

血管平滑肌细胞对动脉粥样硬化形成的作用研究

任安民 戴秋艳

【摘要】 动脉粥样硬化的形成是复杂且缓慢的过程。血管平滑肌细胞可分为合成型和收缩型,参与动脉粥样硬化的发生和发展。该文介绍血管平滑肌细胞外泌体、表型转化、离子通道、自噬以及细胞外高血糖状态对动脉粥样硬化形成的影响。

【关键词】 合成型平滑肌细胞;收缩型平滑肌细胞;动脉粥样硬化

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.05.002

动脉粥样硬化是最常见的心血管疾病之一^[1]。近年来,有关血管平滑肌细胞(VSMC)在动脉粥样硬化中作用的研究逐渐深入。VSMC 分为收缩型和合成型,当血管遭受机械或化学物质刺激时,VSMC 转变为收缩型,做出收缩反应,而合成型 VSMC 主要分泌细胞外基质以及血管活性物质。VSMC 在正常的血管壁上表现为收缩型,标志性蛋白为 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、平滑肌 22 α (SM22 α)和调宁蛋白,合成型 VSMC 标志性蛋白为骨桥蛋白和糖基蛋白^[2]。收缩型 VSMC 由血管中膜迁移进入血管内膜,转化为合成型 VSMC 并大量增殖,导致内膜变厚、脂质沉积,最终导致动脉粥样硬化形成。

1 VSMC 外泌体与动脉粥样硬化的关系

外泌体是直径为 40~100 nm 的脂质包裹体,内含多种活性物质或蛋白,经细胞分泌后在血液、体液中传播,最后可被其他细胞吞噬,介导细胞间信息传递。Perrottat 等^[3]通过电镜发现,正常主动脉的内皮细胞不含外泌体,位于中膜的平滑肌细胞中存在少量清晰标记的外泌体;但在病变血管中,两种细胞内均存在大量外泌体。该研究发现,平滑肌细胞的外泌体有两种类型,一种具有双层膜结构,直径 40~100 nm,起源于多泡体的外膜内陷并且内含多泡体;另一种类似在人和小鼠心肌终隔细胞中广泛存在的外泌体,其体积各异,由磷脂双分子层包裹。体外研究发现,人脐静脉内皮细胞在与人主动脉血管平滑肌细胞(HA-VSMC)共培养后其

细胞自噬被抑制,原因是 HA-VSMC 分泌的外泌体中包含微小 RNA(miRNA)-221/222。miR-221/222 作用于内皮细胞的磷酸酶及张力蛋白同源基因/蛋白激酶 B(PTEN/Akt)信号通路,可提高 p62 蛋白表达,抑制内皮细胞自噬^[4]。同时,脐静脉内皮细胞通过旁分泌内含 miR-143/145 的外泌体,促进 VSMC 表型转化,抑制 VSMC 的增殖和迁移,对动脉粥样硬化的形成起抑制作用^[5]。

2 VSMC 表型转化与动脉粥样硬化的关系

动脉粥样硬化斑块中的 VSMC 可转化为其他类型的细胞,如巨噬细胞和间充质干细胞。通过细胞谱系追踪鉴别小鼠粥样斑块中的细胞类型发现,31%表达 α -SMA 的 VSMC 并非来源于 VSMC,16% CD68⁺ 巨噬细胞来源于成熟的 VSMC,与非 VSMC 来源的巨噬细胞相比,VSMC 来源的巨噬细胞内胶原和纤粘蛋白 mRNA 水平增加,炎症因子环氧化酶-2(COX-2)和血管细胞黏附分子 1(VCAM1)表达明显升高,可促进斑块进展^[6]。有研究发现,锌指样转录因子 4(KLF4)参与调控 VSMC 的表型转化,敲除 KLF4 基因,由 VSMC 转化的间充质干细胞和巨噬细胞数量会减少,同时粥样硬化斑块面积也会显著减少,斑块稳定性提高,纤维帽厚度增加^[7]。

3 VSMC 离子通道与动脉粥样硬化的关系

3.1 钾离子通道

VSMC 膜上有 4 种不同类型的钾离子通道,分别为大电导钙激活钾通道(BK_{Ca})、内向整流钾通道(Kir)、电压门控钾通道(Kv)、三磷酸腺苷(ATP)敏感性钾通道(K_{ATP})。VSMC 膜电位主要由钾离子通道控制,钾通道的开放促进钾离子外流,导致膜电位超极化,继而引发电压门控钙通道的关闭,钙

内流的减少会抑制 VSMC 的增殖和迁移,继而产生抗动脉粥样硬化效应。Kir 由 7 个亚家族组成,为 Kir1~Kir7。近期发现,Kir2.1 可调控 VSMC 的表型转化、增殖和迁移。研究证明,大鼠离体的脑、冠状动脉、肠系膜动脉以及肾动脉的 VSMC 上均可表达 Kir2.1,降低大鼠体内 Kir2.1 的表达,可使经血小板源性生长因子 BB(PDGF-BB)刺激的 VSMC 的增殖和迁移减弱,研究同时发现 VSMC 的骨桥蛋白表达降低, α -SMA、调宁蛋白和 SM22 α 的表达水平无明显改变^[8]。

3.2 钙离子与钙离子相关通道

VSMC 细胞膜上有两种电压门控钙通道,分别为 L 型电压门控钙通道(LTCC,有 α 1、 α 2、 β 、 γ 和 δ 5 种亚基)和 T 型电压门控钙通道(TTCC)。研究证明,LTCC 大量表达在收缩型 VSMC 的胞膜^[9],下调 LTCC 会导致收缩型 VSMC 减少和血管肥厚性增加;而 TTCC 较多表达在合成型 VSMC 中,参与调控细胞增殖^[10]。在动脉粥样硬化形成过程中,VSMC 向合成型转化主要是由 TTCC 介导的钙离子内流来调控。研究发现,菊花黄总酮(FDM)能减少电压门控钙通道介导的钙离子内流,阻碍胞内钙离子外流,从而抑制 VSMC 迁移至内膜引起动脉粥样硬化新生内膜增生^[11]。白三烯 B4 通过 p38 信号通路阻碍 LTCC 的开放^[12],氟伐他汀能够调节 LTCC α 1c,逆转 PDGF-BB 刺激下 VSMC 中 LTCC α 1c 的表达减少,抑制 VSMC 的增殖^[13]。这些研究都为动脉粥样硬化治疗提供了新方向。胞内钙离子还参与细胞的胞吞作用,VSMC 可通过钙离子介导的巨胞饮吸收酶修饰低密度脂蛋白(E-LDL)^[14]。

此外,还有一些特殊的离子通道在 AS 的形成中发挥作用,如瞬时受体电位通道 M2(TRPM2)。TRPM2 属于瞬时受体电位(TRP)超家族,为非选择性阳离子通道。在外界刺激下血管新生内膜区域产生大量活性氧,继而激活 TRPM2 促进钙离子内流,通过酪氨酸激酶和 Akt 磷酸化信号通路促进 VSMC 的增殖迁移和血管新生内膜增厚^[15]。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶 5(NOX5)可促进中电钙激活钾通道开放,继而刺激 VSMC 的增殖和迁移^[16]。

4 VSMC 自噬与动脉粥样硬化的关系

自噬是指细胞在相关自噬基因的调控下利用溶酶体或液泡降解受损大分子物质和细胞器的过程,在进化中具有高度保守性。自噬的功能主要是

应对饥饿、营养缺乏等恶劣环境,为细胞生存提供所必须的能量。自噬主要分为 3 种类型:小自噬、分子伴侣介导的自噬、大自噬^[17]。大自噬是最重要的自噬类型,主要通过游离膜结构包裹受损细胞器或胞液形成自噬体,继而与溶酶体或液泡融合形成自噬溶酶体,其内容物分解为游离脂肪酸和氨基酸,为细胞生存提供能量。

在动脉粥样硬化形成过程中,自噬对 VSMC 的调控作用并未明确,且存在对立的观点。以往研究认为自噬有促进 VSMC 凋亡的作用,可加速粥样斑块形成。肿瘤坏死因子- α (TNF- α)^[18]、骨桥蛋白^[19]和血管紧张素 II^[20]均可对 VSMC 产生促自噬、促凋亡作用。但近年来发现,自噬对于 VSMC 有保护作用。在小鼠 VSMC 中敲除自噬基因 Atg7 可引起泛素化蛋白 SQSTM1/p62 表达升高,细胞和细胞核病理性肥大,细胞衰老加快;Atg7 基因敲除小鼠基质金属蛋白酶 9(MMP9)、转化生长因子- β (TGF- β)和趋化因子 CXCL12 表达增加,可损伤新生内膜,导致高脂饮食诱导的动脉粥样硬化形成加快。自噬也可影响 VSMC 的增殖、迁移和表型转化,在 Atg7 基因敲除后,VSMC 迁移率升高近 15%,但细胞增殖率降低约 12%^[21]。PDGF 刺激下的细胞自噬可抑制 VSMC 收缩型蛋白的表达,提高合成型蛋白如骨桥蛋白的表达,调节 VSMC 的表型转化,并使 VSMC 对氧化应激有抵抗作用^[22]。动脉粥样硬化斑块中的胆固醇结晶可促使斑块进展和破裂,发挥细胞毒性和促炎性作用,研究发现降低自噬的发生可以促进胆固醇结晶的产生,加速动脉粥样硬化的进展^[23]。血管紧张素 II 受体拮抗剂替米沙坦可通过过氧化物酶增殖物激活受体 γ (PPAR γ)介导的细胞自噬,减轻 VSMC 胞内的脂质沉积^[24]。信号通路也可参与自噬过程,TRPV1 的开放可促进 VSMC 的自噬,减弱其向泡沫细胞的转化,抑制动脉粥样硬化的形成^[25]。

5 高血糖对 VSMC 促动脉粥样硬化的影响

糖尿病是动脉粥样硬化的高危因素。胰岛素以及胰岛素样生长因子-1(IGF-1)通过胰岛素受体底物-1(IRS-1)发挥作用,而糖尿病时,多种组织细胞的 IRS-1 表达下降。在 IRS-1 基因敲除糖尿病小鼠中,IGF-1 促使 VSMC 增殖明显增加,血管损伤导致的 VSMC 过度增生程度加重,同时,介导 VSMC 去分化的转录因子 KLF-4 表达增加,提示 IRS-1 在维持 VSMC 正常分化中发挥重要作用^[26]。

组蛋白 H3 第 9 位赖氨酸二甲基化 (H3K9me2) 参与外周血单核细胞、血管内皮细胞以及 VSMC 细胞生长相关基因的表达调控,而组蛋白赖氨酸去甲基化酶 KDM3A 参与对 H3K9me2 的修饰,促进糖尿病动脉粥样硬化中 VSMC 的增殖迁移和新生内膜的增生^[27]。研究表明,活性氧在动脉粥样硬化的细胞增生和血管纤维化中发挥重要作用,其中活性氧主要是由 NADPH 氧化酶 4 (NOX4) 通过生物细胞膜传递电子产生。NOX4 可通过 PDGF 和 NADPH 氧化酶 1 (NOX1) 信号通路抑制 VSMC 的增生,限制血管纤维化^[28]。高糖可造成细胞外基质中透明质酸堆积,使 VSMC 表型转化为合成型,起到促增殖作用^[29]。新近发现了几种对糖尿病动脉粥样硬化起保护作用的物质。抗整合素 $\alpha_v\beta_3$ 抗体能够减缓高糖环境下 VSMC 的增殖^[30];3 价铬离子可借助以豇豆花叶病毒为载体构建的纳米颗粒进入体外 HA-VSMC 内,在含 25 mmol/L 葡萄糖的培养基中,100 mmol/L 的该纳米颗粒可以抑制 HA-VSMC 增殖,降低增殖细胞核抗原 (PCNA) 的表达^[31]。

综上所述,VSMC 的外泌体、表型转化、离子通道、自噬、细胞外高血糖状态可参与 VSMC 的增殖和迁移,影响动脉粥样硬化的形成。

参 考 文 献

- [1] Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease [J]. N Engl J Med, 2005, 352 (16): 1685-1695.
- [2] Jiang H, Lun Y, Wu X, et al. Association between the hypomethylation of osteopontin and integrin beta3 promoters and vascular smooth muscle cell phenotype switching in great saphenous varicose veins[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(10): 18747-18761.
- [3] Perrotta I, Aquila S. Exosomes in human atherosclerosis: an ultrastructural analysis study[J]. Ultrastruct Pathol, 2016, 40(2):101-106.
- [4] Li L, Wang Z, Hu X, et al. Human aortic smooth muscle cell-derived exosomal miR-221/222 inhibits autophagy via a PTEN/Akt signaling pathway in human umbilical vein endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 479(2):343-350.
- [5] Hergenreider E, Heydt S, Tréguer K, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs[J]. Nat Cell Biol, 2012, 14(3):249-256.
- [6] Albarrán-Juárez J, Kaur H, Grimm M, et al. Lineage tracing of cells involved in atherosclerosis [J]. Atherosclerosis, 2016, 251:445-453.
- [7] Shankman LS, Gomez D, Cherepanova OA, et al. KLF4-dependent phenotypic modulation of smooth muscle cells has a key role in atherosclerotic plaque pathogenesis[J]. Nat Med, 2015, 21(6):628-637.
- [8] Qiao Y, Tang C, Wang Q, et al. Kir2.1 regulates rat smooth muscle cell proliferation, migration, and post-injury carotid neointimal formation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 477(4):774-780.
- [9] Wamhoff BR, Bowles DK, McDonald OG, et al. L-type voltage-gated Ca^{2+} channels modulate expression of smooth muscle differentiation marker genes via a rho kinase/myocardin/SRF-dependent mechanism[J]. Circ Res, 2004, 95(4):406-414.
- [10] Kudryavtseva O, Herum KM, Dam VS, et al. Downregulation of L-type Ca^{2+} channel in rat mesenteric arteries leads to loss of smooth muscle contractile phenotype and inward hypertrophic remodeling[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2014, 306(9):H1287-H1301.
- [11] Jin HF, Liu XW, Tang YM, et al. Effects of total flavones from Dendranthema morifolium on vasocontraction and proliferation of vascular smooth muscle cells[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(1):989-993.
- [12] Liu X, Yang T, Miao L, et al. Leukotriene B4 inhibits L-type calcium channels via p38 signaling pathway in vascular smooth muscle cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 37(5): 1903-1913.
- [13] Ouyang QF, Han Y, Lin ZH, et al. Fluvastatin upregulates the $\alpha_1\text{C}$ subunit of $\text{CaV}1.2$ channel expression in vascular smooth muscle cells via RhoA and ERK/p38 MAPK pathways[J]. Dis Markers, 2014, 2014:237067.
- [14] Chellan B, Reardon CA, Getz GS, et al. Enzymatically modified low-density lipoprotein promotes foam cell formation in smooth muscle cells via macropinocytosis and enhances receptor-mediated uptake of oxidized low-density lipoprotein [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2016, 36 (6): 1101-1113.
- [15] Ru X, Zheng C, Zhao Q, et al. Transient receptor potential channel M2 contributes to neointimal hyperplasia in vascular walls[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(7):1360-1371.
- [16] Gole HK, Tharp DL, Bowles DK. Upregulation of intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels (KCNN4) in porcine coronary smooth muscle requires NADPH oxidase 5 (NOX5) [J]. PLoS One, 2014, 9 (8):e105337.
- [17] Tai S, Hu XQ, Peng DQ, et al. The roles of autophagy in vascular smooth muscle cells[J]. Int J Cardiol, 2016, 211: 1-6.
- [18] Jia G, Cheng G, Gangahar DM, et al. Insulin-like growth factor-1 and TNF-alpha regulate autophagy through c-jun N-terminal kinase and Akt pathways in human atherosclerotic vascular smooth cells[J]. Immunol Cell Biol, 2006, 84(5): 448-454.

- [19] Zheng YH, Tian C, Meng Y, et al. Osteopontin stimulates autophagy via integrin/CD44 and p38 MAPK signaling pathways in vascular smooth muscle cells[J]. J Cell Physiol, 2012, 227(1):127-135.
- [20] Yu KY, Wang YP, Wang LH, et al. Mitochondrial KATP channel involvement in angiotensin II-induced autophagy in vascular smooth muscle cells[J]. Basic Res Cardiol, 2014, 109(4):416.
- [21] Grootaert MO, da Costa Martins PA, Bitsch N, et al. Defective autophagy in vascular smooth muscle cells accelerates senescence and promotes neointima formation and atherogenesis[J]. Autophagy, 2015, 11(11):2014-2032.
- [22] Salabei JK, Cummins TD, Singh M, et al. PDGF-mediated autophagy regulates vascular smooth muscle cell phenotype and resistance to oxidative stress[J]. Biochem J, 2013, 451(3):375-388.
- [23] Ho-Tin-Noé B, Vo S, Bayles R, et al. Cholesterol crystallization in human atherosclerosis is triggered in smooth muscle cells during the transition from fatty streak to fibroatheroma[J]. J Pathol, 2017, 241(5):671-682.
- [24] Li BH, Liao SQ, Yin YW, et al. Telmisartan-induced PPAR γ activity attenuates lipid accumulation in VSMCs via induction of autophagy[J]. Mol Biol Rep, 2015, 42(1): 179-186.
- [25] Li BH, Yin YW, Liu Y, et al. TRPV1 activation impedes foam cell formation by inducing autophagy in oxLDL-treated vascular smooth muscle cells [J]. Cell Death Dis, 2014, 5:e1182.
- [26] Xi G, Wai C, White MF, et al. Down-regulation of insulin receptor substrate 1 during hyperglycemia induces vascular smooth muscle cell dedifferentiation[J]. J Biol Chem, 2017, 292(5):2009-2020.
- [27] Chen J, Zhang J, Yang J, et al. Histone demethylase KDM3a, a novel regulator of vascular smooth muscle cells, controls vascular neointimal hyperplasia in diabetic rats[J]. Atherosclerosis, 2017, 257:152-163.
- [28] Di Marco E, Gray SP, Kennedy K, et al. NOX4-derived reactive oxygen species limit fibrosis and inhibit proliferation of vascular smooth muscle cells in diabetic atherosclerosis[J]. Free Radic Biol Med, 2016, 97:556-567.
- [29] Lorentzen KA, Chai S, Chen H, et al. Mechanisms involved in extracellular matrix remodeling and arterial stiffness induced by hyaluronan accumulation [J]. Atherosclerosis, 2016, 244:195-203.
- [30] Maile LA, Busby WH, Xi G, et al. An anti- $\alpha v \beta_3$ antibody inhibits coronary artery atherosclerosis in diabetic pigs[J]. Atherosclerosis, 2017, 258:40-50.
- [31] Ganguly R, Wen AM, Myer AB, et al. Anti-atherogenic effect of trivalent chromium-loaded CPMV nanoparticles in human aortic smooth muscle cells under hyperglycemic conditions in vitro[J]. Nanoscale, 2016, 8(12):6542-6554.

(收稿:2017-04-05 修回:2017-05-30)
(本文编辑:胡晓静)

(上接第 259 页)

- [31] Noone PG, Leigh MW, Sannuti A, et al. Primary ciliary dyskinesia; diagnostic and phenotypic features [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 169(4):459-467.
- [32] Toomer KA, Fulmer D, Guo L, et al. A role for primary cilia in aortic valve development and disease[J]. Dev Dyn, 2017, 246(8):625-634.
- [33] Landis BJ, Ware SM. The current landscape of genetic testing in cardiovascular malformations: opportunities and challenges[J]. Front Cardiovasc Med, 2016, 3, 22.
- [34] LaHaye S, Corsmeier D, Basu M, et al. Utilization of whole exome sequencing to identify causative mutations in familial congenital heart disease[J]. Circ Cardiovasc Genet, 2016, 9(4):320-329.
- [35] Deciphering Developmental Disorders Study. Prevalence and architecture of de novo mutations in developmental disorders [J]. Nature, 2017, 542(7642):433-438.
- [36] Sifrim A, Hitz MP, Wilsdon A, et al. Distinct genetic architectures for syndromic and nonsyndromic congenital heart defects identified by exome sequencing[J]. Nat Genet, 2016, 48(9):1060-1065.

(收稿:2017-08-20)
(本文编辑:丁媛媛)