

本文引用: 陈芸儿, 张琦, 于宝琪, 等. 斑块侵蚀在急性冠状动脉综合征中的作用及机制研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(3): 190-198. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.03.002.

· 专家论坛 ·

[文章编号] 1007-3949(2023)31-03-0190-09

斑块侵蚀在急性冠状动脉综合征中的作用及机制研究进展

陈芸儿¹, 张琦¹, 于宝琪^{1,2,3}, 曲爱娟^{1,2,3}

(1. 首都医科大学基础医学院生理学与病理生理学系; 2. 重塑相关心血管疾病教育部重点实验室;
3. 代谢紊乱相关疾病北京市重点实验室, 北京市 100069)

[专家简介] 曲爱娟, 博士, 教授, 博士研究生导师。中国生理学会常务理事兼副秘书长, 中国病理生理学常务理事, 北京生理学会常务理事。主要研究方向为心血管重塑性疾病的基础与临床转化研究, 尤其是低氧诱导因子及代谢性核受体在动脉粥样硬化、主动脉瘤/夹层及慢性心力衰竭中作用及机制的研究。获美国国立卫生研究院-食品添加剂办公室联合基金 1 项, 国家自然科学基金重大研究计划、面上项目等 5 项, 科技部重点研发计划(子课题骨干)2 项, 北京市自然科学基金 B 类重点项目 2 项, 以及北京市教委长城学者计划、霍英东教育基金会高等学校青年教师基金等项目。在 *Circulation*、*Hepatology*、*Arterioscler Thromb Vasc Biol* 等国际相关领域专业杂志发表 SCI 论文 50 余篇。



[摘要] 急性冠状动脉综合征是世界范围内发病率和死亡率较高的一组临床综合征。目前, 越来越多的证据表明, 带有完整纤维帽的斑块侵蚀是导致急性冠状动脉综合征的主要原因之一。基础实验已经揭示了斑块侵蚀的独特分子特征, 已有研究表明, 血流紊乱会引起内皮细胞损伤, 从而导致基底膜丧失其完整性以及内皮细胞脱落, 继而形成中性粒细胞胞外陷阱和血栓, 导致斑块侵蚀。文章将讨论动脉粥样硬化斑块侵蚀的分子特征以及对斑块侵蚀患者未来精准医疗所需的转化研究。

[关键词] 动脉粥样硬化; 急性冠状动脉综合征; 斑块侵蚀; 内皮细胞; 中性粒细胞; 细胞外基质

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

Research progress on the role and mechanism of plaque erosion in acute coronary syndrome

CHEN Yun'er¹, ZHANG Qi¹, YU Baoqi^{1,2,3}, QU Aijuan^{1,2,3}

(1. Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University; 2. Key Laboratory of Remodeling-related Cardiovascular Diseases, Ministry of Education; 3. Key Laboratory of Metabolic Disorders, Beijing 100069, China)

[ABSTRACT] Acute coronary syndrome (ACS) is a group of clinical syndromes with high morbidity and mortality worldwide. Increasing evidence suggest that plaque erosion with an intact fibrous cap is one of the major causes responsible for ACS. Basic experiments have shed light on the unique molecular characteristics of plaque erosion. It has been indicated that plaque erosion starts with the changes of blood flow disturbance-induced endothelial cell damage, resulting in loss of basement membrane integrity and endothelial cell desquamation, with consequent formation of neutrophil extracellular traps and thrombosis. This review will discuss the molecular characteristics of atherosclerotic plaque erosion and translational research needed for future precision medicine in patients with plaque erosion.

[KEY WORDS] atherosclerosis; acute coronary syndrome; plaque erosion; endothelial cells; neutrophil; extracellular matrix

[收稿日期] 2022-05-07

[修回日期] 2022-08-14

[基金项目] 北京市自然科学基金 B 类重点项目 (KZ202010025032); 北京市属高校高水平教师队伍建设支持计划 (CIT&TCD20190332) 资助

[作者简介] 陈芸儿, 主要研究方向为内皮功能紊乱与血管损伤性疾病, E-mail: 17301191597@163.com。通信作者曲爱娟, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为低氧与重塑心血管相关疾病, E-mail: aijuanqu@ccmu.edu.cn。

急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)是缺血性心脏病的急性表现,是以完全或不完全闭塞性的血栓形成成为病理基础的一组临床综合征。它是冠状动脉粥样硬化斑块继发破裂或侵蚀,是世界范围内高病发率和死亡率的主要原因,但其诊断主要以排除性为主,最佳治疗手段仍有待探索^[1]。降脂治疗的持续进展、他汀类药物的使用,使得斑块破裂的事件发生减少,从而导致斑块侵蚀(plaque erosion, PE)在 ACS 事件中的作用越来越重要,约占 ACS 的 1/3^[2]。越来越多的证据表明,斑块侵蚀患者与传统斑块破裂患者在病理生理机制、预测生物标志物和预后方面等存在差异^[3],因此对于斑块侵蚀的研究极为迫切。本文就斑块侵蚀的病理生理学机制的研究进展进行综述。

1 斑块侵蚀与急性冠状动脉综合征

1.1 病理特征

斑块侵蚀是指血栓形成于动脉粥样硬化斑块附近的内皮剥蚀区域,而不破坏覆盖在表层富含脂质坏死核心的纤维帽上,主要发生在胆固醇相对较低、吸烟、患有糖尿病的人群,并且在年轻女性中更加常见^[4]。从病理学上来看,与斑块破裂中薄的纤维帽和不连续的内膜层不同,斑块侵蚀显示完整而厚实的纤维帽,有局部内皮细胞缺失^[5]。侵蚀斑块富含平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMC)和细胞外基质(extracellular matrix, ECM),如透明质酸(hyaluronic acid, HA)、蛋白多糖等,而炎症细胞,如巨噬细胞和 T 细胞则较少,脂核也很小或看不见。在成分上,侵蚀斑块表面形成以血小板和纤维蛋白原为主的白色血栓;在分布上,侵蚀斑块更靠近冠状动脉口,其中 62.2% 的患者更靠近冠状动脉口分叉处,尤其是在左冠状动脉前降支中段^[6]。Kramer 等^[7]使用光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)发现,超过一半的侵蚀斑块出现<75% 的面积狭窄。这些病理特征都为进一步研究斑块侵蚀和斑块破裂的不同发病机制以及确定不同的治疗方案奠定了基础。

1.2 动物模型

在过去几十年中,研究者利用猪、兔、小鼠等来构建模型,已经开发出各种导致急性动脉血栓形成的动脉粥样硬化斑块损伤的小鼠模型,可以通过删除载脂蛋白 E 或低密度脂蛋白受体来对脂质代谢进行遗传操作,并与高脂肪、高胆固醇饮食相结合,诱导小鼠动脉粥样硬化^[8]。在进一步构建斑块稳定性时,由于侵蚀斑块与富含较大脂质核心和炎症

细胞的破裂斑块不同,侵蚀斑块富含平滑肌细胞和蛋白聚糖,因此需要先构建富含平滑肌细胞的内膜。增生内膜中平滑肌细胞、透明质酸大量增生,内皮细胞损伤凋亡,血栓形成,是斑块侵蚀模型构建成功的重要因素。有团队利用家兔模型,通过球囊损伤 3 周,促进富含平滑肌细胞的内膜新生。目前有研究通过血流扰动紊乱,造成内皮功能障碍,从而促进斑块侵蚀的形成,利用血管封堵器造成血管狭窄,形成血流紊乱,促进内膜损伤,可见其内皮细胞脱离,血小板和纤维蛋白黏附,促进血栓形成,诱导斑块侵蚀模型^[9],血流扰动的程度可以通过多普勒超声进行评估。但由于试验范围较小,需要更广泛程度的血管狭窄试验及更高的超声分辨率与计算流体模拟进行比较,目前斑块侵蚀在国际上尚无统一的模型。

2 内皮细胞功能障碍促进斑块侵蚀

斑块侵蚀的主要病理特征是内皮细胞的缺失,因此可以推测内皮细胞的功能障碍及缺失有可能导致斑块侵蚀。内皮细胞凋亡可以激活外源性凝血酶和促进血小板黏附,从而使得体内斑块侵蚀和血栓形成,进而导致 ACS。而内皮细胞的功能障碍及凋亡主要通过血流动力学以及炎症细胞与免疫细胞之间的相互作用导致,并且有学者在此基础上提出了“二次打击学说”^[10]。

2.1 血流动力学对于内皮细胞损伤的作用

2.1.1 机械应力的作用 斑块侵蚀大多发生在冠状动脉分叉附近,这可能与该位置有更多的侧支有关。因为动脉侧支的血管壁具有低内皮剪切应力,这会诱导炎症细胞黏附分子、细胞因子、氧化物质的产生,脂质摄取增加以及内皮通透性增加和血液停滞,这些过程可能导致内皮损伤和脱落^[11]。在血管的狭窄、分叉处,血流动力学会发生改变,这与局部机械应力的特异性有关。血管内皮细胞持续暴露于血流动力学作用之下,会对细胞结构和功能产生一定的影响。动脉受到血压和血流的影响,会对动脉壁产生机械应力和应变。目前重点研究的是血管壁剪切应力(wall shear stress, WSS)和血管壁应力(wall stress, WS)。

血管壁剪切应力是由流动的血液与血管壁表面摩擦产生的力,并且随血管壁的血液黏度和血流速度梯度而变化。许多体外研究发现,稳定的高剪切应力能够稳定内皮细胞-基质相互作用并抑制细胞凋亡过程,而振荡慢流则会促进内皮细胞凋亡。

对人颈动脉粥样硬化斑块的病理学研究表明,斑块侵蚀更容易出现于斑块狭窄下游低剪切应力的区域。低剪切应力通过增强氧化酶(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶和黄嘌呤氧化酶)的基因表达和转录后活性,促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)进入内膜并最终氧化低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC),还可以减少细胞内 ROS 清除剂的产生,例如锰超氧化物歧化酶和谷胱甘肽,进一步增加局部氧化应激^[12],有利于凝血和血栓形成。但当暴露于血流中的高剪切应力时,中性粒细胞也可能对自身激活产生抵抗力,从而避免血流中不必要的活化并减少 ROS 诱导的血管细胞损伤。

血管壁剪切应力除了通过氧化应激外,还可以通过信号传导来调节血管功能,促进内皮细胞凋亡。当内皮细胞感知到低剪切应力的信号变化,便会将其传递到细胞内部,触发一系列负责基因表达和调节血管平滑肌细胞功能的细胞信号,可以通过 Fas/FasL 途径^[13]直接诱导内皮细胞和平滑肌细胞凋亡,也可以通过依赖 Akt 的内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)磷酸化调节 NO 的产生^[14],或者直接将内皮糖萼(endothelial glycocalyx, eGCX)作为机械传感结构触发 NO 信号通路,调节细胞收缩性并因此调节血管扩张^[15]。此外,内皮细胞在低剪切应力下可以诱导炎症反应,通过激活 NF- κ B 信号通路,表现出激活的促炎表型;可以响应血小板活化因子,增加中性粒细胞活化,引起炎症反应并诱导 β 2 整合素向较低剪切应力的细胞表面区域重新分布,从而促进内皮细胞损伤;还可以激活血小板内皮细胞黏附分子 1/多聚(ADP-核糖)聚合酶 1/人高迁移率族蛋白通路,触发炎症反应^[16]。

虽然高剪切应力通常被认为具有动脉粥样硬化保护作用,但有研究发现高于正常生理值的剪切应力可能与内皮细胞损伤、斑块剥脱和侵蚀有关,在剪切应力高的区域也容易发生冠状动脉斑块侵蚀^[17]。现有证据支持高剪切应力在诱导内皮细胞行为的特定变化和高风险斑块发展方面有潜在作用,其机制是通过在凝血酶支架中捕获中性粒细胞,在无菌血栓闭塞内快速形成中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular traps, NET)^[18],还可能通过产生 NO 导致纤维帽的蛋白水解,可以增加金属蛋白酶的强效激活剂纤溶酶和尿激酶的内皮生成,从而促进内皮细胞的损伤。有文献报道,斑块侵蚀

在夏季出现的比例较高^[19],这可能是因为在热的环境中,血液浓缩增加血液黏度,有助于增加内皮剪切应力,而高剪切应力会激活血小板和凝血因子,血液黏度的增加也会影响血流扰动,可能导致 Toll 样受体 2(Toll-like receptor 2, TLR2)上调,促进 NET 形成,造成内皮损伤和血栓形成^[20]。斑块侵蚀的季节特点,又为研究人员在不同季节针对斑块侵蚀的治疗方案提供了新思路。

最近,有团队比较了侵蚀斑块和破裂斑块之间的内皮剪切应力(endothelial shear stress, ESS)、内皮剪切应力梯度(endothelial shear stress gradient, ESSG)和振荡剪切指数(oscillatory shear index, OSI),ESS 是血流对内皮细胞的切向摩擦力,当血流速度增加或减慢时产生切应力梯度 ESSG,它可以体现 ESS 的变化程度,OSI 是作为评价血流的一个重要参数,代表在收缩期和舒张期血流方向的快速变化引起的 ESS 的震荡大小,高 OSI 表示 ESS 的方向变化较大。结果显示,高 ESSG 和 OSI 可能在斑块不稳定中发挥重要作用,其中斑块破裂处的 ESSG 会明显高于斑块侵蚀部位,而 OSI 则相反^[21]。这些表明,ESSG 和 OSI 可能用于区分急性斑块破裂和侵蚀或用来评估侵蚀斑块的部位与程度。然而,剪切应力作为快速斑块进展和广泛重塑触发因素的作用仍不清楚,与斑块侵蚀的潜在关系需要在未来的研究中进行验证。

除了血管壁剪切应力之外,高压血管(如动脉)的静水压和心脏搏动产生的循环应变会产生另一种力,即血管壁应力,是构成整个壁的轴向、圆周和径向力。在易损斑块中,由于大量脂质池的存在,整个血管部分的壁应力分布会发生巨大变化,会在斑块破裂或裂缝发生的肩部区域表现最高,因此,斑块侵蚀也可能与壁应力特异性有关^[11],在不同的条件下,启动与剪切应力类似的信号通路,影响内皮细胞的功能。但目前对于此机制研究尚未清楚,但它可能成为促进驻留细胞合成特定细胞外基质并形成易侵蚀表型的重要因素。

2.1.2 血流扰动激活 TLR2 介导内皮损伤 除了通过机械应力对内皮细胞的直接作用,血流扰动还可以通过其他作用促进斑块侵蚀^[22]。越来越多的证据表明,血流扰动可以通过激活 TLR2 改变内皮细胞的功能,导致斑块侵蚀。在小鼠和人的实验性动脉粥样硬化中,内皮细胞在血流紊乱的区域高表达 TLR2,并且高脂血症还会增加 TLR2 的表达^[23]。

首先,内皮细胞中 TLR2 水平的增加会导致炎

症反应的持续发展。TLR 是发现于前哨细胞或抗原提呈细胞(如巨噬细胞和树突状细胞)上的一组模式识别受体,是天然免疫系统的一部分,它们通过识别病原体相关的分子模式启动炎症通路,可能会加剧动脉粥样硬化等慢性炎症性疾病^[24]。通过与内源性激动剂(如脂磷壁酸或肽聚糖)相结合,TLR 可刺激白细胞黏附分子如细胞间黏附分子 1 (intracellular adhesion molecules-1, ICAM-1) 或 E 选择素的表达,促进炎症反应的发生与发展。人类内皮细胞暴露于这些 TLR2 激动剂也增加了编码白细胞介素 8 (interleukin-8, IL-8) 基因的表达,IL-8 是一种中性粒细胞趋化剂,可以过表达中性粒细胞趋化因子和细胞黏附分子,募集中性粒细胞,介导炎症反应,促进内皮细胞损伤。

其次,TLR2 通过募集粒细胞导致内皮细胞中的血管内皮钙黏蛋白水平降低,这是一种负责内皮单层完整性的蛋白质,其水平降低会使内皮单层的完整性降低,促进内皮细胞脱落,并且内皮细胞暴露于多形核细胞 (polymorphonuclear neutrophils, PMN) 会加重血管钙黏蛋白的表达,但影响机制尚未清楚^[25]。

另外,当内皮完整性被破坏后,正常情况下是通过相邻的内皮细胞覆盖进行快速修复,但 TLR2 激活后,则会破坏并延迟内皮单层的修复。而且,一旦一小块内皮脱落,血小板和粒细胞的募集和激活就会随之而来,形成正反馈环路,有利于 NET 的形成^[10]。

2.2 通过免疫细胞与炎症细胞的相互作用

2.2.1 中性粒细胞 巨噬细胞在斑块形成、发展和破裂各方面的作用,在动脉粥样硬化的研究中受到了相当多的关注^[26]。此外,其他吞噬细胞和先天免疫细胞也可能通过损伤内皮细胞进而导致 ACS,例如肥大细胞、嗜酸性粒细胞,尤其是中性粒细胞。

中性粒细胞提供抵御病原体的第一道防线,并使用各种颗粒蛋白、蛋白酶和 ROS 来攻击微生物并放大大局先天性和适应性免疫反应。内皮细胞在血流动力学的作用下被激活并增强中性粒细胞的趋化作用,从而募集中性粒细胞。中性粒细胞可以通过释放中性粒细胞介质,来增强内皮细胞损伤^[27]。

与斑块破裂患者相比,斑块侵蚀患者血浆髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 显著升高^[28],提示可以通过 MPO 这类炎症标志物^[29]来区分斑块破裂和斑块侵蚀。MPO 是一种血红素氧化酶,主要表达于中性粒细胞嗜天青颗粒中。MPO 靶向细胞外基

质蛋白,能降低和限制 NO 的生物利用度,造成血管内皮舒张障碍并介导中性粒细胞募集和活化,扩大其影响^[30]。MPO 不仅可以通过释放 ROS 促进内皮细胞凋亡,而且可以在局部产生一种有效的促氧化剂次氯酸 (hypochlorous acid, HOCl),其可作用于一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS),限制催化合成 NO,减少 NO 的释放,也可以在中性粒细胞聚集的动脉区域诱导内皮细胞凋亡和组织因子的表达^[31]。

其次,MRP8/14 复合物,也称为 S100A8/S100A9,是 S100 家族的两个成员,主要由中性粒细胞、单核细胞和血小板表达,在人冠状动脉血栓中高度表达。在小鼠中,MRP8/14 缺乏对动脉粥样硬化和血栓形成有保护作用。MRP8/14 通过硫酸乙酰肝素蛋白聚糖特异性结合内皮细胞,并在微血管内皮细胞中诱导血栓形成和炎症反应,包括单层内皮完整性的破坏、细胞连接蛋白的丧失、IL-8 和 ICAM-1 的诱导并介导半胱天冬酶依赖性内皮细胞死亡程序^[11]。中性粒细胞上的 MRP8/14 还可以通过自分泌的方式与 TLR4 结合,促进 $\beta 2$ 整合素激活,从而增强中性粒细胞在内皮细胞的滚动和黏附^[32]。

同时,中性粒细胞弹性蛋白酶 (neutrophil elastase, NE) 是中性粒细胞释放的一种重要蛋白酶,它能有效清除被吞噬的细菌和真菌病原体。有研究显示它可以促进 eGCX 脱落来引发严重的内皮功能障碍。而且有研究发现 NE 在与人颈动脉粥样硬化的管腔内皮细胞接触的巨噬细胞中高度表达,并且已被证明可以通过激活未折叠蛋白反应的 PERK-CHOP 分支来诱导内皮细胞凋亡^[33],从而导致白细胞和血小板黏附加剧。因此抑制 NE 可能为保护内皮细胞提供新的途径。

除了这些介质,中性粒细胞携带的组织蛋白酶 G 可以将表面暴露于血小板并吸引更多的中性粒细胞来增加细胞通透性并损伤内皮细胞形态。中性粒细胞还含有丰富的基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase, MMP-2) 和 MMP-9,它们通过降解基底膜蛋白来调节细胞黏附的非纤维状胶原酶^[31]。

最后,中性粒细胞产生的异常 ROS 导致内皮细胞激活和功能障碍,影响血管张力、局部炎症和免疫反应,中性粒细胞的存在还加重 TLR2 介导的内皮细胞应激反应,损害内皮黏附。

2.2.2 中性粒细胞胞外陷阱的作用 中性粒细胞还可以通过 NET 形成 (NETosis),使血小板聚集直接或间接促进局部血栓的形成。几项尸检研究

表明,NET 存在于斑块侵蚀患者的斑块病变表面。NET 是由胞质、颗粒和核蛋白装饰的 DNA 结构,是从活化的中性粒细胞膜突出的纤维网络^[34],其中包含丰富的核心组蛋白以及髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、NE、细胞质蛋白如 S100 等。NETosis 是由细胞凋亡或坏死性凋亡等受控死亡程序引起的^[35]。

目前认为 NET 通过两种途径形成,一种是非溶解途径,这一途径几分钟就能发生,它是通过许多因素(如细菌脂多糖和活化的血小板)刺激中性粒细胞表面的宿主模式识别受体而启动的,中性粒细胞在囊泡的胞吐作用释放 NET 后仍然存活,通过 MPO 和 ROS 损伤血管内皮细胞促进凋亡^[36];另一种途径是溶解途径,需要数小时,形成 NET 的中性粒细胞会迅速分解其肌动蛋白细胞骨架并且质膜微泡开始脱落,其中肽酰基精氨酸脱亚氨酶 4(peptidyl arginine deiminase 4, PAD4)催化的组蛋白瓜氨酸化是该途径的关键步骤^[37]。瓜氨酸化使得丝氨酸蛋白酶的活性丧失,从而导致凝血功能失调,促进血栓形成。因此,可以将 PAD4 作为一个新型靶点,设计高亲和力、高特异性 PAD4 抑制剂,治疗相关疾病。

另外,NET 可以通过很多种效应器参与斑块侵蚀,主要通过结合和激活血小板以及凝血因子来作用。首先,NET 在其积聚处具有局部内在促血栓形成作用,能够促进纤维蛋白沉积和纤维蛋白网络的形成,激活血管内凝血,这主要是由组蛋白 H3 和 H4 介导的,从而增强斑块的稳定性;NET 还可以促进血小板活化并促进凝血级联反应,它可以单独作用于血小板,通过增加 ATP 和 ADP 的分泌以及表面的 CD62L 和磷脂酰丝氨酸,促进血小板聚集和血栓的形成;还可以通过 TLR2 和 TLR4 促进凝血酶生成,促进血栓扩增;还能通过直接接触血清和血液成分来触发凝血,其中的 IL-17 就是一种通过增强血小板聚集,促进血栓形成的因子。

其次,NET 可以为血栓形成提供一个关键的支架,NET 中的细胞外核酸与循环中的血小板、凝血因子和血管性假血友病因子(von Willebrand factor, vWF)结合,充当凝血级联反应的固态反应器,并为形成血栓提供支架^[25],加剧内皮细胞死亡、脱落和血栓形成。此外,还可以激活并替代血管内皮细胞附近补体途径,加剧内皮细胞死亡和脱落^[38]。

除了提供支架,NET 还可以通过其他方式促进血栓形成。NET 募集凝血因子 XIIa,这是一种可以促进凝血和动员一种称为棒管状小体(Weibel-

Palade bodies, WPB)的蛋白质,WPB 中含有 vWF、P 选择素 121 和凝血因子 XIIa^[39]。细胞外 NET 组蛋白还可以结合 vWF 和纤维蛋白以募集血小板和红细胞。此外,与 NET 结合的 NE 会切割抑制凝血的组织因子途径抑制剂并通过蛋白水解,激活血小板受体以促进血小板积累,进而导致凝血,形成血栓^[40]。

因此,NETosis 的血液生物标志物,如游离 DNA 或瓜氨酸化组蛋白,在将来也许可以提供一种无创区分侵蚀和破裂的方法,从而对 ACS 进行更精确的治疗^[33]。随着近年来对 NET 在血栓形成中作用的认识,NET 不仅有可能作为斑块侵蚀导致 ACS 的治疗靶点,也可以成为血栓性疾病的治疗靶点。

3 二次打击学说

以上的任何一种机制都无法完全解释斑块侵蚀的机制,因此有学者提出了“二次打击”学说(图 1)^[10],对上述机制进行完善。假设斑块的表面侵蚀涉及两次“打击”,第一个阶段是由 TLR2 介导的初始内皮损伤,在内皮经过损伤、死亡、脱落之后,被招募到现场的中性粒细胞可以通过放大、维持和促进内皮损伤的局部过程,从而进入第二阶段。死亡的内皮细胞产生局部组织因子并与内皮下基质接触而引起血栓和凝血,此时中性粒细胞会被困在纤维蛋白链中,并形成 NET,导致促炎和促血栓并形成级联反应,形成持续性凝块,从而引发 ACS^[41]。

4 细胞外基质的改变导致斑块侵蚀

细胞外基质是细胞赖以生存的微环境,对于维持细胞的正常结构与功能具有重要作用。与破裂斑块相比,侵蚀斑块富含平滑肌细胞和蛋白多糖的细胞外基质。其中透明质酸是动脉粥样硬化中重要的细胞外基质。有研究发现,透明质酸在斑块侵蚀的部位显著增加,已被证明是斑块侵蚀的重要病理特征^[42]。

透明质酸可以通过自身降解来促进内皮细胞凋亡。透明质酸是一种细胞外基质多糖,具有不同的相对分子质量,通常由血管壁中多种类型细胞合成,可能与血栓形成相关,通过诱导内皮细胞死亡和促进中性粒细胞募集,从而可能导致血栓形成和斑块侵蚀的正反馈环路。透明质酸在感染和组织损伤期间可以发生断裂^[43]。在正常的生理条件下,细胞外透明质酸主要以超过 1 000 kD 的高相对分子质量 HA(high molecular weight HA, HMW-HA)形

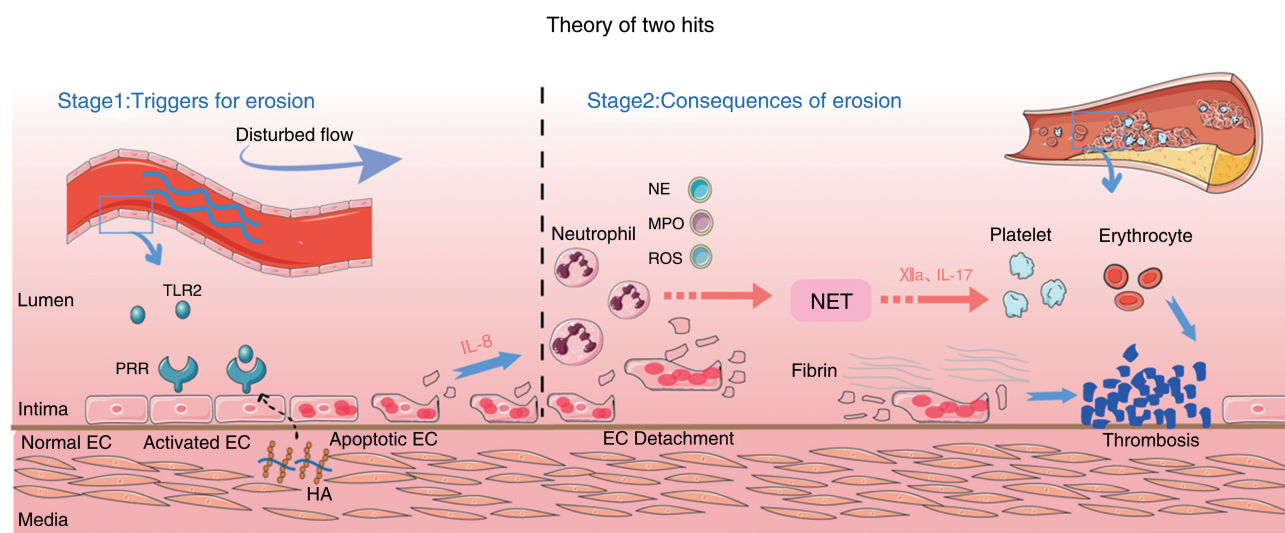


图 1. 动脉粥样硬化斑块侵蚀形成的二次打击学说

图的左侧是第一个阶段即初始内皮损伤阶段。血流扰动可触发 TLR2 与内皮细胞(EC)表面的模式识别受体(PRR)结合。其中,透明质酸(HA)是侵蚀斑块中的一种常见成分,也可作为 TLR2 配体。TLR2 与 PRR 结合后,会激活 EC 并破坏 EC 的完整性。凋亡的 EC 暴露于这些 TLR2 激动剂会增加白细胞介素 8(IL-8)的表达,它可以招募中性粒细胞。然后进入第二阶段(图的右侧),被招募到现场的中性粒细胞可以释放中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)、髓过氧化物酶(MPO)、活性氧(ROS)等扩大炎症反应,进一步损伤内皮细胞。当死亡的内皮细胞产生局部组织因子并与内皮下基质接触时,会引起血栓和凝血,中性粒细胞会被困在纤维蛋白链中,形成中性粒细胞胞外陷阱(NET)。NET 招募凝血因子 XIIa 和白细胞介素 17(IL-17),活化并累积血小板和红细胞。最终,血栓形成,进一步促进动脉粥样硬化的急性血栓并发症

(图片中的基本形状元素部分来源于 Servier Medical Art)。

Figure 1. Two-hits theory for atherosclerotic plaque erosion

式存在,通过细胞摄取和降解来调节平衡,但是在炎症出现时,一些透明质酸酶(主要是透明质酸酶 1、2)会将其水解为低相对分子质量的透明质酸片段(low molecular weight HA, LMW-HA),而这些片段会参与 PMN 的趋化和激活,参与炎症反应的产生与放大^[44]。同时,它还与凝血级联反应相关的许多分子如纤维蛋白、纤维蛋白原和纤连蛋白等相互作用,形成与血栓形成相关的临时基质。先前有研究表明,LMW-HA 可以通过 NF- κ B 依赖性途径激活 TLR2 信号传导,从而有助于在血流紊乱的情况下募集中性粒细胞,进一步促进内皮细胞凋亡。

透明质酸还可以与细胞表面受体结合来调节细胞行为。CD44 是与透明质酸结合最广泛分布的细胞表面受体。在炎症条件下,CD44 在血管内皮、平滑肌和炎症细胞上被上调,激活后能够调节白细胞黏附、迁移和功能表型^[45]。基因共表达分析表明,CD44 是小鼠动脉粥样硬化易感性的关键介质,它在导致疾病进展的所有关键细胞上表达,并且在脉管系统的动脉粥样硬化易发区域被上调和激活,而且在疾病早期就会发生改变,这意味着 CD44 可能是动脉粥样硬化发展风险的早期指标。CD44 的过表达也可能受到 LMW-HA 积累的影响,从而导致

单核细胞-血小板结合增强^[46]。上述提及的 LMW-HA 和 HMW-HA 可以与 CD44 受体相互作用,通过不同的分子和细胞机制发挥生物学效应^[47]。除了 CD44 外,还有其他与透明质酸结合的受体,比如淋巴管内皮透明质酸受体 1 (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1, LYVE-1)、用于内吞作用的透明质酸受体 (hyaluronan receptor, HARE),也称为 Stabilin-2 等,在今后可以对其进一步研究,或许可以成为斑块侵蚀的诊断标志物。

最近有研究报告称,透明质酸酶 2 (HYAL2, 一种降解透明质酸的酶)和 CD44v6 在斑块侵蚀患者中的表达明显高于斑块破裂患者^[48]。HYAL2 是一种将高相对分子质量透明质酸降解为其促炎产物的酶,可能会放大反应和促进内皮细胞死亡,其活性增加可以介导低剪切应力引起的内皮损伤。在斑块侵蚀中, HYAL2 在 PBMC 中的表达增强,进而通过局部 LMW-HA 形成、TLR2 刺激、内皮激活和中性粒细胞积聚以及中性粒细胞中的 CD44 过度表达而增强,提供正反馈调节,导致血栓形成。此外,在 ACS 患者中,吸烟者的 HYAL2 基因表达显著增强。这也提示我们可以将 HYAL2 作为一种无创诊断工具。

透明质酸也可以受到 ROS 的降解,因为炎症的

环境可以导致 pH 值降低、ROS 增加和产生透明质酸酶的病原体,这会促使透明质酸进一步产生衍生自由基,从而发生氧化还原反应,产生 NO 等。这些产物虽然并不直接促进透明质酸降解,但是可以通过调节过氧亚硝酸盐的产生来促进透明质酸迅速降解^[49]。但与此同时,透明质酸也可以清除 ROS,保护发炎组织免受破坏,这也可以解释在斑块侵蚀中细胞外基质的降解和表面炎症相对于斑块破裂影响较小。

细胞外基质特别是透明质酸的降解在斑块侵蚀的过程中有重要的作用,它参与并导致局部动脉损伤,其机制尚未完全明确,但是今后可以深入研究透明质酸的作用以及其中关键分子的调控,为斑块侵蚀的治疗提供新的方案。

5 展望与思考

近年来我们对于斑块侵蚀的关注越来越多,对于斑块侵蚀与斑块破裂不同的病理特征与分子机制的研究以及不断发展的技术手段,也为我们在诊断和治疗 ACS 中提出了新思路。除了传统的影像学与病理学手段,分子标志物因其特异性及无创性,在临床诊断中的应用越来越广泛。目前在斑块侵蚀的诊断中,部分分子标志物已在基础研究中有预测,但尚未在临床中进行应用。比如 MPO 在斑块侵蚀的患者中显著升高,提示可以作为斑块侵蚀与斑块破裂的区分标志物,其他类似的炎症标志物在斑块侵蚀中是否也具有特异性有待进一步验证。其次,与透明质酸结合的配体,如 CD44、LYVE-1、HYAL2、HARE 等的表达也在斑块侵蚀患者中特异性升高,提示可以将这些标志物作为无创诊断的工具,同时也为斑块侵蚀的治疗提供新靶点。利用较大规模的试验评估及结合具体斑块侵蚀的标志物和高分辨率非侵入式成像方法提高诊断能力,区分斑块破裂与斑块侵蚀,从而有助于个性化医疗和精准医疗的不断发展。

在治疗中,目前对 ACS 的治疗常规是经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)和支架置入术。但与斑块破裂相比,PCI 治疗下斑块侵蚀的血管愈合并不理想,因此 EROSION 研究提出了采用有效的抗血栓治疗而无需支架置入的保守治疗,初步证明了斑块侵蚀患者无需支架的抗血栓治疗的可行性和初始安全性^[50]。或许可以使斑块侵蚀患者避免支架置入及支架置入带来的如支架内再狭窄等并发症。但由于此研究为概念

验证性研究,样本量较少,还需更大的随机研究来验证实验数据和更长的评估时间。与斑块破裂相比,斑块侵蚀的血栓负荷更小、血管结构更完整、管腔更大,导致的心血管风险更小。这也使得斑块侵蚀的治疗策略相较于斑块破裂会有所不同,后者会更加集中于强化抗栓及降脂抗炎方面。另外基于斑块侵蚀独特的分子病理机制,通过降解 NET 以及细胞外基质来抑制斑块侵蚀导致的血栓形成。通过对斑块侵蚀的不断深入研究,利用药物治疗而非介入治疗为斑块侵蚀患者提供更好的治疗方法,很大程度上也可以节省医疗资源。

此外,目前对于斑块侵蚀的研究还有很多问题亟待解决。在血流扰动中,机械应力的直接作用以及 TLR2 介导的间接影响,都可以对内皮细胞造成损伤,从而促进斑块侵蚀。目前研究显示,低剪切应力和超生理的高剪切应力都能通过不同的机制促进斑块侵蚀的形成,而且通过多变量的分析,研究人员发现不同作用下对斑块侵蚀与破裂的影响不同,因此也可以对机械应力进一步量化,利用多维度的力学分析进一步阐明不同环境下机械应力的作用强度对斑块侵蚀的影响,以期阐明导致斑块侵蚀的机制。

另外还需建立统一的动物模型来促进研究的发展,虽有血流扰动的斑块侵蚀模型的提出,但由于超声分辨率的限制,使得我们无法对狭窄部位和振荡剪切应力进行量化,在今后或许可以利用新兴的影像方式对其进一步量化,建立统一的标准。小鼠与人类的差异性,使得小鼠模型的构建较为困难,很难模拟与人类完全相同的病理特点,而且在人类中的情况往往更加复杂,也需要更深入地研究。

总而言之,随着个性化医疗与精准医疗的不断发展、各种医学实验技术的进步,我们期望通过对斑块侵蚀更深入地探究与认识,将来为 ACS 患者个性化的诊疗、为侵蚀患者精准医疗所需的转化研究奠定基础。

【参考文献】

- [1] 朱心忻, 乔虹. 斑块侵蚀的诊疗进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(7): 628-632.
ZHU X X, QIAO H. Progress in the diagnosis and treatment of plaque erosion[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(7): 628-632.
- [2] SATHYAMURTHY I, SENGOTTUVELU G. Can OCT change the therapeutic strategy in ACS due to plaque erosion? [J]. Indian Heart J, 2021, 73(3): 259-263.

- [3] LUO X, LV Y, BAI X, et al. Plaque erosion: a distinctive pathological mechanism of acute coronary syndrome [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 711453.
- [4] ARAKI M, YONETSU T, KURIHARA O, et al. Age and phenotype of patients with plaque erosion[J]. *J Am Heart Assoc*, 2021, 10(19): e020691.
- [5] FAHED A C, JANG I K. Plaque erosion and acute coronary syndromes: phenotype, molecular characteristics and future directions[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(10): 724-734.
- [6] KIM H O, KIM C J, KURIHARA O, et al. Angiographic features of patients with coronary plaque erosion[J]. *Int J Cardiol*, 2019, 288: 12-16.
- [7] KRAMER M C, RITTERSMA S Z, DE WINTER R J, et al. Relationship of thrombus healing to underlying plaque morphology in sudden coronary death[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(2): 122-132.
- [8] KAREL M, HECHLER B, KUIJPERS M, et al. Atherosclerotic plaque injury-mediated murine thrombosis models: advantages and limitations[J]. *Platelets*, 2020, 31(4): 439-446.
- [9] SUMI T, YAMASHITA A, MATSUDA S, et al. Disturbed blood flow induces erosive injury to smooth muscle cell-rich neointima and promotes thrombus formation in rabbit femoral arteries[J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(6): 1394-1402.
- [10] QUILLARD T, ARAUJO H A, FRANCK G, et al. TLR2 and neutrophils potentiate endothelial stress, apoptosis and detachment: implications for superficial erosion[J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(22): 1394-1404.
- [11] GREGORY F. Role of mechanical stress and neutrophils in the pathogenesis of plaque erosion [J]. *Atherosclerosis*, 2021, 318: 60-69.
- [12] BROWN D I, GRIENDLING K K. Regulation of signal transduction by reactive oxygen species in the cardiovascular system[J]. *Circ Res*, 2015, 116(3): 531-549.
- [13] APENBERG S, FREYBERG M A, FRIEDL P. Shear stress induces apoptosis in vascular smooth muscle cells via an autocrine Fas/FasL pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310(2): 355-359.
- [14] FULTON D, GRATTON J P, MCCABE T J, et al. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt[J]. *Nature*, 1999, 399(6736): 597-601.
- [15] URSCHER K, TAUCHI M, ACHENBACH S, et al. Investigation of wall shear stress in cardiovascular research and in clinical practice: from bench to bedside[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5635.
- [16] QIN W D, MI SH, LI C, et al. Low shear stress induced HMGB1 translocation and release via PECAM-1/PAIP-1 pathway to induce inflammation response[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0120586.
- [17] ESHTEHARDI P, BROWN A J, BHARGAVA A, et al. High wall shear stress and high-risk plaque: an emerging concept[J]. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2017, 33(7): 1089-1099.
- [18] VERGALLO R, PAPAFAKLIS M I, D'AMARIO D, et al. Coronary plaque erosion developing in an area of high endothelial shear stress: insights from serial optical coherence tomography imaging[J]. *Coron Artery Dis*, 2019, 30(1): 74-75.
- [19] KURIHARA O, TAKANO M, YAMAMOTO E, et al. Seasonal variations in the pathogenesis of acute coronary syndromes[J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(13): e015579.
- [20] YAMAMOTO E, THONDAPU V, POON E, et al. Endothelial shear stress and plaque erosion: a computational fluid dynamics and optical coherence tomography study [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2019, 12(2): 374-375.
- [21] THONDAPU V, MAMON C, POON E W, et al. High spatial endothelial shear stress gradient independently predicts site of acute coronary plaque rupture and erosion [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(8): 1974-1985.
- [22] FRANCK G, MAWSON T, SAUSEN G, et al. Flow perturbation mediates neutrophil recruitment and potentiates endothelial injury via TLR2 in mice: implications for superficial erosion[J]. *Circ Res*, 2017, 121(1): 31-42.
- [23] MULLICK A E, SOLDAU K, KIOSSES W B, et al. Increased endothelial expression of Toll-like receptor 2 at sites of disturbed blood flow exacerbates early atherogenic events[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(2): 373-383.
- [24] LU B L, WILLIAMS G M, BRIMBLE M A. TLR2 agonists and their structure-activity relationships[J]. *Org Biomol Chem*, 2020, 18(27): 5073-5094.
- [25] GRECHOWA I, HORKE S, WALLRATH A, et al. Human neutrophil elastase induces endothelial cell apoptosis by activating the PERK-CHOP branch of the unfolded protein response[J]. *FASEB J*, 2017, 31(9): 3681-3688.
- [26] 范 骏, 陶 蓉, 张瑞岩, 等. 炎症反应在易损斑块中的作用及其机制研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(4): 301-306.
- FAN Q, TAO R, ZHANG R Y, et al. Research progress on the role of inflammatory response in vulnerable plaque and its mechanism [J]. *Chin J Arterioscler*, 2019, 27(4): 301-306.
- [27] DORING Y, DRECHSLER M, SOEHNLEIN O, et al. Neutrophils in atherosclerosis: from mice to man[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(2): 288-295.
- [28] FERRANTE G, NAKANO M, PRATI F, et al. High levels of systemic myeloperoxidase are associated with coronary plaque erosion in patients with acute coronary syn-

- dromes; a clinicopathological study [J]. *Circulation*, 2010, 122(24): 2505-2513.
- [29] 唐 锴, 帅 壮, 李宗宇, 等. 急性冠状动脉综合征生物标志物的研究现状[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(5): 451-455.
- TANG K, SHUAI Z, LING Z Y, et al. Research status of biomarkers for the acute coronary syndrome [J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(5): 451-455.
- [30] 王慧洁, 丁世芳. 髓过氧化物酶与急性冠状动脉综合征的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2013, 21(10): 955-960.
- WANG H J, DING S F. Research progress of myeloperoxidase and acute coronary syndrome [J]. *Chin J Arterioscler*, 2013, 21(10): 955-960.
- [31] NDREPEPA G. Myeloperoxidase-A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 493: 36-51.
- [32] PRUENSTER M, KURZ A R, CHUNG K J, et al. Extracellular MRP8/14 is a regulator of beta2 integrin-dependent neutrophil slow rolling and adhesion [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6915.
- [33] FOLCO E J, MAWSON T L, VROMMAN A, et al. Neutrophil extracellular traps induce endothelial cell activation and tissue factor production through interleukin-1alpha and cathepsin G [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(8): 1901-1912.
- [34] HIDALGO A, LIBBY P, SOEHNLEIN O, et al. Neutrophil extracellular traps: from physiology to pathology [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(13): 2737-2753.
- [35] LEE K H, KRONBICHLER A, PARK D D, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: a comprehensive review [J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16(11): 1160-1173.
- [36] MOSTAFA M N, OSAMA M. The implications of neutrophil extracellular traps in the pathophysiology of atherosclerosis and atherothrombosis [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2020, 245(15): 1376-1384.
- [37] LIU X, ARFMAN T, WICHAPONG K, et al. PAD4 takes charge during neutrophil activation: impact of PAD4 mediated NET formation on immune-mediated disease [J]. *J Thromb Haemost*, 2021, 19(7): 1607-1617.
- [38] FRANCK G, MAWSON T L, FOLCO E J, et al. Roles of PAD4 and NETosis in experimental atherosclerosis and arterial injury: implications for superficial erosion [J]. *Circ Res*, 2018, 123(1): 33-42.
- [39] PAPAYANNOPOULOS V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(2): 134-147.
- [40] DORING Y, SOEHNLEIN O, WEBER C. Neutrophil extracellular traps in atherosclerosis and atherothrombosis [J]. *Circ Res*, 2017, 120(4): 736-743.
- [41] LIBBY P, PASTERKAMP G, CREA F, et al. Reassessing the mechanisms of acute coronary syndromes [J]. *Circ Res*, 2019, 124(1): 150-160.
- [42] LI J, TAN Y, SHENG Z, et al. The association between plasma hyaluronan level and plaque types in ST-segment-elevation myocardial infarction patients [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 628529.
- [43] PEDICINO D, VINCI R, GIGLIO A F, et al. Alterations of hyaluronan metabolism in acute coronary syndrome: implications for plaque erosion [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(13): 1490-1503.
- [44] LEE-SAYER S S, DONG Y, ARIF A A, et al. The where, when, how, and why of hyaluronan binding by immune cells [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 150.
- [45] GRANDOCH M, BOLLYKY P L, FISCHER J W. Hyaluronan: a master switch between vascular homeostasis and inflammation [J]. *Circ Res*, 2018, 122(10): 1341-1343.
- [46] KROLIKOSKI M, MONSLOW J, PURE E. The CD44-HA axis and inflammation in atherosclerosis: a temporal perspective [J]. *Matrix Biol*, 2019, 78-79: 201-218.
- [47] WIGHT T N. A role for extracellular matrix in atherosclerotic plaque erosion [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(13): 1504-1505.
- [48] PEDICINO D, VINCI R, GIGLIO A F, et al. Alterations of hyaluronan metabolism in acute coronary syndrome: implications for plaque erosion [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(13): 1490-1503.
- [49] SOLTES L, MENDICHI R, KOGAN G, et al. Degradative action of reactive oxygen species on hyaluronan [J]. *Bio-macromolecules*, 2006, 7(3): 659-668.
- [50] JIA H, DAI J, HOU J, et al. Effective anti-thrombotic therapy without stenting: intravascular optical coherence tomography-based management in plaque erosion (the EROSION study) [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(11): 792-800.

(此文编辑 许雪梅)