

Fas-Fas 配体系统和动脉粥样硬化中的细胞凋亡

杜瑞雪¹ 综述; 范利¹, 王春喜² 审校

(中国人民解放军总医院 1. 老年心肾内科, 2. 普通外科, 北京市 100853)

[关键词] 病理学与病理生理学; Fas-Fas 配体; 综述; 动脉粥样硬化; 细胞凋亡

[摘要] 近年来, 国内外对 Fas-Fas 配体系统在动脉粥样硬化病变中的研究受到人们的关注。本文主要介绍了在动脉粥样硬化病变中, Fas-Fas 配体系统的作用及其信号传导途径的调控因素。研究 Fas-Fas 配体系统可为完善动脉粥样硬化的发病机制、开创新的治疗途径提供一定的理论依据。

[中图分类号] R543.5

[文献标识码] A

Fas-Fas 配体系统是可启动细胞发生凋亡的信号传导途径之一。很多证据表明, 动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)病变中的内皮细胞、平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)和巨噬细胞均存在病理凋亡现象^[1,2], 并和 Fas-Fas 配体系统密切相关^[3,4], 这促使人们从新的认识角度去探索 As 的发病机制。下面就近年来 Fas-Fas 配体系统在 As 中的作用及研究进展作一介绍。

1 Fas-Fas 配体的生物化学特性

Fas, 又称为载脂蛋白 1、CD95。既往研究证实^[5], 人的 Fas 含 325 个氨基酸, 属 I 类膜蛋白, 分子质量为 45 kDa。在各种组织中均表达, 尤其在胸腺、肝脏、心脏、肾脏中表达量很大。Fas 配体(fas ligand, FasL), 是 $\text{CD}95$ 型跨膜糖蛋白, 分子质量约 40 kDa, 主要在激活的 T/B 淋巴细胞上表达。可溶性 Fas(soluble Fas, sFas)由 Fas 基因变异形成, 游离于血清中, 无生物活性, 可阻断 Fas 配体传导的信号, 抑制细胞凋亡。可溶性 Fas 配体(soluble Fas Ligand, sFasL)是 Fas 配体在金属酶样物质作用下产生, 在体内外无生物学活性, 可与 Fas 结合诱发携带 Fas 的细胞凋亡。

2 Fas-Fas 配体在动脉粥样硬化中的作用

既往针对肿瘤的研究发现, Fas-Fas 配体系统不但是杀伤性淋巴细胞发挥细胞毒作用的主要机制, 而且参与清除过度激活的免疫活性细胞, 抑制自身免疫反应; 在清除体内的衰老细胞、肿瘤细胞等方面也起重要作用。近年来, 随着 As 中凋亡方面研究的不断深入, Fas-Fas 配体系统在 As 病变中的作用日益引起人们的关注。

2.1 诱导血管巨噬细胞和平滑肌细胞凋亡, 促进动脉粥样硬化的发展

在 As 发展过程中, 巨噬细胞和平滑肌细胞的凋亡对增

生的抑制、粥样病灶的形成和斑块的剥脱有重要影响。传统观点认为, As 病灶脂质核心的形成来源于巨噬细胞源性泡沫细胞的坏死。最近几年的证据则表明, 巨噬细胞既可发生坏死, 也可发生凋亡。脂质核心的形成可能是巨噬细胞凋亡大于增殖的结果。其凋亡的原因与巨噬细胞内游离胆固醇的堆积密切相关。而这些富含游离胆固醇的巨噬细胞的凋亡, 50% 是由于细胞表面的 Fas 配体介导^[6]。此外, As 病变中平滑肌细胞的凋亡也与 Fas 有关^[4]。在 As 斑块中, 纤维帽中平滑肌细胞的凋亡可促使斑块趋于不稳定。因为纤维帽中的间质胶原纤维对维持纤维帽的张力起重要作用, 而平滑肌细胞是纤维帽中唯一产生间质胶原纤维的细胞, 其凋亡增多必然使胶原纤维合成减少, 纤维帽张力减低, 斑块易于破裂。凋亡的平滑肌细胞还能产生凝血酶, 诱发血栓形成, 导致不稳定心绞痛、急性心肌梗死、猝死等严重并发症^[7]。这些都使人们从一种全新的角度认识 As 的发生机理, 如何从控制细胞凋亡方面稳定 As 斑块也许会成为将来治疗 As 的新策略。

2.2 可溶性 Fas 可能是代表周围动脉硬化闭塞症的独立危险因素

周围动脉硬化闭塞症(peripheral arterial occlusive disease, PAOD), 是指外周动脉发生 As 并闭塞, 在血液透析病人中有较高的发生率。Masse 等^[8]在 107 例慢性血液透析病人中, 评估了可溶性 Fas 水平和 PAOD 之间的关系。和对照组(无 PAOD 的血透病人)相比, PAOD 组(有 PAOD 的血透病人)血浆可溶性 Fas 水平显著升高。多因素回归分析显示, 可溶性 Fas 是独立于经典 As 危险因素(高胆固醇血症、糖尿病、高血压、吸烟等)、炎症标志物(如 C 反应蛋白、细胞间粘附分子 1)及其他危险因素(如年龄、性别)之外的 PAOD 的另一危险因素。血浆可溶性 Fas 浓度增加 20%, PAOD 的发生率增加 1.6%。在所选的病人中, 用可溶性 Fas 预测 PAOD 要明显优于用其他经典 As 危险因素及 C-反应蛋白来预测。这提示可溶性 Fas 可能代表一种新的、独立的危险因素, 是终末期肾脏病患者 PAOD 的标志物。因此, Fas 作为 As 中多种细胞凋亡的始动因素, 不但在 As 部位表达增加, 血浆中的可溶性 Fas 可能也具有潜在重要的临床意义。

[收稿日期] 2003-05-26

[修回日期] 2004-06-17

[作者简介] 杜瑞雪, 硕士研究生, 主治医师。范利, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 主要从事老年冠心病、下肢动脉粥样硬化、心律失常、心肌病的临床诊治和基础研究。王春喜, 副主任医师, 副教授。

2.3 介导血管移植术中的免疫反应和粥样硬化

冠状动脉旁路移植术后,移植血管发生粥样硬化一直是人们难于解决的问题。研究表明,这可能与移植术对炎症的易感性以及 Fas-Fas 配体系统介导的内皮细胞的凋亡有关。术后早期,移植血管中可见单核细胞浸润。随后,激活的单核细胞在巨噬细胞集落刺激因子作用下诱导内皮细胞凋亡,启动移植血管发生粥样硬化。在大鼠主动脉同种移植术模型中,Wang 等^[9]发现,通过腺病毒的转导作用,使内皮细胞上的可溶性 Fas 过度表达,可显著抑制内皮细胞的凋亡,新生内膜的厚度较对照组也明显减少。还有一些动物实验表明^[10,11],在与慢性移植术粥样硬化有关的炎症反应中,细胞毒性 T 细胞上 Fas 配体的表达是形成血管移植术粥样硬化的必要条件。这是由于 Fas 配体可从活化的 T 细胞上释放出来,以游离配体的形式作用于释放 Fas 配体的细胞自身或其他活化的 T 细胞,诱导免疫损伤。这启发人们从切断移植血管细胞上的 Fas-Fas 配体信号途径入手,抑制血管移植术中的免疫反应和粥样硬化。

3 影响动脉粥样硬化中 Fas-Fas 配体系统凋亡途径的因素

在 As 病变中,物理作用、化学介质、炎症细胞、脂质等很多因素均与血管壁细胞的凋亡有关。进一步的研究发现,上述因素大多可通过影响 Fas-Fas 配体途径介导血管壁细胞的凋亡。

3.1 一氧化氮

一氧化氮是具有多种生物学效应的一种特殊介质,其效应之一是可诱导细胞凋亡。Esaki 等^[12]应用双标记免疫染色测定,发现在晚期 As 斑块中,诱导型一氧化氮合酶、Fas 和 Fas 配体同时在 T 淋巴细胞和巨噬细胞表达。TUNEL 法显示,许多凋亡的巨噬细胞和 T 淋巴细胞存在于一氧化氮合酶阳性的细胞附近。据此可推测诱导型一氧化氮合酶生成的一氧化氮诱导 Fas 和 Fas 配体介导的凋亡,并和 As 斑块的退变有关。一些体外细胞培养实验也证明^[13,14],一氧化氮能通过 Fas-Fas 系统诱导血管平滑肌细胞凋亡,并且可能需要 caspase-3 与核转录因子 KB 等参与。

3.2 氧化型低密度脂蛋白和游离胆固醇

氧化型低密度脂蛋白和游离胆固醇在 As 中起重要作用已是不争的事实,尤其是氧化型低密度脂蛋白,是促进 As 发生、发展的一个重要因素。近年来很多研究证实氧化型低密度脂蛋白不但与 As 斑块形成过程中平滑肌细胞的增殖有关,而且与 As 斑块晚期血管壁细胞的凋亡有关^[15]。其作用可能因氧化型低密度脂蛋白的浓度不同而异。低浓度的氧化型低密度脂蛋白促进平滑肌细胞增殖,高浓度的氧化型低密度脂蛋白则促进平滑肌细胞凋亡^[15,16]。Napoli 等^[17]进一步的研究发现,氧化型低密度脂蛋白诱导的细胞凋亡可被 Fas 和 TNF 受体等多种信号传导途径介导。阻断 Fas 配体使凋亡减少 50%,同时阻断 Fas 配体和 TNF 受体可使凋亡减少 70%。由此可见,氧化型低密度脂蛋白与 Fas-Fas 配体信号传导途径密切相关。游离胆固醇在血管细胞凋亡中的作用

尚不太明确。有人认为,游离胆固醇可促进平滑肌细胞增殖^[18]。但 Yao 等^[19]在鼠 As 模型中发现,游离胆固醇诱导的凋亡在各型巨噬细胞都可通过抗 Fas 配体抗体而阻断。由此推测游离胆固醇可能经 Fas-Fas 配体信号传导途径诱导巨噬细胞凋亡。

3.3 炎症细胞

血管中的巨噬细胞可通过 Fas-Fas 配体系统诱导平滑肌细胞的凋亡。Boyle 等^[20]在人颈动脉、主动脉、及冠状动脉中发现,是巨噬细胞,而不是 T 淋巴细胞,能够诱导平滑肌细胞凋亡。研究显示,在 As 斑块中单核细胞膜表面增多的 Fas 配体与平滑肌细胞表面的 Fas 结合,可启动相应的凋亡传导系统,从而导致平滑肌细胞的凋亡。因此,他们认为,As 病变中的巨噬细胞具有潜在诱导平滑肌细胞凋亡的能力,这个过程部分依赖于 Fas-Fas 配体的中介作用。

3.4 血流动力学

体外培养发现^[21],在低切应力条件下血管发生重建,血管平滑肌细胞在增殖的同时还存在凋亡,提示切应力变化导致血管平滑肌细胞增殖和凋亡之间的失衡是某些心血管疾病发生的基础。Freyberg 等^[22]认为,种植在层流条件下的内皮细胞缺乏 Fas 受体,涡流条件刺激其表达。此时通过 Fas 配体刺激 Fas 受体,凋亡细胞数增加两倍,这种效应可通过阻断 Fas 受体而抑制。由此可推论,在血管的 As 斑块部位,由于狭窄造成的涡流,同样可能刺激血管内皮细胞表达 Fas 受体,促进凋亡的发生。

3.5 其他

有学者认为,①A 型分泌型磷脂酶 A2 促进与 CD40 有关的 Fas-Fas 配体表达的增加,前者和 Fas-Fas 配体系统之间存在正向协作关系^[23]。神经肽 Y 可能通过降低细胞内液酸碱度、细胞浆酸化,参与 Fas 诱导的血管平滑肌细胞的凋亡。但作用尚不太肯定,且与其浓度有关^[24,25]。另外,最近 Valgirmigli 等^[26]用来源于急性冠状动脉综合症的病人的血清和人脐静脉的内皮细胞共同孵育,发现急性冠状动脉综合症的病人血循环中存在能促进 Fas 表达的激活物。但究竟是何种激活物,尚有待于进一步研究。由此可见,上述因素均可启动 Fas-Fas 配体系统,之后可能通过蛋白酶途径、神经鞘磷脂途径等介导 As 中的细胞凋亡,然而这方面的具体机制尚不甚明了。

此外,血管壁细胞对 Fas-Fas 配体信号系统的反应也是影响凋亡的另一重要因素。Imanishi 等^[27]发现正常血管平滑肌细胞对 Fas 配体是有抵抗力的,这可能与平滑肌细胞内含高浓度的某种细胞保护分子有关。后者数量下调会导致细胞内与 Fas-Fas 配体信号系统相关的蛋白酶 caspase-3 活性增加,使平滑肌细胞对 Fas-Fas 配体系统诱导的凋亡易感。Chan 等^[28]则发现平滑肌细胞对 Fas 诱导的凋亡具有异质性,即 Fas 抵抗和 Fas 敏感性细胞同时存在。Fas 敏感性细胞表达 Fas 并能吸引受体相互作用蛋白,从而启动 Fas 信号转导途径。然而,Fas 抵抗细胞显示 Fas、Fas 配体、caspase-3、caspase-7、caspase-8 等表达减少,但和抗凋亡有关的某些蛋白表达增加。同时,平滑肌细胞还显示 caspase-3 表达的异质

性。他们认为, Fas 敏感性不只由细胞表面 Fas 表达决定, 而且受到受体水平下面的 Fas 信号蛋白表达的影响。然而, 以上结果均来源于体外实验和健康冠状动脉。在人 As 病变中, 虽有证据表明平滑肌细胞上有 Fas 的表达, 但其对 Fas-Fas 配体信号系统是否也有类似反应, As 病变中的各种化学物质、炎性细胞的存在是否对上述反应有所影响, 尚需进一步研究、证实。

总之, Fas-Fas 配体系统是 As 中细胞凋亡的主要途径之一。目前, 人们正逐步探索 Fas-Fas 配体系统在 As 中的作用机制; 其在 As 不同病变阶段对各种血管细胞所起的作用也还需要更多的研究加以阐明。而且, 这其中有一部分结果来源于动物实验和细胞培养, 无法代替临床资料, 有必要进一步研究, 从而为深理解 As, 寻找和开发新的治疗措施提供理论基础。

[参考文献]

- [1] Han DK, Haudenschild CC, Hong MK, Tinkle BT, Leon MB, Liao G. Evidence for apoptosis in human atherosclerosis and in a rat vascular injury model. *Am J Pathol*, 1995, **147** (2): 267-277
- [2] Kockx MM, Knaapen MW. The role of apoptosis in vascular disease. *J Pathol*, 2000, **190** (3): 267-280
- [3] Wang AY, Bobryshev YV, Cherian SM, Liang H, Tran D, Inder SJ et al. Expression of apoptosis-related proteins and structural features of cell death in explanted aortocoronary saphenous vein bypass grafts. *Cardiovasc Surg*, 2001, **9** (4): 319-322
- [4] Jacob T, Ascher E, Hingorani A, Khandros Y, Tsemekhin B, Zeien L, et al. Differential proteolytic activity and induction of apoptosis in fibrous versus atherosclerotic plaques in carotid atherosclerotic disease. *J Vasc Surg*, 2001, **33** (3): 614-620
- [5] 胡野, 凌志强, 单小云. 细胞凋亡的分子医学. 北京: 军事医学科学出版社, 2002; 77-78
- [6] Yao PM, Tabas I. Free cholesterol loading of macrophages is associated with widespread mitochondrial dysfunction and activation of the mitochondrial apoptosis pathway. *J Biol Chem*, 2001, **276** (45): 42 468-476
- [7] Flynn PD, Byrne CD, Baglin TP, Weissberg PL, Bennett MR. Thrombin generation by apoptotic vascular smooth muscle cells. *Blood*, 1997, **89** (12): 4 378-384
- [8] Masse M, Hebert MJ, Troyanov S, Vigneault N, Sirois I, Madore F. Soluble Fas is a marker of peripheral arterial occlusive disease in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 2002, **17** (3): 485-491
- [9] Wang T, Dong C, Stevenson SC, Herderick EE, Marshall-Neff J, Vasudevan SS, et al. Overexpression of soluble fas attenuates transplant arteriosclerosis in rat aortic allografts. *Circulation*, 2002, **106** (12): 1 536-542
- [10] Subbotin V, Sun H, Aitouch A, Salam A, Valdivia LA, Fung JJ, et al. Marked mitigation of transplant vascular sclerosis in Fas Ligand (CD95L) mutant recipients. The role of alloantibodies in the development of chronic rejection. *Transplantation*, 1999, **67** (10): 1 295-300
- [11] Sata M, Luo Z, Walsh K. Fas ligand overexpression on allograft endothelium inhibits inflammatory cell infiltration and transplant-associated intimal hyperplasia. *J Immunol*, 2001, **166** (11): 6 964-971
- [12] Esaki T, Hayashi T, Muto E, Kano H, Kumar TN, Asai Y, et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and Fas/Fas ligand correlates with the incidence of apoptotic cell death in atherosclerotic plaques of human coronary arteries. *Nitric Oxide*, 2000, **4** (6): 561-571
- [13] 田雪梅, 刘建康, 李进. 钠-氢交换在一氧化氮诱导血管平滑肌细胞凋亡中的作用. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (1): 38-41
- [14] 田宏, 杜军保, 范瑾, 赵卫红, 唐朝枢. 一氧化氮诱导大鼠肺动脉平滑肌细胞凋亡机制研究. *中国病理生理杂志*, 2003, **19** (7): 870-874
- [15] 袁中华, 杨永宗, 杨小毅. 氧化低密度脂蛋白诱导主动脉平滑肌细胞胆固醇酯聚集和凋亡. *生物化学与生物物理进展*, 2002, **29** (2): 217-222
- [16] Okura Y, Brink M, Itabe H, Scheidegger KJ, Kalangos A, Delafontaine P. Oxidized low-density lipoprotein is associated with apoptosis of vascular smooth muscle cells in human atherosclerotic plaques. *Circulation*, 2000, **102**: 2 680
- [17] Napoli C, Quehenberger O, De Nigris F, Abete P, Glass CK, Palinski W. Mildly oxidized low density lipoprotein activates multiple apoptotic signaling pathways in human coronary cells. *FASEB J*, 2000, **14** (13): 1 996-007
- [18] 檀战山, 刘军生, 耿晓军, 苏兆堂, 崔立波. 平滑肌细胞凋亡在自然消退动脉粥样硬化中作用的实验研究. *中国危重病急救医学*, 2002, **14** (12): 739-742
- [19] Yao PM, Tabas I. Free cholesterol loading of macrophages induces apoptosis involving the fas pathway. *J Biol Chem*, 2000, **275** (31): 23 807-813
- [20] Boyle JJ, Bowyer DE, Weissberg PL, Bennett MR. Human blood-derived macrophages induce apoptosis in human plaque-derived vascular smooth muscle cells by Fas ligand/Fas interactions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21** (9): 1 402-407
- [21] 刘艳春, 姜宗来, 刘波, 张峰, 张炎, 李玉泉. 低切应力对体外培养动脉的平滑肌细胞增殖和凋亡的影响. *医用生物力学*, 2002, **17** (4): 198-202
- [22] Freyberg MA, Kaiser D, Graf R, Friedl P. Vascular endothelial cells express a functional fas-receptor due to lack of hemodynamic forces. *Apoptosis*, 2001, **6** (5): 339-343
- [23] Fuentes L, Hernandez M, Fernandez-Aviles FJ, Crespo MS, Nieto ML. Cooperation between secretory phospholipase A2 and TNF α -receptor superfamily signaling: implications for the inflammatory response in atherosclerosis. *Circ Res*, 2002, **91** (8): 681-688
- [24] 刘建康, 胡必利, 梁若斯, 陈敏生, 黄少华. 神经肽 Y 诱导血管平滑肌细胞凋亡相关基因表达与细胞内液 pH 变化的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (1): 21-23
- [25] 刘建康, 黄少华, 陈敏生. 神经肽 Y 对血管平滑肌细胞凋亡相关基因表达的诱导作用. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (3): 212-214
- [26] Valgimigli M, Agnoletti L, Curello S, Comini L, Francolini G, Mastroianni F, et al. Serum from patients with acute coronary syndromes displays a proapoptotic effect on human endothelial cells: a possible link to prior coronary syndromes. *Circulation*, 2003, **107** (2): 264-270
- [27] Imanishi T, Hano T, Nishio I, Liles WC, Schwartz SM, Han DK. Transition of apoptotic resistant vascular smooth muscle cells to apoptotic sensitive state is correlated with downregulation of c-FLIP. *J Vasc Res*, 2000, **37** (6): 523-531
- [28] Chan SW, Hegyi L, Scott S, Cary NR, Weissberg PL, Bennett MR. Sensitivity to Fas-mediated apoptosis is determined below receptor level in human vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 2000, **86** (10): 1 038-046

(此文编辑 胡必利)