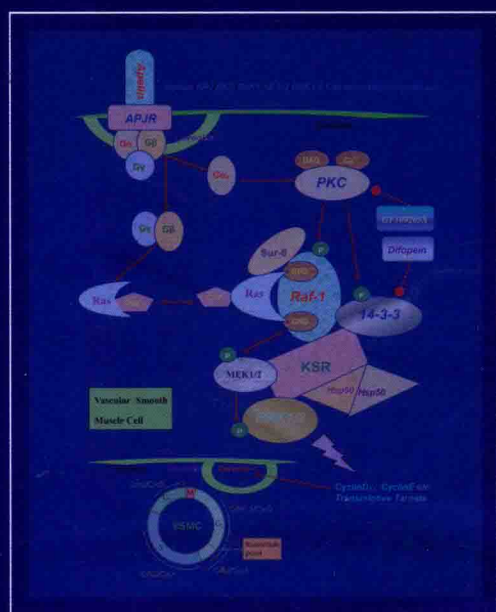


血管平滑肌细胞 药理与临床

Vascular Smooth Muscle Cells
Pharmacology and Clinical

主 编 陈临溪 李兰芳 常福厚



科学出版社

血管平滑肌细胞药理与临床

Vascular Smooth Muscle Cells Pharmacology and Clinical

主 编 陈临溪 李兰芳 常福厚

北 京

内 容 简 介

本书首先系统介绍了血管平滑肌细胞的增殖、迁移、分泌、钙化、衰老等生物功能及介导的细胞信号转导途径、调控方式,进而系统地阐述了血管平滑肌细胞参与动脉硬化、门静脉高压、糖尿病和肿瘤等疾病的分子机制,重点阐述了作用于血管平滑肌细胞的药物,包括 EGF 受体拮抗药、钙增敏药、Rho 激酶抑制药、5-HT₂ 受体拮抗药等的结构、理化性质、药理作用、机制、临床应用、应用方法、疗效评价和不良反应,最后概括了国内外近年来的血管平滑肌细胞研究的分子生物学实验方法和手段,为血管平滑肌细胞未来的研究提供依据和参考。

本书适合于细胞生物学和分子药理学相关领域的人员使用,也可作为医学生和临床医师学习和参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

血管平滑肌细胞药理与临床/陈临溪,李兰芳,常福厚主编.—北京:科学出版社,2017.9

ISBN 978-7-03-054037-9

I. ①血… II. ①陈… ②李… ③常… III. ①血管平滑肌—临床药理学 IV. ①R972

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 180925 号

责任编辑:高玉婷 / 责任校对:张小霞

责任印制:肖 兴 / 封面设计:吴朝洪

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>

保定市中华美凯印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017 年 9 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2017 年 9 月第一次印刷 印张:19 1/2

字数:440 000

定价:118.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)



《血管平滑肌细胞药理与临床》

编写人员

主 编 陈临溪 李兰芳 常福厚
执行主编 孙黔云
副主编 杨 震 江冠民 周 群 尹 凯
秘 书 徐 金
编 者 (以姓氏汉语拼音为序)

曹建刚	常福厚	陈 哲	陈文亮	陈临溪
陈雪莹	程 俊	邓水秀	段为刚	傅 念
郭东铭	何 璐	胡玉霞	胡昊良	黄 镇
黄秋林	黄仕芳	江冠民	刘 沙	刘佳琪
刘明之	刘清南	李 洁	李 峰	李兰芳
李仙洲	李梦真	陆丽群	罗迪贤	罗旭灵
马松涛	莫 靓	莫中成	欧含笑	潘伟男
盛艳梅	孙黔云	谈 智	谭岁赛	唐艳珍
王爱平	伍乐乐	肖 凌	肖启国	谢 凤
谢远杰	徐 金	颜晓燕	杨 莉	杨 霞
杨 震	姚 烨	姚平波	尹 凯	袁中华
曾 斌	曾中三	张 敏	张亚兰	张秀慧
张梦迪	赵 红	周 宏	周 群	周寿红
邹 敏				

前 言

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)是构成血管壁组织结构及维持血管张力的主要细胞成分,其结构及功能的改变是导致高血压、动脉粥样硬化和血管成形术后再狭窄等多种心血管病的细胞病理学基础。近年来,血管平滑肌细胞研究进展迅速,新成果不断涌现。生理及病理情况下各种不同的生长因子及细胞因子影响血管平滑肌细胞的增殖、生长、迁移、凋亡及表型重塑等过程。在不同的组织中的血管平滑肌细胞还参与调控组织器官的功能。血管平滑肌细胞的功能异常导致机体众多疾病的发生与发展,包括动脉粥样硬化、门静脉高压、糖尿病、肿瘤等。近年来关于血管平滑肌细胞增殖、迁移、凋亡、血管发育与血管新生、表型重塑及调控机制日新月异。作用于血管平滑肌的药物研究取得了较大突破与进展,并在临床上得到了一定的应用。为系统介绍血管平滑肌细胞的生理和病理生理功能、参与疾病的分子机制、靶向血管平滑肌细胞药物的最新研究进展,特邀请了长期从事血管平滑肌细胞研究的专家编著了本书。

全书共4章,第1章介绍血管平滑肌细胞的增殖、迁移、分泌、钙化、凋亡、衰老等生理功能;第2章主要阐述血管平滑肌细胞参与动脉硬化、门静脉高压、糖尿病、肾病及肿瘤的分子机制;第3章重点阐述作用于血管平滑肌细胞的药物(包括内皮素受体拮抗剂、EFG受体拮抗剂、5-HT₂受体拮抗剂、前列环素受体激动剂、凋亡抑制因子生存素、Rho激酶抑制剂、丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂等);第4章介绍最新的血管平滑肌细胞的研究方法(包括迁移、增殖、凋亡、衰老实验及原代细胞的培养等)。

本书的出版,要衷心感谢各位编著者付出的辛勤劳动及出版社的大力支持。此外,南华大学、国家自然科学基金项目(81470434,81670265,81503074,81603108)、湖南省分子靶标新药研究协同创新中心[湘教通(2014)405号]对本书的出版给予了大力支持和资助,在此表示最诚挚的感谢。

如果本书对读者的学习、研究、临床应用有所启发和帮助,将是对所有作者最大的鼓舞和鞭策。由于编者水平所限,书中可能存在错误及不妥之处,恳请学术界前辈和同行给予批评指正。

陈临溪

南华大学药物药理研究所

2017年6月于衡阳

目 录

第 1 章 血管平滑肌细胞生物学	(1)
第一节 概论	(1)
第二节 血管平滑肌细胞生长增殖	(7)
第三节 血管平滑肌细胞凋亡	(11)
第四节 血管平滑肌细胞分泌功能	(18)
第五节 血管内皮细胞与血管平滑肌细胞功能调控	(22)
第六节 血管平滑肌细胞与细胞外基质	(25)
第七节 血管平滑肌细胞与血管新生	(29)
第八节 血管平滑肌细胞与血管钙化	(33)
第九节 血管活性肽与血管平滑肌细胞	(36)
第十节 一氧化氮与血管平滑肌细胞	(41)
第十一节 血管平滑肌细胞受体	(45)
第十二节 血管平滑肌细胞离子通道	(52)
第十三节 血管平滑肌细胞缝隙连接	(55)
第十四节 血管平滑肌细胞基因组、蛋白质组学	(57)
第十五节 血管平滑肌细胞 microRNA	(63)
第十六节 血管平滑肌细胞与长链非编码 RNA	(69)
第十七节 血管平滑肌细胞收缩	(72)
第十八节 血管平滑肌祖细胞	(76)
第十九节 血管平滑肌细胞内物质能量代谢	(80)
第二十节 血管平滑肌细胞衰老	(83)
第二十一节 脑血管平滑肌细胞生物学	(87)
第二十二节 冠状血管平滑肌细胞生物学	(90)
第二十三节 肺动脉血管平滑肌细胞生物学	(93)
第二十四节 肾血管平滑肌细胞生物学	(97)
第二十五节 门静脉血管平滑肌细胞生物学	(101)
第二十六节 胎盘血管平滑肌细胞生物学	(105)
第二十七节 肿瘤血管平滑肌细胞生物学	(109)
第二十八节 眼血管平滑肌细胞生物学	(111)
第二十九节 子宫血管平滑肌细胞生物学	(116)
第三十节 阴茎血管平滑肌细胞生物学	(120)

第三十一节	Apelin/APJ 系统与血管平滑肌细胞生物学	(123)
第 2 章	血管平滑肌细胞与疾病	(128)
第一节	血管平滑肌细胞与高血压病	(128)
第二节	血管平滑肌细胞与动脉粥样硬化	(131)
第三节	血管平滑肌细胞与脑血管病	(136)
第四节	血管平滑肌细胞与冠状动脉硬化性心脏病	(139)
第五节	血管平滑肌细胞与肺动脉高压症	(142)
第六节	血管平滑肌细胞与门静脉高压症	(146)
第七节	血管平滑肌细胞与生殖疾病	(150)
第八节	血管平滑肌细胞与糖尿病	(153)
第九节	血管平滑肌细胞与肾病	(156)
第十节	血管平滑肌细胞与眼科疾病	(160)
第十一节	血管平滑肌细胞与肿瘤	(165)
第十二节	血管平滑肌细胞与器官移植	(170)
第十三节	血管平滑肌细胞与血管支架	(174)
第 3 章	血管平滑肌细胞药理学与药物临床应用	(176)
第一节	内皮素受体拮抗剂	(176)
第二节	EGFR 受体拮抗剂	(181)
第三节	5-HT ₂ 受体拮抗剂	(187)
第四节	前列环素受体激动剂	(193)
第五节	HMG-CoA 还原酶抑制剂	(194)
第六节	钙增敏剂	(200)
第七节	丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂	(203)
第八节	酪氨酸激酶抑制剂	(206)
第九节	Rho 激酶抑制剂	(210)
第十节	可溶性鸟苷酸环化酶激动剂	(218)
第十一节	前列环素类似物	(221)
第十二节	二氯乙酸	(227)
第十三节	血管平滑肌细胞离子通道剂	(228)
第十四节	血管平滑肌细胞物质交换体调节剂	(239)
第十五节	血管新生调节剂	(245)
第十六节	天然药物与血管平滑肌细胞	(250)
第十七节	血管平滑肌细胞毒物毒理学	(255)
第十八节	磷酸二酯酶抑制剂	(260)
第 4 章	血管平滑肌细胞培养与研究技术	(266)
第一节	外周血管平滑肌细胞培养	(266)
第二节	脑血管平滑肌细胞培养	(268)
第三节	血管平滑肌细胞培养	(270)
第四节	脐静脉血管平滑肌细胞培养	(272)

第五节	冠状动脉血管平滑肌细胞培养.....	(273)
第六节	门静脉血管平滑肌细胞培养.....	(275)
第七节	血管平滑肌细胞增殖实验.....	(278)
第八节	血管平滑肌细胞凋亡实验.....	(281)
第九节	血管平滑肌细胞钙化实验.....	(284)
第十节	血管平滑肌细胞收缩实验.....	(287)
第十一节	血管平滑肌细胞迁移实验.....	(288)
第十二节	血管平滑肌细胞衰老实验.....	(291)
第十三节	血管平滑肌细胞表型转化实验.....	(295)
第十四节	血管平滑肌细胞压应力实验.....	(298)

第 1 章 血管平滑肌细胞生物学

第一节 概 论

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)是构成血管中膜的主要细胞成分,是机体重要的代谢和内分泌器官之一,在各种各样的生理过程中扮演着重要作用,血管平滑肌细胞功能障碍,与疾病的发生发展密切相关。研究表明,在病理过程中,血管平滑肌细胞通过自身增殖、迁移及合成细胞外基质,参与高血压、动脉粥样硬化、移植血管病、血管成形术后再狭窄和血管壁损伤后的修复等多种血管疾病的生理、病理过程。因此,血管平滑肌细胞已经成为医疗卫生领域中重要的研究对象,本文主要对血管平滑肌细胞的生物学功能、血管平滑肌细胞相关疾病、靶向血管平滑肌细胞相关疾病的药物及血管平滑肌细胞的分子生物学常用实验技术进行概述。

一、研究历程与结构

1. 研究历程 1665 年,罗伯特·虎克用显微镜观察植物的木栓组织,发现其由许多规则的小室组成,并把“小室”称为细胞(cell)。19 世纪 30 年代,德国植物学家施莱登和动物学家施旺提出了细胞学说,指出细胞是一切动植物结构的基本单位。人们开始认识到细胞的重要作用,从而对细胞的研究蓬勃开展起来,并取得了长足的进步。1955 年自 Furchgott 从血管平滑肌的解剖学、组织学、电生理学及血管平滑肌应对各种药物的反应和可能存在潜在的药物等方面进行了详细的介绍与阐述后,对于血管平滑肌细胞的研究开始得到人们的关注,并且得到了迅速发展。而在此之前,人们对平滑肌细胞的了解,仅限于血管平滑肌细胞是血管的重要结构,具有收缩功能,血管平滑肌的收缩可引起血管壁的收缩,从而具有调节血压的作用。1968 年,Weiss 等报道了血管平滑肌在某种生理病理条件下表现出去分化状态,并且失去了它的收缩功能,获得了合成和吞噬细胞的特性。随后,1974 年 Russell Rossa 等发现血小板源性生长因子(platelet-derived growth factors, PDGF)能够促进主动脉血管平滑肌细胞的增殖。1979 年 Chamley-Campbell 等总结了血管平滑肌细胞的培养方法。1986 年 Skalli 等发现血管平滑肌细胞蛋白 α -SMA 能用于血管平滑肌细胞的鉴别。这些研究都极大地推动了血管平滑肌细胞研究的发展,使其成为心血管领域研究的热点。

2. 结构 血管平滑肌细胞位于血管壁的中膜,呈长梭形,长约 $6\mu\text{m}$ 、宽约 $2\mu\text{m}$,细胞核为圆形或椭圆形,多位于细胞中央,是血管中膜的重要组成部分。正常的血管平滑肌细胞可形成血管平滑肌纤维,肌纤维间有中间连接和缝隙连接,平滑肌纤维可产生胶原纤维、弹性纤维和基质。在病理状况下,动脉中膜的平滑肌细胞可移入内膜增生并产生结缔组织,使内膜增厚,

是动脉硬化发生的重要病理过程。血管平滑肌细胞也可与内皮细胞形成肌内皮连接(myoendothelial junction),平滑肌细胞可借助于这种连接,接受血液或内皮细胞的化学信息。研究表明,平滑肌细胞具有分泌肾素和血管紧张素原的能力,可与内皮细胞表面的血管紧张素转化酶共同构成肾外的血管肾素和血管紧张素系统。可见,血管平滑肌细胞的多种生理作用与多种生理病理过程密切相关。

二、生理功能

血管平滑肌细胞是构成血管中膜的主要细胞成分,与保持血管张力和功能有关。在病理过程中,通过其自身增殖、迁移及合成细胞外基质参与血管壁损伤后的修复。血管平滑肌细胞的主要生理功能有:收缩、增殖、迁移、分泌、表型转化、钙化。

1. 收缩功能 血管是心血管系统不可或缺的部分。血管收缩与血压的调节密切相关。血管的收缩性,源于血管平滑肌细胞的收缩性。而血管平滑肌细胞的收缩性又与由肌丝、中间丝和密体填充胞质共同组成的平滑肌细胞的收缩系统和细胞骨架系统分不开。

平滑肌纤维呈长梭形,无横纹。平滑肌纤维可单独存在,绝大部分是成束或成层分布的。平滑肌纤维表面为肌膜,肌膜向下凹陷形成数量众多的小凹(caveola)。目前认为,这些小凹相当于横纹肌的横小管。肌质网发育很差,呈小管状,位于肌膜下与小凹相邻近。核两端的肌质内含有线粒体、高尔基复合体和少量粗面内质网及较多的游离核糖体,偶见脂滴。平滑肌的细胞骨架系统比较发达,主要由密斑、密体和中间丝组成。密斑和密体都是电子致密的小体,但分布的部位不同。密斑(dense patch)位于肌膜的內面,主要是平滑肌细肌丝的附着点。密体(dense body)位于细胞质内,为梭形小体,排成长链,它是细肌丝和中间丝的共同附着点。一般认为密体相当于横纹肌的Z线。相邻的密体之间由直径10nm的中间丝相连,构成平滑肌的菱形网架,在细胞内起着支架作用。细胞周边部的肌质中,主要含有粗、细两种肌丝。由于肌球蛋白分子的排列不同于横纹肌,粗肌丝上没有M线及其两侧的光滑部分。粗肌丝呈圆柱形,表面有纵行排列的横桥,但相邻的两行横桥的摆动方向恰恰相反。若干条粗肌丝和细肌丝聚集形成肌丝单位,又称收缩单位(contractile unit)。相邻的平滑肌纤维之间有缝隙连接,便于化学信息和神经冲动的沟通,有利于众多平滑肌纤维同时收缩而形成功能整体。目前公认的肌肉收缩机制是肌丝滑行理论,血管平滑肌细胞也不例外。

正常状态下,VSMC以收缩表型参与血管收缩、调节血压等正常的生理过程。当血管受到损伤时,损伤部位的多种细胞(包括内皮细胞、VSMC、巨噬细胞和T细胞等)所释放的生长因子、和细胞因子可以诱导VSMC由收缩型转换为合成表型,发生增殖和迁移、合成、分泌胶原和基质金属蛋白酶,使血管壁增厚,导致管腔狭窄。

2. 增殖功能 VSMCs异常增殖及其从动脉中层向内膜迁移是高血压、动脉粥样硬化和血管成形术后狭窄等心血管疾病的重要病理改变,其增生过程与多种生长因子、血管活性肽等参与密切相关。研究表明,血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、凝血酶及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)等均参与VSMCs的生长及增殖的调控过程。

(1)Ang Ⅱ:作用于血管平滑肌,可使全身微动脉收缩、动脉血压升高。Ang Ⅱ是已知的最强的缩血管活性物质之一。作用于外周血管,使静脉收缩、回心血量增加。

(2)PDGF:是刺激 VSMC 从收缩型向合成型(增殖型)转化的强效细胞生长因子。研究表明,PDGF 作为一种重要的促有丝分裂因子,能明显诱导 VSMCs 增殖和迁移过程。

(3)TGF:研究表明,TGF- β 的表达与不同表型 VSMCs 状态密切相关,TGF- β 可能通过不同的信号传递分子调控细胞增殖功能,并在 VSMCs 由合成表型逆转为分化表型的分子调控中发挥重要的作用。

(4)ET:内皮细胞分泌 ET 等多种细胞因子促进 VSMCs 增殖,其中 ET-1 发挥主要的作用。在自发性高血压大鼠的 VSMCs 中,处于 G_1/S 期的 VSMCs 中 ET 浓度明显高于 G_2/M 期。因此,ET-1 是促使 VSMCs 增殖的关键因子之一。

(5)凝血酶:对血液凝固系统的其他作用,包括诱发血小板聚集、继发释放反应等。凝血酶激活凝血酶受体,其信号转导途径主要是 MAPKs、Jak-STAT、SAPKs 及蛋白酪氨酸激酶受体(PTK 受体)等,且参与 VSMCs 增殖。

(6)ECM:通过与 VSMCs 表面上的整合素受体结合形成黏着斑,激活黏着斑激酶,触发细胞内一系列信号传导,对于 VSMCs 迁移和增殖过程具有重要的作用。

3. 迁移功能 血管平滑肌细胞迁移是指血管平滑肌细胞在接收到迁移信号或感受到某些物质的梯度后而产生的移动,其过程为细胞头部伪足的延伸、新的黏附建立、细胞体尾部收缩在时空上的交替过程。VSMC 是血管壁的主要成分,也是血管中层唯一的细胞成分。因此,VSMC 由中膜迁移到内膜下间隙是动脉粥样硬化形成、高血压和血管再狭窄等疾病的共同发病基础之一。当致心血管疾病的危险因素作用于机体,损伤血管内皮功能导致一些细胞因子作用于 VSMC 膜受体,激活细胞内信号转导通路,最终启动核内基因表达而促进 VSMC 的迁移。VSMC 迁移与多种信号转导通路有关,目前研究最多的相关信号转导通路如下。

(1)磷脂酶 C(PLC)/蛋白激酶 C(PKC)通路:VSMC 受生长因子或细胞因子刺激后,可激活 PLC,后者水解细胞膜内侧的二磷酸磷脂酰肌醇(PIP_2)生成三磷酸肌醇(IP_3)和二酰甘油(diacylglycerol,DAG),获得增殖、迁移和合成分泌大量细胞外基质的能力。活化的 $PKC\alpha$ 、 β_1 、 δ 、 ϵ 在 VSMC 增殖和迁移中起着重要的作用。在 PKC 激动剂 12,13-二丁酸佛波醇(PDBU)等的作用下,PKC 能明显促进 VSMC 增殖,而通过下调该基因的表达时可促进 VSMC 迁移。PKC 还可激活 Na^+/H^+ 交换使 Na^+ 内流增加,细胞内 pH 增加有利于有丝分裂的进行,也是 VSMC 增殖、迁移和收缩所必需的早期步骤。

(2) Ca^{2+} /钙调蛋白(CaM)依赖性蛋白激酶 II 通路:CaM 激酶 II 是一种多功能的酶,可磷酸化许多蛋白。VSMC 的迁移必须要有 CaM 激酶 II 的激活,抑制此酶的激活会使 VSMC 的生长停滞,明显降低细胞迁移的数量和距离。Chandra 等发现在血管内皮生长因子(VEGF)促进 VSMC 的迁移中,胞外 Ca^{2+} 内流激活 Ca^{2+} /CaM 依赖性蛋白激酶 II 通路起了关键的作用。

(3)丝裂原活化蛋白激酶通路:研究已证实 MAPK 在 VSMC 增殖、分化、凋亡、细胞骨架等重构及细胞周期中起着非常重要的作用。MAPK 可激活转录因子,增加 VSMC 的 DNA 合成,促进细胞增殖和迁移。VSMC 的表型改变也与 MAPK 活性有关,合成型细胞有强的增殖能力及更高的 MAPK 水平,在动脉粥样硬化的早期可发现 VSMC 从收缩型向合成型转化。

(4)磷脂酰肌醇 3 激酶(PI_3 -K)/蛋白激酶 B(PKB 或 Akt)通路:有学者发现,胰岛素样生长因子-1(IGF-1)诱导的 VSMC 增殖和迁移均依赖于 PI_3 -K 和 Akt 的磷酸化, PI_3 -K 抑制剂几乎完全抑制 IGF-1 引起的增殖并对其迁移大约有 60% 的抑制作用。

4. 分泌功能 正常状态下,VSMC 以收缩表型参与血管收缩,调节血压等正常的生理过程。当血管受到损伤时,损伤部位的多种细胞(包括内皮细胞、VSMC、巨噬细胞和 T 细胞等)所释放的生长因子和细胞因子可以诱导 VSMC 转换为合成表型,VSMC 的表型向合成型转化,导致 VSMC 肥大、合成和分泌基质蛋白能力增强,细胞增殖和迁移能力增强,使血管壁增厚,管腔狭窄和血管重构。VSMC 和 EC 一样具有分泌功能,能合成和分泌多种血管活性物质如 PDGF、ICAM-1、IL-8、OPN 和 VEGF。

骨桥蛋白(osteopontin, OPN)和表皮生长因子(EGF)家族中的上皮调节蛋白(epiregulin)是合成型 VSMC 的标志物。OPN 最早是从骨基质中分离发现的一种富含唾液酸的磷酸化糖蛋白,目前研究认为其表达程度与 VSMC 的增殖有关,而 epiregulin 是 VSMC 去分化的主要自分泌和旁分泌因子。

细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)和 IL-8 是平滑肌细胞分泌的两种细胞因子。ICAM-1 作为细胞黏附分子,在组织结构维持、细胞运动游走、免疫调节、炎性反应、损伤修复等过程中发挥重要作用。ICAM-1 表达上调,激活多条细胞内信号转导途径,促进单核细胞、淋巴细胞向内皮细胞的黏附和迁移,而 IL-8 可影响中性粒细胞的趋化性,促进中性粒细胞脱颗粒,二者共同加重炎症反应,加速血管重塑的进程。

5. 表型转化功能 血管平滑肌细胞根据其形态、功能及细胞标志蛋白的不同分为收缩型和合成型两种表型。正常血管组织中的 VSMC 是收缩型,为高度分化的细胞,呈典型的纺锤形,粗面内质网和高尔基体等细胞器较少,主要功能是维持血管的形态及调节收缩和血管张力,具有低增殖、低迁移和低分泌的特征。当某些因素导致血管损伤和病变后,VSMC 可以去分化,成为未分化的细胞,表型由收缩型转变为合成型,表现出高增殖、高迁移和高蛋白分泌等特征。VSMC 由收缩表型转化为合成表型的过程,称之为表型转化。

由合成表型转为收缩表型的受阻常会导致 VSMC 释放的生长因子和细胞因子使细胞发生增殖和迁移,合成、分泌胶原和基质金属蛋白酶,使血管壁增厚,导致管腔狭窄等各种血管性疾病的发生。

6. 钙化功能 近几十年来,众多实验结果证实血管钙化是由细胞调控发生在血管的主动钙化过程,而 VSMC 在这一发病过程中起着重要的作用。在特定刺激条件下,血管平滑肌细胞凋亡、血管平滑肌细胞成骨表型转换和血管平滑肌细胞的 microRNA 均与血管钙化密切相关。

临床研究表明,尿毒症患者桡动脉中膜存在 VSMC 凋亡,且 VSMC 凋亡发生在血管钙化之前,这表明 VSMC 凋亡可能参与了尿毒症患者血管钙化的发生和发展。在高磷、炎性因子等各种致钙化因素作用下,受损的 VSMC 释放出含有碱性磷酸酶活性的基质小泡形成易于碱性钙磷沉积的微环境,利于血管钙化。在炎性因子、氧化应激、DNA 受损、高磷等特定刺激下,VSMCs 主要表达和(或)释放数种关键的成骨蛋白和成骨相关蛋白调节因子,如 BMP-2、ALP、OPN 和胶原 I。而收缩表型相关蛋白如 SM22 α 、SM α -actin 和 IV 型胶原等表达减少,最终将 VSMC 转换为成骨细胞。

在钙化条件下,具有调节 VSMCs 分化标志物表达功能的 miRNA143/145 复合物下调。其他系列的 microRNA 如 microRNA-135a、microRNA-762、microRNA-714、microRNA-712 等的目标蛋白是钙流出蛋白,在 VSMCs 钙化中的作用得到证实。

三、血管平滑肌细胞与疾病

正常的血管平滑肌细胞有着众多的生理功能,易受到生理、病理因素的影响,导致血管平滑肌的功能受损,释放大量的炎性介质,参与高血压、动脉粥样硬化、肺动脉高压、肿瘤等心血管疾病的发生发展。

1. 血管平滑肌细胞与高血压 血管平滑肌细胞是构成血管壁组织结构及维持血管张力的主要细胞成分,其结构及功能的改变可导致细小动脉硬化甚至高血压的发生发展。高血压病时血管结构的改变主要表现在血管平滑肌细胞肥大、增殖及结缔组织含量增加,中小动脉壁肥厚。因此,血管平滑肌细胞的病理、生理变化与高血压的发生发展关系密切。

高血压病是一种以血管平滑肌细胞增殖为主要病变的疾病。大量研究表明,内源性一氧化氮分泌不足,血浆内皮素-1(ET-1)分泌升高,氧化应激水平增高,凋亡相关基因 *Bcl-2*、*c-myc* 的表达异常和血中肾素及血管紧张素Ⅱ的活性和浓度升高,能够通过调控血管平滑肌的增殖、迁移来影响高血压患者血压和血管壁结构,从而参与高血压病的发生发展过程。

目前尚无专门针对高血压患者血管平滑肌细胞功能不全的治疗药物。然而实验证明当前常用的降压药物大多数对血管平滑肌细胞功能有一定的改善作用。因此,以改善血管平滑肌细胞为治疗靶点的新一代抗高血压药物的研发必将带动心血管系统药物的创新,为高血压病的防治带来更大的突破。

2. 血管平滑肌细胞参与肺动脉高压 各种原因引起的严重肺动脉高压共同的基本病理学改变是肺血管重塑。肺血管重塑在肺动脉高压的发生中起着关键性的作用,肺血管重塑是指构成肺动脉血管的内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞的增殖和肥大及细胞外间质合成分泌的增多。肺血管重塑的细胞和分子机制十分复杂,各种损伤因素致使各种促增殖效应的介质通过旁分泌和自分泌作用生成增加并与血管基质和血管平滑肌细胞接触,继而促进平滑肌细胞增生、肥厚。进而出现以新生内膜形成为先导的不可逆转的一系列病理形态学改变。因此肺动脉高压与血管平滑肌细胞增殖密切相关。

目前的研究认为,肺动脉平滑肌细胞(pulmonary arterial smooth muscle cell, PASMC)增殖在肺血管重塑中起着主导性的地位,因而探索介导 PASMC 增殖的分子生物学机制并据此而进行相关的干预,是治疗肺动脉高压的热点之一。与 PASMC 增殖相关的信号通路,有 RhoA/ROCK、 Ca^{2+} -CaN-NFAT、转化生长因子 β (TGF- β)/Smad、Notch、MAPKs 和 PI3K-Akt 信号通路。

尽管药物治疗取得了较大的进展,但治疗肺动脉高压仍然难以取得满意疗效。目前抗肺动脉高压的治疗以从血管扩张药为主转向抗增殖作用为主,故抑制平滑肌增殖是抗肺动脉高压的一个重要因素。

3. 血管平滑肌细胞参与动脉粥样硬化 血管平滑肌细胞是血管壁的一个重要构成部分,其增殖与迁移在动脉粥样硬化形成的早期、中期、后期及血管狭窄性疾病的发病机制中都起着关键性的作用,它是“纤维帽”的主要组成部分,是决定粥样硬化斑块“纤维帽”稳定性的主要因素。研究证实,血管平滑肌细胞表型转化、血管平滑肌细胞源性泡沫细胞、增殖、迁移、凋亡在动脉粥样硬化的调控中起着重要的作用。

血管平滑肌细胞在动脉粥样硬化中起到重要作用,但具体机制尚未阐明。心血管分子影像学在动脉粥样硬化斑块成像等新方法的建立,为心血管动脉粥样硬化疾病的研究提供了新

技术。因此,对血管平滑肌细胞与动脉粥样硬化关系深入的了解,有利于开发出靶向血管平滑肌细胞的药物,可有效地防治动脉粥样硬化的发生发展。

4. 血管平滑肌细胞参与肿瘤 1971年 Folkman 提出“肿瘤生长依赖于血管生成”观点,使人们对血管生成的重要性有了新的认识。肿瘤的生长依赖于新血管生成。

肿瘤血管生成以两种方式发生:一种是肿瘤细胞团现处于无血管期生长,后因缺氧而产生大量血管生成因子,从而诱导血管生成;另一种是瘤细胞先依赖宿主组织已存在的血管生长,继而出现瘤内血管消退,因缺氧而产生大量血管生成因子,从而诱导血管生成。在血管促进因子的刺激下,血管内皮基底膜降解,内皮细胞迁移至肿瘤部位并大量增殖形成微管样结构,继而在平滑肌细胞、周细胞等的支持下形成血管。大量研究也表明,血管促进因子在血管平滑肌细胞的迁移、增殖、肿瘤血管的生成、在肿瘤血管的构成中扮演着重要的角色。

目前已知物理、化学、生长因子、血管活性物质、细胞外基质、转录因子和原癌基因等均可促进抑制血管平滑肌细胞表型转换和增殖,许多研究表明原癌基因表达异常可能是血管平滑肌细胞表型转换的潜在机制。

目前已有抗肿瘤血管生成的靶向治疗,肿瘤诱导的新生血管与正常血管在构造上有巨大差异,表现为不成熟,缺乏神经、肌肉、淋巴引流。血管内皮细胞是制约肿瘤细胞生长的关键,是抗肿瘤血管生成治疗最好的靶位,也容易做到对肿瘤的高度选择性。然而以血管平滑肌细胞为靶点的药物罕见报道。

5. 其他疾病 很多文献报道了血管平滑肌细胞也参与其他疾病的发生发展,如脑血管病、冠状动脉硬化性心脏病、门静脉高压症、生殖疾病、糖尿病、肾病、眼科疾病等疾病。因此,以改善血管平滑肌细胞为治疗靶点的药物的研发,必将带动心血管系统药物的创新,为血管平滑肌细胞相关疾病的防治带来更大突破。

四、作用血管平滑肌的药物

血管平滑肌细胞的增殖、迁移、分泌、钙化、衰老等生物功能与血管平滑肌细胞相关疾病密切相关,因此,靶向这些介导的细胞信号转导途径、调控方式是预防和治疗血管平滑肌细胞的关键。目前针对这些途径研发了大量的药物,如内皮素受体拮抗剂、EGF 受体拮抗剂、5-HT₂受体拮抗剂、前列环素受体激动剂、HMG-CoA 还原酶抑制剂、钙增敏剂、丝氨酸/苏氨酸激酶抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂、Rho 激酶抑制剂、可溶性鸟苷酸环化酶激动剂、前列环素类似物、二氯乙酸(dichloroacetic acid)、血管平滑肌细胞离子通道剂、血管平滑肌细胞物质交换体调节剂、血管新生调节剂、磷酸二酯酶抑制剂等。

但这些药物都存在不同程度的不良反应,因此,开发更为稳定、安全、有效的药物,将进一步提高病人的生活质量。相信随着方法和实验技术的不断改进,保护血管平滑肌细胞的功能在疾病的防治方面将进一步成熟,从而更好地指导临床运用。

五、涉及血管平滑肌细胞的分子生物学常用实验技术

尽管目前针对血管平滑肌细胞疾病的药物研发已经取得很大进步,但仍需进一步的探索,而血管平滑肌细胞的分子生物学常用实验技术的发展,如血管平滑肌细胞的收缩实验、血管平滑肌细胞的增殖实验、血管平滑肌细胞的迁移实验、血管平滑肌细胞的表型转化实验、血管平滑肌细胞的钙化实验等,为血管平滑肌细胞的生物、生理学功能的探索提供了技术支持,同时

也为快速、灵敏、简单地预防、诊断和治疗血管平滑肌细胞相关疾病及机制研究提供了便利,进一步推动了研发血管平滑肌细胞相关疾病相关药物的步伐。

六、问题与展望

血管平滑肌细胞发挥着重要的生理作用,其受到损伤会导致许多疾病的发生,引发疾病的进一步发展。近年来研究表明,血管平滑肌细胞障碍还在高血压、动脉粥样硬化、肺动脉高压、肿瘤等疾病的发生发展中起着重要的作用。

但目前仍然有很多问题有待解决:如近年来关于血管平滑肌细胞与自噬、长链非编码、Warburg 效应、氧化应激和炎症关系的研究日益增多,但具体的分子机制仍然不是很清楚;如长链非编码能调节血管平滑肌细胞的功能,促进血管平滑肌细胞的分化,但具体机制如何仍然有待进一步探索;自噬能够调控血管平滑肌细胞的增殖、迁移、基质分泌、衰老、收缩与舒张、分化等过程,自噬又能保护血管平滑肌细胞使其免受凋亡的损害,却不能解释为什么只是诱导药能够抑制血管平滑肌细胞的表型转化,但细胞因子诱导自噬对血管平滑肌细胞的作用却相反。活性氧(reactive oxygen species, ROS)既能参与血管平滑肌细胞的多种信号通路,又能损伤血管壁上平滑肌细胞,参与血管损伤相关疾病的过程。血管平滑肌细胞参与肿瘤血管生成,但具体机制仍不清楚。相信随着研究的进一步深入,造成 VSMC 损伤的机制及其保护措施会日益清楚,以 VSMC 为靶点的新药物和新治疗手段将为临床防治相关疾病提供更好的依据,将继续开拓血管平滑细胞研究和应用的新篇章。

(李兰芳 陈临溪)

参考文献

- Leung A, Stapleton K, Natarajan R. 2016. Functional long non-coding RNAs in vascular smooth muscle cells. *Curr Top Microbiol Immunol*, 394: 127-141.
- Ross R, Glomset J, Kariya B, et al. 1974. A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 71(4): 1207-1210.
- Tai S, Hu XQ, Peng DQ, et al. 2016. The roles of autophagy in vascular smooth muscle cells. *Int J Cardiol*, 211: 1-6.
- Zetter BR, Antoniades HN. 1979. Stimulation of human vascular endothelial cell growth by a platelet-derived growth factor and thrombin. *J Supramol Struct*, 11(3): 361-370.

第二节 血管平滑肌细胞生长增殖

一、生理、生化、生物学特征

在生理及病理状态下,各种不同的生长因子及细胞因子均可以影响 VSMCs 的增殖、生长、迁移及凋亡等重要的生物学功能。研究表明,Ang II、PDGF、ET-1、TGF、ECM 等均参与 VSMCs 的生长及增殖的调控过程。

1. Ang II 是因失血引起循环血量减少或肾病导致肾血流量减少等刺激肾小球旁器的

球旁细胞分泌的一种酸性蛋白质,即肾素。肝合成的血管紧张素原(属 α 球蛋白)是其前体,被水解为 Ang I。Ang I 随血液流经肺循环时,受肺所含的血管紧张素转化酶作用,被水解为 8 肽的 Ang II,部分 Ang II 受血浆和组织液中血管紧张素酶 A 的作用,被水解为 7 肽的 Ang III。Ang II 是血管紧张素中最重要的组成部分。人体的 VSMCs、肾上腺皮质球状带细胞及脑、心和肾细胞上均存在血管紧张素受体,其与 Ang II 结合产生多种生理效应。Ang II 作用于血管平滑肌,可使全身微动脉收缩、动脉血压升高。Ang II 是已知的最强的缩血管活性物质之一。作用于外周血管,使静脉收缩,回心血量增加;作用于中枢,可引起渴觉。

2. PDGF 源于血小板的 α 颗粒中的分离碱性蛋白质和酪氨酸激酶肽段的结构域。PDGF 由 A 链、B 链、C 链、D 链构成 5 种二聚体形式,即 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-AB、PDGF-CC、PDGF-DD。PDGF 是刺激 VSMC 从收缩型向合成型(增殖型)转化的强效细胞生长因子。当受体与其配体结合后促使两个受体分子形成二聚体,激活细胞内结构域酪氨酸残基自身磷酸化或促使激活特殊靶蛋白的酪氨酸残基磷酸化,从而将信号转导途径传入细胞内,经级联效应参与调控细胞的生命活动如细胞存活、ECM、趋化活性、缩血管活性、促细胞增殖及参与磷酸酯酶激活等生物学功能。研究表明,PDGF 作为一种重要的促有丝分裂因子,能明显诱导 VSMCs 增殖和迁移过程。

3. TGF 有 TGF- α 和 TGF- β 两种多肽类生长因子。TGF- α 由巨噬细胞、脑细胞和表皮细胞产生,可诱导上皮及平滑肌细胞生长。TGF- β 是由 TGF- β_1 、TGF- β_2 、TGF- β_3 这 3 种亚型组成的多功能超家族蛋白,可以激活细胞表面的 TGF- β 受体(作为丝氨酸、苏氨酸激酶受体),影响细胞的生长、分化、增殖、凋亡及免疫调节等功能。研究表明,TGF- β 的表达与不同表型 VSMCs 状态密切相关,TGF- β 可能通过不同的信号传递分子调控细胞增殖功能,并在 VSMCs 由合成表型逆转为分化表型的分子调控中发挥重要的作用。

4. ET 是由 21 个氨基酸残基组成的活性多肽,迄今为止发现最强的缩血管物质之一。ET-1 不仅存在于血管内皮,也广泛存在血管平滑肌等细胞中,引起血管收缩、细胞增殖,对维持基础血管张力与心血管系统稳态起重要作用。肾上腺素、血栓素、血管加压素、血管紧张素、胰岛素、细胞因子、血管壁剪切力与压力的变化及缺氧等物理因素均可刺激 ET-1 的合成;一氧化氮、PGI₂、心房利钠肽及肝素等影响因素可抑制 ET-1 的合成。内皮细胞分泌 ET 等多种细胞因子促进 VSMCs 增殖,其中 ET-1 发挥主要的作用。在自发性高血压大鼠的 VSMCs 中,处于 G₁/S 期的 VSMCs 中 ET 浓度明显高于 G₂/M 期。因此,ET-1 是为促使 VSMCs 增殖的关键因子之一。

5. 凝血酶 是一种丝氨酸蛋白酶,在人体内发挥抗凝作用的血管活性肽物质。由凝血酶原复合物中的非活性凝血酶原在 Xa 因子(FXa)的作用下通过蛋白裂解的方式产生。当循环凝血因子在暴露的血管外组织与组织因子相接触时,凝血酶会在组织上聚集。凝血酶通过激活血小板,催化纤维蛋白原转化为纤维蛋白,促进血块稳定而局部应用后作用于病灶表面的血液很快形成稳定的凝血块,用于控制毛细血管、静脉出血或作为皮肤、组织移植物的黏合、固定剂。凝血酶对血液凝固系统的其他作用,还包括诱发血小板聚集、继发释放反应等。凝血酶激活凝血酶受体,其信号转导途径主要是 MAPKs、Jak-STAT、SAPKs 及蛋白酪氨酸激酶受体(PTK 受体)等,且参与 VSMCs 增殖。

6. ECM 是由细胞合成并分泌到细胞表面、细胞间及细胞外的多糖、蛋白质等大分子物质。细胞外基质的组成有糖胺聚糖(glycosaminoglycan)、结构蛋白及黏着蛋白(adhesive pro-

tein)等成分,并以胶原和蛋白聚糖为基本骨架在细胞表面形成纤维网状复合物,这种复合物通过纤维粘连蛋白或层粘连蛋白及其他的连接分子,直接与细胞表面受体连接或附着到受体上。这些物质构成复杂的网架结构,支持并连接组织结构,调节组织的发生和细胞的生理活动。ECM通过与VSMCs表面上的整合素受体结合形成黏着斑,激活黏着斑激酶,触发细胞内一系列信号传导,对于VSMCs迁移和增殖过程具有重要的作用。

二、调控及机制

VSMCs的表型转化、增殖、迁移到血管内膜,导致内膜增生是高血压、动脉粥样硬化和血管介入治疗后再狭窄等疾病主要病理过程的重要环节。大量研究表明,Ang II、PDGF、ET-1、TGF- β 、凝血酶及ECM等细胞因子,通过影响多种信号转导途径参与VSMCs增殖的调控过程,从而参与血管增生性疾病的发生发展。

1. Ang II相关调控机制 Ang II作为血管细胞分泌的最强的缩血管活性物质能够介导VSMCs的增殖。Ang II与AT1受体结合,激活Jak/STAT通路,从而介导大鼠VSMCs增殖。Ang II受体I阻滞药(Valsartan)可以抑制内膜受损动脉中膜VSMCs增殖。氧化型低密度脂蛋白促进肾素受体的表达,从而与Ang II结合,诱导人主动脉VSMCs增殖。小凹蛋白1可促进血管紧张素II诱导VSMCs增殖。人白细胞介素10可显著抑制Ang II诱导的VSMCs增殖。Sirt3抑制血管紧张素II诱导的小鼠VSMCs增殖。MAPK/ERK信号通路介导miR-320a靶向调节MMP-9水平,抑制血管紧张素II诱导的人主动脉VSMCs增殖迁移功能;另外,miR-155及miR-130a也能够下调AT1R的表达,抑制血管紧张素促进的VSMCs增殖。

2. PDGF相关调控机制 VSMC能够合成及分泌PDGF,与细胞膜上的PDGF受体自身磷酸化结合后激活下游的信号通路发挥生物学作用。目前研究证实,MAPK、ERK-MAPK38-MAPK、JNK-MAPK等3个MAPK途径均可介导PDGF促进VSMCs增殖及迁移。血小板源性生长因子BB(PDGF-BB)通过Pim-1调节VSMCs增殖,STAT3可能参与了PDGF-BB诱导的VSMCs增殖过程。VSMCs增殖核受体Nur77也参与PDGF诱导的VSMCs增殖。SHH信号通路阻断剂(cyclopamine)可抑制PDGF诱导VSMCs增殖的作用。

3. TGF- β_1 相关调控机制 TGF- β_1 诱导血管平滑肌细胞表达MMP9的过程,是由依赖ROS的ERK-NF- κ B信号通路介导。TGF- β 通过调控Sirt1和Sirt2上调VSMC缝隙连接蛋白-43的表达,从而参与自发性高血压大鼠诱导的VSMCs增殖。TGF- β_1 /Smad₄调控VSMCs分化功能;Smad₇信号传导通路发挥VSMCs增殖。因此,TGF- β /Smads在VSMCs由合成表型逆转为分化表型的分子调控中发挥重要作用。反义Smad₃腺病毒载体转染对增生型VSMC具有增殖抑制作用,为阻断TGF- β_1 信号转导和预防增生性血管病变奠定了基础。TGF- β_1 和Fenofibrate联合使用诱导VSMC分化和抑制VSMC增殖及迁移,这一过程与促进KLF₄表达有关。TGF- β_1 诱导的Smad₂/Smad₃蛋白磷酸化依赖ERK通路激活,但对TGF- β_1 的抑制平滑肌细胞增殖的作用无影响。因此,ERK信号转导通路可能不参与TGF- β_1 介导其增殖过程。Slit2-RAC1通路介导TNF- α 诱导的大鼠胸主动脉VSMCs增殖及迁移。

4. ET-1相关调控机制 ET-1通过MEK/ERK通路诱导细胞周期,参与VSMC增殖调节。ET-1还通过影响细胞周期调节素D1与细胞外信号调节性激酶通路促进VSMCs增殖。