

动脉粥样硬化表观遗传学 研究前沿及技术

主编 姜怡邓 徐华



科学出版社

感谢国家自然科学基金(81160044,81260105,81360027,
81560084,81570452)对本书的支持与资助

动脉粥样硬化表观遗传学 研究前沿及技术

主 审 袁文俊 王树人
主 编 姜怡邓 徐 华
副主编 杨晓玲 张慧萍 赵 巍 杨安宁
编 者 (以姓氏笔画为序)
马胜超 王艳华 孔繁琪 孙 岳
李桂忠 李淑强 张 辉 张鸣号
张慧萍 赵 巍 郭 伟 曹慧梅
韩学波

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

表观遗传学是研究基因核苷酸序列不发生改变的情况下,基因表达发生可遗传变化的一门遗传学分支学科,主要包括 DNA 甲基化、核染色质修饰、印记基因丢失及 microRNA 等,作为一种阐述具有相同 DNA 序列的细胞或生物体如何产生明显表型差异的机制,有助于解释生活习惯与疾病发生间的关系,可作为疾病诊断、防治的生物标志物。动脉粥样硬化是环境因素与遗传因素相互作用所致的慢性炎症性疾病,深入了解表观遗传修饰与动脉粥样硬化形成和发展的关系,对于进一步阐明动脉粥样硬化的发病机制具有重要意义。本书就动脉粥样硬化与表观遗传学修饰的最新研究进展、可能的发病机制及相应检测技术进行阐述,旨在为深入研究和防治动脉粥样硬化提供帮助。

图书在版编目(CIP)数据

动脉粥样硬化表观遗传学研究前沿及技术/姜怡邓,徐华主编. —北京:科学出版社,2015. 10

ISBN 978-7-03-045279-5

I. ①动… II. ①姜… ②徐… III. ①动脉粥样硬化-遗传学-研究 IV. ① R543.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 176579 号

责任编辑:王 颖 / 责任校对:张怡君

责任印制:徐晓晨 / 封面设计:陈 敬

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京京华虎彩印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015 年 10 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2015 年 10 月第一次印刷 印张:28 1/2

字数:686 000

定价:148.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

随着医学的进步、社会经济的发展,人类疾病发生了流行病学转变,心血管疾病在世界范围内流行,并已成为人类死亡的首要原因,而动脉粥样硬化是主要病理基础,是心血管疾病致残致死的主要原因。目前关于动脉粥样硬化的危险因素以及发病机制研究学说很多,一直是心血管疾病研究的热点。

动脉粥样硬化是发生在大、中动脉,以粥样硬化斑块形成为病理特征的血管改变,但其发病机制尚未完全阐明。表观遗传学是指在DNA核酸序列不发生改变的情况下,从染色质水平研究生物体如何对基因的表达实现调控。动脉粥样硬化是环境因素与遗传因素相互作用所致的慢性疾病。表观遗传学修饰可能是链接环境因素与遗传因素的桥梁,深入了解表观遗传学修饰如DNA甲基化、组蛋白修饰以及微小RNA对动脉粥样硬化形成和发展的影响及其作用机制,将进一步阐明动脉粥样硬化的发病机制。此外,由于表观遗传学修饰的可逆性,可能为动脉粥样硬化的防治提供新的策略和靶点。早在20世纪90年代末,Newman等学者就提出异常的DNA甲基化模式促进动脉粥样硬化的假说,在动脉粥样硬化发生中,整体基因组低甲基化引起促动脉粥样硬化基因表达增高。近年来研究也证实,DNA甲基化、非编码RNA以及组蛋白修饰如甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等多种途径启动和促进动脉粥样硬化的发生、发展,并最终导致粥样斑块破裂,引发恶性心脑血管事件。表观遗传学修饰学说是动脉粥样硬化发生发展学说中的重要组成部分,对其进行研究,进而阐明动脉粥样硬化发生发展机制,有着深远的意义。

我们研究团队多年来一直致力于动脉粥样硬化表观遗传学的研究。在研究生教学和科研工作时,有许多专业人员向我们索要有关动脉粥样硬化表观遗传学的专业书籍,他们希望能有一部较为系统介绍动脉粥样硬化与表观遗传学最新研究进展及常用实验技术的专著。这使我们深感写作这样一部专著的必要,《动脉粥样硬化表观遗传学研究前沿及技术》这部著作就是在这样的背景下应运而生的产物。

本书基于我们在研究中的发现并结合国内外研究进展,较为系统地就血管生理基础、动脉粥样硬化病理生理基础、基因的表达与调控、动脉粥样硬化表观遗传学、心血管研究常用实验技术五大内容进行了阐述,特别对于表观遗传学在动脉粥样硬化及其相关疾病发生发展的作用以及机制给予了详细介绍。我们编写这部书的目的,较多地考虑了表观遗传学在动脉粥样硬化领域应用的系统性,并兼顾医学研究工作者和研究生两个层次的阅读需求。我们希望本书的出版能带来关于动脉粥样硬化表观遗传学的科学研究与临床实践的新启示。

如果本书能够对此研究领域和临床医师的科学研究与临床实践有一定帮助,我们将深感欣慰。书中的一些新观点难免会引起争议,欢迎百家争鸣,共同完善表观遗传学在心血管疾病中的相关研究。对于本书的不足和错误之处,也希望广大读者热情指正。

姜怡邓 徐 华

2015年6月

目 录

第一篇 血管生理基础

第一章 血管结构及功能	(1)
第一节 血管内皮细胞	(1)
第二节 血管平滑肌细胞	(5)
第三节 单核细胞	(8)
第四节 血管壁基质	(9)
第二章 血管受体	(11)
第三章 血管运动功能的异质性	(14)

第二篇 动脉粥样硬化病理生理基础

第一章 概述	(17)
第一节 动脉粥样硬化的危险因素	(17)
第二节 动脉粥样硬化的病理变化	(19)
第二章 与动脉粥样硬化发病有关的学说	(22)
第三章 自由基与动脉粥样硬化	(35)
第一节 自由基概述	(35)
第二节 自由基清除剂	(52)
第三节 活性氧与信号传导	(62)
第四节 活性氧与细胞凋亡	(74)
第五节 自由基与动脉粥样硬化	(83)
第六节 细胞氧化应激与动脉粥样硬化研究进展	(88)
第四章 动脉粥样硬化防治的病理生理基础	(96)
第五章 动脉粥样硬化动物模型的制备	(99)
第一节 实验模型的制备方法	(99)
第二节 实验模型的评价指标	(103)

第三篇 基因的表达与调控

第一章 基因表达调控基础	(105)
第一节 基因导论	(105)
第二节 基因表达的导论	(110)
第三节 基因表达调控的生物学意义	(112)
第四节 基因表达调控的基本原理	(113)
第二章 原核生物的基因表达调控	(124)
第一节 概述	(124)
第二节 原核基因调控机制	(125)
第三节 乳糖操纵子的表达调控	(127)

第四节	色氨酸操纵元	(130)
第五节	其他操纵子	(132)
第六节	转录后水平调控	(134)
第三章	真核生物的基因表达调控	(136)
第一节	真核生物基因表达与调控的特点	(136)
第二节	真核生物 DNA 水平上的基因表达调控	(143)
第三节	真核基因转录水平的调控	(150)
第四节	真核基因转录后加工水平的调控	(159)
第五节	真核基因翻译和翻译后水平的调控	(168)
第六节	真核生物与原核生物基因表达调控的异同	(180)

第四篇 动脉粥样硬化表观遗传学

第一章	表观遗传学概述及其分子基础	(184)
第一节	表观遗传学概述	(184)
第二节	表观遗传学改变的分子基础	(191)
第二章	动脉粥样硬化表观遗传学	(265)
第三章	动脉粥样硬化相关疾病表观遗传学	(297)
第一节	心血管疾病表观遗传学研究进展	(297)
第二节	表观遗传学与高血压	(311)
第三节	表观遗传学与心力衰竭	(320)
第四节	表观遗传学与糖尿病	(329)
第五节	表观遗传学与代谢综合征	(337)
第六节	表观遗传学与高同型半胱氨酸血症	(338)
第七节	表观遗传学治疗及发展方向	(342)

第五篇 心血管研究常用实验技术

第一章	心血管研究常用动物模型的制备	(352)
第一节	大鼠离体心脏缺血-再灌注损伤模型的制备	(352)
第二节	兔腹主动脉血管内皮球囊损伤模型的建立及评估	(353)
第三节	心肌肥大模型制备	(354)
第四节	妊娠高血压模型制备	(356)
第五节	心脏缺血-再灌注损伤模型制备(在体)	(358)
第二章	细胞培养技术	(360)
第一节	概述	(360)
第二节	细胞培养的基本技术	(360)
第三节	细胞培养的操作步骤	(362)
第四节	常见细胞培养实例	(366)
第五节	培养细胞的常规观察	(369)
第六节	MTT 比色法检测细胞活率	(369)
第三章	细胞周期的检测	(371)
第四章	基因重组与 RNA 干扰	(373)
第一节	基因重组	(373)

第二节 RNA 干扰	(377)
第三节 转染技术	(379)
第五章 启动子活性分析	(389)
第一节 启动子介绍	(389)
第二节 启动子分析常用技术	(389)
第三节 启动子活性分析实例	(390)
第六章 PCR 技术	(395)
第一节 逆转录 PCR	(395)
第二节 荧光 PCR	(397)
第七章 蛋白样品的制备	(400)
第一节 组织匀浆	(400)
第二节 自由基检测	(402)
第八章 蛋白含量检测	(404)
第一节 蛋白免疫印迹	(404)
第二节 酶联免疫吸附试验	(409)
第三节 放射免疫法	(411)
第四节 免疫组织化学技术	(415)
第九章 高效液相色谱技术	(419)
第十章 DNA 的提取	(430)
第一节 动物基因组 DNA 提取	(430)
第二节 细菌 DNA 提取	(432)
第三节 质粒 DNA 提取	(433)
第四节 DNA 浓度和纯度测定	(436)
第十一章 DNA 甲基化修饰	(438)
第十二章 miRNA 的检测	(441)
参考文献	(443)

第一篇 血管生理基础

第一章 血管结构及功能

第一节 血管内皮细胞

一、结 构

1. 共同结构 扁平的鳞状上皮,呈单层、纵向排列,与血流方向一致。细胞间有10~20nm的缝隙,呈紧密连接、缝隙连接。胞质中含有丰富的吞饮小泡,可双向转运物质。WeibelPalade(W-P)小体,长约 $3\mu\text{m}$,宽 $0.1\sim 0.3\mu\text{m}$,杆状,外包被单位膜,能够合成、储存Ⅷ因子相关抗原,是内皮细胞特有结构。其间含有可以参与调节细胞间隙大小的微丝,而细胞间隙的大小与血管壁的通透性有关(图1-1-1,图1-1-2)。



图1-1-1 电镜下内皮细胞的结构($\times 19000$)

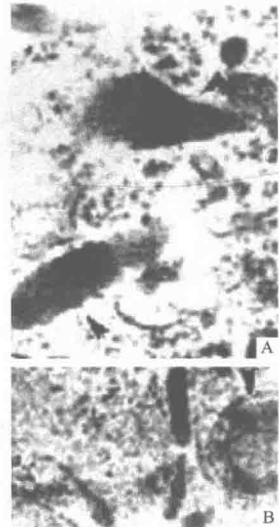


图1-1-2 人脐静脉内皮细胞W-P小体纵横切面电镜
(A. $\times 300000$; B. $\times 170000$)

2. 毛细血管的分类 如图1-1-3,图1-1-4所示。

(1) 有孔毛细血管:不含核的内皮细胞很薄,有 $60\sim 80\text{nm}$ 的小孔,其中有的含隔膜。例如胃黏膜、内分泌腺、肾小球等组织中的毛细血管。

(2) 连续毛细血管:整个毛细血管的基膜完整,属于紧密连接(tight junction)。例如肌肉、肺

组织、结缔组织、中枢神经系统等组织中的毛细血管。

(3) 血窦: 毛细血管的基膜不连续, 属于间隙连接 (gap), 例如肝组织、脾组织等组织中的毛细血管。

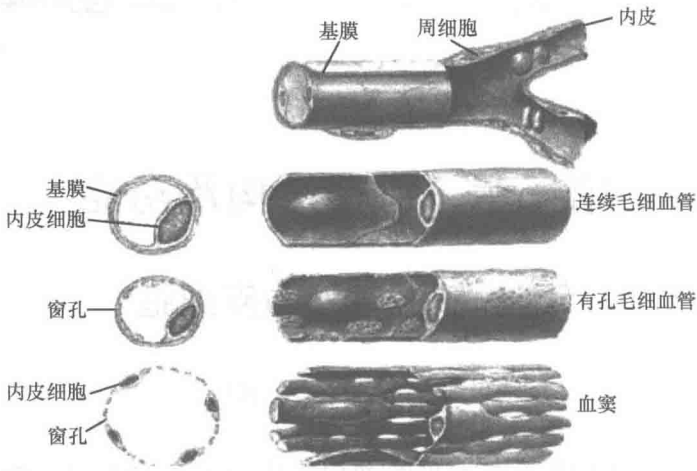


图 1-1-3 毛细血管模式图

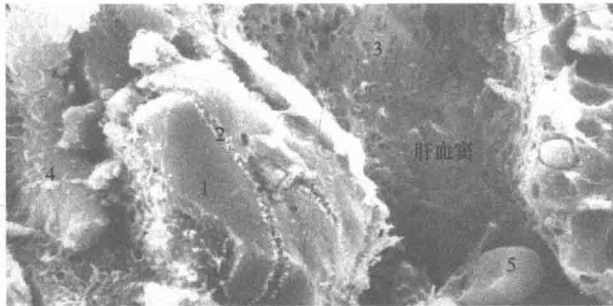


图 1-1-4 肝血窦的扫描电镜图

二、功 能

(一) 参与血管内外的物质交换

1. 通过血管内皮细胞物质交换的方式 使脂溶性物质可自由透过内皮细胞及其间隙, 水溶性小分子物质可通过细胞间隙及内皮细胞上的小孔进行滤过, 而大分子物质则是经吞饮小泡在细胞间隙的主动转运 (图 1-1-5)。

2. 血管内皮细胞物质交换的调节 如图 1-1-6 所示。

(1) 可以增加通透性的因子: 炎症介质, 如组胺、5-HT、LTs、PAF、激肽等; 氧自由基, 因内皮细胞富含黄嘌呤脱氢酶, 可使细胞 Ca^{2+} 升高, 微丝收缩, 骨架改变, 细胞间隙增大; 鱼精蛋白、阳离子蛋白均可破坏电荷屏障。

(2) 可以降低通透性的因子: 糖皮质激素、ADH、CA 等, 可拮抗通透性升高因子、稳定内皮细胞骨架; 肝素、血管通透性调节蛋白等可保护内皮细胞的电荷屏障。

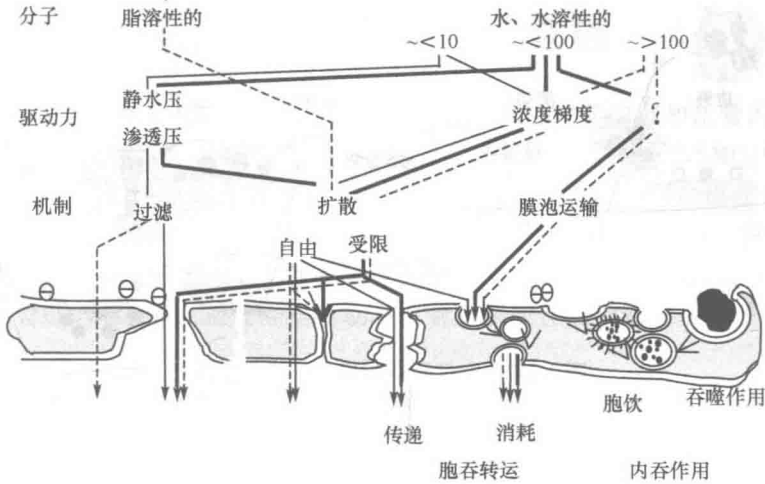


图 1-1-5 不同物质通过血管内皮的方式

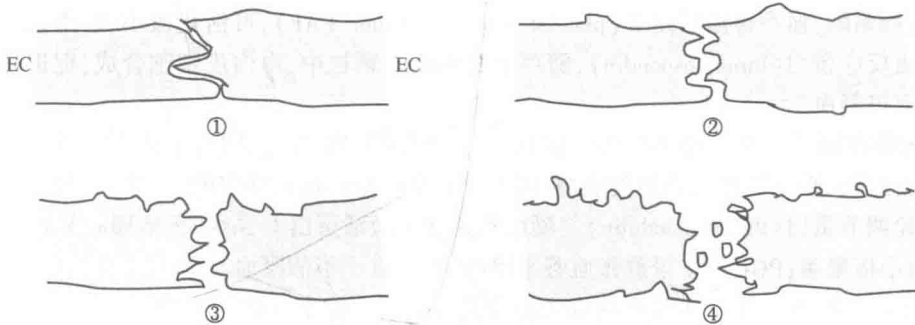


图 1-1-6 血管内皮细胞间隙变化示意图

(二) 调节血细胞与内皮细胞的黏附

1. 血小板的黏附 参与内皮细胞抗血小板的黏附作用。激活后的内皮细胞介导血小板的黏附功能,可表达 selectin、VCAM、ICAM 等。其中血小板黏附分子有 I b、II b、III a、IV b、V 等,主要为 I b 和 II b/III a 复合体;基质黏附分子有胶原、纤维连接蛋白 (fibronectin, FN)、纤维蛋白原、vitronectin、vWF (FVIII) 等。

2. 白细胞的黏附 可激活其表达的白细胞黏附分子有整合素 (integrin, CD11/CD18)、选择素-L (L-selectin)、TNF、PAF、LTB₄、Phorbol ester 等;内皮细胞黏附分子免疫球蛋白超家族 (super-immunoglobulin family, ICAM-I, ICAM-II)、E-selectin 等,都可以介导白细胞向血管外的迁移 (图 1-1-7)。

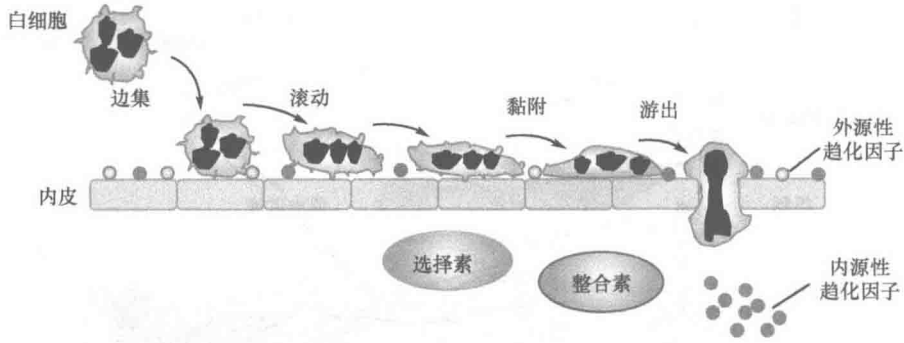


图 1-1-7 白细胞黏附级联反应示意图

(三) 调节凝血-纤溶平衡

1. 促凝血因子 vWF -VIII 因子相关抗原, 储存于血小板中, 由内皮细胞合成, 促进血小板与内皮细胞的黏附; 血小板激活因子 (platelet activating factor, PAF), 可活化血小板, 增强血管通透性; 血小板反应蛋白 (thrombospondin), 储存于血小板 α 颗粒中, 由内皮细胞合成, 促进血小板黏附聚集, 促进凝血。

2. 抗凝血因子 蛋白聚糖-硫酸乙酰肝素, 能够增强 AT-III 的活性, 增强内皮细胞表面的负电荷; 抗凝血酶-III (AT-III), 抑制凝血酶、因子 Xa、XIIa、XIa、IXa、纤溶酶、尿激酶、激肽释放酶的活性; 血栓调节蛋白 (thrombomodulin) 与凝血酶结合可激活蛋白 C 系统, 灭活 VIIIa、Va 的活性, 从而抑制血小板聚集; PGI_2 、NO 可舒张血管平滑肌, 抑制血小板的凝血。

3. 纤溶激活物 t-PA, 主要由内皮细胞合成; u-PA, 主要由肾脏合成, 亦能由内皮细胞合成。

4. 纤溶激活物抑制物 (PAI) 由内皮细胞合成, 可抑制 PA 的活性。

(四) 调节血管运动功能

1. 舒张血管的物质 PGI_2 , 通过 cAMP 途径抑制血小板聚集, 主要由内皮细胞合成, 舒张血管平滑肌、抑制 PDGF 释放; NO、EDRF, 通过 cGMP 途径使 $[Ca^{2+}]_i$ 下降, 舒张血管平滑肌, 抑制血小板聚集等。

2. 收缩血管的物质 ET-1、内皮素, 主要由内皮细胞合成, 通过 IP_3 和 DAG 途径升高 $[Ca^{2+}]_i$, 收缩血管平滑肌; ET-1 可激活 c-myc、c-fos, 促进平滑肌细胞的增殖。

(五) 调节血管平滑肌的增殖

1. 促增殖类因子 PDGF (platelet derived growth factor)、TGF (transforming growth factor)、FGF (fibroblastic growth factor)、ET (endothelin)、Ag II (angiotension)、NPY (neuropeptide-Y)。

2. 抑制增殖类因子 CGRP (calcitonin gene related peptide), 主要由血管壁的肽能神经末梢释放; PGI_2 、NO、硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (heparin sulfate proteoglycans)。

(六) 对生物活性物质的摄取、转换、灭活功能

Ag I 向 Ag II 转换由血管紧张素转换酶催化完成; catecholamine、5-HT 由单胺氧化酶、儿茶酚胺甲基转移酶灭活; 脂类活性物质 PGs、PAF、LTs 等亦可被内皮细胞摄取、灭活。

第二节 血管平滑肌细胞

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)决定血管构型和血管的活性,是血管壁的主要细胞成分。不同状态、不同部位下血管构型不同,毛细血管缺乏 VSMC,中动脉有丰富的 VSMC,大动脉富含弹力纤维基质, VSMC 相对较少。某些病理情况下,会出现血管壁的重构(vascular remodeling),主要由 VSMC 的变化形成,如动脉粥样硬化、高血压、肺动脉高压等。

血管活性的主要构成元素即为血管的舒缩活动,实即 VSMC 的收缩与舒张; VSMC 及其所分泌的基质决定血管壁的顺应性。血管舒缩活动及血管壁顺应性的异常主要源于 VSMC 的结构与功能的改变。

一、血管平滑肌细胞的结构特征

血管平滑肌细胞有两个基本表型:合成表型和收缩表型。

(一) 合成表型

见于胚胎期、新生儿期及某些病理状态下。主要以合成、分泌细胞外基质成分为主。细胞体积大而不规则,核糖体丰富,核浆比例大,核大且呈异染性,高尔基复合体发达,粗面内质网腔扩张,肌丝(特别是粗肌丝,myosin)较少(图 1-1-8)。

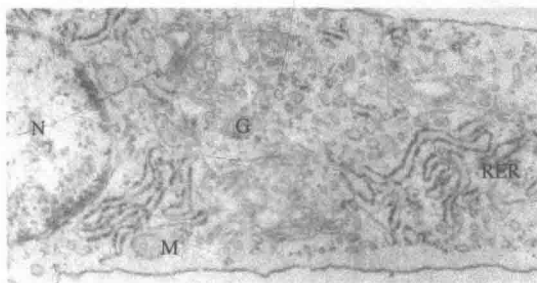


图 1-1-8 合成表型的血管平滑肌细胞

(二) 收缩表型

仅分布于核周区域,在正常成人体内主要以收缩为主,皆为收缩表型。细胞体积缩小,呈纺锤形;核缩小且呈致密杆状;核浆比例减小,粗面内质网、高尔基复合体缩小,肌丝明显增多(图 1-1-9)。

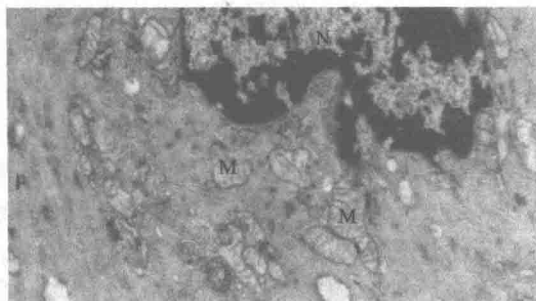


图 1-1-9 收缩表型的血管平滑肌细胞

(三) 基本构成

1. **细肌丝** 主要成分为 actin, 收缩表型以 α -actin 为主, 合成表型以 β -actin 为主。调节成分包括 filamin(细丝蛋白)、tropomyosin(原肌球蛋白)、钙调素, troponin(肌钙蛋白), 其肌钙蛋白不含 TnC 亚基, TnC 亚基的作用被钙调素取代。

2. **中间丝** 收缩表型含 desmin 和 vimentin, 合成表型以 vimentin 为主。构成细胞骨架, 收缩时可传导张力。

3. **粗肌丝** 主要成分为 myosin, 心肌细胞粗肌丝之比为 1 : 6; 而平滑肌为 1 : (12 ~ 30)。

4. **密体和密斑** 细肌丝的附着点, 电子致密小体。密斑位于肌膜内面, 密体位于胞质内。相邻的密体间由中间丝连接, 为中间丝和细肌丝的共同附着点, 相当于横纹肌的 Z 线。

5. **小凹(caveola)** 肌膜表面的凹陷, 数量众多, 但不深, 功能相当于横纹肌的横小管(T管), 肌浆网不发达(图 1-1-10, 图 1-1-11)。

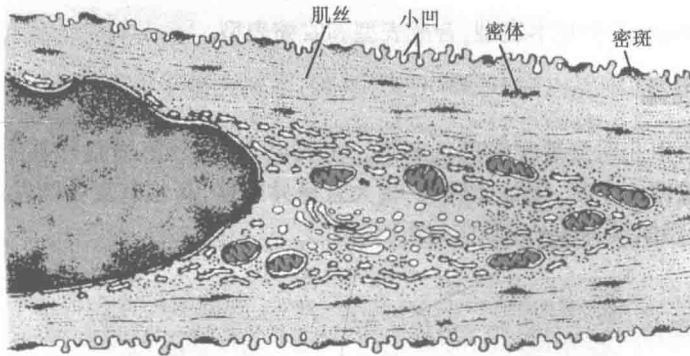


图 1-1-10 血管平滑肌细胞的基本构成

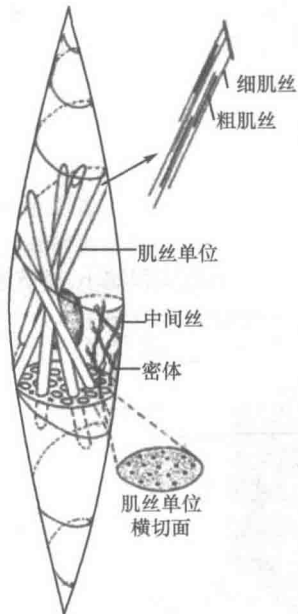


图 1-1-11 血管平滑肌细胞纤维的超微结构示意图

二、血管平滑肌细胞的功能特征

(一) 收缩功能

平滑肌肌丝附着于胞膜的密斑上, 呈螺旋形排列, 长轴与细胞长轴平行, 但有一定的倾斜度。细肌丝可沿粗肌丝的全长滑动, 粗肌丝没有 M 线, 因此, 粗、细肌丝的重叠范围大。平滑肌相邻横桥的摆动方向相反, 使相邻细肌丝的滑动方向相对而行(而心肌相邻横桥的摆动方向相同), 且肌纤维呈螺旋形扭曲变短。如图 1-1-12 所示。

1. VSMC 收缩机制

(1) **平滑肌收缩**: 细胞内 Ca^{2+} 上升至 10^{-6} mol/L 后与钙调蛋白结合, 激活肌球蛋白轻链激酶(myosin light-chain kinase, MLCK), 使得肌球蛋白头部轻链磷酸化, 磷酸化的肌球蛋白促进肌球蛋白与肌动蛋白结合, 激活 Mg^{2+} -ATPase 进而分解 ATP 释能使横桥滑动, 肌肉收缩。

(2) **平滑肌松弛**: 肌质网的钙泵; 胞膜钙泵; 胞膜 Na^{+} -

Ca²⁺交换;线粒体摄钙。钙泵被激活的钙调蛋白启动,使 Ca²⁺浓度下降,钙调蛋白与肌球蛋白轻链激酶脱离,使肌球蛋白轻链激酶失活导致肌球蛋白与肌动蛋白结合脱离,结果引起平滑肌细胞松弛。

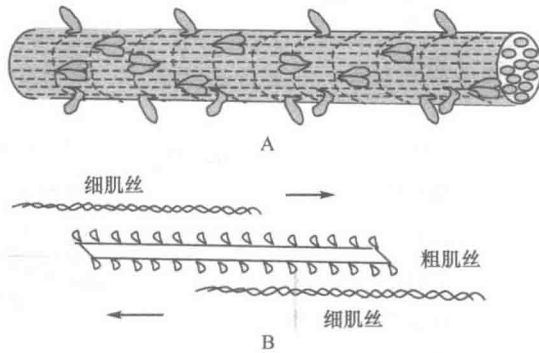


图 1-1-12 血管平滑肌细胞纤维的超微结构模式图

- A. 粗肌丝表面横桥排列成行,相邻两行横桥划动方向相反;
B. 粗肌丝的两行横桥牵拉细肌丝,方向却相反

NO、心房肽激活可溶性鸟苷酸环化酶,使得第二信使 cGMP 浓度增加,激活肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light-chain phosphatase, MLCP),导致肌球蛋白轻链脱磷酸,引起平滑肌松弛;同时 cGMP 浓度增加还可以激活蛋白激酶 G(PKG),激活 L 型钙通道(抑制钙通道,阻碍钙内流)引起平滑肌松弛。

2. 兴奋-收缩耦联

(1) 电-机械耦联:细胞膜上存在电压门控 Ca²⁺通道,这类通道有 L 型及 T 型。L 型电导较高,在膜去极化状态下有持续的钙内流,对钙通道阻断剂异搏定等敏感;T 型电导较低,失活较快,作用不大。

(2) 药理-机械耦联:其主要机制是由于肌浆网释放钙,其钙释放通道有 RyR(ryanodine receptor)通道:L 型钙通道主要位于胞膜与肌质网连接处,即紧邻 RyR 通道,引起钙诱导的钙释放(CICR),是心肌细胞的主要钙来源;对 VSMC 作用不大,但对膀胱平滑肌(phasic smooth muscle)有较大作用。

IP₃ 转导的肌浆网 Ca²⁺释放:激动剂(Ag II, 儿茶酚胺等体液因子)与相应的受体结合,激活 G 蛋白偶联受体,从而活化磷脂酶 C。经 PIP₂-DG-IP₃ 转导通路上的 IP₃ 受体释放到胞浆中。

(3) 牵拉引起的平滑肌收缩:牵拉使得平滑肌细胞出现非选择性的内向离子流,包括 K⁺、Na⁺、Ca²⁺,使膜去极化引起 L 型钙通道开放,引起细胞外钙内流;进而激活内钙释放,平滑肌收缩。

3. 对收缩调节装置上 Ca²⁺敏感性的调节

(1) G 蛋白介导的平滑肌收缩敏感性的调节:Ca²⁺的敏感性可依 VSMC 收缩调节装置发生变化。兴奋剂(如儿茶酚胺、PGs)使其对 Ca²⁺增敏,即在同等胞浆游离 Ca²⁺浓度的情况下,对 Ca²⁺增敏,可增大收缩力。此作用经 G 蛋白介导。

(2) PKC 介导的平滑肌收缩敏感性的调节:DG、IP₃通路产生的 DG 激活 PKC,使 Caldesmon、desmin 磷酸化,致使平滑肌维持持续的张力。

Caldesmon:钙调素结合蛋白,低 Ca²⁺时,与肌动蛋白结合,阻碍收缩,并抑制肌球蛋白头部的 ATP 酶;高 Ca²⁺时,与钙调蛋白结合,解除对肌动蛋白的抑制,激活肌球蛋白头部的 ATP 酶。

(3) Leintonin:钙敏感调节蛋白,与 Ca²⁺结合可直接激活肌动-球蛋白的结合和收缩。同时

还可促进肌球蛋白头部 ATP 酶的活化(表 1-1-1)。

表 1-1-1 心肌细胞与血管平滑肌细胞的异同

	心肌细胞	血管平滑肌细胞
粗、细肌丝比	1 : 6	1 : (12 ~ 30)
横向相邻横桥摆动方向	相同	相反
肌小节	有	无
Ca ²⁺ 作用物	TnC	钙调蛋白
胞膜内陷结构	横小管	小凹
肌质网	发达	不发达
收缩时钙浓度的生成	CICR(主)钙内流(次)	IP ₃ 通道(有缩血管物质时)钙内流 (无缩血管物质时)
肌浆网主要钙释放通道	RyR 通道	IP ₃ 通道
肌源性作用(牵拉)的调节	无	有

综上所述,平滑肌的收缩过程远比骨骼肌、心肌复杂得多。其 Ca²⁺敏感蛋白是钙调蛋白,而不是肌钙蛋白,并需经肌球蛋白轻链磷酸化等过程,因此收缩过程相对缓慢。除受电刺激影响外,还受多种药物、激素或信使分子的影响。牵拉亦可引起平滑肌收缩。

(二) 合成分泌功能

血管平滑肌细胞可合成胶原、蛋白聚糖、弹力蛋白等胞外基质,胶原以 I 型为主,同时伴少量 III、IV 型胶原。初生时,动脉弹力膜和胶原纤维很少,随着增龄,弹力膜和胶原纤维增多、增厚,而平滑肌细胞则由合成表型转变为收缩表型。

但平滑肌细胞的环境发生改变后,又可重新转变为合成表型。

1. 血管平滑肌细胞的肥大 VSMC 的肥大表现为 SMC 体积增大,中膜增厚,但仍为收缩表型。其 DNA 为四倍体(如在高血压),可能是细胞周期受阻于 G₂ 期前 S 期后, DNA 已倍增,但无分裂。

2. 血管平滑肌细胞的增生 VSMC 转变为合成表型后,收缩能力逐渐减弱甚至丧失,但却具有增生分裂能力,细胞总 RNA 增多,蛋白质合成明显增强,并向内膜下迁移,同时细胞外基质大量分泌,使内膜增厚(如动脉粥样硬化)。

3. 血管平滑肌细胞向合成表型转化的促进因素 ①生长因子:CSF、PDGF、IL-等;②PGI₂、PGE₁、LTC₄、LTD₄、LTB₄;③内皮的损伤;④缺氧;⑤炎症-免疫反应;⑥某些基质成分:如 fibronectin(纤维连接素)、thrombospondin(血栓黏合素);⑦c-myc、c-fos 的高表达;⑧聚胺、腐胺、精胺、精脒等,由 L-鸟氨酸转变来的小分子有机阳离子,参与核酸的稳定、蛋白质生物合成等。

第三节 单核细胞

一、结 构

单核细胞(monocyte)来源于骨髓造血干细胞,并在骨髓中发育。当它进入血流时仍然是尚未成熟的细胞,在血液中停留 2~3 天后迁移至周围组织中,细胞体积继续增大,直径可达 50~80 μm,细胞内所含的溶酶体颗粒和线粒体的数目也逐渐增多,成为成熟的细胞。固定在组织中的单核细胞称为组织巨噬细胞,经常存在于淋巴结、肺泡壁、骨髓、肝和脾等器官,数量较多。

单核细胞约占3%，胞质丰富，体积大，染色呈灰蓝色，胞核常呈肾形、马蹄形，细胞形状不一，有多角形、圆形。

二、功 能

单核细胞是机体防御系统的一个重要组成部分。通过吞噬和产生抗体等方式来抵御、消灭入侵的病原微生物。

吞噬作用是生物体最古老的，也是最基本的防卫机制之一。对于要消灭的对象无特异性，在免疫学中称之为非特异性免疫作用。中性粒细胞和单核细胞的吞噬作用很强，而嗜酸性粒细胞虽然游走性很强，但吞噬能力较弱。

单核细胞可通过毛细血管的内皮间隙，从血管内渗出，在组织间隙中游走。它们吞噬侵入的病毒、细菌、寄生虫等病原体和一些坏死的组织碎片。一般认为，单核细胞因具有趋化性，能向异物处聚集，并将其吞噬。由于细菌体或死亡的细胞所产生的化学刺激，诱发单核细胞向该处移动。组织发炎时产生一种活性多肽，也是单核细胞游动的诱发物质之一。

单核细胞内含有更多的非特异性脂酶，与其他血细胞比较，具有更强的吞噬作用。中性粒细胞内的颗粒为溶酶体，内含多种水解酶，能将其摄取的病原体或其他异物消化。一般一个白细胞处理5~25个细菌后，本身也就死亡。死亡的白细胞集团和细菌分解产物构成脓液。单核细胞被激活后和组织巨噬细胞能生成并释放多种细胞因子、干扰素和白细胞介素，参与机体防卫机制，同时产生一些能促进平滑肌细胞和内皮细胞生长的因子。单核细胞在炎症周围能进行细胞分裂，并包围异物。其吞噬对象主要为进入细胞内的致病物，如病毒、细菌和疟原虫等。巨噬细胞还参与激活淋巴细胞的特异免疫功能。此外，还具有清除衰老与损伤细胞，识别和杀伤肿瘤细胞的作用。

单核细胞是血液中的最大的血细胞。具有明显的变形运动，目前认为它是巨噬细胞的前身，能吞噬、清除衰老、受伤的细胞及其碎片。此外，还参与免疫反应，在吞噬抗原后将所携带的抗原决定簇转交给淋巴细胞，诱导淋巴细胞的特异性免疫反应。单核细胞也是对付细胞内致病细菌和寄生虫的主要细胞防卫系统，还具有识别和杀伤肿瘤细胞的能力。淋巴细胞是具有特异性免疫功能的细胞。T淋巴细胞主要参与细胞免疫反应，而B淋巴细胞参与体液免疫反应。

第四节 血管壁基质

血管壁基质的主要化学成分：糖蛋白(glycoprotein)，主要成分为蛋白，其上结合少量短链多糖；蛋白多糖(proteoglycan)，核心为蛋白，核心外多糖链长且有特异性，如透明质酸、硫酸肝素、硫酸软骨素、硫酸多糖等，多糖链皆属于氨基多糖。

血管壁基质可分为两大部分：血管内皮基底膜和其他结缔组织。其他结缔组织变化较大，但基底膜从大血管到微血管无明显差别。

一、基底膜的特有成分

1. 胶原(collagen) IV 是基底膜的主要成分，其中胶原IV是其特有成分，大血管壁还含有I、III、V、VI型胶原。

2. 网蛋白(entactin) 网蛋白含大量片层结构(>50%)，很少的 α -螺旋结构，与片蛋白呈1:1结合，亦含RGD序列，参与内皮细胞的附着。

3. **片蛋白(laminin)** 是基底膜中最丰富的糖蛋白,其上有内皮细胞的识别位点。血管新生时,内皮细胞要形成管状,必须在片蛋白的基础上。其结构中的 RGD 序列,为内皮附着、识别位点;片蛋白的某些序列还可诱导恶性细胞分泌胶原IV。

4. **串珠素(perlecan)** 又名硫酸肝素蛋白多糖,硫酸肝素带大量负电荷,面向内皮细胞面,在基底膜表面形成一道负电荷屏障。且 bFGF(碱性纤维母细胞生长因子)也与肝素结合,在基底膜处形成高浓度的 bFGF。

二、血管壁的其他结缔组织成分

1. **纤维连接蛋白(fibronectin, FN)** FN 为分子量约 500000 的糖蛋白,其在血管壁基质中呈不可溶状态,在血浆中存在由肝脏分泌的 FN 以可溶状态存在。其可与肝素、胶原、金葡菌等结合,亦存在细胞的附着结构。在损伤、修复过程中, FN 合成大幅度增加。

2. **血栓黏合素(thrombospondin, TSP)** 是一种三聚糖蛋白,又名血栓固定蛋白、血小板凝血酶敏感蛋白。可由血小板、平滑肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞等多种细胞分泌,并具有多种功能,如参与血小板的聚集,促进纤溶,炎细胞的趋化、黏附,调节某些蛋白质因子的活性进而影响细胞的生长和血管的新生。

3. **弹力纤维(elastic fiber)** 弹力纤维的主要成分为弹性蛋白,弹性蛋白疏水性极强,且化学性质极稳定,很难溶解,其寿命几乎与机体寿命同步。弹力纤维的另一成分为微丝,包括微丝蛋白和微丝结合糖蛋白,幼年时微丝较多,成年后只在弹力纤维外周存在稀疏的微丝。

4. **蛋白多糖** 是影响组织顺应性的主要成分,又名酸性黏多糖,包括透明质酸、硫酸肝素、硫酸软骨素、硫酸角糖,巨大的糖链上都含有大量的硫酸根和羧基,形成强大的阴离子负电荷群,具有强大的吸水性,成为填充蛋白纤维网眼的主要基质。

透明质酸与其蛋白核心可形成巨大的聚合物,从而使组织可承受强大的张力(如主动脉壁)。透明质酸不含硫酸根,但分子量可高达百万以上,它使组织饱满、牢固;其吸水性可影响组织的水平衡;并可影响细胞的附着、迁移等,巨噬细胞、内皮细胞都有透明质酸的受体。

三、血管壁基质的主要功能

1. **依托、屏障功能** 平滑肌细胞、内皮细胞的附着依托。血管内外液体交换的屏障,典型表现在肾小球基底膜对肾小球滤过功能的影响,当基质中负电荷减少时,尿中蛋白质增多。

2. **对内皮细胞生长的影响** 内皮损伤后的修复性新生有两种方式:①损伤周围区的内皮细胞迁移、扩展覆盖面,将内皮损伤面覆盖,基本不存在内皮细胞的数量增生;②内皮细胞的数量增生,并有新毛细血管形成。

无论哪种方式都需要有基底膜的形成或支持,且基底膜上还可吸附大量生长因子(如 bFGF),促进内皮和血管的新生。

3. **对平滑肌细胞生长的影响** 平滑肌细胞可分泌平滑肌基质,包括胶原IV、片蛋白、串珠素,抑制平滑肌细胞向合成表型转化。纤维连接蛋白可刺激平滑肌细胞向合成表型转化,受炎症刺激时,内皮细胞、平滑肌细胞皆可分泌纤维连接蛋白。