

细胞外基质影响血管平滑肌细胞迁移和增殖的研究进展

凌宏艳 综述, 胡 弼 审核

(南华大学医学院生理学教研室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 细胞外基质对血管平滑肌细胞迁移和增殖作用; 综述; 整合素; 血管平滑肌细胞; 信号传导

[摘要] 细胞外基质主要包括胶原, 氨基多糖, 弹性蛋白和糖蛋白等成分。细胞外基质通过与血管平滑肌细胞表面上的整合素受体结合, 形成粘着斑, 激活粘着斑激酶, 触发细胞内一系列信号传导, 从而对血管平滑肌细胞的迁移和增殖产生影响。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的迁移和增殖在高血压、动脉粥样硬化和血管成型术后再狭窄等病理过程的发生、发展中起关键作用。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是组成间质和上皮—血管中基质的不溶性结构成分, 主要由胶原, 氨基多糖, 弹性蛋白和糖蛋白组成。ECM 作为细胞存在和相互联系的环境和媒介, 不仅为 VSMC 提供支架结构和附着位点, 而且在介导各种因素引发的 VSMC 黏附、迁移、增殖过程中起重要作用^[1]。现就 ECM 对 VSMC 迁移、增殖的影响及其信号传导通路等方面作一综述。

谢相关的蛋白酶如基质金属蛋白酶和丝氨酸蛋白酶及其特异性的抑制剂。

1 细胞外基质的组成及作用

1.1 胶原

胶原是 ECM 的主要成分, 为具有三重螺旋结构的超分子聚合物, 是一簇纤维状蛋白。根据其二级结构的不同可分为: iv型、I型、II型、III型胶原等。血管壁细胞间的胶原主要是 iv型和 I型, III型胶原参与血管基底膜的形成, 具有支持血管的作用。

1.2 氨基多糖(葡糖胺聚糖)

氨基多糖因多肽链上共价结合 1 个以上葡糖胺聚糖链, 故又称葡糖胺聚糖, 包括透明质酸、硫酸软骨素、硫酸乙酰肝素等。它们对细胞的生长、分化及胶原形成起调节作用。

1.3 弹性蛋白

弹性蛋白是弹性纤维的主要成分, 具有维持血管的韧性和介导 VSMC 的迁移, 并调控细胞浆内游离 Ca^{2+} 的浓度。

1.4 糖蛋白

细胞外基质中的糖蛋白由纤维粘连蛋白(fibronectin, FN)、层粘连蛋白(laminin, LN)、玻璃粘连蛋白、血栓粘素、骨桥素等组成, 具有生长因子样作用, 能促进细胞的黏附、生长、分化、迁移和增殖等。

此外, ECM 还存在一些可溶性的成分, 主要有与基质代

2 细胞外基质对血管平滑肌细胞表型的影响

血管平滑肌细胞(VSMC)至少有两种表型: 收缩型/分化型和合成型/去分化型, 正常成熟的血管中, VSMC 处于分化状态, 表现为胞浆内含有大量的肌纤维, 合成细胞器如粗面内质网、高尔基体等细胞器较少。分化型 VSMC 主要通过表达一系列的收缩蛋白和骨桥蛋白来维持血管收缩和调节血管壁的张力。当血管受到外来刺激后, VSMC 表型发生改变: 由收缩型/分化型向合成型/去分化型转变, 伴随着肌纤维骤减, 大量的粗面内质网、高尔基复合体等细胞器形成和细胞骨架蛋白的表达减少, 导致细胞收缩功能消失并由中膜向内膜迁移、增殖, 同时分泌大量的 ECM。ECM 中的某些成分对 VSMC 的表型调节起重要作用, 如 FN 和 LN 是糖蛋白家族中的两个主要成分, 体外实验表明 FN 促进 VSMC 表型转变, 而 LN 作用相反, 抑制 VSMC 表型转变^[2]。

3 细胞外基质对血管平滑肌细胞迁移的影响

细胞外基质(ECM)尤其是基底膜是 VSMC 迁移必须克服的生理屏障, 基质金属蛋白酶是降解 VSMC 基底膜基质的主要酶类, 为 VSMC 迁移扫清道路。当血管受损后, 损伤部位的内皮细胞、VSMC 和巨噬细胞等合成和分泌白细胞介素、肿瘤坏死因子、碱性成纤维细胞生长因子等, 这些因子刺激 VSMC 中骨桥素和基质金属蛋白酶 2 基因表达活性明显增加, 从而促进 VSMC 由中膜向内膜迁移^[3,4]。与此一致, 猪冠状动脉球囊损伤后第 3 d 基质金属蛋白酶 9 的活性增加, 第 7 d 基质金属蛋白酶 2 增多, 并且两酶的活性升高持续至第 21 d, 基质金属蛋白酶抑制剂的应用使用可使迁移到内膜的 VSMC 减少 97%^[5], 证明了基质金属蛋白酶增多与 VSMC 的迁移密切相关。

血管平滑肌细胞(VSMC)的迁移需要细胞与 ECM 的黏附和脱离的精细调控, 已有研究提示, 许多 ECM 成分, 如 FN、骨桥素^[6]和玻璃粘连蛋白^[7]等, 具有生长因子样作用, 能

[收稿日期] 2003-11-11 [修回日期] 2004-09-12

[作者简介] 凌宏艳, 硕士研究生, 讲师, 主要研究方向为心血管生理。胡弼, 教授, 硕士研究生导师, 本文通讯作者。

促进 VSMC 的迁移;而另外一些成分,如硫酸肝素和 LN 具有抑制 VSMC 迁移^[8]的作用。体外培养的 VSMC 随骨桥素浓度的升高, VSMC 迁移增加,同时伴随整合素 $\beta 3$ 的表达增加^[4,6]。使用 $\beta 3$ 抗体能阻断骨桥素诱导的 VSMC 的迁移,而 $\beta 1$ 抗体无此作用,表明细胞外基质对 VSMC 迁移的影响主要通过 VSMC 表面 $\beta 3$ 亚基来实现。因此,ECM 引起 VSMC 迁移的机制可能与以下三方面有关:(1)通过 ECM 中的特殊成分与整合素发生作用;(2)改变细胞表面整合素受体的密度;(3)改变 ECM 成分^[9]。

4 细胞外基质对血管平滑肌细胞增殖的影响

血管平滑肌细胞(VSMC)黏附到 ECM 对细胞存活和增殖是非常重要的,VSMC 和 ECM 之间的相互作用参与了 VSMC 增殖的调控。体外 VSMC 培养发现:生长在 FN 上的 VSMC 较 LN 上有一个更高的增殖率,而且在 LN 上的 VSMC 肌球蛋白重连(收缩表型 VSMC 的重要标志)的表达较 FN 上更高,如果阻断 FN 与 $\alpha 5\beta 1$ 整合素的联系,VSMC 生长停止^[10]。体内发现:球囊损伤大鼠颈动脉后,在动脉中层的 VSMC 基底膜中 LN 消失,而在增殖和迁移的 VSMC 周围基质中富含 FN;在成熟的新生内膜内,非增殖的 VSMC 周围 LN 重新出现, FN 减少^[11]。这表明当细胞处于高 LN、低 FN 的基底膜中时,将不再增殖;相反,细胞在富含 FN 的基质中时,在外来刺激因子的作用下将大量增殖。

动脉壁内皮损伤被认为是动脉粥样硬化的始动因素,随后 VSMC 的迁移、增殖和大量的 ECM 的产生,导致动脉粥样硬化斑块形成。尽管在动脉粥样硬化斑块形成中,VSMC 的增殖作为一个明确的致病因素还有待进一步研究,但一些研究表明抗增殖治疗可有效阻止 VSMC 增殖^[12]。用编码具有活性突变体的 RB 蛋白(retinoblastoma protein, pRB)的腺病毒转染主动脉,能完全阻止球囊损伤后 VSMC 增殖,说明 VSMC 增殖与 pRB 的磷酸化有关。而选择性阻断 ECM 和 VSMC 的联系,能够抑制 pRB 的磷酸化和 VSMC 增殖,说明 pRB 的磷酸化受 ECM 的调节。pRB 是细胞周期过程中关键性的调节因子,它的功能通过可逆性的磷酸化来调节。在细胞周期的 G0 期和 G1 早期,pRB 处于去磷酸化状态,这种形式的 pRB 与一些转录因子(其中研究最多的是 E2F 家族)结合形成 E2F-pRB 复合物从而抑制 E2F 调节基因的转录。磷酸化的 pRB 将与 E2F 分离,失去转录抑制作用。pRB 可被 G1 期周期依赖性激酶(cyclin dependent kinases, CDK)磷酸化,参与 pRB 磷酸化调节的是与 D 型周期素(D1、D2 和 D3)相结合的 CDK4(或它的同源物 CDK6)和与 E 型周期素相结合的 CDK2。细胞增殖需要 ECM,因为它可以诱导周期素 D-CDK4/6 和周期素 E-CDK2 复合物激酶的活力。此外周期素 D1 的表达在转录和翻译水平上受 ECM 的调节,而周期素 D1 的表达能使 pRB 磷酸化,促进静息期细胞进入 S 期。以上说明 ECM 作为一个细胞周期控制元件能调控 VSMC 的异常增殖。因此对细胞周期相关基因(如周期素 D1)的调控将为抑制 VSMC 异常增殖提供新的治疗策略。

5 细胞外基质调节血管平滑肌细胞迁移、增殖的信号传导

血管平滑肌细胞(VSMC)迁移和增殖涉及多种生长因子、生物活性物质及多条不同的信号传导途径,其中整合素和 FAK 是主要的信号传导分子。

5.1 整合素

整合素是一个跨膜的位于细胞表面的黏附受体,由 α 和 β 亚基以非共价键结合的异源二聚体。目前已发现 17 种不同 α 亚基和 8 种 β 亚基,两者组合构成 20 多种整合素。作为 ECM 的受体,能识别 ECM 的 RGD 结构即精-甘-天冬氨酸三肽结合位点,介导细胞与 ECM 的相互作用。VSMC 经整合素介导与 ECM 成分(如 FN、VN、骨桥素、胶原等)黏附后,胞质伸展,黏附面扩大。整合素将胞外 ECM 分子与胞内的骨架蛋白连接起来形成粘着斑,在粘着斑处聚集了粘着斑激酶、Src 等酪氨酸激酶及其他信号传导分子群,参与整合素介导的信号传导,调节 VSMC 的黏附、迁移和增殖。

5.2 粘着斑激酶

粘着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)是一个广泛表达且高度保守的非受体蛋白酪氨酸激酶,分子质量为 125 kDa,定位于粘着斑,是依赖于整合素的信号传导通路的上游信号传递分子。整合素和配体结合后,FAK 能直接与整合素 β 亚基的胞质端结合,或通过踝蛋白、吻蛋白等细胞骨架蛋白间接与整合素 β 亚基发生联系,参与构成粘着斑,并发生自身磷酸化而被激活。FAK 活化后,第 397 位的酪氨酸发生自身磷酸化,成为 Src 家族激酶具有高亲和力的结合位点,两者结合形成 FAK/Src 复合物,进一步促进其自身磷酸化,接着通过多条通路将信号向下游传递。其中以丝裂素激活蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)通路较为清楚。

5.2.1 丝裂素激活蛋白激酶通路

丝裂素激活蛋白激酶(MAPK)通路包括两个方面^[13]:一方面,FAK/Src 复合物可以使吻蛋白和 Cas 酪氨酸磷酸化;两者磷酸化后,除可以调节细胞骨架外,还产生其它含 Src 同源区 2(SH2)结构域蛋白如 Crk(CT-10-regulated kinase)的结合部位。Crk 是一种接头蛋白,由一个 SH2 和两个 Src 同源区 3(SH3)结构域构成,可与吻蛋白和 Cas 结合。然后 Crk 的 SH3 区连接到 Ras 的鸟苷酸交换因子 C3G,因此吻蛋白和 Cas 酪氨酸磷酸化后可通过 Crk 进入 Ras 途径,从而激活 MAPK。另一方面,FAK/Src 复合物导致 FAK 的第 925 位酪氨酸磷酸化,产生与接头蛋白 Grb2 的结合位点,通过 Grb2 的 SH3 功能域与鸟嘌呤核苷酸交换因子 Sos 结合,因此通过 Grb2,FAK 也可以激活 Ras-MAPK 途径。活化的 MAPK 可激活多种转录因子,如 $c-fos$ 和 $c-jun$,最终影响基因的表达,促进 VSMC 的增殖、迁移。直接证据是用 FN 刺激体外培养的大鼠 VSMC,发现 FN 在促 VSMC 迁移和增殖的同时,FAK 和 P42/P44MAPK 磷酸化过度表达;用 FAK 的反义寡核苷酸能使 FAK 和 P42/P44 MAPK 磷酸化减少^[14]。

5.2.2 磷脂酰肌醇 3 激酶通路

磷脂酰肌醇 3 激酶是一种脂类激酶,催化磷脂酰肌醇 4 磷酸和磷脂酰肌醇 4,5 二磷酸的肌醇环 D3 位磷酸化,分别生成 3,4 二磷酸肌醇和 3,4,5

三磷酸肌醇,这两种产物均与细胞骨架重组有关,调节细胞的黏附和迁移等行为。一些实验表明:受到ECM-整合素相互作用的刺激,磷脂酰肌醇3激酶可通过其P85亚基的SH2和SH3结构域结合到FAK的羧基端并被激活^[15]。FAK和磷脂酰肌醇3激酶的相互作用与MAPK的活化有关。

5.3 与血管平滑肌细胞迁移和增殖有关的转录因子

过氧化体增殖物激活型受体 γ 是配体活化的核受体转录因子家族成员之一,与配体结合后和维甲酸X受体形成异二聚体,并与特异的靶基因激活区中的受体反应元件结合,进而调节基因表达,过氧化体增殖物激活型受体 γ 的激活能抑制VSMC的迁移和增殖^[15]。在球囊损伤的动物模型中,Gax可抑制血小板源性的生长因子诱导的VSMC的迁移及新生内膜的形成,Gax以细胞周期依赖方式通过调节整合素的表达来调节VSMC生长与迁移^[16]。

综上所述,VSMC的迁移和增殖是高血压、动脉粥样硬化和血管成型术后再狭窄的重要病理改变,各种损伤因素导致血管壁受损,VSMC表面受体在整合素的介导下与ECM结合,并引起细胞内信号传导,最终导致VSMC大量迁移和增殖。深入研究并揭示VSMC迁移、增殖的机制,对于心血管系统疾病的防治有着重要的理论意义。

[参考文献]

- [1] Faries PL, Rohan DI, Wyers MC, Marin ML, Hollier LH, Quist WC, et al. Vascular smooth muscle cells derived from atherosclerotic human arteries exhibit greater adhesion, migration, and proliferation than venous cells. *J Surg Res*, 2002, **104** (1): 22-28
- [2] Newby AC, Zaltsman AB. Fibrous cap formation or destruction: the critical importance of vascular smooth muscle cell proliferation, migration and matrix formation. *Cardiovasc Res*, 1999, **41** (2): 345-360
- [3] 周秀霞,温进坤,韩梅. 白细胞介素1 β 和肿瘤坏死因子 α 对血管平滑肌细胞及基质金属蛋白酶2骨桥蛋白基因表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (4): 292-295
- [4] 韩梅,温进坤. 细胞因子对血管平滑肌细胞MMP-2基因表达的诱导及其作用机制. *中国生物化学与分子生物学报*, 2000, **16** (2): 249-253
- [5] Southgate KM, Fisher M, Banning AP, Thurston Valerie J, Baker Andrew H, Fabunmi Rosalind P, et al. Upregulation of basement membrane degrading metalloproteinase secretion after balloon injury of pig carotid arteries. *Circ Res*, 1996, **79** (6): 1177-1187
- [6] 刘智敏,韩梅,温进坤. 细胞外基质促血管平滑肌细胞迁移及 β_3 整合素和粘着斑激酶表达. *中国病理生理杂志*, 2003, **19** (2): 163-166
- [7] Dufourcq P, Couffignal T, Alzieu P, Daret D, Moreau C, Duplaa C, et al. Vitronectin is upregulated after vascular injury and vitronectin blockade prevents neointima formation. *Cardiovasc Res*, 2002, **53** (4): 952-962
- [8] Koyama N, Kinsella MG, Wight TN, Hedin Ulf, Alexander W. Heparan sulfate proteoglycans mediate a potent inhibitory signal for migration of vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 1998, **83** (2): 305-313
- [9] Abedi H, Zachary I. Signalling mechanisms in the regulation of vascular cell migration. *Cardiovasc Res*, 1995, **30** (4): 544-556
- [10] Morla AO, Mogford JE. Control of smooth muscle cell proliferation and phenotype by integrin signaling through focal adhesion kinase. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **272** (1): 298-302
- [11] Roy J, Tran PK, Religa P, Kazi M, Henderson B, Lundmark K, et al. Fibronectin promotes cell cycle entry in smooth muscle cells in primary culture. *Exp Cell Res*, 2002, **273** (2): 169-177
- [12] Zhu X, Ohtsubo M, Bohmer RM, Roberts JM, Assoian RK. Adhesion dependent cell cycle progression linked to the expression of cyclin D1, activation of cyclin E-cdk2, and phosphorylation of the retinoblastoma protein. *J Cell Biol*, 1996, **133** (5): 391-403
- [13] Bogoyevich MA. Signalling via stress activated MAPK in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res*, 2000, **45** (7): 826-842
- [14] 尹航,汪丽惠,霍勇,彭旭,夏春芳,唐朝枢. 粘着斑激酶和丝裂原活化蛋白激酶对纤粘连蛋白诱导平滑肌细胞迁移和增殖的影响. *中华医学杂志*, 2002, **82** (9): 622-625
- [15] Hsueh WA, Jackson S, Law RE. Control of vascular cell proliferation and migration by PPAR- γ : a new approach to the macrovascular complications of diabetes. *Diabetes Care*, 2001, **24** (2): 392-397
- [16] 王家宁,胡大一. Gax基因对血管平滑肌细胞生物学行为的调控作用. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (2): 175-177

(此文编辑 胡必利)