

## 专论与综述

## 动脉粥样硬化中平滑肌细胞增殖的调控

张 骅 楼定安

(浙江医科大学病理教研室)

内膜平滑肌细胞局限性增生是动脉粥样硬化早期最主要的病变。增生的平滑肌细胞通过特异性低密度脂蛋白(LDL)受体和非特异性胞饮作用的途径大量地摄入LDL,合成并分泌各种结缔组织基质成分,最终形成动脉粥样硬化病灶。正常动脉壁的平滑肌为收缩型,此时细胞生长代谢活力较低,胞内粗面内质网、游离核糖体和线粒体成分较少,对外界各种有丝分裂原不能起有效反应。只有经过向合成型表型转换的平滑肌细胞才能对各种有丝分裂原起反应而活跃增生<sup>[1]</sup>。平滑肌细胞的增生受多种细胞和细胞因子的调控,本文拟就这一方面问题作一讨论。

## 一、内皮细胞与平滑肌细胞增生

内皮细胞有促进或抑制平滑肌细胞增生的双向作用,这种作用的平衡是控制其增生的关键。正常状态下动脉融合生长的内皮细胞通过3个途径使平滑肌细胞保持在收缩型状态:

1. 分泌类肝素物质抑制平滑肌细胞表型转换,抑制平滑肌细胞增生<sup>[2]</sup>。运用两种细胞的协同培养技术,例如在经过改进的Ross小室中使两种细胞独立地生长在相对的玻片上,或使用微载体技术使细胞产生并释出的有关因子在培养液中自由交换,在这样的体外实验中可以观察到融合生长的内皮细胞能阻止原代平滑肌细胞自发的表型转换,使之保持收缩型。对于合成型平滑肌细胞,融合的内皮细胞能抑制其活跃的增生,而稀疏生长的内皮细胞则无上述作用。抑制表型转换和抑制增生的物质是内皮细胞产生的一类糖胺多糖(Glycosaminogly-

can);在*Flavobacterium heparium*或肝素酶作用后能消除其活性,提示该物质为肝素或类肝素。外源性肝素是通过平滑肌细胞膜上特异性高亲和受体进入胞内,其 $IC_{50}$ 通常大于1mg/ml。有抗增殖活性的肝素具有N位和O位的硫酸基团,最小的片段为五糖分子,而最大的为十二糖分子<sup>[3]</sup>。有实验表明,外源性肝素经内皮细胞处理后,抑制作用大为增加。内皮细胞选择性地摄入分子量为40K的肝素,分解成分子量为0.9K的小分子肝素片段,在低浓度( $IC_{50} = 18.4 \mu\text{g/ml}$ )即有强烈的抑制作用。相比之下,未经内皮处理的肝素在20 $\mu\text{g/ml}$ 以内浓度范围中无任何作用,而用亚硝酸或肝素酶解聚的小分子肝素片段(二糖、四糖或六糖)其IC则大于250 $\mu\text{g/ml}$ 。该实验结果提示了使用内皮-肝素反应产物抑制平滑肌增生防治动脉粥样硬化的可能<sup>[4]</sup>。

2. 内皮细胞与平滑肌细胞形成异类细胞间的联接(肌-内皮联接,myo-endothelial junction),抑制平滑肌细胞增殖。从微循环动脉到大动脉,广泛地存在肌-内皮联接。通过内弹力膜的窗孔,平滑肌细胞的胞浆突起与内皮细胞构成直径30 $\text{\AA}$ ,厚约150 $\text{\AA}$ 的间隙联接。用各种染料作探针,发现分子量在1000以下的水溶性分子能快速地由内皮细胞向平滑肌细胞传递。有理由认为,内皮细胞和平滑肌细胞构成偶联系统(couple system),使平滑肌细胞能有效地接受由内皮细胞产生的第二信息,这对平滑肌细胞维持于收缩型表型起重要作用。如果动脉内皮受到损伤,肌-内皮联接消失,则平滑肌细胞失去抑制而活跃增生<sup>[5]</sup>。在体外,内

皮细胞与外被细胞(pericyte)形成接触时,内皮细胞的生长受到抑制<sup>[6]</sup>。在单层生长的平滑肌细胞上再种植一层内皮细胞,平滑肌的增殖减少50%<sup>[7]</sup>。尽管在上述实验中未能直接证实间隙联接的作用,但至少说明异类细胞之间存在接触抑制。

3. 正常动脉壁内皮细胞生长融合呈接触抑制状态,构成血液与动脉壁屏障,阻滞血液LDL直接进入内膜。天然LDL具有促进平滑肌细胞增殖的作用<sup>[8]</sup>,融合的内皮细胞能修饰LDL(modify)LDL,使之在理化性质和生物学特性上均有改变,但是否仍具有促增殖性尚待证实<sup>[9]</sup>。本实验室曾发现,含有融合内皮细胞修饰后的LDL的条件培养液,能抑制平滑肌细胞增殖(未发表资料),此条件培养液中所含抑制物的性质正在进一步明确中。

与融合生长的内皮细胞相反,活跃生长的内皮细胞则产生生长因子促进平滑肌增殖<sup>[10]</sup>。动脉广泛损伤后,邻近内皮细胞分裂增生修复损伤,时间可长达一年,此时内皮持续分泌生长因子,引起损伤处内、中膜平滑肌广泛增生<sup>[11]</sup>。内皮细胞的自分泌(autocrine)产生的生长因子,功能在于促进自身的增生修复,对平滑肌细胞等间充质细胞无效<sup>[12]</sup>。其旁分泌(paracrine)则产生对平滑肌有效而对内皮无效的生长因子,包括(1)类PDGF因子;(2)内皮细胞生长因子(EDGF),为小分子多肽,与PDGF不同,其分子量在10—30 K,不能被CM-Sephadex吸附,100℃处理4分钟失去活性<sup>[10]</sup>。体外实验中,稀疏内皮细胞(增生活跃)与平滑肌细胞协同培养时或内皮细胞条件培养液都能促进平滑肌细胞的增殖,证实这类生长因子的有效性<sup>[14]</sup>。

## 二、血小板与平滑肌细胞增生

血小板在损伤的内膜粘附、聚集,释放 $\alpha$ 颗粒中一系列生长因子,如血小板生长因子(PDGF),表皮生长因子(EGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)和转化因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )等,在

这些生长因子的协同作用下促进平滑肌细胞增殖。据报道,PDGF首先是一种趋化因子,促进中膜平滑肌细胞移行到内膜。PDGF与细胞表面的特异受体结合,传递增殖信号,12—16小时后<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶掺入DNA就开始增加,24小时达高峰,30—36小时使细胞数倍增<sup>[15,16]</sup>。TGF- $\beta$ 具有抑制和促进增殖的双向作用,对增生较活跃的低密度的平滑肌细胞,TGF- $\beta$ 显示抑制作用,细胞密度逐渐增加,抑制作用减弱。当细胞达到最大接触形成单层时,TGF- $\beta$ 显示出强烈的促增殖作用<sup>[17,18]</sup>。这种作用方式的意义不明。

血小板对平滑肌细胞增殖的另一影响是溶酶体所含的内源性糖苷酶释放,分解了类肝素物质,使平滑肌细胞从类肝素的包绕中释放出来,进行表型转换或增殖。

但上述血小板各种因子并不能完全解释体内动脉损伤后持续的平滑肌增生,动物实验表明,血小板的粘附、聚集在动脉损伤后的24小时达到高峰,然后就急剧下降,而平滑肌的增生可持续几十天。故认为,血小板释放的活性物质对最初阶段的平滑肌增殖可能很重要,对平滑肌细胞增殖的影响乃是多因素协同作用<sup>[20]</sup>。

## 三、单核-巨噬细胞与平滑肌增殖

单核-巨噬细胞积聚是高脂饮食导致的动脉粥样硬化模型早期病变的重要表现。大量单核细胞粘附于内皮细胞表面、穿过内皮连接进入内皮下层成为滞留的巨噬细胞。已经确定,内皮细胞表面有特异性蛋白能识别单核细胞,使之易于吸附<sup>[5]</sup>。血浆LDL或VLDL能促进吸附过程,原因可能是高血脂引起血管内皮损伤而产生修复增生,而增生的内皮细胞较融合生长的内皮细胞更有利于单核细胞吸附<sup>[24]</sup>。增生的内皮细胞产生的PDGF被证实为单核细胞的趋化物。同时内皮细胞所修饰的LDL,还使得进入内皮下层的巨噬细胞滞留,产生持续的刺激作用<sup>[25]</sup>。

巨噬细胞促进平滑肌细胞增生的方式类似于血小板,还是主要通过分泌生长因子包括类PDGF、TGF- $\beta$ 、类EGF和FGF及释放溶酶体中的内源性糖苷酶促进平滑肌细胞表型转换及增殖<sup>[18]</sup>。巨噬细胞也分泌自介素-1(IL-1)<sup>[21]</sup>,用IL-1单独作用静止的平滑肌细胞,DNA合成只增加30—40%,而与PDGF共同作用时DNA的合成可增加6—8倍<sup>[22]</sup>。近年来发现内皮细胞也能产生IL-1<sup>[23]</sup>。可以想象,如果增生的内皮细胞与巨噬细胞协同作用,PDGF与IL-1将大大地促进平滑肌细胞增殖。

#### 四、平滑肌细胞对自身增殖的调控

平滑肌细胞对自身增殖也有调控作用。从大鼠血管中分离的平滑肌细胞在自发性表型转换中,在分泌类PDGF物质的细胞内可见PDGFA、B链mRNA表达增高。从气囊损伤的大鼠血管中分离的平滑肌细胞,该物质的分泌量较正常动脉的平滑肌细胞高10倍,说明类PDGF的分泌是为了促进平滑肌细胞增殖以满足修复自身损伤的需要<sup>[26]</sup>。而在转化成分泌型后,虽然细胞仍能维持着PDGF基因的转录,但并不分泌有活性的PDGF,只能检测到相关的单聚体<sup>[27]</sup>。这种自我控制使平滑肌细胞在正常的修复过程中不至于过度增殖。

值得注意的是,从动脉粥样硬化斑块中分离的平滑肌细胞或连续传代的平滑肌细胞都能产生平滑肌生长因子(SDGF),其与一般生长因子不同在于同时具有活性因子(Competence factor)和进展因子(progression factor)的作用。活性因子如PDGF、FGF能使细胞从G<sub>0</sub>进入G<sub>1</sub>期,进展因子如EGF和生长调节素C,能使细胞从G<sub>1</sub>期进入S期。在这两类因子协同作用下才能使细胞完成一个周期。而SDGF不需要其他因子的协同就能促进平滑肌细胞增殖,这一特性使病灶内平滑肌的增殖成为一种正反馈方式,导致动脉粥样硬化病变不断地发展<sup>[28]</sup>。

#### 结 语

平滑肌细胞增殖在动脉粥样硬化病灶的形成中起重要作用。正常动脉内皮处于融合状态,构成血液与动脉壁组织的屏障,阻止血液中脂质的浸润,同时通过内皮细胞与平滑肌细胞的肌-内皮联接及分泌类肝素物质抑制平滑肌细胞表型转换和增殖。当某种原因导致动脉内皮受损,则内皮的各种抑制作用消失,且血小板、单核-巨噬细胞、平滑肌细胞及增生的内皮细胞产生一系列生物活性物质,促进平滑肌细胞增殖,并且往往使增殖成为正反馈方式,促进动脉粥样硬化病灶的形成和发展。

#### 参 考 文 献

- [1] Nilson J., *Acta. Med. Scand. Suppl.* 1987, 715:25.
- [2] Clowes A. W. et al., *Transplant. Proc.*, 1989, 21:3700.
- [3] Campbell J. H. et al., *Ann. Rev. Physiol.* 1986, 48:295.
- [4] Herbert J-M. et al., *J. Cell. Physiol.* 1989, 138:424.
- [5] Davies P. H. et al., *Hypertension*, 1988, 11:563.
- [6] Orlidge A. et al., *J. Cell. Biology.* 1987, 105:1455.
- [7] David P. H. et al., *J. Lipid. Res.*, 1985, 26:1212.
- [8] Oikawa S. et al., *Atherosclerosis.* 1987, 64:7.
- [9] Hinsbergh V. W. M. et al., *Biochim. Biophys. Acta.*, 1986, 878:49.
- [10] Gajdusck C. et al., *J. Cell. Physiol.*, 1984, 121:13.
- [11] Tada T. et al., *Am. J. Pathol.*, 1987, 129:429.
- [12] Vlodaysky I. et al., *J. Cell. Physiol.*, 1987, 131:402.
- [13] Collins T. et al., *Am. J. Pathol.*, 1987, 127:7.
- [14] Csonka E. et al., *Acta. Morphol. Hungarica.*, 1987, 35:31.
- [15] Ross R. et al., *Ann. Rev. Med.*, 1987, 36:71.
- [16] Ross R. et al., *Acta. Med. Scand. Suppl.*, 1987, 715:33.
- [17] Majack R. A. et al., *J. Cell. Biol.*, 1987, 105:465.

(转下页)