

# 糖萼的内皮保护作用与动脉粥样硬化

杨延坤, 孙鑫 综述, 郑宏 审校

(北京协和医学院 中国医学科学院 阜外心血管病医院放射科, 北京市 100037)

[关键词] 糖萼; 动脉粥样硬化; 内皮细胞; 血管通透性; 剪切力

[摘要] 血管内皮功能障碍在动脉粥样硬化的发病机制中担当着重要角色。作为血管内皮的保护性屏障,糖萼起着调控血管通透性,介导血流剪切力诱导的一氧化氮释放,抑制白细胞、血小板与内皮细胞的粘附及抗凝等一系列作用。本文主要就糖萼的完整性及其内皮保护的重要意义,以及其与动脉粥样硬化的密切关系作一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Glycocalyx's Endothelial Protection and Atherosclerosis

YANG Yan-Kun, SUN Xin, and ZHENG Hong

(Department of Radiology, Fuwai Hospital, Peking Union Medical College-Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100037, China)

[KEY WORDS] Glycocalyx; Atherosclerosis; Endothelial Cells; Vascular Permeability; Shear Stress

[ABSTRACT] Vascular endothelial dysfunction plays an important role in the pathogenesis of atherosclerosis. As a protective barrier of vascular endothelium, glycocalyx plays a series of protection role, including regulation of vascular permeability, mediating the release of nitric oxide (NO) induced by shear stress, inhibition of the adhesion between leukocytes, platelets and endothelial cells, anticoagulation. This article reviews the important meaning of glycocalyx's integrity and its endothelial protection, and its relationship with atherosclerosis.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是发生于全身动脉系统的一种疾病,本病各种主要危险因素最终都会损伤动脉内皮,粥样硬化病变的形成即是对内膜损伤所作出的炎症-纤维化反应的结果。糖萼(glycocalyx)是覆盖于血管内皮腔面一种绒毛状网状结构。糖萼的破坏与内皮细胞功能障碍密切相关。高血糖、高血压、高血脂、缺血/再灌注等损伤均可导致糖萼的破坏,进而引起一系列病理生理变化。

## 1 糖萼

糖萼主要由蛋白聚糖、氨基葡聚糖(glycosaminoglycans, GAGs)、膜糖蛋白及相关血浆蛋白组成。蛋白聚糖作为糖萼的主要骨架蛋白,包括多配体聚糖、磷脂酰肌醇聚糖、CD44等,其与内皮细胞膜紧密结合,为GAGs与内皮细胞的连接提供支持<sup>[1]</sup>。GAGs

是糖萼中含量最多的成分,包括:硫酸乙酰肝素、硫酸软骨素、透明质酸及硫酸角质素等,其中硫酸乙酰肝素是内膜面的主要部分<sup>[2]</sup>,其包含大量血浆蛋白的结合位点,并通过与核心蛋白(多配体聚糖和磷脂酰肌醇聚糖)的连接参与信号转导<sup>[3]</sup>。透明质酸不带电荷,缺少血浆蛋白结合位点,它仅与一种蛋白聚糖结合,即CD44。透明质酸因其保水的性能,能结合高达自身重量10 000倍的水,故对糖萼的体积及网状结构的稳定性具有重要作用<sup>[4]</sup>。膜糖蛋白由内皮细胞合成并分泌,主要包括内皮细胞粘附分子,如E选择素、P选择素、整合素、细胞间粘附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞粘附分子1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)及血小板内皮细胞粘附分子1(platelet-endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1)及一些影响凝血、止血和纤溶系统的糖蛋白<sup>[5]</sup>。生理条件下,糖萼存在于所有血管

[收稿日期] 2012-05-29

[作者简介] 杨延坤,硕士研究生,研究方向为心血管病影像学诊断与介入治疗,E-mail为 yangyankun66@126.com,电话为18810455800。孙鑫,硕士研究生,研究方向为心血管病影像学诊断与介入治疗,E-mail为 sunxin200999@126.com。郑宏,硕士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向为心血管病影像学诊断与介入治疗,E-mail为 zheng\_hung@126.com,电话为010-88398421。

内皮细胞表面<sup>[6]</sup>。研究显示糖萼层连续均匀分布在小鼠的主动脉内皮上,而在微血管内皮则呈阶段性分布<sup>[7]</sup>。作为血液与内皮细胞的真正接触面<sup>[8]</sup>,生理状态下,糖萼中的各个组分处于合成与降解的动态平衡之中。

## 2 内皮细胞功能障碍与动脉粥样硬化

内皮细胞为一层覆盖于血管腔面的连续性扁平细胞,将血液与内皮下成分分隔开来。其参与调节血管通透性,调控血浆和组织间质之间的液体交换;参与调节血管紧张度,合成并分泌调节血管舒张和收缩的相关因子;参与调节血细胞和内皮细胞间的粘附;参与抗血小板聚集及抗血液凝固。同时还参与信号转导、免疫、炎症等一系列过程<sup>[9]</sup>。内皮细胞功能障碍是动脉粥样硬化发生发展的第一步,内皮细胞损伤首先表现在两个功能的调整:(1)通透性:脂蛋白转胞吞水平的提高;(2)细胞合成活动:细胞外基质和细胞因子合成活动的增强<sup>[9]</sup>。进而促进脂蛋白在内皮下的聚集、氧化、修饰,单核细胞的粘附、聚集及泡沫细胞的形成。同时,内皮细胞功能障碍时,一氧化氮(nitric oxide, NO)、前列环素(prostacyclin, PGI<sub>2</sub>)合成减少或生物活性降低,而内皮素(endothelin, ET)合成增加。其中,NO可抑制单核细胞与内皮细胞黏附,抑制平滑肌细胞的增生、迁移和细胞外基质的分泌,是动脉粥样硬化形成的主要抑制因子。内皮功能障碍还会引起凝血酶原活性降低,产生较多的促凝物质。持续或重复性暴露在心血管危险因素,最终会耗竭内皮细胞源性保护作用,促进动脉粥样硬化过程的形成和发展。

## 3 糖萼的生理作用

### 3.1 糖萼调节血管通透性

作为内皮细胞表面带负电荷的绒毛状网状结构,糖萼构成了血浆分子通透的第一道屏障<sup>[10]</sup>,在物质通透中发挥选择性滤过作用<sup>[11]</sup>。糖萼发挥血管通透性屏障作用要有两个先决条件:(1)糖萼的完整性;(2)分子有效紧密结合在内皮糖萼上,形成一个严密的网状结构<sup>[12]</sup>。由于多数氨基葡聚糖含带负电荷的硫酸基团,因此内皮细胞糖萼带负电荷,此特点决定糖萼对物质通透的选择性表现在两个方面:分子的大小和带电荷性。其中带电荷性起主要作用。在病理情况,或外源性物质,如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、透明质酸

酶等刺激下,糖萼结构会受到破坏,同时伴随血管渗透性的增加,可引起组织水肿,水及胶体转运障碍<sup>[13,14]</sup>,且此种变化与主要影响通透性的细胞间连接无关。但内皮细胞又可以合成新的糖萼,以维持糖萼的结构完整性。Potter等<sup>[15]</sup>研究表明,在小鼠微血管内皮糖萼经过透明质酸酶或TNF- $\alpha$ 降解后需要5到7天时间便能够恢复到原来的厚度。

### 3.2 糖萼介导剪切力诱导的NO产生

糖萼作为内皮细胞剪切力感受器,受血流剪切力变化的影响,介导NO的释放。剪切力的介导并不主要和血液粘度有关,而主要是血浆成分和糖萼选择性作用的结果<sup>[12]</sup>。糖萼中某些组分对于剪切力介导有放大作用。比如,与细胞膜穴样内陷结合的磷脂酰肌醇聚糖通过参与调节内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)影响NO的合成;PECAM-1在细胞间连接中含量丰富,通过连接蛋白与细胞骨架蛋白结合,参与剪切力诱导的eNOS活化的调节<sup>[4]</sup>。糖萼还可与氧自由基相结合,比如细胞外超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),这些酶可以减少氧化应激并维持NO的生物利用度<sup>[16]</sup>。研究发现,通过选择性降解硫酸乙酰肝素和透明质酸能显著减少剪切力介导的NO的产生,而降解硫酸软骨素起不到这种作用。同种酶处理并不能同时减少内皮源性PGI<sub>2</sub>的产生,这组实验揭示了糖萼参与NO的产生及介导PGI<sub>2</sub>产生的不同机制<sup>[17]</sup>。在冠状动脉缺血再灌注的研究中发现,糖萼被破坏时,内皮依赖性的冠状动脉舒张功能障碍,并参与冠状动脉低复流的发生<sup>[18]</sup>。可见糖萼完整性在血管舒张过程中发挥着积极紧密的作用。

### 3.3 糖萼抑制血细胞与内皮细胞粘附

生理条件下,糖萼作为内皮与血液成分接触的真正界面,其本身带有负电荷,可抑制红细胞、白细胞、血小板与内皮细胞发生粘附。其中,白细胞与内皮细胞的粘附需要细胞表面粘附因子的作用,而细胞粘附分子(如CD11b/CD18、ICAM-1)相对较短,隐藏在糖萼中,因此避免了血细胞通过粘附分子与内皮细胞的粘附。但是在一些可降解糖萼的刺激因素的作用下,如特异性酶、缺血/再灌注损伤、炎症时,糖萼的结构受到破坏,暴露糖萼中的粘附分子,进而介导白细胞与内皮细胞的迁移与粘附<sup>[19-21]</sup>。用氧化修饰的低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)处理小鼠(C57BL/6型),可观察到内皮糖萼层的降解,白细胞与内皮细胞的粘附;外源性血管内补充硫酸化粘多糖可观察到糖萼层的修复,白细胞粘附程度的减

轻<sup>[22]</sup>。此现象可能与硫酸化粘多糖一方面与滚动分子的结合,降低了白细胞滚动,另一方面与内皮表面结合,抑制了白细胞的不流动有关,由此增加了糖萼的厚度和负电荷性。有研究表明,在心脏缺血再灌注损伤中,糖萼发生结构破坏,出现多核白细胞与冠状动脉内皮细胞的粘附,而皮质醇或者抗凝血酶预处理可以减轻缺血之后白细胞与内皮细胞之间的粘附,减轻血管渗漏、组织水肿及炎症反应<sup>[23]</sup>。在糖尿病小鼠模型中,视网膜血管内皮糖萼厚度有显著减低;在高血压小鼠模型中,视网膜与脉络膜糖萼厚度与正常对照组相比均有显著降低,在糖萼显著减低的区域,可观察到白细胞、血小板与血管内皮发生粘附<sup>[24]</sup>。由此可见,糖萼完整性的破坏往往伴随着白细胞与内皮细胞的粘附。因此,维持糖萼结构的完整性可能是临床药物干预白细胞内皮粘附等病理情况,保护动脉内皮,抗动脉粥样硬化的新靶点。

### 3.4 糖萼与抗凝

生理条件下,内皮细胞糖萼包含一系列重要的酶及其辅因子,如脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)、细胞外超氧歧化酶(extracellular superoxide dismutase, ec-SOD)、抗凝血酶Ⅲ(antithrombin Ⅲ, ATⅢ)、肝素辅因子Ⅱ、血栓调节素及组织因子通道抑制剂(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)等<sup>[1,5]</sup>。ATⅢ是凝血因子Ⅱa及Ⅸa、Ⅹa的强效抑制剂,通过与硫酸乙酰肝素的特异位点结合,可明显增强自身抗凝血酶活性。有研究表明,在心脏骤停综合征的病人,ATⅢ能有效降低血浆多配体聚糖1的水平<sup>[25]</sup>,即改善糖萼的降解;在TNF- $\alpha$ 等炎症因子作用时发挥重要的糖萼保护作用<sup>[21]</sup>。肝素辅因子Ⅱ为凝血酶蛋白抑制剂,可被糖萼成分中的硫酸软骨素所活化<sup>[16]</sup>。血栓调节素是内皮细胞表达的含有硫酸软骨素的蛋白,可与凝血酶结合,使后者失去促凝血活性,由促凝血物质转化为抗凝血物质,可激活重要的抗凝因子蛋白C<sup>[5]</sup>。TFPI是凝血因子Ⅶa及Ⅹa的抑制剂,该物质通过硫酸乙酰肝素与糖萼结合而发挥作用。正是因为这些糖萼的凝血抑制因子作用,使正常的内皮细胞具有抗凝的特性,维持血液正常流动状态。在某些病理条件下,如高脂、高糖、高粘、高剪切力时,糖萼会先于内皮细胞其他结构而受到损伤,抗凝作用减弱,进而参与血栓栓塞疾病的发生。

## 4 糖萼与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化的发生往往首先表现在内皮功

能障碍,而糖萼的破坏往往先于内皮细胞本身的改变。动脉粥样硬化发生发展常伴随着机体内皮细胞糖萼总容量的降低<sup>[26]</sup>。4-甲基伞形酮(4-methylumbelliferone, 4-MU)为透明质酸合成抑制剂,有研究者通过对载脂蛋白E(apolipoprotein E, ApoE)缺乏小鼠喂食4-MU 4周后,继而25周时病理检测主动脉根部可见动脉粥样硬化斑块的形成及巨噬细胞的聚集,而且主动脉环的乙酰胆碱依赖舒张作用减弱,平均动脉压上升<sup>[27,28]</sup>。

糖萼的破坏会导致内皮通透性的增加,引起水、电解质及胶体(如白蛋白、LDL)的转运异常,内皮细胞上完整的糖萼层可以发挥LDL渗透进动脉壁的屏障作用,并可抑制高血压所驱动的动脉壁LDL的渗透与聚集<sup>[29]</sup>;糖萼破坏所导致的剪切力诱导NO障碍,影响到NO的释放及其生物利用度,进而导致血管对血管收缩因子(如内皮素1、血栓素、5-羟色胺等)所引起的收缩作用增强,血管收缩与舒张失衡<sup>[30]</sup>,抑制白细胞与内皮细胞的粘附及血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的迁移和增生作用减弱;糖萼的破坏会减弱内皮表面的负电荷性,暴露其掩盖的粘附分子,促进白细胞、血小板与内皮细胞的粘附,模拟动脉粥样硬化病人体内的水平,给予动物相当剂量的ox-LDL,可检测到内皮糖萼的破坏及白细胞与内皮细胞的粘附<sup>[5]</sup>;糖萼的破坏会影响一系列抗凝因子的粘附及活性,进而影响到动脉粥样硬化血栓形成。由此可见糖萼完整性的破坏与动脉粥样硬化的形成和发展密切相关。

动脉粥样硬化多发生在剪切力较低的血管,而糖萼的厚度与剪切力也有一定的相关性。Van Den Berg等<sup>[30,31]</sup>研究显示,喂食富含胆固醇食物的小鼠,高危区颈动脉窦,其糖萼的厚度比颈总动脉薄,并发现在糖萼厚度与内膜/中膜比值之间存在着负相关关系。随着剪切力的增加,内皮细胞糖萼内透明质酸、硫酸乙酰肝素、硫酸软骨素的含量逐渐增加,导致高剪切力部位糖萼厚度较大。因此,有研究者提出运动锻炼可以通过增加血流速度,增加血流剪切力,从而使内皮细胞糖萼厚度维持在健康水平。糖萼的改善为动脉粥样硬化的改善甚至逆转提供了一个新的治疗靶点。

## 5 展望

目前,糖萼层对内皮细胞的保护性屏障作用已经得到证实,但国内外研究对糖萼各成分的作用机制尚不明确,同时缺乏有效的在体糖萼的观测手段。作为

内皮细胞的重要屏障,维持糖萼的完整性可能成为预防和治理动脉粥样硬化的一个新途径<sup>[5,16,32]</sup>。此外,糖萼及血浆糖萼降解成分有可能成为心血管内皮损伤早期诊断的标志物之一,为动脉粥样硬化病变程度及改善状况的判断提供一个新的窗口。

#### [参考文献]

- [1] Broekhuizen LN, Mooij HL, Kastelein JJP, et al. Endothelial glycocalyx as potential diagnostic and therapeutic target in cardiovascular disease[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2009, 20(1): 57-62.
- [2] Gao L, Lipowsky HH. Composition of the endothelial glycocalyx and its relation to its thickness and diffusion of small solutes[J]. *Microvasc Res*, 2010, 80(3): 394-401.
- [3] Van Teeffelen JW, Brands J, Stroes ES, et al. Endothelial glycocalyx: sweet shield of blood vessels[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2007, 17(3): 101-105.
- [4] Tarbell JM, Ebong EE. The endothelial glycocalyx: a mechano-sensor and transducer[J]. *Sci Signal*, 2008, 1(40): pt8.
- [5] 温克, 贺平年, 娄建石, 等. 血管内皮细胞糖萼与心血管疾病[J]. *中国药理通报*, 2008, 24(8): 981-984.
- [6] Noble MIM, Drake-Holland AJ, Vink H. Hypothesis: arterial glycocalyx dysfunction is the first step in the atherothrombotic process[J]. *Q J Med*, 2008, 101(7): 513-518.
- [7] Yen WY, Cai B, Zeng M, et al. Quantification of the endothelial surface glycocalyx on rat and mouse blood vessels[J]. *Microvasc Res*, 2012, 83(3): 337-346.
- [8] Vink H, Duling BR. Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes and leukocytes within mammalian capillaries[J]. *Circ Res*, 1996, 79(3): 581-589.
- [9] Hadi HAR, Al Suwaidi JA. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2007, 3(6): 853-876.
- [10] Curry FRE. Microvascular solute and water transport[J]. *Microcirculation*, 2005, 12(1): 17-31.
- [11] Chappell D, Jacob M, Becker BF, et al. Expedition glycocalyx: a newly discovered "Great Barrier Reef" [J]. *Anaesthetist*, 2008, 57(10): 959-969.
- [12] Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. Vascular endothelium in atherosclerosis[J]. *Cell Tissue Res*, 2009, 335(1): 191-203.
- [13] Salmon AH, Satchell SC. Endothelial glycocalyx dysfunction in disease: albuminuria and increased microvascular permeability[J]. *J Pathol*, 2012, 226(4): 562-574.
- [14] Nieuwdorp M, Van Haefen TW, Gouverneur MCLG, et al. Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo[J]. *Diabetes*, 2006, 55(2): 480-486.
- [15] Potter DR, Jiang J, Damiano ER. The recovery time course of the endothelial cell glycocalyx in vivo and its implications in vitro[J]. *Circ Res*, 2009, 104(11): 1318-1325.
- [16] Reitsma S, Slaaf DW, Vink H, et al. The endothelial glycocalyx: composition, functions, and visualization [J]. *Pflugers Arch*, 2007, 454(3): 345-359.
- [17] Pahak MY, Kosky JR, Dull RO, et al. The role of endothelial gly-

cocalyx components in mechanotransduction of fluid shear stress [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 355(1): 228-233.

- [18] Rehm M, Zahler S, Lotsch M, et al. Endothelial glycocalyx as an additional barrier determining extravasation of 6% hydroxyethyl starch or 5% albumin solutions in the coronary vascular bed[J]. *Anesthesiology*, 2004, 100(5): 1211-1223.
- [19] Yang Z, Ming XF. Recent advances in understanding endothelial dysfunction in atherosclerosis[J]. *Clin Med Res*, 2006, 4(1): 53-65.
- [20] Chappell D, Jacob M, Hofmann-Kiefer K, et al. Antithrombin reduces shedding of the endothelial glycocalyx following ischaemia/reperfusion[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(2): 388-396.
- [21] Grundmann S, Schirmer SH, Hekking LHP, et al. Endothelial glycocalyx dimensions are reduced in growing collateral arteries and modulate leucocyte adhesion in arteriogenesis[J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(9B): 3463-474.
- [22] Constantinescu AA, Vink H, Spaan JAE. Endothelial cell glycocalyx modulates immobilization of leukocytes at the endothelial surface[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(9): 1541-547.
- [23] Chappell D, Dorfler N, Jacob M, et al. Glycocalyx protection reduces leukocyte adhesion after ischemia/reperfusion[J]. *Shock*, 2010, 34(2): 133-139.
- [24] Kumase F, Morizane Y, Mohri S, et al. Glycocalyx degradation in retinal and choroidal capillary endothelium in rats with diabetes and hypertension[J]. *Acta Med Okayama*, 2010, 64(5): 277-283.
- [25] Grundmann S, Fink K, Rabadzheva L, et al. Perturbation of the endothelial glycocalyx in post cardiac arrest syndrome[J]. *Resuscitation*, 2012, 83(6): 715-720.
- [26] Becker BF, Chappell D, Bruegger D, et al. Therapeutic strategies targeting the endothelial glycocalyx: acute deficits, but great potential[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87(2): 300-310.
- [27] Nagy N, Freudenberger T, Jastrow H, et al. Pharmacologic inhibition of hyaluronan synthesis causes loss of endothelial glycocalyx and aggravates atherosclerosis[J]. *Atheroscler Suppl*, 2010, 11(2): 183.
- [28] Nagy N, Freudenberger T, Melchior-Becker A, et al. Inhibition of hyaluronan synthesis accelerates murine atherosclerosis: Novel insights into the role of hyaluronan synthesis[J]. *Circulation*, 2010, 122(22): 2313-322.
- [29] Liu X, Fan Y, Deng XY. Effect of the endothelial glycocalyx layer on arterial LDL transport under normal and high pressure[J]. *J Theor Biol*, 2011, 283(1): 71-81.
- [30] Van Den Berg BM, Spaan JAE, Rolf TM, et al. Atherogenic region and diet diminish glycocalyx dimension and increase intima-to-media ratios at murine carotid artery bifurcation[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 290(2): H915-H920.
- [31] Garcia-Cardena G, Koo A, Forbes Dewey C. Hemodynamic shear stress characteristic of atherosclerosis-resistant regions in human arteries promotes endothelial glycocalyx formation[J]. *Biorheology*, 2012, 49(2-3): 164.
- [32] Becker BF, Chappell D, Jacob M. Endothelial glycocalyx and coronary vascular permeability: the fringe benefit[J]. *Basic Res Cardiol*, 2010, 105(6): 687-701.

(此文编辑 曾学清)