

血管外膜成纤维细胞在血管损伤后狭窄中的作用

鹿燕敏, 霍海如, 谭余庆*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 血管损伤后狭窄是许多心血管疾病发展到后期的共同病理改变, 严重影响了心血管疾病的治疗和预后。研究发现血管外膜成纤维细胞在此过程中发挥重要作用, 该文对血管外膜成纤维细胞在血管损伤中的结构和功能变化等行为特征, 如增殖, 迁移, 分泌细胞外基质及合成的细胞因子和酶等进行了综述。

[关键词] 血管外膜成纤维细胞; 血管损伤后狭窄; 细胞因子; 酶

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2008)03-0075-03

Role of Vascular Adventitial Fibroblasts in Vascular Stenosis Following Vascular Injury

LU Yan-min, HUO Hai-ru, TAN Yu-qing*

(Institute of Chinese materia medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] The vascular stenosis induced by injury is the common pathological changes of many cardiovascular diseases, which remains the major barrier to the advancement of medical treatment. Recent studies show that the adventitial fibroblasts play an important role in vascular stenosis. This review summarizes the functional and structural behaviors of the cells in the progress, including cell proliferation, migration, matrix protein production, generation of cytokines and enzymes.

[Key words] adventitial fibroblasts; vascular stenosis; cytokines; enzymes

血管损伤后发生的管壁结构重塑是血管重建术后再狭窄、动脉粥样硬化等多种心血管疾病发病的共同病理基础。已有研究表明, 血管内皮细胞(VEC)、血管平滑肌细胞(VSMC)、外膜成纤维细胞(AF)、其他血管壁细胞和基质均参与血管再狭窄的修复。原先普遍认为的血管平滑肌细胞在内膜增厚和再狭窄中占主导地位的观点已有所动摇。越来越多的证据表明, AF 是血管新生内膜形成、不良血管重塑和血管再狭窄的病理基础, 在血管再狭窄病变中扮演了重要角色。

1 AF 的特征

成纤维细胞是血管外膜的主要细胞成分, 由胚

胎时期的间充质细胞(mesenchymal cell)分化而来。其主要功能是分泌细胞外基质, 维持血管正常结构和物理性能。

1971 年 Gabbiahi 等^[1]发现, 在肉芽形成过程中, 成纤维细胞获得平滑肌细胞特征, 主要识别特征是胞浆内出现 α -平滑肌肌动蛋白(α -SM-actin), 被命名为肌成纤维细胞。通过电镜观察超微结构显示这些细胞含有丰富的微丝(应力纤维)以及扩张的粗面内质网, 并与周围细胞外基质产生广泛的联系。肌成纤维细胞通过细胞外基质的合成及收缩来闭合伤口。随后陆续有报道证实, 肌成纤维细胞在与组织退缩和重构有关的临床病变中发挥重要作用。与伤口愈合过程类似, 血管损伤能够刺激 AF 向肌成纤维细胞发生表型转化^[2]。

2 AF 在血管损伤中的变化

2.1 AF 增殖 AF 增殖是血管损伤后的早期表现,

[收稿日期] 2007-09-19

[通讯作者] * 谭余庆, Tel: (010) 64011599; E-mail: tanyq@263.net

net

其增殖依靠活性氧类(reactive oxygen species, ROS),特别是来源于还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶的 H₂O₂ 作用。在动脉损伤的动物模型中,使用 5-溴-2-脱氧尿苷(BrdU)标记的 AF 绝大多数集中于血管外弹力层以外的血管外膜。血管损伤后局部缺血、缺氧,血管外膜的 AF 能够快速适应局部血管的需要,启动 G_q 蛋白信号转导通路,激活蛋白激酶 C(PKC)和促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族成员^[3],导致 AF 大量增殖。

2.2 AF 迁移入内膜 Siow 等^[4]在导管损伤大鼠颈动脉的模型中,用表达 β-半乳糖苷酶(LacZ)的腺病毒载体标记 AF,直接找到了 AF 在动脉损伤后由外膜迁移到内膜,引起血管重构的证据。至于外膜肌成纤维细胞向内膜迁移的机制可能有趋化剂的梯度作用、血管损伤后 AF 分泌基质金属蛋白酶增多等外因^[5],但其内在的原因是细胞周期调节失调。细胞周期蛋白激酶(CDK)抑制因子(p27Kip1)低水平的表达,能够使 AF 和 VSMC 有较高的增殖和迁移能力^[6]。因此,AF 的增殖和迁移通过 p27Kip1/CDK/pRb/E2F(pRb,视网膜母细胞瘤蛋白;E2F 是一种转录因子)通路协同调节。

2.3 AF 合成胶原增多 血管损伤使得 AF 向肌成纤维细胞转化,后者具有很强的合成前胶原 α₁ 信使核糖核酸(mRNA)及细胞内蛋白的能力,继而引起后期细胞外基质的过度沉积。AF 在迁移入内膜后继续表现出合成活性。由此可见,损伤后的 AF 通过最初的组织细胞增生、水肿以及后期富含胶原的瘢痕组织形成导致了局部外膜的增厚及重构。

3 AF 分泌的细胞因子

成纤维细胞具有重要的生物合成能力和免疫调节能力。在血管损伤时,细胞能够分泌多种活性因子,诱导细胞的增殖分化等。

3.1 内皮素 内皮素(Endothelins, ET)是一种缩血管肽,由机体细胞以自分泌或旁分泌的形式分泌,主要在局部通过内皮素的特异性受体起调节作用,它还是一种重要的促有丝分裂因子。ET 主要由血管内皮细胞(EC)分泌,An SJ 等^[7]首次研究发现 AF 能够合成和分泌 ET-1,而且 ET-1 能够诱导 AF 进一步合成和分泌 I 型胶原蛋白,通过基因测序证实这种外膜源性的 ET-1 与内皮细胞分泌的 ET-1 完全相同。在血管紧张素 II 刺激下,AF 培养液中 ET-1 的分泌呈时间剂量依赖性,AF 能够表达 ET-1 和 I 型

胶原蛋白的 mRNA,用蛋白免疫印记(Western Blotting)检测其蛋白的表达与 mRNA 水平趋势一致,推测外膜源性的 ET-1 的分泌参与了血管损伤及其之后发生的修复过程。

3.2 骨桥蛋白 骨桥蛋白(Osteopontin, OPN)是细胞外基质中一种重要的功能性蛋白。OPN 作为多种细胞的粘附性基质,能够促进包括 EC、VSMC、巨噬细胞在内的多种细胞与细胞外基质发生粘附,为新生内膜的形成奠定基础。Sun AJ 等^[8]研究发现 AF 在基础状态下存在 OPN mRNA 表达,且 TGF-β1 刺激后 OPN 基因的表达大幅度提高,首次证实血管外膜是 OPN 产生的潜在源泉。运用反义技术发现反义 OPN 具有显著抑制 AF 迁移的作用,而正义 OPN 和错配 OPN 不具有这种作用。可见 OPN 作为一种趋化因子在外膜细胞的迁移中起着非常重要的作用。

3.3 肝细胞生长因子 肝细胞生长因子(Hepatocyte growth factor, HGF)又称扩散因子,它能刺激多种细胞增殖、分化、迁移,促进损伤组织修复、血管新生、肿瘤的生长和转移。Li Y 等^[9]检测到了血管 AF 中有 HGF 及其受体基因及蛋白的表达。实时定量 PCR 分析表明 AF 激活转变为肌成纤维细胞后, HGF 基因转录表达增加, HGF 基因表达上调的同时,其受体表达也明显上调。直接以 HGF 刺激 AF 之后, AF 中 α-SM-actin 的表达与 HGF 呈一定的时间及浓度依赖关系,并且随 HGF 浓度的增加,其对 AF 的迁移作用逐渐增强。提示 HGF 存在促 AF 表型转化作用,对血管损伤后 AF 迁移可能也有一定作用。

3.4 结缔组织生长因子 结缔组织生长因子(Connective tissue growth factor, CTGF)主要生物学活性是促细胞有丝分裂、趋化、凋亡调节及血管形成。Che ZQ 等^[10]用免疫细胞化学及蛋白免疫印迹技术均证实 AF 表达 CTGF,并进一步证实 CTGF 可刺激 AF 表型转化,采用 CTGF 真核表达载体,在 AF 中得到高表达 CTGF,在 CTGF 质粒转染组 α-SM-actin 的表达,与空白载体对照组和阴性对照组相比明显增加。说明 CTGF 可促进 AF 表型转化。

4 与 AF 相关的酶类

4.1 基质金属蛋白酶 基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)是一种依赖锌离子并以细胞外基质(Extracellular, ECM)成分为水解底物的蛋白水解酶, MMPs 通过对 ECM 成分的水解,影响其水解与重组的动态平衡。动物实验证实,球囊血管损伤术

直接血管损伤,引起早期基质降解增加,随后基质聚集增加。AF 能够分泌 MMPs 及血浆纤维酶原活化因子,降解 ECM,降低其黏度,利于细胞迁移。在血管损伤后,MMPs 对于 AF 的迁移和新生内膜的形成是必要的。在血管成形术后 2h,迁移的 AF 中就可以检测到 MMP-2 MMP-9 和黏蛋白的基因表达,并参与新生内膜的细胞积聚和生长因子的合成^[11]。这一迁移现象是和由血管外膜释放的较高 MMPs 的活性相平行的。

4.2 NAD(P)H 氧化酶 AF 中存在 NAD(P)H 氧化酶系统。AF 能够在刺激因素作用下由 NAD(P)H 氧化酶产生超氧阴离子,研究表明 NAD(P)H 氧化酶产生的超氧阴离子促使了血管紧张素 II 引起的高血压。Shen^[12] 等研究揭示血管紧张素 II 刺激 AF 发生表型转化是通过 NAD(P)H 氧化酶产生的 ROS 起作用,提示外膜 NAD(P)H 氧化酶系统在血管修复中发挥潜在作用。

5 展望

5.1 抑制细胞活化 目前对血管疾病的再狭窄机制的研究已经深入到分子水平,AF 的过度增殖与分泌细胞外基质造成了血管壁的增厚,可能是治疗再狭窄的靶点。已经有研究使用反义寡核苷酸链直接阻断细胞周期调节基因,消除短期的细胞增殖反应有比较好的效果。那么探索有效中药成分抑制外膜成纤维细胞的活化,达到预防再狭窄的目的将会使心血管中药研究的前景更加广阔。

5.2 抑制细胞因子以及相关酶活性的作用 外膜成纤维细胞生成的活性因子和酶类在血管损伤中发挥了重要作用,但其作用机制还不明确,进一步研究其作用机制,抑制这些因子以及酶的产生或阻断其信号通路,将有可能成为临床治疗和预防再狭窄的新途径。

[参考文献]

[1] Gabbiani G, Ryan GB, Majne G. Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction[J]. *Experientia*, 1971, 27(5): 549-550.
[2] Sartore S, Chiavegato A, Faggini E, *et al.* Contribution of

adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant [J]. *Circ Res.*, 2001, 89 (12): 1111-1121.

- [3] Stenmark KR, Gerasimovskaya E, Nemenoff RA, *et al.* Hypoxic activation of adventitial fibroblasts: role in vascular remodeling[J]. *Chest*, 2002, 122: 326-334.
[4] Siow RC, Mallawaarachchi CM, Weissberg PL. Migration of adventitial myofibroblasts following vascular balloon injury: insights from in vivo gene transfer to rat carotid arteries[J]. *Cardiovasc Res.*, 2003, 59 (1): 212-221.
[5] Wilcox JN, Okamoto EI, Nakahara KI, *et al.* Perivascular responses after angioplasty which may contribute to postangioplasty restenosis: a role for circulating myofibroblast precursors? [J]. *Ann N Y Acad Sci.* 2001. 947: 68-90.
[6] Diez-Juan A, Andres V. Coordinate control of proliferation and migration by the p27Kip1/cyclin dependent kinase/retinoblastoma pathway in vascular smooth muscle cells and fibroblasts[J]. *Circ Res.*, 2003, 92 (4): 402-410.
[7] An SJ, Boyd R, Wang Y, *et al.* Endothelin-1 expression in vascular adventitial fibroblasts[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2006, 290(2): 700-708.
[8] Sun AJ, Gao PJ., Liu JJ, *et al.* Osteopontin enhances migratory ability of cultured aortic adventitial fibroblasts from spontaneously hypertensive rats [J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2004, 56(1): 21-24.
[9] Li Y, Wang GL, Gao PJ, *et al.* Expression of Hepatocyte growth factor and its receptor in adventitial fibroblasts and myofibroblasts[J]. *Chin J Cardiol.*, 2003, 31(2): 132-135.
[10] Che ZQ, Gao PJ, Ji KD, *et al.* Effect of recombinant connective tissue growth factor on the phenotype transition of rat adventitial fibroblasts [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2006, 22(12): 2317-2321.
[11] Cai WJ, Koltai S, Kocsis E, *et al.* Remodeling of the adventitia during coronary arteriogenesis[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2003, 284(1): 31-40.
[12] Wei-Li Shen, Ping-Jin Gao, Zai-Qian Che, *et al.* NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species regulate angiotensin II induced adventitial fibroblast phenotypic differentiation[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 339(1), 337-343.