

动脉粥样硬化斑块滋养血管研究

董 震 孙爱军 施海明

【摘要】 研究表明,动脉粥样硬化斑块滋养血管在促进斑块的进展、不稳定斑块的形成、斑块内出血甚至破裂方面有着不可忽视的作用。随着对不同阶段斑块滋养血管新生机制研究的进一步深入,针对其进行有效的干预进而达到延缓斑块进展、增加斑块稳定性的目的也将成为可能,这或许能够为临床治疗动脉粥样硬化疾病提供新的策略和理念。

【关键词】 斑块滋养血管;动脉粥样硬化;血管新生

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2014.04.008

动脉粥样硬化(AS)是一种动脉血管壁发生的慢性炎症性疾病,与心肌梗死、脑血管意外等严重临床后果有着密不可分的联系。目前,该疾病已成为全球范围内人类致死致残的主要原因。研究表明,动脉粥样硬化斑块内的滋养血管新生可以促进斑块的发展。因此,通过抑制斑块滋养血管新生过程以阻止斑块的演变进展能否作为治疗动脉粥样硬化疾病新的治疗策略,也正成为研究的热点^[1]。

1 斑块新生滋养血管的特征

生理情况下,新生成微血管由内皮细胞及壁细胞(包括周细胞和平滑肌细胞)构成,结构稳定且不易渗漏。有观察发现,在斑块病变处通常出现由血管外膜而来的滋养血管,随着此种滋养血管不断深入,其血管结构也逐渐失去完整性,如缺乏周细胞或平滑肌细胞围绕,表现出新生血管的特征如出芽、血管扩张等^[2-3]。这些现象提示幼稚斑块滋养血管结构脆弱,具有更高的通透性^[4]。这些特征与动脉粥样硬化斑块的发展演变、斑块内出血乃至破裂存在密切联系,进而可能导致不良临床事件如不稳定心绞痛、心肌梗死等的发生。有研究证据显示,在斑块发生的早期阶段,促使滋养血管向斑块侵入的因素业已存在,很可能在促进早期斑块的形成及斑块后续发展演变过程中扮演着重要角色^[3]。

2 滋养血管演变过程及发生机制

血管滋养血管大多数位于动脉外膜,如主动脉、冠状动脉、颈动脉和股动脉等^[5]。在生理状态下,外膜来源的滋养血管微血管仅局限于管壁中膜

的外层和外膜之中,并不会侵入内膜层。从管腔血液进入管壁的氧气及营养物质的最大扩散距离约为 100 μm ,这在正常动脉中足以营养内膜层及中膜的内层^[6]。但当血管壁的厚度超过氧气的最大扩散距离^[7],或者动脉管壁内存在能够刺激滋养血管新生的病理因素时,血管滋养血管就会由中膜外层继续向内膜生长,并侵入到内膜层斑块病损之中,进而导致后续的病理变化^[1]。

血管新生是在毛细血管基础上以出芽或非出芽方式形成新的毛细血管的生理或病理过程:包括血管通透性增加、血管周围细胞外基质降解,内皮细胞趋化迁移、增殖并相互连接,形成管腔样结构,最后细胞连接收缩,从而使新形成的微血管达到功能性成熟;各种细胞因子如血管内皮生长因子(VEGF)家族,在调节新生血管形成的整个过程中起着关键作用^[8]。

2.1 斑块内缺氧因素作用

管壁及斑块内的缺氧因素一直被认为是促进斑块内新生血管形成最主要的机制之一。已有实验证明,在成熟动脉粥样硬化斑块深部存在着缺氧区域^[9],特别是在巨噬细胞及泡沫细胞富集的区域尤为明显^[10]。其缺氧机制可能是由于动脉粥样硬化斑块导致管壁厚度增加,超过了氧气的有效弥散距离,致使氧气供给不足;加之斑块内巨噬细胞和泡沫细胞等炎症细胞增多,导致氧气消耗增加,进而引起管壁及斑块内缺氧区域的形成。在缺氧条件下,会引起细胞内缺氧诱导转录因子(HIF)如 HIF-1 α 的表达积累增加。HIF-1 是一种异二聚体转录因子,分别由 α 与 β 亚基组成。在正常供氧条件下,细胞内虽能持续合成 HIF-1 α 蛋白,但随即又泛素化降解。而在缺氧条件下,这种降解作用被抑制,从而使得 HIF1- α 积累增加,并与 HIF-1 β 组成

作者单位:200040 上海,复旦大学附属华山医院心内科(董震、施海明);200032 上海,复旦大学附属中山医院,上海市心血管病研究所(孙爱军)

通信作者:施海明,Email: shihmhs@yahoo.com.cn

异二聚体,进而结合到核内缺氧反应元件的靶基因,激活靶基因的转录。目前已获知,超过 40 种基因被 HIF-1 α 激活,这其中就包括了负责产生一氧化氮合成酶(NOS)及 VEGF 家族的基因^[10]。NOS 介导了血管新生早期阶段的血管扩张过程;VEGF 家族在血管新生过程中的重要作用更是不言而喻^[8]。在 VEGF 和其他血管生成调节因子及相关酶的参与下,新生滋养血管由中膜外层逐步侵入至内膜斑块之中。这些证据表明,斑块核心内部的缺氧条件很可能是促进斑块内血管新生活动的关键刺激因素。

2.2 斑块内炎症因素作用

动脉粥样硬化一直被认为是一种免疫炎症性疾病,炎症细胞浸润可见于动脉粥样硬化各个阶段。这些炎症细胞不仅可以生成多种炎症趋化因子、细胞因子和基质金属蛋白酶,还产生多种生长因子和免疫微颗粒。这些炎症细胞及其产生的生物活性成分,均与血管新生过程有着密切的联系。例如:巨噬细胞分泌的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)已被证实具有促血管新生的作用^[11];白细胞介素(IL)-8 不仅具有促动脉粥样硬化作用,其促血管新生活性更相当于 VEGF 和成纤维细胞生长因子(FGF)-2^[12];在 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化模型中,斑块内的滋养血管密度与炎症细胞(尤其是巨噬细胞)的聚集程度高度相关^[13];动脉粥样硬化斑块内 CD40 配体和微颗粒能够通过 CD40 受体结合,进而可以促进内皮细胞增殖,促进斑块内新生滋养血管的形成^[14-15];有研究显示,在人体病理标本中可以观察到动脉粥样硬化斑块内肥大细胞数量与斑块内微血管密度呈正相关关系,并且斑块内肥大细胞数量也与远期不良心血管事件的发生密切相关^[16]。由此认为,斑块内浸润的炎症细胞及其释放的促血管生成因子,在一定程度上使得病损动脉壁内形成一个利于滋养血管生长的微环境^[6],从而促进了动脉粥样硬化斑块滋养血管新生过程。

2.3 斑块脂质可溶性成分作用

有证据显示,在斑块早期进展阶段动脉壁内已存在着促进斑块滋养血管新生的因素。Ho-Tin-Noé 等^[3]在实验中发现,在人类动脉粥样硬化斑块发展的较早阶段(如脂质条纹、纤维斑块阶段),斑块内的脂质可溶性成分可以渗入动脉中层平滑肌之中,通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)- γ 途径使得动脉中层平滑肌表型发生改变,使其分泌

VEGF-A 增加,进而诱导中膜外层滋养血管逐步向内膜甚至斑块内侵入。实验还发现,在形成脂质条纹的标本中,中层平滑肌内的血管密度与正常标本相比明显增多,但两者中膜厚度并没有差异;对 HIF-1 α 的检测发现,HIF-1 α 的表达上调仅局限于斑块病损内部,在中层平滑肌并没有显著增加。这一结果表明,与脂质可溶性成分相比,缺氧因素至少在斑块形成较早阶段促进滋养血管生长的作用并不显著。

由此可以推测,从内皮损伤作为动脉粥样硬化的起始因素开始,随着脂质条纹的形成,斑块中的可溶性脂质成分逐渐向中膜扩散,导致中膜平滑肌细胞表型发生修饰改变,分泌 VEGF-A 增加,诱导并促使分布于中膜外层及外膜的滋养血管逐步向内膜乃至斑块中生长。由于这些新生的滋养血管缺乏壁细胞(平滑肌或周细胞),结构脆弱、通透性高且易破裂,血细胞及血液中可溶性成分可以通过这种血管向内膜及斑块内部渗入,进而加速斑块的发展。随着斑块的成熟以及血管壁的增厚,斑块内部即可出现明显的缺氧区域,导致 HIF-1 α 积累增加进而启动缺氧转录机制,包括 NOS 以及 VEGF 家族在内的多种细胞因子合成增加,从而进一步促进了滋养血管的生长。与此同时,伴随滋养血管而来的各种炎症细胞及炎症因子,一方面可直接促进滋养血管的生长,另一方面又可加重内膜及斑块中缺氧状态,进而间接促进了新生滋养血管生长,形成恶性正反馈循环。

3 滋养血管对动脉粥样硬化斑块的影响

斑块内的新生滋养血管因其结构脆弱、易于渗漏特征,一直被被认为是向斑块输送血细胞及血液可溶性成分(如脂质、细胞因子、生长因子等)的通道^[2,7,17-18]。

3.1 促进斑块进展及不稳定斑块的形成

Moulton 等^[19]在 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化模型中证实,抑制斑块内滋养血管生长可能成为延缓甚至抑制斑块进展重要途径;Moulton 等^[13]又证实血管抑素可能是通过抑制斑块新生滋养血管形成,进而明显减少斑块和滋养血管中的巨噬细胞数量,通过抑制激活的巨噬细胞促血管新生和炎症细胞招募作用而延缓斑块的进展;而 Eriksson 等^[2]的实验则说明了斑块滋养微血管是白细胞进入晚期斑块的主要通道。诸多证据表明,斑块内的新生滋养血管可以作为炎症细胞的输送通道,参与斑块内

复杂的慢性炎症反应过程,并且随着越来越多炎症细胞在斑块内聚集,各种细胞因子(如 TNF- α 、IL-1、INF- γ)释放增多,进而促使各种细胞成分的凋亡,斑块坏死核心增大,加之炎症细胞释放的基质金属蛋白酶促进了纤维帽变薄甚至破裂,从而促进了斑块的进一步发展和不稳定斑块的形成^[20-21]。

3.2 促进斑块内出血和斑块破裂

斑块内出血被认为是导致动脉粥样斑块迅速发展、不稳定甚是斑块破裂的关键机制^[22]。正如上文提到的,由于斑块内新生滋养血管特殊的结构特点提示此种血管易于白细胞黏附及渗出^[2],相比正常微血管有着更高的破裂风险^[1],进而增加了斑块内出血发生的可能性。晚期斑块内部随着出血次数的增加会导致坏死核心扩大,同时会招募更多的单核/巨噬细胞浸润到斑块之中。有证据还表明,发生出血的斑块更易于破裂^[22]。当发生斑块内出血后,随之而来的便是血液循环中的各种成分大量进入斑块之中,这包括红细胞、白细胞、血小板、以及各种血浆蛋白等。一方面,血液中循环细胞的细胞膜可以释放出游离胆固醇^[17],游离胆固醇形成的胆固醇结晶可以破坏生物膜、侵蚀薄纤维帽,诱导管腔内血栓形成,并在斑块早期激活炎症反应^[23];不仅如此,游离胆固醇还可以与激活的单核/巨噬细胞结合,进而形成大量的泡沫细胞,导致斑块坏死核心不断增大。另一方面,进入斑块内的红细胞破裂后会释放出血红蛋白,在脂质的氧化作用下含有二价铁的血红蛋白可以被氧化成具有更高活性的三价铁血红蛋白,进而释放出具有高度细胞毒性的三价含铁血红素,而三价含铁血红素可以介导脂质的氧化修饰过程,并对内皮细胞具有细胞毒性作用^[24]。最后,随大量斑块内出血或者细胞凋亡而来的还有各种细胞内活性蛋白酶成分,它们对于纤维帽的变薄、斑块成分的演变甚至最终破裂会产生重要影响。

4 当前研究的局限及前景

斑块滋养血管在斑块的进展、斑块内出血、斑块破裂方面都发挥着不可忽视的作用,对于它在斑块演变过程中的分子生物学机制需要深入研究。如何建立一种可靠、恰当的动物模型,以充分表明斑块滋养血管与动脉粥样硬化疾病发展演变的确切关系,是研究中一个难题^[1,18,25];如何使用或是何时使用血管新生抑制剂既能达到抑制斑块内滋养血管新生过程,延缓动脉粥样硬化进展,又能最大

程度地减少血管新生抑制剂所带来的负面效应的目的,需更多的研究证据加以佐证和说明。不过,Chen 等^[26]在关于不稳定斑块模型研究中所展现出斑块滋养血管与斑块不稳定性的关系,或许能为今后研究斑块滋养血管新生提供新的视角和方法;血管内超声的应用或许能够成为临床监测斑块滋养血管的有效手段^[27-28]。

参 考 文 献

- [1] Doyle B, Caplice N. Plaque neovascularization and antiangiogenic therapy for atherosclerosis [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 49 (21): 2073-2080.
- [2] Eriksson EE. Intravital microscopy on atherosclerosis in apolipoprotein e-deficient mice establishes microvessels as major entry pathways for leukocytes to advanced lesions [J]. Circulation, 2011, 124(19): 2129-2138.
- [3] Ho-Tin-Noé B, Le Dall J, Gomez D, et al. Early atheroma-derived agonists of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma trigger intramedial angiogenesis in a smooth muscle cell-dependent manner [J]. Circ Res, 2011, 109 (9): 1003-1014.
- [4] Sluimer JC, Kolodgie FD, Bijnens AP, et al. Thin-walled microvessels in human coronary atherosclerotic plaques show incomplete endothelial junctions relevance of compromised structural integrity for intraplaque microvascular leakage [J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 53(17): 1517-1527.
- [5] Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, et al. Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability [J]. Circulation, 2004, 110(14): 2032-2038.
- [6] Khurana R, Simons M, Martin JF, et al. Role of angiogenesis in cardiovascular disease: a critical appraisal [J]. Circulation, 2005, 112(12): 1813-1824.
- [7] Jaipersad AS, Lip GY, Silverman S, et al. The role of monocytes in angiogenesis and atherosclerosis [J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63(1): 1-11.
- [8] Riazy M1, Chen JH, Steinbrecher UP. VEGF secretion by macrophages is stimulated by lipid and protein components of OxLDL via PI3-kinase and PKC ζ activation and is independent of OxLDL uptake [J]. Atherosclerosis, 2009, 204(1): 47-54.
- [9] Björnheden T, Levin M, Evaldsson M, et al. Evidence of Hypoxic Areas Within the Arterial Wall In Vivo [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999, 19(4): 870-876.
- [10] Sluimer JC, Gasc JM, van Wanroij JL, et al. Hypoxia, hypoxia-inducible transcription factor, and macrophages in human atherosclerotic plaques are correlated with intraplaque angiogenesis [J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 51 (13): 1258-1265.

- renal denervation : effects beyond blood pressure and heart rate reduction [J]. J Am Coll Cardiol, 2014, 63 (13): 1916-1923.
- [18] Sapoval M, Azizi M, Bobrie G, et al. Endovascular renal artery denervation: why, when, and how[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2012, 35(3): 463-471.
- [19] Wojakowski W, Tendera M, Jadczyk T, et al. Catheter-based renal denervation[J/OL]. E-journal of the ESC Council for Cardiology Practice, 2012, 10, [2012-03-12]. <http://www.escardio.org/communities/councils/ccp/e-journal/volume10/Pages/catheter-based-renal-denervation-tendera-m-wojakowsky-w.asp>.
- [20] Prochnau D, Figulla HR, Romeike BF, et al. Percutaneous catheter-based cryoablation of the renal artery is effective for sympathetic denervation in a sheep model[J]. Int J Cardiol, 2011, 152(2): 268-270.
- [21] Stefanadis C. Renal denervation in resistant hypertension: radiofrequency ablation and chemical denervation[J]. Hellenic J Cardiol, 2011, 52(6): 481-482.
- [22] Mahfoud F, Lüscher TF, Andersson B, et al. Expert consensus document from the European Society of Cardiology on catheter-based renal denervation[J]. Eur Heart J, 2013, 34 (28): 2149-2157.
- [23] Thomson Reuters ONE. Medtronic Announces U. S. Renal Denervation Pivotal Trial Fails to Meet Primary Efficacy Endpoint While Meeting Primary Safety Endpoint[EB/OL]. (2014-01-09) [2014-01-09]. <http://newsroom.medtronic.com/phoenix.zhtml?c=251324&P=irol-newsArticle&ID=1889335>.

(收稿:2014-02-18 修回:2014-06-04)

(本文编辑:金谷英)

(上接第 235 页)

- [11] Leibovich SJ, Polverini PJ, Shepard HM, et al. Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumour necrosis factor- α [J]. Nature, 1987, 329(6140): 630-632.
- [12] Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors [J]. Science, 1987, 235(4787): 442-447.
- [13] Moulton KS, Vakili K, Zurakowski D, et al. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(8): 4736-4741.
- [14] Leroyer AS, Rautou PE, Silvestre JS, et al. CD40 ligand + microparticles from human atherosclerotic plaques stimulate endothelial proliferation and angiogenesis a potential mechanism for intraplaque neovascularization [J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 52(16): 1302-1311.
- [15] Rautou PE, Vion AC, Amabile N, et al. Microparticles, vascular function, and atherothrombosis [J]. Circ Res, 2011, 109(5): 593-606.
- [16] Willems S, Vink A, Bot I, et al. Mast cells in human carotid atherosclerotic plaques are associated with intraplaque microvessel density and the occurrence of future cardiovascular events [J]. Eur Heart J, 2013, 34(48): 3699-3706.
- [17] Michel JB, Virmani R, Arbustini E, et al. Intraplaque haemorrhages as the trigger of plaque vulnerability [J]. Eur Heart J, 2011, 32(16): 1977-1985.
- [18] Rademakers T, Douma K, Hackeng TM, et al. Plaque-associated vasa vasorum in aged apolipoprotein E-deficient mice exhibit proatherogenic functional features in vivo [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(2): 249-256.
- [19] Moulton KS, Heller E, Konerding MA, et al. Angiogenesis Inhibitors Endostatin or TNP-470 Reduce Intimal Neovascularization and Plaque Growth in Apolipoprotein E-Deficient Mice [J]. Circulation, 1999, 99(13): 1726-1732.
- [20] Falk E, Nakano M, Bentzon JF, et al. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view [J]. Eur Heart J, 2013, 34(10): 719-728.
- [21] Hu JH, Du L, Chu T, et al. Overexpression of urokinase by plaque macrophages causes histological features of plaque rupture and increases vascular matrix metalloproteinase activity in aged apolipoprotein e-null mice [J]. Circulation, 2010, 121(14): 1637-1644.
- [22] Kolodgie FD, Narula J, Yuan C, et al. Elimination of neoangiogenesis for plaque stabilization: is there a role for local drug therapy? [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 49(21): 2093-2101.
- [23] Duewell P, Kono H, Rayner KJ, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals [J]. Nature, 2010, 464(7293): 1357-1361.
- [24] Nagy E, Eaton JW, Jeney V, et al. Red cells, hemoglobin, heme, iron, and atherogenesis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(7): 1347-1353.
- [25] Mulligan-Kehoe MJ. The vasa vasorum in diseased and nondiseased arteries [J]. A J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(2): H295-H305.
- [26] Chen YC, Bui AV, Diesch J, et al. A novel mouse model of atherosclerotic plaque instability for drug testing and mechanistic/therapeutic discoveries using gene and microRNA expression profiling [J]. Circ Res, 2013, 113 (3): 252-265.
- [27] Kume T1, Okura H, Fukuhara K, et al. Visualization of coronary plaque vasa vasorum by intravascular ultrasound [J]. JACC Cardiovasc Interv, 2013, 6(9): 985.
- [28] Moritz R, Eaker DR, Anderson JL, et al. IVUS detection of vasa vasorum blood flow distribution in coronary artery vessel wall [J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2012, 5(9): 935-940.

(收稿:2014-04-23 修回:2014-05-22)

(本文编辑:金谷英)