加,缺血肢体的血管再生过程明显改善,证实外周血循环中的内皮祖细胞可同时受内源性和外源性因素的调控。

研究表明,作为主要调脂药物的他汀类药物除降低胆固醇外,还有改善内皮功能、抑制损伤血管新生内膜过度增生和减轻支架植入术后再狭窄等作用^[10-12]。Werner 等^[13]给予颈动脉损伤的小鼠洛伐他汀 20 mg/(kg·d),发现循环中的内皮祖细胞数量明显增加,骨髓来源的内皮祖细胞参与了血管再内皮化过程,血管损伤处新生内膜形成明显减轻。Walter 等^[14]用不同剂量的辛伐他汀(0.2 mg/(kg·d)或 1 mg/(kg·d))对颈动脉损伤的 SD 大鼠进行腹腔注射,结果发现损伤后 2 周辛伐他汀组损伤血管再内皮化过程明显增强,新生内膜厚度明显减少,而且其程度与注射的辛伐他汀剂量有明显依赖性。为进一步探明其机制,用荧光激活流式细胞分选和逆转录一聚合酶链反应技术观察了他汀类药物对大鼠外周血内皮祖细胞数量和体外培养的人内皮祖细胞粘附活性的影响,结果发现他汀类药物使外周血内皮祖细胞数量明显增加,培养的人内皮祖细胞的整合素亚单位 α_5 、 β_1 、 α_v 和 β_3 上调并增加其粘附性。以上研究表明他汀类药物促进损伤血管再内皮化和血管再生过程与其对骨髓内皮祖细胞的动员、促进外周血中内皮祖细胞数量增加及活性增强明显相关,很可能就是内皮祖细胞数量和活性动员、调节的结果。

为了解冠心病患者外周血中内皮祖细胞水平,Vasa 等^[15]检测了 45 例冠心病患者和 15 例健康志愿者外周血中内皮祖细胞的数量及活性,并与年龄、性别、高血压、糖尿病、吸烟、冠心病阳性家族史和低密度脂蛋白等危险因素进行相关分析,结果发现冠心病患者内皮祖细胞数量和活性明显降低,并与上述危险因素呈负相关。为评价他汀类药物在人体中对内皮祖细胞的影响,又将冠状动脉造影证实的稳定型冠心病患者给予阿托伐他汀 40 mg/d 口服,发现在给药后 1 周循环中内皮祖细胞数量增加,4 周后增加 3 倍,同时其功能活性也明显增强^[16]。李永强等^[17]发现冠状动脉造影中有侧枝循环的冠心病患者血浆 VEGF 水平较没有侧枝循环者高,表现了 VEGF 对冠状动脉缺血的调控作用。由此认为,冠心病患者血管内皮功能受损、血管再生过程障碍与外周血中内皮祖细胞数量减少、活性降低明显相关,可能是对骨髓来源的内皮祖细胞动员、调节不足的结果。在冠心病患者中,如果运用他汀类药物或 VEGF 等细胞因子,通过上调外周血中内皮祖细胞数量和活性来改善血管内皮功能,可能达到促进冠状动脉侧枝循环和增强抗缺血治疗效果的作用。

3 血管内皮祖细胞调控机理的研究

有研究发现 VEGF 调节成熟内皮细胞的活性是通过丝氨酸/苏氨酸激酶(serine/threonine kinase, Akt)磷酸化实现的,

激活 Akt 可提高内皮细胞成活率和迁移活性、促进内皮源性一氧化氮合酶生成^[18]。Akt 磷酸化需依赖磷脂酰肌醇 3'-激酶(phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K),用特异性 PI3K 抑制剂 LY294002 或渥曼青霉素阻断其作用,则 VEGF 对内皮细胞的上述作用消失。

Llavadot 等^[19]在研究辛伐他汀对内皮祖细胞的作用时,发现辛伐他汀可迅速激活 Akt,增强内皮祖细胞的迁移和增殖活性,延长其成活率,阻断 Akt 激活途径则明显影响内皮祖细胞的生物活性,说明他汀类药物也是通过 Akt 环节实现对内皮祖细胞的正性调控效应。Dimmeler 等^[20]证实他汀类药物不但调控干细胞从骨髓的动员过程,而且介导 CD34 阳性细胞向内皮祖细胞的分化,在调控和修饰内皮祖细胞的动力学过程中, Akt 的激活起了关键作用。上述研究提示,他汀类药物可能与 VEGF 一样,是作用于共同的 PI3K/Akt 途径而实现对内皮祖细胞的调控。另外也有研究发现阿托伐他汀作用于 PI3K/Akt 环节时有双相调节作用,较高浓度可介导内皮细胞凋亡而表现负相调节作用^[21]。

4 小结及展望

缺血、损伤、应激等内源性因素和细胞因子、药物等外源性因素均可刺激骨髓源性内皮祖细胞向周围血迁移,提高外周血内皮祖细胞的数量和活性,促进血管再生和损伤血管的再内皮化。用自体动员、调控的方法增加外周血内皮祖细胞的数量和活性,可以增强血管再生和损伤血管的再内皮化过程,有机会恢复或部分重建损伤血管的内皮结构和功能,而且可避免内皮祖细胞体外分离不纯、增殖数量不够以及异体来源的内皮祖细胞存在排斥反应等缺点,符合自体的内环境规律。进一步认识内皮祖细胞的调控过程和机理,特别是调控因素对内皮祖细胞作用的具体时相和量效关系,对动脉粥样硬化、介入治疗后血管内皮损伤的修复及再生具有重要意义,可能成为治疗以血管内皮损伤为共同病理生理基础的疾病的新方向。

[参考文献]

- [1] Choi K, Kennedy M, Kazarov A, Papadimitriou JC, Keller G. A common precursor for hematopoietic and endothelial cells. *Development*, 1998, **125** (4): 725-732
- [2] Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34+ cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*, 2000, **95** (3): 952-958
- [3] Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, Yamaguchi JI, Uchida S, Masuda H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia. *Circulation*, 2001, **103** (5): 634-637
- [4] Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*, 1999, **85** (3): 221-228
- [5] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997, **275** (5302): 964-967
- [6] 王家宁, 张群林, 葛永贵, 王玮, 黄永章, 王俊峰, 等. 血管内皮生长因子基因治疗严重肢体缺血. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (4): 328-331

(下转第 237 页)

- [7] Asahara T, Takahashi T, Masuda H, Kalka C, Chen D, Iwaguro H, et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J*, 1999, **18** (14): 3 964-972
- [8] Schuch G, Heymach JV, Nomi M, Machluf M, Force J, Atala A, et al. Endostatin inhibits the vascular endothelial growth factor-induced mobilization of endothelial progenitor cells. *Cancer Res*, 2003, **63** (23): 8 345-350
- [9] Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, et al. Ischemic and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med*, 1999, **5** (4): 434-438
- [10] Vita JA, Yeung AC, Winniford M, Hodgson JM, Treasure CB, Klein JL, et al. Effects of cholesterol-lowering therapy on coronary endothelial vasomotor function in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 2000, **102** (8): 846-851
- [11] Indolfi C, Cioppa A, Stabile E, Di Lorenzo E, Esposito G, Pisani A, et al. Effects of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor simvastatin on smooth muscle cell proliferation in vitro and neointimal formation in vivo after vascular injury. *J Am Coll Cardiol*, 2000, **35** (1): 214-221
- [12] Walter DH, Schachinger V, Elsner M, Mach S, Aicher-Schweik W, Zeiher AM. Effect of statin therapy on restenosis after coronary stent implantation. *Am J Cardiol*, 2000, **85** (8): 962-968
- [13] Werner N, Priller J, Laufs U, Endres M, Böhm M, Dimagli U, et al. Bone marrow-derived progenitor cells modulate vascular reendothelialization and neointimal formation: effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (10): 1 567-572
- [14] Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, et

al. Statin therapy accelerates reendothelialization: A novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells.

Circulation, 2002, **105** (25): 3 017-024

- [15] Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, Adler K, Urbich C, Martin H, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res*, 2001, **89** (1): E1-7
- [16] Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, Aicher A, Martin H, Zeiher AM, et al. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*, 2001, **103** (24): 2 885-890
- [17] 李永强, 董吁钢, 李怡, 马虹, 关永源. 血管内皮生长因子与冠状动脉粥样硬化及侧枝循环形成的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (1): 47-49
- [18] Morales-Ruiz M, Fulton D, Sowa G, Languino LR, Fujio Y, Walsh K, et al. Vascular endothelial growth factor-stimulated actin reorganization and migration of endothelial cells is regulated via the serine/threonine kinase Akt. *Circ Res*, 2000, **86** (8): 892-896
- [19] Llevadot J, Murasawa S, Kureishi Y, Uchida S, Masuda H, Kawamoto A, et al. HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *J Clin Invest*, 2001, **108** (3): 399-405
- [20] Dimmeler S, Aicher A, Vasa M, Mildner-Rihm C, Adler K, Tiemann M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI-kinase/Akt pathway. *J Clin Invest*, 2001, **108** (3): 391-397
- [21] Urbich C, Dernbach E, Zeiher AM, Dimmeler S. Double-edged role of statins in angiogenesis signaling. *Circ Res*, 2002, **90** (6): 737-744

(此文编辑 文玉珊)