

脆性斑块的 基础与临床

主编 严金川



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

脆性斑块的 基础与临床

主 编 严金川

副主编 王中群 袁 伟 王昭军

编 者 (以姓氏笔画为序)

王中群 王昭军 毛 郁 仲 威 刘 阳
严金川 陈 瑶 袁 伟 徐丽华 殷云杰
翁嘉懿 梁 潇 逯朝阳

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

脆性斑块的基础与临床 / 严金川主编. —北京: 人民卫生出版社, 2015

ISBN 978-7-117-21031-7

I. ①脆… II. ①严… III. ①动脉粥样硬化-诊疗
IV. ①R543.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 181959 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

脆性斑块的基础与临床

主 编: 严金川

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京盛通印刷股份有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 24

字 数: 584 千字

版 次: 2015 年 9 月第 1 版 2015 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-21031-7/R · 21032

定 价: 82.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

前言

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是严重影响人类健康与生命的“头号杀手”。近年来,随着动脉粥样硬化基础与临床研究的进展,人们越来越清晰地认识到 AS 斑块狭窄程度并不是衡量急性心、脑血管事件发生的关键。全球每年急性心血管事件的 70% 死因是动脉粥样硬化斑块破裂及随后发生的血栓形成与心肌坏死,其中只有 20% 是有严重狭窄的斑块,50% 是非严重狭窄性的斑块,其余 30% 无斑块破裂,其病因可能是内皮脱落、钙化结节及其他未知因素。发生急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS, 简称急性冠脉综合征)(包括不稳定型心绞痛、ST 段抬高型心肌梗死、非 ST 段抬高型心肌梗死)的危险主要取决于斑块的内在组成成分及力学性质而非取决于管腔狭窄的严重程度。为此,多位专家建议,将导致急性心、脑血管事件的动脉粥样硬化斑块统一命名为脆性斑块(或易损斑块, vulnerable plaque)。脆性斑块的破裂、血小板聚集、血栓形成并导致冠脉闭塞是 ACS 的发病关键机制,其中 AS 脆性斑块的破裂又被视为 ACS 发生中最重要的始动环节。随着研究的进一步深入,目前脆性斑块比较公认的定义是指具有破裂倾向、易于形成血栓和(或)进展迅速的危险斑块。

江苏大学附属医院心血管内科创建于 1982 年,是镇江市最早设立的心血管专科,1995 年成为镇江市临床重点专科,2009 年成为江苏省临床重点专科,2011 年成为国家临床重点专科、江苏省医学创新团队,是镇江市唯一获得国家药物临床验证机构的心血管内科。心血管内科是国家卫计委冠脉诊疗培训基地,江苏省转化医学基地。在以编者为核心的江苏省医学创新团队(拥有 2 名博士生导师和 8 名硕士生导师)的努力下,凝练了三个心血管疾病的相关研究方向:①急性冠脉综合征区域化协同救治体系的建立及相关血清标记物的筛选;②动脉粥样硬化脆性斑块的发生机制与逆转策略;③血管钙化的进展与消退机制。十余年来我们在冠心病尤其是脆性斑块的血清学标记物以及脆性斑块逆转消退方面进行了卓有成效的工作,先后获取国家自然科学基金 8 项、省市级在研科研项目 20 余项,发表 SCI 论文 50 余篇,荣获包括中华医学奖在内的省市级科技进步奖 10 余项、国家发明专利一项。回首往昔,总结成果,历时一年有余,我们编撰了这本《脆性斑块的基础与临床》。内容涉及脆性斑块的病理学与病理生理学,血清学标记物,脆性斑块模型

构建、识别、稳定与消退, 临床治疗策略进展, 动脉粥样硬化相关研究新进展, 区域化协同救治等共计三篇二十一章, 希冀为奋战在脆性斑块研究领域的医学同道传递一份属于自己的认知。

本书能如期出版, 要衷心感谢江苏大学及江苏大学附属医院领导的关心支持, 同时感谢国家自然科学基金(81370408、81370409、81170279)、国家临床重点专科建设项目(2011)、中国医师协会阳光心血管研究基金(SCRFCMDA201303)、江苏省自然基金(BK20131246、BK2011486)、江苏省 333 二层次项目(BRA2014162)、江苏省六大人才高峰项目(WS-074)、江苏省卫生厅项目(Q201308)、江苏省医学创新团队基金(LJ201116)、镇江市社会发展项目(SH2013023、SH2013024、SH2010012)、镇江市心血管病学重点实验室基金(SS2012002)给予的大力资助, 在此表示最诚挚的谢意。

由于编著者水平有限, 书中错误及不妥之处恳请学术界前辈和同行给予批评指正。

严金川
2015 年 6 月

目 录

第一篇 脆性斑块形成的基础概念

第一章 血管内皮细胞 / 内皮祖细胞与动脉粥样硬化	2
第一节 动脉粥样硬化与血管内皮细胞	2
第二节 内皮祖细胞与动脉粥样硬化	12
第二章 动脉粥样硬化与遗传因素	16
第一节 动脉粥样硬化的遗传易感因素和非易感因素	16
第二节 动脉粥样硬化的表观遗传学	24
第三节 动脉粥样硬化遗传学的临床应用	30
第三章 脆性斑块的病理学与病理生理学	33
第一节 脆性斑块的病理学	33
第二节 脆性斑块形成及演进的病理生理学机制	39
第四章 动脉粥样硬化脆性(或易损)斑块的模型构建	49
第一节 脆性斑块模型的构建	50
第二节 模型构建中存在的问题与思考	63
第五章 脆性斑块的识别和鉴定	64
第一节 脆性斑块的定义	64
第二节 脆性斑块的识别	64
第六章 脆性斑块的稳定与消退	77
第一节 脆性斑块的稳定策略	77
第二节 斑块消退的若干进展	83
第七章 动脉粥样硬化研究的若干进展	90
第一节 动脉粥样硬化危险因素研究进展	90
第二节 免疫应答与动脉粥样硬化	93
第三节 CRP 与动脉粥样硬化	96
第四节 Notch 信号与动脉粥样硬化	97
第五节 动脉粥样硬化病变位点特异性与血流动力学	100

第六节 吞噬	102
第七节 动脉粥样硬化的治疗新进展	105
 第二篇 脆性斑块形成的机制理论 (AS 促发脆性斑块形成的因素)	
第八章 炎症共刺激分子 TNF 家族受体 - 配体轴与动脉粥样硬化	112
第一节 CD40-CD40L 受体 - 配体轴与动脉粥样硬化	112
第二节 OX40-OX40L 受体 - 配体轴与动脉粥样硬化	133
第三节 CD137-CD137L 受体 - 配体轴与动脉粥样硬化	151
第九章 亲环素 A 和活化 T 细胞因子促发斑块不稳定	170
第一节 亲环素 A 的简介	170
第二节 NFAT 的简介	177
第三节 动脉粥样硬化脆性斑块进程中的亲环素 A	188
第四节 动脉粥样硬化脆性斑块进程中的 NFATc1	195
第五节 亲环素 A 和活化 T 细胞因子对脆性斑块的影响	198
第六节 CyPA 致动脉粥样硬化的未解之谜	203
第十章 CD147 与动脉粥样硬化	206
第一节 CD147 的分子生物学特征	206
第二节 CD147 分子相关作用蛋白	208
第三节 CD147 与多系统疾病	213
第四节 抗 CD147 相关药物	223
第五节 展望未来	225
第十一章 miRNA 与动脉粥样硬化	226
第一节 miRNA 的生成、功能及细胞间的运输	226
第二节 miRNA 在心血管系统的形成以及血管生理学功能中的作用	229
第三节 miR-145	240
第四节 miRNA 相关的治疗	242
第五节 miRNA 的临床意义	244
第六节 miRNA 的研究现状与展望	244
第十二章 糖基化终末产物与动脉粥样硬化	246
第一节 糖尿病、脆性斑块与糖基化终末产物	246
第二节 糖基化终末产物的形成、代谢及理化特性	248
第三节 糖基化终末产物的检测	251
第四节 糖基化终末产物与动脉粥样硬化	253
第五节 糖基化终末产物与动脉粥样硬化斑块钙化	256
第六节 糖基化终末产物与炎症、氧化应激、信号调控	263
第七节 基于糖基化终末产物的药物研发	268

第十三章	肾素 - 血管紧张素系统与动脉粥样硬化	270
第一节	RAS 在 AS 中存在与活化的证据	270
第二节	RAS 对 AS 演进的影响	272
第三节	抑制 RAS 对 AS 演进的影响	286
第四节	展望与结语	290
第十四章	蛋白激酶 C 与动脉粥样硬化	291

第三篇 脆性斑块形成的临床实践

第十五章	非 ST 段抬高急性冠脉综合征的临床治疗	310
第一节	脆性斑块与急性冠脉综合征	310
第二节	非 ST 段抬高急性冠脉综合征的临床表现	310
第三节	非 ST 段抬高急性冠脉综合征的临床治疗	311
第十六章	ST 段抬高型急性冠脉综合征的临床治疗	315
第一节	概述	315
第二节	ST 段抬高型急性心肌梗死的临床治疗	315
第十七章	进展性稳定型心绞痛的治疗	322
第一节	稳定型心绞痛的临床表现与诊断	322
第二节	稳定型心绞痛的治疗	323
第三节	稳定型心绞痛进展的机制及治疗	324
第十八章	急性冠脉综合征区域化协同救治模式的探讨	325
第十九章	冠脉脆性斑块破裂的经典案例	335
第二十章	脆性斑块的临床治疗	344
第一节	强化他汀类治疗	344
第二节	针对脆性斑块本身的治疗	348
第二十一章	斑块消退和预防的最新治疗方法	352
第一节	消除动脉粥样硬化斑块不是梦	352
第二节	新型干预 AS 斑块进展的探讨	353
第三节	抑制动脉粥样硬化斑块形成的潜在希望	361
参考文献		363

第一篇

脆性斑块形成的基础概念

第一章

血管内皮细胞 / 内皮祖细胞与动脉粥样硬化

血管内皮细胞(ECs)是紧贴血管壁的单层细胞,在血管稳态平衡中有重要作用,易受到炎性细胞和循环因子损害,诱导 ECs 活化和损伤。动脉粥样硬化(AS)与 ECs 之间关系密切,ECs 损伤是 AS 形成的早期始动环节。内皮祖细胞(endothelial progenitor cells,EPCs)又称成血管细胞或血管内皮干细胞,是一种具有高增殖潜能的前体细胞,在一定条件下可诱导分化为成熟的血管内皮细胞。研究发现,EPCs 在生理及病理生理条件下的血管重建过程中发挥重要作用。缺血或血管损伤可动员骨髓中 EPCs 向外周循环迁移、归巢至缺血或血管损伤部位,并分化为成熟的内皮细胞,促进新生血管的形成,从而缓解组织缺血或修复血管损伤。动脉粥样硬化(atherosclerosis,AS)是心血管系统中最常见的疾病。EPCs 的数量减少及功能受损与 AS 的发生、发展密切相关,并可作为心血管疾病的独立危险因子。本章就与动脉粥样硬化密切相关的血管内皮细胞及内皮祖细胞与动脉粥样硬化之间的关系进行论述。

第一节 动脉粥样硬化与血管内皮细胞

一、动脉粥样硬化状态下血管内皮细胞的病理学变化

正常情况下,动脉内皮细胞呈单层扁平鳞状排列,细胞界限清晰,表面可见微绒毛,长轴与血流方向一致;在动脉分支、分叉或拐弯处血流受到阻力,管壁内皮细胞变成多角形,且排列无特别的朝向。在机械、化学、免疫等多种致动脉粥样硬化病理因素(如高血脂、高血糖、高血压、香烟烟雾、雌激素水平低下、内毒素、血流动力学异常等)反复作用下,内皮细胞间连接丢失,通透性增强,甚至出现内皮细胞凋亡及脱落,内膜完整性破坏,大分子物质如低密度脂蛋白(low density lipoprotein,LDL)进入内皮下间隙沉积并氧化进而诱发泡沫细胞形成的一系列连锁反应和恶性循环,最终导致动脉粥样硬化的形成及发展。鉴于篇幅所限,仅从血流动力学异常、氧化低密度脂蛋白、体液免疫、同型半胱氨酸与血管紧张素Ⅱ等几个方面进行如下阐述。

(一) 血流动力学异常与血管内皮细胞损伤

目前普遍认为,低剪应力和长粒子(如脂质)滞留时间是动脉疾病最危险的血流动力学因素。动脉粥样硬化与血流动力学壁面剪应力的高度相关性,引发了“壁面剪应力对内皮细

胞影响”的大规模研究。流体力学的壁面剪应力能从许多方面影响血管壁,其中一个重要的方面就是它对内皮细胞形态和细胞骨架结构的影响。壁面剪应力使原本自由取向、多边形鹅卵状的动脉内皮细胞,趋向于与流动方向一致的排列。正常生理水平的动脉壁面剪应力($15\sim70\text{dyne/cm}^2$)能够减少内皮细胞的翻转,增加内皮细胞排列的致密度,而在低壁面剪应力($0\sim4\text{dyne/cm}^2$)的情况下,内皮细胞的翻转率很高。此时,内皮细胞之间的缝隙将会形成一个可能的通道,使 LDL 进入内皮下间隙。同时,低水平壁面剪应力($<5\text{dyne/cm}^2$)还能够通过激活生物合成酶来增加内皮细胞超氧阴离子的含量,从而增加内皮细胞的黏附作用和动脉粥样硬化的易感性。所以,壁面剪应力可以通过影响内皮细胞的通透性、分子黏附性等一系列功能,从而引起内皮细胞的增生和硬化;另外,除壁面剪应力的大小外,壁面剪应力的方向随时间改变,即交变的壁面剪应力对内皮细胞的结构功能也有较大的影响。

近年来通过对剪应力信号转导的研究表明:内皮细胞腔侧质膜上的分子可能是潜在的机械刺激感受器,这些称为“机械受体”的膜结构主要包括离子通道、G 蛋白连接受体、酪氨酸激酶及整合素家族。其中酪氨酸激酶受体通路的研究已阐明了蛋白-丝氨酸/苏氨酸激酶途径,而离子通道和 G 蛋白连接受体激活后的改变则涉及细胞内 Ca^{2+} 水平的变化。剪应力的改变可导致细胞内 Ca^{2+} 水平的变化,且 Ca^{2+} 浓度(细胞凋亡的启动因素之一)在剪应力作用数十秒内即可见显著增高。由于内源性核酸内切酶为 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 依赖性,因此 Ca^{2+} 浓度的异常增高可能导致该酶被迅速激活并水解 DNA,从而加速内皮细胞的凋亡。

(二) 氧化低密度脂蛋白与血管内皮细胞损伤

基础与临床研究证实,氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)是动脉粥样硬化细胞免疫反应中最主要的自身抗原。血管内皮细胞以 MHC II 类分子限制性方式将抗原呈递给淋巴细胞,并可通过 B7/CD28、CD40/CD40L 等途径提供正性共刺激信号激活 T 淋巴细胞,同时也表达负性共刺激因子限制 T 淋巴细胞过度激活。经受体途径吞噬降解的 oxLDL 片段被巨噬细胞以抗原肽-MHC 分子复合物方式呈递给邻近的 T 细胞和 B 细胞,导致 T 细胞和 B 细胞产生细胞毒性作用、分泌细胞因子以及产生抗体等一系列特异性免疫反应。血管内皮经 oxLDL 刺激后,释放多种黏附分子、趋化因子,致使白细胞滚动、黏附,促发炎症反应而损伤血管内皮细胞——内皮细胞皱缩,细胞连接不清晰,胞质内嗜铬物增加,糖原和三磷酸腺苷减少,胞质空泡变性,进而内皮细胞完整性破坏,内皮屏障作用损伤并丢失。已有的研究还显示,高血压、糖尿病、血脂代谢紊乱时高表达于血管内皮细胞的植物血凝素样氧化低密度脂蛋白受体 1 活化并与 oxLDL 结合促使内皮细胞释放内皮素,可进一步诱发内皮细胞功能紊乱。

此外,作为氧自由基的携带者 oxLDL 还可能通过某些信号通路诱导内皮细胞凋亡并导致内皮功能障碍。综合目前已有研究,oxLDL 可从以下三个通路影响内皮细胞凋亡:①Fas/FasL 途径;②TNF- α 途径;③线粒体细胞色素 C 途径。在以上三条途径中尤以线粒体途径最为重要。当内皮细胞暴露于致毒剂量的 oxLDL 时,细胞色素 C 可经线粒体的转运孔释放到胞质中,进而导致电子传递、氧化磷酸化、ATP 合成中断以及凋亡蛋白酶活化因子 1 构象改变与凋亡酶体复合物的形成。该复合物形成可激活 caspase9,从而启动凋亡蛋白酶级联反应,最终引起 DNA 被切割降解,细胞凋亡。

(三) 体液免疫与血管内皮细胞损伤

体液免疫贯穿于动脉粥样硬化发生发展的全过程,其中抗内皮细胞抗体与补体系统在

血管内皮细胞损伤过程中作用显著。抗内皮细胞抗体(anti-endothelial cell antibodies, AECA)是一组针对血管内皮细胞膜表面构成性抗原的异质性抗体,其组成成分为 IgG、IgA 及 IgM,以 IgM 居多。在多种血管炎性疾病(如动脉粥样硬化、结节性多动脉炎、类风湿性血管炎等)中均有 AECA 的存在。AECA 产生机制还不太明确,可能与各种原因造成的血管内皮细胞膜表面构型改变有关,也可能与血管内皮细胞受损后的功能障碍有关。相关研究显示,AECA 通过对内皮细胞表面抗原的识别与结合以及补体介导的细胞毒作用、抗体依赖细胞介导细胞毒作用而损伤内皮细胞的结构与功能,并进一步增强单核细胞、中性粒细胞与血管内皮细胞的黏附,加重内皮功能的紊乱。

补体系统可在机体局部或全身病理状态下被激活,通过经典途径、旁路途径及血清蛋白甘露糖结合凝集素途径参与机体免疫调节、免疫复合物清理、调理作用和炎症反应。各种补体激活途径中的末端补体成分(C1q 和 C5a 除外)都会形成膜攻击复合体(membrane attack complex, MAC)结合在血管内皮细胞表面发挥激活损伤作用。在动脉粥样硬化状态下,由于单核细胞、中性粒细胞释放大量的炎症介质、氧自由基和蛋白酶等物质,MAC 得以激活并聚集于上述物质的周围,参与炎症反应及对血管内皮细胞的损伤。在正常生理情况下,血管内皮细胞可以通过分泌多种补体调节蛋白及细胞因子来抑制补体系统对血管内皮细胞的损伤。例如,CD59 与 C5b-8 结合可阻断其溶细胞作用及 MAC 的形成、抑制 C5b 的形成或促使其从血管内皮细胞表面脱落来抑制补体系统对血管内皮细胞的损伤。但在动脉粥样硬化病灶血管内皮细胞却缺乏 CD59 的表达,因此也就增强了血管内皮损伤的易感性。

(四) 同型半胱氨酸和血管紧张素Ⅱ与血管内皮细胞损伤

人群调查显示,同型半胱氨酸的轻中度升高可导致内皮依赖性的肱动脉扩张明显下降,口服蛋氨酸负荷所致急性一过性同型半胱氨酸升高也可损害内皮依赖性血管舒张功能。家族性高胆固醇血症患者口服叶酸使其正常水平的血清总同型半胱氨酸水平降低可明显改善受损的内皮功能。整合相关资料发现,同型半胱氨酸主要通过以下几个方面损伤内皮细胞:①损伤内皮细胞的屏障与再生功能。同型半胱氨酸可通过羧基甲基化、膜活性和 P21^{ras} 活性降低,从而在 G₁-S 或其前抑制血管内皮细胞的细胞周期,内皮再生能力降低,内皮层的选择性通透功能障碍,脂蛋白和胆固醇易于在血管壁沉积。②损害内皮依赖性舒张功能。同型半胱氨酸可通过自身氧化产生一系列活性氧中间产物如过氧化氢、超氧阴离子及羟自由基,导致膜脂质过氧化,内皮依赖性一氧化氮(nitric oxide, NO)生成减少;同型半胱氨酸还可引起抗氧化酶活性降低,活性氧清除障碍,NO 更易氧化失活。内皮依赖性 NO 生成减少而灭活增加必然导致 NO 依赖性血管舒张功能受损。③可增加内皮细胞与单核细胞的黏附。④损害内皮抗凝与纤溶功能。同型半胱氨酸抑制凝血酶调节蛋白在内皮细胞表面的表达及活性,从而抑制蛋白 C 的激活,影响对 V_a、VIII_a 和凝血酶的灭活,同时抑制纤溶酶激活物与血管内皮细胞结合而干扰内皮纤溶活性。

血管紧张素Ⅱ(angiotensinⅡ, AngⅡ)可促进血管壁氧化应激水平,诱导内皮细胞凋亡和功能异常,促进脂质过氧化,参与血管损伤与修复过程。AngⅡ通过细胞膜 AT₁、AT₂ 受体及胞内信号转导通路引发细胞各种生物学效应。Northern blot 和 RT-PCR 分析方法已经证实,内皮细胞存在 AT₁ 和 AT₂ 受体。然而目前对内皮细胞 AngⅡ的信号途径所知甚少,实验研究主要集中在 AngⅡ-AT₁ 受体引发的信号转导通路:①激活 MAPK,包括 ERK、JNK 和 p38MAPK,参与内皮细胞的分化与增殖;②激活 NADPH 氧化酶和活性氧信号,增加内皮

细胞氧化应激水平,抑制内皮细胞活力;③激活非受体酪氨酸激酶通路包括 Src 通路、JAK-STAT 通路和 FAK 通路,参与对内皮细胞迁移和运动性的影响;④激活受体酪氨酸激酶通路,抑制清道夫受体启动子活性,降低其在内皮细胞的表达。

二、血管内皮细胞参与动脉粥样硬化的机制与意义

动脉粥样硬化的发生是一个多层次、多因素、多细胞成分相互影响的瀑布式发展过程。血管内皮细胞作为血液与血管壁间的重要屏障,一方面,担负着感受器的功能,通过感受不同的机械和化学刺激来调节血管张力、保持机体稳态;另一方面,当众多致动脉粥样硬化的危险因子作用于内皮细胞使其结构功能和代谢发生异常后,内皮细胞屏障作用丢失并分泌大量的细胞因子、炎症介质等生物活性物质,促进炎症细胞(如单核细胞与 T 淋巴细胞等)的黏附与浸润、低密度脂蛋白胆固醇的沉积、平滑肌细胞的表型转向以及内皮下胶原的暴露和血液高凝状态等一系列病理进程的发生。人体研究显示,血浆胆固醇水平增高 100mg/dl 对动脉壁胆固醇含量的影响仅为内皮细胞损伤所造成影响的 2%;动物实验证实即使血浆胆固醇水平正常甚至降低至 50mg/dl 的动物,如果对血管内皮细胞的物理损伤达到了足够影响其功能的范围和持续时间,仍然可以导致动脉血管壁胆固醇的沉积,从而导致动脉粥样硬化病灶的形成。由此可见,血管内皮细胞的损伤及功能障碍是动脉粥样硬化发生的早期关键事件和病变演进的重要推手。

(一) 内皮细胞屏障功能损伤促进 LDL 沉积与泡沫细胞形成

血管内皮细胞的屏障作用对动脉粥样硬化的发生发展意义重大。当内皮细胞损伤或发生凋亡后,细胞间连接丢失,接触性抑制状态解除,内皮细胞屏障功能损伤,并进而产生如下后果:①内皮细胞内吞转运血浆 LDL 至内皮下间隙功能增强;②内皮损伤所致内皮下胶原的暴露,使血小板黏附于其上,聚集和释放各种生物活性物质如 5-羟色胺、ADP、组胺等,进一步增加血管壁的通透性,使得血液中的 LDL 等大分子物质更多地进入内皮下间隙;③促进单核细胞、平滑肌细胞进入内皮下间隙形成泡沫细胞。例如,受损的内皮细胞功能发生紊乱,导致细胞因子如血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 以及炎症介质 TNF- α 、IL-1 等的大量产生,这些物质都可以作用于内皮细胞表面相应的受体,激活 NF- κ B 引起白细胞黏附分子如 VCAM-1、ICAM-1、E-选择素以及化学趋化细胞因子如 MCP-1 等的表达增加。其中,ICAM-1 参与白细胞-白细胞、白细胞-内皮细胞间的相互作用,诱发单核细胞、T 淋巴细胞等的跨内皮迁移。VCAM-1 与受体 $\alpha_4\beta_1$ 整合素结合可诱导内皮细胞内信号使其变形,介导单核细胞、淋巴细胞与内皮细胞和血管平滑肌细胞的黏附。E-选择素参与内皮细胞表面的早期白细胞聚集即白细胞滚动与捕获,还通过增强血小板与白细胞之间,或白细胞之间、血小板之间的相互作用,增强聚集反应。MCP-1 促进循环血液中单核细胞向内皮下的聚集与黏附以及中膜平滑肌细胞向内皮下间隙的迁移。以上所有黏附分子总的作用就是吸引单核细胞和平滑肌细胞进入内皮下间隙发生表型转化,并经其表面的清道夫受体和 Fc 受体的介导,源源不断地摄取已进入内膜发生氧化的脂质如 oxLDL,形成泡沫细胞,导致动脉粥样硬化的发生。

(二) 内皮细胞分泌功能紊乱促进动脉粥样硬化病变进展

1. 内皮活性物质释放的失衡 内皮细胞受损或功能障碍时,NO、前列环素 I_2 (prostaglandin I_2 , PGI $_2$) 及其他舒张因子减少或活性降低,而内皮素 (endothelin, ET)、血栓素 A_2 (thromboxane

A_2 , TXA_2) 等收缩因子释放增加。正常生理状态下, 内皮细胞源性 NO 具有调节血管张力、心肌收缩力, 抑制血小板聚集及黏附, 维持内皮细胞的完整性、通透性及调控血管细胞增生等多重功能, 因此 NO 可有效抵抗动脉粥样硬化的发生发展。但是, 当内皮细胞损伤或功能障碍时, 由于有大量超氧阴离子的产生, 使得 NO 被迅速降解, NO 生物活性丧失; 另外, 由于单核细胞的黏附以及单核细胞的可溶性物质可以下调内皮源性一氧化氮合酶表达, 导致有生物活性的 NO 释放减少, 因此两方面因素共同导致 NO 所介导的血管舒张功能被抑制, 平滑肌增生与血小板聚集以及单核细胞的黏附进一步增强。与 NO 功能相对应的另一重要内皮源性生物多肽物质内皮素, 则可强烈收缩血管, 促进平滑肌细胞增生及血小板聚集。内皮紊乱后内皮素释放增加, 对循环中的单核细胞具有强烈的化学诱导和激活吞噬功能, 这进一步损伤血管内皮并导致平滑肌细胞增生, 加剧动脉粥样硬化进程。已有的研究显示, ET-1 是体内已知的作用最强、持续时间最久的缩血管物质, 其血浆水平与动脉粥样硬化病变呈正相关。冠状动脉内皮功能障碍及早期动脉粥样硬化患者的冠状动脉中均有免疫活性内皮素增高, 提示内皮素系统可能在内皮功能障碍参与动脉粥样硬化发生发展过程中发挥了作用。血管内皮细胞损伤及功能紊乱发生后血液循环中 NO 的基础释放和活性均降低, 而血浆内皮素浓度则明显升高。这种 NO 与 ET 之间平衡的破坏, 是动脉内皮细胞受损的显著特征, 其直接后果是更进一步加速了动脉粥样硬化进程。

除了 NO/ET 平衡的失调, 血管内皮受损后 TXA_2 与 PGI_2 的平衡也被打破。 TXA_2 具有强烈收缩血管和促进血小板聚集作用, PGI_2 则是强烈的小血小板聚集抑制剂, 也是一种强效血管扩张剂。动脉粥样硬化形成过程伴有血小板、内皮细胞结构与功能的改变以及血脂浓度升高, 这一方面影响到血小板及内皮细胞膜磷脂与胆固醇比例的改变, 另一方面脂质过氧化的参与使血小板分泌 TXA_2 增多, 黏附于内皮细胞, 血小板聚集形成血栓。内皮功能的低下或损伤脱落, 分泌 PGI_2 相对或绝对减少, 客观上为血小板聚集提供了条件, 致使血小板聚集进一步加重。 TXA_2 / PGI_2 失衡进而导致血管紧张度失调、血小板聚集、炎症因子释放等一系列病理生理变化。

2. 内皮源性细胞因子、炎症介质分泌紊乱 内皮细胞损伤后会导致多种细胞因子、炎症介质例如 IL-1、IL-6、IL-8、PDGF、bFGF、TNF- α 、M-CSF、MIF 等分泌紊乱。这些细胞因子、炎症介质彼此诱导、相互调节, 在白细胞黏附浸润、平滑肌细胞增殖分化、细胞外基质沉积与降解、斑块破裂、血栓形成等方面发挥着重要的促进作用, 并与内皮细胞的其他活性物质联系起来构成复杂的网络系统, 共同影响着动脉粥样硬化的进程。目前在动脉粥样硬化细胞因子研究中, M-CSF、MIF 和 PDGF 所受关注较多, 简述如下。

当单核细胞迁移到血管内皮下间隙后, 需要经巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony stimulating factor, M-CSF) 诱导而分化为巨噬细胞。人体内的 M-CSF 主要由内皮细胞、活化的淋巴细胞、活化的单核细胞、纤维细胞、平滑肌细胞等产生, 然后以自分泌或旁分泌的形式释放, 被邻近或自身的 M-CSF 受体识别并激活受体酶发挥作用。M-CSF 对动脉粥样硬化的作用主要包括以下两点: 一方面, M-CSF 能促进单核 - 巨噬细胞摄入胆固醇, 形成动脉粥样硬化的脂质核心; 另一方面, M-CSF 能激活巨噬细胞, 使后者释放大量细胞因子, 刺激血管平滑肌细胞的增殖。由此可见, M-CSF 介导的反应是动脉粥样硬化发生过程中一个重要的环节。

巨噬细胞移动抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 是体内一种多功能

细胞因子,能够抑制巨噬细胞在体内移动,并通过对炎症因子的调控而影响动脉粥样硬化的演变。在正常情况下,血管内皮细胞能够分泌少量的 MIF,而当动脉内皮受到损伤时,可以观察到 MIF 在受损伤的内皮细胞内大量表达。MIF 可以与相关的炎症因子共同参与动脉粥样硬化的形成过程,对斑块的形成起促进作用,且大量的 MIF 可以在动脉粥样硬化的后期削弱斑块的纤维帽,从而促进斑块的破裂。

内皮细胞损伤后还可释放血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)。PDGF 由两条肽链通过大量二硫键连接的二聚体,即 PDGF-A 和 PDGF-B。损伤的内皮细胞主要表达 PDGF-B,促进平滑肌细胞的迁移与增殖。作为一种强力促有丝分裂因子,PDGF 还促进成纤维细胞的增殖,刺激微粒体产生弹性硬蛋白、胶原和黏多糖体,最后导致斑块的纤维组织发展。此外,PDGF 亦可趋化巨噬细胞和中性粒细胞,加速花生四烯酸代谢,并可通过增加 LDL 受体使 LDL 与细胞结合增加进而提高胆固醇合成增加细胞摄粒作用。最近发现 PDGF 是一种强有力的血管活性物质,作用甚至较血管紧张素Ⅱ还要强,当 PDGF 由内皮细胞受刺激后激活而释放时发生强烈的缩血管活性。

(三) 内皮细胞损伤对凝血纤溶系统的影响促进血栓形成

损伤的内皮细胞具有促凝活性,主要表现为组织因子表达增强,血栓调节素表达减弱和凝血酶活性增加。组织因子在细胞表面表达后可以促使Ⅶa 因子介导的Ⅸ、Ⅹ激活。细胞膜血栓调节素的表达下降一方面抑制蛋白 C 的激活,另一方面还表现在抑制凝血酶的作用减弱。凝血酶具有诸多促凝活性,如使纤维蛋白原沉淀,Ⅴ和Ⅶ因子激活,蛋白 S 灭活,促进内皮 PAI-1 及血小板激活因子的表达。此外,内皮细胞损伤后可分泌 vW 因子。vW 因子与血小板激活因子共同促进血小板的黏附与聚集。除了促凝促血小板聚集外,内皮细胞功能紊乱还可导致 PAI-1/t-PA 的比值明显升高,从而抑制了纤溶系统的作用。综合这三方面的因素,当内皮细胞损伤,内皮下胶原暴露后,血液的凝血纤溶状态就会发生变化,血栓形成的易感性增加。

(四) 内皮细胞衰老与动脉粥样硬化

1. 衰老血管内皮细胞的生物学改变 血管内皮细胞是位于血液与内皮下组织间的一层半透膜屏障,具有感知和分泌功能,可以通过产生效应分子来调节血栓形成、炎症反应、血管张力和血管重建。衰老的内皮细胞大而扁平、胞质空泡化,对脂蛋白和其他血浆成分的通透性增加,NO 分泌减少,细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)分泌增加,核转录因子(NF- κ B 表达增加,细胞处于促炎和促凋亡状态。

2. 内皮细胞衰老的原因 引起内皮细胞衰老的原因主要可以分为两类,细胞复制性衰老(replicative senescence)和应激诱发的细胞早衰(stress-induced premature senescence)。

(1) 细胞复制性衰老:细胞复制性衰老以细胞端粒缩短为特征,是细胞老龄化的重要标志。端粒是位于真核生物染色体末端的 DNA 蛋白质复合物,保护染色体末端,使其免受降解和末端融合。在 DNA 复制的过程中,因为 DNA 聚合酶不能复制染色体的最末端以致端粒不能被完全复制。当端粒缩短至临界状态时,细胞不能继续分裂,生长停滞,此过程即细胞的复制性衰老。引起细胞复制性衰老的原因有很多,除了在细胞分裂过程中引起的端粒缩短外,遗传因素、DNA 损伤、氧化应激等加速端粒缩短的因素均可导致细胞复制性衰老。

1) 内皮细胞更替率增加:在内膜组织中,内皮细胞的更替率极低,体内是否会出现衰老

的内皮细胞便引起了广泛的争议。动物实验发现,血管分支或分支点易受血流动力学剪切和拉伸变化的影响,产生内皮细胞的慢性损伤。这些部位的内皮细胞为了维持其自身形态和功能的完整性而提高细胞更替率,易出现衰老内皮细胞的聚集。研究表明,内皮细胞的端粒长度随着年龄的增长而缩短,在易发粥样硬化部位缩短程度更加明显。

2) 氧化应激损伤:环境中的细胞分裂素、炎症分子、血管紧张素Ⅱ、氧化剂和抗氧化剂、NO、高糖、高级糖化产物、线粒体功能障碍等均可以通过改变细胞外氧化应激产物的浓度来调节端粒的长度。8-羟基脱氧鸟苷(8-oxodG)是DNA遭受氧化应激损伤后产生的一种敏感的生物标记物,其水平能够反映DNA遭受氧化应激损伤的程度。研究发现,暴露于同样的氧化应激条件下,端粒部位的8-oxodG水平高于其他部位。同时,由于端粒对氧化应激损害的修复能力弱于染色体其他部位,所以细胞外活性氧的水平对端粒的长度有十分严重的影响。

3) 遗传和性别因素:出生时个体间端粒的长度差异很大,这种差异与性别无关,与遗传及胚胎时的环境相关。实验证明,动脉粥样硬化患者后代端粒的长度短于健康人的后代,这也部分解释了动脉粥样硬化具有遗传易感性。绝经前女性的端粒长于同龄男性,人类和动物实验均证实女性体细胞内端粒酶活性更高,端粒损耗率更低。

(2) 应激诱发的细胞早衰:由外源性或内源性应激原引起的细胞早衰即为应激诱发的细胞早衰,细胞通常在几小时到几天内即表现出衰老表型。应激诱发的细胞早衰与复制性衰老最明显的区别在于,复制性衰老与端粒缩短和端粒酶的活性降低相关,而应激诱发的早衰与这些事件无必然联系,但可能对端粒和端粒酶产生不利影响。

1) 氧化应激:氧化应激除了通过端粒依赖途径引起内皮细胞衰老外,还可以通过端粒非依赖途径。陷窝蛋白-1可作为体内脂质过氧化水平以及应激诱发的细胞早衰的标志。研究发现,从粥样硬化病变部位分离的内皮细胞内陷窝蛋白-1水平明显高于正常部位的内皮细胞,证明病变部位的内皮细胞发生了氧化应激诱发的细胞早衰。

2) 吸烟:对动脉粥样硬化患者的研究发现,吸烟组与非吸烟组相比,粥样硬化病变部位的内皮细胞表达更高水平的陷窝蛋白-1和p53基因,而ATM基因的表达却低于非吸烟组,说明吸烟组病变部位内皮细胞的端粒处于较稳定的状态,细胞衰老主要由应激所诱发。

3) 糖尿病:高糖环境下培养的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)3天内即出现了端粒酶活性的降低,4周后端粒明显缩短,并伴随着p53基因表达的增加以及衰老标志蛋白-30(SMP30)表达的降低,证明细胞同时发生了复制性衰老以及应激诱发的细胞早衰。高糖环境与糖尿病患者体内葡萄糖水平相近,说明糖尿病患者粥样硬化病变处的内皮细胞衰老同时存在复制性衰老和应激诱发的细胞早衰。

3. 内皮细胞抗衰老机制

(1) 内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs):循环中骨髓来源的EPCs有助于血管的修复和重建,加速内皮组织的再生,从而阻止粥样硬化的发生、发展。循环中的EPCs水平反映了血管的修复能力,可以预测心血管事件的发生率。但EPCs的修复能力目前亦存在争议,小鼠动脉损伤实验证明,循环中的EPCs并不参与损伤动脉内皮组织的修复,而主要依赖损伤部位周围正常内皮细胞迁移修复。故EPCs的损伤修复功能还需进一步证实。

(2) 雌激素:绝经前女性心血管事件的发病率明显低于男性,而绝经后女性心血管事

件的发生率明显升高,说明雌激素对心血管有潜在的保护作用。实验表明,在体外培养的 HUVECs 中加入生理剂量的雌二醇,能显著减少其衰老率,而同时给予 NO 拮抗剂则该效应减弱。这说明雌激素能够增加内皮型一氧化氮合酶(eNOS)依赖的 NO 合成来拮抗内皮细胞的衰老,从而改善内皮细胞的功能。雌激素还能通过增加端粒酶活性来增加端粒长度延缓内皮细胞的衰老。

(3) 饮食控制:地中海饮食是以蔬菜、水果、鱼类、五谷杂粮、豆类和橄榄油为主的饮食风格。对年长者的研究发现,长期地中海饮食可以提高内皮细胞抵抗氧化应激的能力,延缓内皮细胞衰老。地中海饮食可以减少细胞外活性氧化产物的堆积,从而减少细胞的氧化应激损伤。限制卡路里摄入可以增加 NO 合成,改善内皮细胞的功能,同时还可以增加沉默信息调节因子(silent information regulator 1, SIRT1)的表达来延缓内皮细胞的衰老。

4. 结语 内皮细胞衰老的机制包括复制性衰老和应激诱发的细胞早衰,衰老的内皮细胞出现功能障碍,促进了动脉粥样硬化的发生、发展。一些因素可以阻止或延缓内皮细胞的衰老,在一定程度上阻碍粥样硬化病变的进展。目前,大多数研究结果来自于体外试验,尚需体内试验的进一步证实。

(五) 内皮细胞凋亡与动脉粥样硬化

1. ECs 凋亡的信号途径 细胞凋亡又被称为细胞程序化死亡,是指机体细胞在正常生理或病理状态下发生的一种主动、高度有序、基因控制、一系列酶参与的程序化死亡过程,以细胞皱缩、细胞膜起泡和染色质凝聚为特征。与其他类型细胞相似,ECs 有两种基本信号途径调节凋亡过程:一是死亡受体途径,又称外源性凋亡途径,指被胞外信号所诱导的细胞凋亡途径。特异性死亡受体与相应的细胞表面受体结合,活化下游信号途径,通过死亡区域的相互作用聚集衔接分子,诱发天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 8(cysteine-containing aspartate-specific proteases, caspase8)前体活化,导致下游效应者 caspase3 激活,切割细胞内底物使 DNA 降解,最常见的这类信号途径的介质是 Fas/FasL 系统。二是线粒体途径,又称内源性凋亡途径,线粒体膜完整性丧失,线粒体细胞色素 C(cytochrome C, cytC)和其他促凋亡分子释放到细胞质中,cytC 与凋亡蛋白酶活化因子-1、ATP/dATP 形成凋亡体,活化 caspase 9 前体,激活效应器 caspase,导致 DNA 裂解。

2. AS 病理过程中 ECs 凋亡的调节 AS 病理过程中的各种环境和内在因素如机械应力、氧化应激、辐射、活性氧(ROS)或氮介质、脂质和感染因子、炎性细胞因子、免疫因素和生长因子等,都可介导 ECs 凋亡,并促进 AS 病变发展。

(1) 血管紧张素 II(AngII)和 ECs 凋亡:AngII 是肾素-血管紧张素系统的一种重要血管活性肽,收缩血管,降低一氧化氮(NO)生物利用度,增加氧化应激和 ROS 产生,是 ECs 损伤和凋亡的重要介质;上调细胞黏附分子、炎性细胞因子和趋化因子表达,增加血管平滑肌细胞增殖、迁移,调节生长因子和细胞外基质产生,促进新生内膜形成和加速 AS 病理进程;Ang II 还可促进斑块破裂和高凝血栓状态形成,增加 AS 的急性并发症。AngII 诱导人脐静脉内皮细胞(HUVECs)凋亡,NO 供体或同时给予 AngII 1 型和 2 型受体阻滞剂预处理后可抑制此作用。实验证实 AngII 可活化 ECs 内源性凋亡信号途径,降低 Bcl-xL mRNA 半衰期,减少抗凋亡蛋白 Bcl-xL 表达。Rossig 等实验发现 AngII 通过上调 MAP 激酶磷酸酶-3(MKP-3) mRNA 水平,介导 ERK1/2 脱磷酸化,降低抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平,促进 ECs 凋亡。AngII 或者选择性 2 型 AngII 受体刺激 ECs 后,激活 caspase3,执行细胞凋亡过程。AngII 可诱导