

内皮祖细胞在动脉粥样硬化易损斑块中的作用

白小涓

(中国医科大学第一附属医院老年病科, 辽宁省沈阳市 110001)

[作者简介] 白小涓, 教授, 主任医师, 博士研究生导师。现任中国医科大学附属第一医院老年病科主任, 老年病教研室主任。曾先后两次于美国德州大学(1992~1994年)和加州大学心血管研究所(1996~1998年), 从事博士后和高级访问学者研究, 主攻心血管专业。回国后参加国家重大基础研究发展计划(973)课题2项, 并承担辽宁省自然科学基金课题2项, 省科技厅及教育厅课题2项。先后在 GERONTOLOGY, Nephrol Dial Transplant, Eur J Clin Invest 等国际杂志上发表15篇相关科研论文, 国内发表科研论文100余篇, 并获得国家科学技术进步奖二等奖2项、中华医学科技进步奖1项和省科技进步三等奖2项。现担任中华医学会辽宁省老年医学分会主任委员、中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会常务委员, 国际动脉粥样硬化学会中国分会理事, 中华医学会心血管病分会女性心脏健康学组成员, 中国医师协会心血管内科医师分会委员, 《中华医学杂志》审稿专家、《中国动脉硬化杂志》编委、《中华老年多器官疾病杂志》编委、《临床心血管病杂志》编委。



[关键词] 动脉粥样硬化; 易损斑块; 内皮祖细胞

[摘要] 目的 动脉粥样硬化易损斑块是急性冠状动脉综合征和心脏缺血性猝死的重要病理基础。研究证实易损斑块表面大面积内皮细胞受损和血栓形成, 内皮受损后可引起炎症因子瀑布样反应、单核细胞浸润和血管平滑肌细胞增生, 进而促发动脉粥样硬化易损斑块形成, 故修复受损血管内皮、促使血管重新内皮化已经成为防止动脉粥样硬化的重要课题。近年研究认为, 内皮祖细胞参与受损血管的重新内皮化, 或对易损斑块有治疗作用, 现就内皮祖细胞在动脉粥样硬化易损斑块中作用的研究进展进行综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Review of Role of Endothelial Progenitor Cells in the Process of Atherosclerotic Vulnerable Plaque

BAI Xiao-Juan

(Department of Gerontology, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Vulnerable Plaque; Endothelial Progenitor Cell

[ABSTRACT] Atherosclerotic vulnerable plaque is considered as an important pathologic basis of acute coronary syndrome and sudden cardiac ischemic death. Vulnerable plaque is characterized with endothelial denudation and thrombosis. The mechanisms of vulnerable plaque are poorly understood. Recent researches demonstrated that endothelial progenitor cells play an important role in repair of injured endothelium. So the role of endothelial progenitor cells in the process of atherosclerotic vulnerable plaque is worth investigating.

动脉粥样硬化易损斑块(vulnerable plaque)是急性冠状动脉综合征和心脏缺血性猝死的重要病理基础。现已证明易损斑块是引起心血管急性事件、急性心肌梗死、急性冠状动脉综合征(ACS)、脑卒中(stroke)和猝死的主要原因。这种罪犯斑块具有活动性炎症反应(巨噬、单核细胞浸润)、薄纤维帽、大脂质核心、内皮损伤剥脱、表面血小板聚集、斑块表

面有裂隙、损伤、血栓或钙化斑等特点^[1,2]。内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPC)是血管内皮细胞的前体细胞, 是干细胞分化成熟过程中的一个阶段。最近研究发现存在于外周血中的内皮祖细胞可能参与血管内皮损伤后的修复、血管的新生和损伤血管的再内皮化过程, 对维持血管稳定的生物学功能具有重要作用^[2]。现就内皮祖细胞在动脉粥

样硬化易损斑块中作用的研究进展进行综述。

1 动脉粥样硬化易损斑块形成及发病机制

冠状动脉斑块的易损性即不稳定性,是临床发生 ACS 和心脏缺血性猝死的病理基础,及时识别或检出冠状动脉易损斑块并给予积极有效的干预,对于临床有效预防 ACS 具有十分重要的意义。易损斑块的主要病理学特点是:①脂质核心大,一般大于斑块体积的 40%;②纤维帽薄(厚度小于 250 μm);③大量炎症细胞(主要是巨噬细胞和激活的 T 淋巴细胞)浸润;④平滑肌细胞(SMC)数量和胶原含量明显减少。部分斑块内部还伴有明显的新血管生成或斑块内出血^[3]。另外,这种易损斑块常因累及血管壁而出现向外的正性重构(positive remodeling),所以常有相对较大的管腔空间^[4,5]。易损斑块不稳定、破损和血栓形成的主要原因有炎症渗出、变性、氧化应激和脂质沉着、细胞凋亡坏死、巨噬单核细胞浸润和泡沫细胞形成、内皮功能损伤、斑块的位置和应切力、正反相重塑、MMP/TIMP 比例失调和感染等^[5]。随着动物实验和临床研究的进一步深入,易损斑块的发生、发展的分子生物学机制的研究方面已取得很大进展,但确切机制远未明了。目前主要认为动脉粥样硬化易损斑块发病机制如下。

1.1 炎症机制与易损斑块

斑块的稳定性由多种因素决定,它与斑块脂质池大小、炎症细胞数量呈负相关,与纤维帽厚度呈正相关。斑块内炎症是引起斑块不稳定的关键因素,斑块破裂及斑块糜烂几乎总是与炎症共存,在临床不稳定状态时斑块内炎症总是上调的^[6]。斑块表浅层炎症的发生率及其严重程度与斑块破裂密切相关,这证实了斑块纤维帽而不是斑块深层的炎症在斑块破裂中的重要作用^[1,5]。此外,外膜新生微血管的增加也为炎症细胞进入斑块纤维帽提供了一条路径。

1.2 基质金属蛋白酶与易损斑块

斑块纤维帽的主要成分是细胞外基质,包括胶原纤维和弹性蛋白,主要由血管平滑肌细胞合成与分泌,血管平滑肌细胞合成细胞外基质减少和(或)蛋白溶解酶降解细胞外基质增加,是斑块破裂的内在主要原因。体内存在对基质金属蛋白酶(MMP)的复杂的调节,主要包括转录水平调节、酶原激活以及 MMP 抑制物。正常情况下血管平滑肌细胞微量表达的 MMP-1、MMP-2 与组织型金属蛋白酶抑制物处于平衡状态,然而在白细胞介素 1 和肿瘤坏死因子 α 等炎症因子的作用下,最终的净效应是细胞外基质的降解占据明显优势,纤

维帽强度减弱,斑块变得易损^[6]。

1.3 脂质代谢异常与易损斑块

高胆固醇血症可引起血管内皮细胞功能障碍,增加冠状动脉血栓形成的危险。氧化型低密度脂蛋白能够诱导巨噬细胞、血小板等释放多种生长因子和白细胞介素,导致血管平滑肌细胞增殖、内膜增厚及血小板聚集、血栓形成,对凝血、抗凝血系统产生不良影响^[7]。

1.4 血管内皮细胞功能障碍与易损斑块

血管内皮细胞对血管自身稳定起关键作用。内皮细胞功能障碍很早就出现在糖尿病、高血压、吸烟、血脂异常和血浆半胱氨酸升高患者中,内皮细胞功能障碍影响血管张力、脂质代谢和凝血机制,炎症细胞激活并合成、分泌各种水解酶、细胞因子和生长因子,导致细胞过度增生,最终导致细胞坏死和形成不稳定的复杂斑块^[8]。另外,舒张血管因子相对减少,收缩血管因子相对上调,激活的白细胞易于进入血管内皮下间隙,诱发血小板聚集,增加脂蛋白和血浆成分的渗透性。高胆固醇血症和其他危险因素均可促进这个过程。

1.5 细胞凋亡与易损斑块

内皮细胞功能失调是动脉粥样硬化易损斑块的早期标志,内皮失去完整性促成早期 As 病变形成,而内皮细胞凋亡可能是内皮功能异常、动脉粥样硬化形成最重要的一步。细胞凋亡在斑块的易损性当中发挥了重要作用。促凋亡因素的增强和/或抑凋亡因素的减弱均导致了内皮细胞、平滑肌细胞的凋亡^[8]。这样,内皮细胞、平滑肌细胞的数量减少、功能减弱、衰老等都导致了细胞外基质合成与分泌减少,纤维帽的胶原修复障碍。研究发现细胞凋亡参与了 As 易损斑块形成和发展过程,在斑块中已检测出促凋亡基因 Bax、Fas 和 p53 等的表达产物。Kolodgie 等^[9]利用 ApoE^{-/-}小鼠研究发现细胞凋亡是猝死小鼠破裂斑块中突出的病理生理学特征。从 ApoE^{-/-}小鼠实验中研究者们认识到 EPC 在动脉粥样硬化中的作用:持续高脂饮食的 ApoE^{-/-}小鼠定期注射骨髓来源细胞,与对照组相比,其动脉粥样硬化负荷明显降低(注射细胞不改变血清胆固醇水平,但加速了内皮的再生),而来源于幼年 ApoE^{-/-}小鼠骨髓细胞的效应明显强于年老动脉粥样硬化 ApoE^{-/-}小鼠的效应;注射年幼动物骨髓细胞的动物,其主动脉内皮细胞的端粒较未注射者得长,这与内皮细胞衰老、内皮细胞凋亡、内皮功能异常和动脉粥样硬化间联系的研究结果一致。Zadelaar 等在 ApoE^{-/-}小鼠中转染 Fas 配体,结果发现基因转染

组细胞凋亡率和斑块破裂数明显增加,斑块纤维帽中细胞凋亡数为转染组的 3 倍。本实验室通过转染 p53 基因诱发斑块破裂,TUNEL 检测发现破裂的斑块中细胞凋亡数明显增加,并且发现当斑块中侵入较多的巨噬细胞时,VSMC 凋亡增加,分泌的胶原数量减少,从而导致纤维帽变薄,这可能与巨噬细胞分泌 IL-1、TNF α 等细胞因子促进凋亡的发生有关。本研究组对血管衰老的结构改变、功能变化、细胞凋亡等多方面的研究^[10,11],观察到衰老大鼠动脉硬化特征性结构和功能改变,衰老主动脉组织 Bcl-2 表达下降,Caspase-3 表达增高,可能是血管内皮细胞衰老与凋亡的关键。

以上研究对动脉粥样硬化易损斑块形成机制进行了初步探讨,但是,尚有许多问题值得进一步深入研究。斑块表面内皮细胞功能障碍及凋亡是易损斑块形成的重要特征和机制,也是理解其机制的关键环节之一。近年的研究进展发现,内皮祖细胞参与血管内皮细胞损伤后的修复,提示内皮祖细胞可能有助于减轻易损斑块表面内皮细胞凋亡及脱落,从而降低动脉粥样硬化易损斑块所致的急性心血管事件。

2 内皮祖细胞在动脉粥样硬化易损斑块中作用

2.1 内皮祖细胞研究概况

EPC 是血管内皮细胞的前体细胞,亦称为成血管细胞(angioblast),在生理或病理因素刺激下,可从骨髓动员到外周血参与损伤血管的修复。1997 年,Asahara 等^[12]首次证明循环外周血中存在能分化为血管内皮细胞的前体细胞,并将其命名为血管内皮祖细胞。

目前通常采用 CD34、CD133 及 KDR/Flk-1 等几种抗原联合的方式对 EPC 进行鉴定^[13]。CD34 是分子量 110 kDa 的唾液酸粘蛋白,选择性表达于血干细胞及某些激活的血管内皮细胞 J,其功能是作为内皮细胞及造血前体细胞相互作用的粘附分子。CD133 (即 AC133)是造血干细胞及祖细胞选择性表达的胆固醇结合糖蛋白,分子量为 120 kDa,它的确切功能目前尚且未知,但 CD133 的细胞能够分化成多种细胞表型,包括内皮细胞。KDR/Flk-1 是 2 型血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR-2),可把造血细胞分离开来,但尚不能把内皮祖细胞与成熟血管内皮细胞区别^[13,14]。

EPC 是一群具有游走特性,能进一步增殖分化的幼稚内皮细胞,缺乏成熟内皮细胞的特征性表型,

不能形成管腔样结构。其功能主要为参与了缺血组织的血管发生和血管损伤后的修复^[13,15]。EPC 主要存在于骨髓中,外周血中含量很少,外周血 EPC 只占外周细胞 0.01%,外周血 EPC 主要由骨髓动员而来,并趋化至缺血部位。促进 EPC 动员的因素有内源性因素、外源性细胞因子及药物等。

2.2 内皮祖细胞在动脉粥样硬化易损斑块中作用

近年来的研究显示,EPC 生物学特性和治疗作用的研究成为热点,特别是内皮祖细胞在心脑血管疾病、外周血管疾病、肿瘤血管形成及创伤愈合等方面均发挥重要作用,并为缺血性疾病的研究治疗提供了新思路。内皮细胞的损伤及功能障碍是促进动脉粥样硬化易损斑块发生、发展的首要因素,EPC 可在损伤部位聚集,能够定向分化为成熟的内皮细胞,参与受损部位内皮的修复及缺血心肌的血管新生。在正常情况下血管内皮损伤与 EPC 修补之间存在动态平衡,维持内膜完整性,而 EPC 数量减少可能影响内皮修复,导致内膜完整性受损,促使 As 易损斑块发生和发展。研究发现动脉粥样硬化病人血循环中 CD34⁺/KDR⁺细胞较对照组下降约 50%,并且迁移能力明显受损,其机制可能为:①形成 As 的危险因素增加氧化应激;②内皮损伤后修复过程持续损伤 EPC;③内皮因子减少。因此,补充 EPC 抑制 As 易损斑块。许多基础研究表明,EPC 在动物缺血性疾病和血管损伤模型中有治疗作用。一些小规模的一期临床试验证实,骨髓 MNC 移植可治疗心肌梗死、不稳定型冠心病和心力衰竭,为 EPC 移植治疗的安全性和可行性提供了初步证据,这可能为动脉粥样硬化易损斑块治疗提供了新的思路。

Hill 等^[2]学者对 45 例男性有不同程度心血管危险的健康人进行研究发现,循环血中的 EPC 数量与弗汉明危险计分及肱动脉超声测定的内皮功能均强相关,提示外周血内皮细胞可能有助于血管内皮损伤后的修复。Kawamoto 等^[16]猪心肌缺血模型进行了经导管缺血心肌内移植自体 EPC,4 周后检查发现移植自体 EPC 组的缺血区、侧支循环以及左心室射血分数均较对照组明显改善。而且缺血心肌的毛细血管密度也较对照组明显增加。另有动物实验^[17,18]证实将裸鼠的左冠状动脉结扎 10 min 后经导管缺血心肌内移植入外周血 EPC,4 周后移植 EPC 组裸鼠的左心室收缩功能较对照组高,毛细血管密度、侧支循环也较对照组改善。近年来,更多的临床试验表明^[20]对于急性心肌梗死患者实行自体 EPC 移植,结果显示,冠状动脉血流储备和损伤区域心肌活力改善,收缩末期直径减小。此外,另一个随

机试验研究显示^[21] 冠状动脉内自体移植 EPC 能使 AMI 患者提高左心室收缩功能。

3 展 望

EPC 具有成熟内皮细胞分化功能,参与血管内皮细胞损伤修复,促进动脉粥样硬化易损斑块引起急性冠状动脉综合征后血管再生形成,骨髓干细胞研究具有其特有的优势:①容易从自体采集,体外扩增也比较容易,避免了胚胎干细胞移植面临的伦理问题和致瘤危险性;②自体骨髓干细胞移植不存在免疫排斥反应^[19]。因此,骨髓干细胞是用于细胞移植较为理想的来源,这也是 EPC 治疗的优势。但有关 EPC 治疗的临床研究试验设计方面还存在很多重要问题^[1,20]:①应选择何种细胞群移植,选择骨髓还是外周血作为细胞来源;②何种注入方式最有效;③急性缺血状态下,何时为细胞移植的最佳时间点。另外,上述研究病例数少,随访时间较短,且并非随机对照研究,这在一定程度上限制了其结果的说服力。因此,关于自体 EPC 移植的有效性和安全性仍有待大型、多中心、随机临床试验进一步证实。EPC 对易损斑块引起的动脉粥样硬化性疾病的价值仍有待于进一步的研究。

[参考文献]

- [1] Zhang Q, Kandic I, Kutryk MJ. Dysregulation of angiogenesis-related microRNAs in endothelial progenitor cells from patients with coronary artery disease [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 405 (1): 42-46.
- [2] Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating Endothelial Progenitor Cells, Vascular Function, and Cardiovascular Risk [J]. *Engl J Med*, 2003, 348 (7): 593-600.
- [3] Cheng C, Noordeloos A, Jeney V, et al. Heme oxygenase1 determines atherosclerotic lesion progression into a vulnerable plaque [J]. *Circulation*, 2009, 119 (23): 3 017-027.
- [4] 赵世华. 易损斑块的含义和诊断标准 [J]. *磁共振成像*, 2010, 1 (6): 408-410.
- [5] Virmani R, Burke A, Farb A, et al. Pathology of the vulnerable plaque [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47 (8): 13-18.
- [6] Mauriello A, Sangiorgi G, Fratoni S, et al. Diffuse and active inflammation occurs in both vulnerable and stable plaques of the entire coronary tree [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45 (10): 1 585-593.
- [7] Libby P. Act local, act global: inflammation and the multiplicity of "vulnerable" coronary plaques [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 45 (10): 1 600-602.
- [8] Ohtani T, Ueda Y, Mizote I, et al. Number of yellow plaques detected in a coronary artery is associated with future risk of acute coronary syndrome [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47 (11): 2 194-200.
- [9] Kolodgie FD, Bruke AP, Farb A, et al. Differential accumulation of proteoglycans and hyaluronan in culprit lesions: insights into plaque erosion [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22: 1 642-648.
- [10] 单海燕, 白小涓, 陈香美. 缬沙坦对血管衰老中凋亡调控基因 Bcl-2、Bax 表达的实验研究 [J]. *中国老年医学杂志*, 2008, 28: 222-225.
- [11] 单海燕, 白小涓, 陈香美. 衰老大鼠动脉顺应性与凋亡相关指标变化及缬沙坦对其影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15 (9): 657-660.
- [12] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. *Science*, 1997, 275: 965-967.
- [13] Klaraa B, Fabiennea F, Christineb G, et al. endothelial progenitor cells: a new target for the prevention of cardiovascular diseases [J]. *Eur Soc Cardiol*, 2006, 13 (5): 705-710.
- [14] Werner N, Nickenig G. Clinical and therapeutical implications of EPC biology in atherosclerosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2006, 10 (2): 318-332.
- [15] Case J, Mead LE, Bessler WK, et al. Human CD34 + AC133 + VEGFR-2 cells are not progenitor endothelial cells but distinct, primitive hematopoietic progenitor [J]. *Exp Hematol*, 2007, 35 (7): 1 109-118.
- [16] Kawamoto A, Gwon HC, Iwaguro H, et al. Therapeutic potential of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for myocardial ischemia [J]. *Circulation*, 2001, 103 (16): 634-637.
- [17] Pelliccia F, Pasceri V, Cianfrocca C, et al. Reduced levels of putative endothelial progenitor and CXCR4⁺ cells in coronary artery disease: kinetics following percutaneous coronary intervention and association with clinical characteristics [J]. *Coron Artery Dis*, 2009, 20 (5): 303-308.
- [18] Egan CG, Caporali F, Huqi AF, et al. Enhanced mobilization of CD34(+) progenitor cells expressing cell adhesion molecules in patients with STEMI [J]. *Thromb Haemost*, 2009, 101 (6): 1 138-146.
- [19] 周 瀛, 白小涓, 王 勃. 同种异体骨髓间充质干细胞移植对扩张型心肌病心功能衰竭大鼠左心室功能的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16 (2): 117-120.
- [20] Bulut D, Tüns H, Mügge A. Circulating endothelial microparticles correlate inversely with endothelial function in patients with ischemic left ventricular dysfunction [J]. *Eur J Clin Invest*, 2009, 39 (1): 17-22.

(此文编辑 李小玲)