

血管内皮细胞的激活

丁自强

(第二军医大学病理生理教研室 上海 200433)

血管内皮细胞 (endothelial cells, EC) 象白细胞一样, 可以被炎症介质激活, 主动参与炎症和免疫反应^[1]。EC 衬覆于血管内壁, 构成血管壁通透性的主要屏障。60 年代末, Majno 等^[2]首先注意到组胺类炎症介质引起的血管壁通透性增高主要不是由于 EC 受损伤, 而是 EC 收缩, 细胞连接间隙增大所致, 提示 EC 通过收缩而影响细胞间连接和血管壁通透性。70 年代 Jaffe^[3]、Gimbrone^[4]等在体外成功地培养了 EC, 加快了人们对 EC 生物学特性的研究和认识。80 年代初 Pober 等^[1]用活化淋巴细胞的培养液处理 EC, 发现 EC 表达一些有新的生物学功能的分子, 从而提出了 EC 激活的概念。现在, EC 不再被看作只是血管壁的机械屏障, 也不只是病理过程中的靶细胞, 而是一个功能复杂的效应器。本文将着重讨论 EC 被激活后形态学、膜表面抗原表达、活性物质代谢等的变化及其意义。

一、EC 激活后的形态变化

在体血管 EC 为扁平状, 衬覆于血管内表面。离体培养长成致密连接单层的 EC 为上皮样, 相差显微镜下外观呈鹅卵石状, 细胞间连接紧密, 没有重叠、伪足和突起^[5]。多种炎症介质如血小板激活因子 (platelet-activating factor, PAF)、白三烯、肿瘤坏死因子 (tumor-necrosis factor, TNF)、白介素 1 (interleukin 1, IL-1)、 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 等都能不同程度地激活 EC, 使细胞变长, 呈纤维母细胞状, 并伸出树枝状胞浆突起; 细胞间接触抑制消失, 紧密的细胞间连接出现裂隙 (gap)^[6-9]。我们用计算机图像分析系统测定 EC 的形态参数, 发现 PAF 作用 30 min 后,

EC 面积变小, 形状因子 (似圆率) 增大^[5]。Montesano 等^[7]报道用 IFN- γ 和 IL-1 分别处理 EC 对其形态影响较小, 两者合用则使细胞极度伸长, 呈现游走细胞的特征。Stolpen 等^[8]报道用 TNF 和 IFN- γ 处理 EC 也有类似的效应, 表明一些细胞因子通过协同作用引起 EC 形态变化。

在体微血管 EC 被激活后胞体回缩突向管腔, 细胞间隙增大; 这可能是炎症介质和免疫活性因子引起血管壁通透性增高的重要机制之一。IL-2 和 LAK 细胞 (淋巴因子活化杀伤细胞) 对中晚期恶性肿瘤治疗有较好的疗效, 但其主要副作用是产生全身血管渗漏综合征 (systemic vascular leak syndrome), 表现为全身血管通透性增高, 重要组织器官发生水肿, 但组织学检查并未发现 EC 损伤。停用 IL-2, 血管渗漏现象很快缓解, 其原因可能主要是 IL-2 激活了体内 EC^[10]。现已证实, PAF、TNF、IL 和 IFN 等对 EC 没有明显的直接损伤作用。这些因子除通过激活炎症细胞和其他炎症介质代谢引起 EC 的继发性损伤外, 主要是激活了 EC。根据这个原理, 临床上可通过阻断 EC 的激活过程, 防止细胞回缩, 达到拮抗血管通透性增高的目的。

EC 形态变化的机制尚不完全清楚, 可能主要与细胞骨架成分 (微丝、微管和中等纤维) 的分布状态、功能变化以及细胞外基质丢失有关^[11]。正常 EC 的微丝主要以 3 种形式存在, 即细胞膜下环形致密周围带 (dense peripheral band), 核周微丝和胞浆散在性分布的微丝。致密周围带是维持 EC 形态和细胞间连接结构最重要的微丝结构, 含有肌动蛋白、肌球蛋白、原肌球蛋白、 α -辅肌动蛋白 (α -actinin) 和

纽带蛋白(vinculin)。EC通过肌动-肌球蛋白的作用发生收缩。中等纤维和微管以网状形式分布在核周区域,辅助微丝维持细胞的形态。用凝血酶、PAF、IL-1、TNF和IFN- γ 等处理体外培养的单层EC均可使微丝的致密周围带消失,胞浆内出现束状、斑片状或点状微丝结构^[7-9]。ATP和Ca²⁺参与了细胞骨架和细胞形态的变化过程。细胞外基质(胶原、层素、纤维连结蛋白)通过跨膜结合蛋白(或受体)与细胞内骨架成分连接,影响细胞的形态及其与基质的粘附。Stolpen等^[8]用免疫荧光染色发现,正常单层EC下有致密均匀的基质,由网状排列的纤维连接蛋白(Fn)组成。用TNF或IFN- γ 处理EC 24 h,则见有Fn丢失,72—96 h大部分Fn丢失,呈现“虫蚀状”斑片。Fn的变化与EC肌动蛋白微丝结构及细胞形态的变化相平行。

二、EC激活抗原的表达

EC被激活后,细胞膜表面出现一些新的

蛋白质抗原,称为EC激活抗原(表1)。利用单克隆抗体可以检测这些激活抗原。

主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)是染色体上控制着免疫应答和疾病易感性的基因群,根据基因座位分为I、II、III、IV级,其编码的物质主要是组织相容性抗原。人的MHC称为人白细胞抗原复合物(HLA)。I级MHC包括HLA-A、B、C,属于特异性移植抗原,可以被T_C细胞抗原受体识别,在组织器官移植时,决定移植体是否被受者相容而不被排斥。II级MHC包括HLA-DR、DP、DQ,可以被T_H细胞抗原受体识别。EC的MHC表达增多促进淋巴细胞与EC的粘附,促使淋巴细胞游出血管并在组织内聚集,参与免疫和炎症反应。IFN- α 、 β 、 γ 和TNF都能促进EC表达I级MHC,作用缓慢,4—6天达高峰,但只有IFN- γ 能诱导EC表达II类MHC^[12]。

EC-白细胞粘附分子-1(endothelial-leukocyte adhesion molecule-1, ELAM-1)是介导

表1 一些重要的内皮细胞激活抗原

激活抗原	功能	激动剂
I级MHC	介导细胞毒性T(T _C)淋巴细胞粘附	TNF- α , TNF- β , IFN- α , β , γ
II级MHC	介导辅助T(T _H)淋巴细胞粘附	IFN- γ
ELAM-1	介导中性粒细胞贴壁、滚动和粘附	TNF- α , TNF- β , IL-1, LPS
ICAM-1(CD ₅₄)	介导淋巴细胞、单核细胞粘附	TNF- α , TNF- β , IL-1, LPS, IFN- γ
VCAM-1(INCAM-110)	介导淋巴细胞、单核细胞粘附	TNF, IL-1, LPS
GMP-140(CD ₆₂)	介导中性粒细胞、单核细胞贴壁、滚动和粘附	组胺、凝血酶、PMA、A ₂₃₁₈₇

EC-WBC粘附的重要分子之一,分子量为115 kd。IL-1、TNF- α 、 β 可诱导ELAM-1的表达,4—6 h达高峰,24 h消失^[13]。在炎症反应早期ELAM-1引起白细胞的贴壁、滚动。在组织器官中,ELAM-1主要存在于毛细血管后微静脉的EC,可能与炎症时白细胞首先在这段血管粘附有关^[14]。

细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)是白细胞表面粘附蛋白CD₁₁/CD₁₈系统的配体(两者互为受体-配体关系),分子量84—95 kd,参与淋巴细胞、单核

细胞及多形核白细胞与EC的粘附^[15]。IL-1、TNF- α 、 β 能显著增加EC表面ICAM-1的表达,24 h达高峰^[16]。在免疫因子和炎症介质持续存在条件下,ICAM-1表达持续增加,因此可能与炎症晚期的淋巴细胞、单核细胞粘附有关。

血管细胞粘附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)分子量为110 kd。IL-1、TNF和内毒素(LPS)可迅速诱导EC表达VCAM-1。VCAM-1的受体是淋巴细胞表面的晚期激活抗原(VLA-4),两者结合促进淋

巴细胞游出血管和聚集在组织^[17]。

组胺、凝血酶、佛波酯(PMA)、钙离子载体 A_{23187} 等激活 EC, 可迅速增加白细胞对 EC 的粘附性, 主要是由于胞浆内颗粒膜糖蛋白 GMP-140(CD₆₂, P-selectin) 被迅速转移到膜表面^[18,19]。最近 Lawrence 和 Springer^[20] 发现, 在生理血流切应力条件下, 白细胞只有在与 GMP-140 作用并发生滚动、流速减慢的情况下, 才能粘附于 EC, 说明 GMP-140 在白细胞-EC 粘附的起始阶段极为重要。

白细胞(WBC)粘附于 EC 是 WBC 被激活后游出血管壁, 进入组织参与炎症反应的首要步骤。WBC-EC 粘附的分子机制主要与粘附蛋白有关。WBC 表面的粘附蛋白增加或活性增强, 使 WBC 在全身血管表面的粘附性增加。EC 表面粘附蛋白增加, 促使 WBC 与激活的 EC 粘附, 也就决定了 WBC 集中在局部炎症病灶内。

三、EC 激活后产生的活性物质

1. 调节凝血-纤溶系统的物质 正常 EC 能产生很多凝血、抗凝血有关的物质(表 2)。凝血酶调节蛋白(thrombomodulin)和蛋白 S 可激活蛋白 C, 降解活化的凝血因子 Va、VIIa 和纤溶酶原激活抑制物(plasminogen activator inhibitor, PAI)。肝素样物质可灭活凝血酶, 纤溶酶原激活物(tPA)促进纤溶过程。相反, 组织因子、血小板激活因子、血栓素 A_2 (Tx A_2)、促凝活性物质(procoagulant activity, PCA)和纤溶酶原激活抑制物可促进凝血过程。生理情况下, EC 表面的凝血-抗凝血平衡稍偏向抗凝血一边。当凝血酶、LPS、IL-1、TNF 等激活 EC 后使凝血有关的因子明显增加, 抗凝血有关的因子相应减少, 促使平衡倾向凝血一边; 血管内易发生凝血, 促进微循环障碍和炎症等病理过程。

表 2 内皮细胞产生的主要促凝物质和抗凝物质

促凝物质	抗凝物质
组织因子	凝血酶调节蛋白和蛋白 S
促凝活性物质(PCA)	肝素样物质(硫酸乙酰肝素)
纤溶酶原激活抑制物(PAI)	纤溶酶原激活物
血小板激活因子	前列环素
血栓素(TxA ₂)	

2. 调节血管张力的因子 EC 对局部和全身血管张力都有很重要的调节作用^[21]。目前已发现的血管舒张因子主要有前列环素(PGI₂)和内皮来源的血管舒张因子(EDRF)。PGI₂ 有抑制血小板聚集、扩张血管和促进纤溶、保护细胞的作用, 还能增加 EC 内 cAMP 水平, 影响细胞分裂增殖、通透性和收缩性^[22]。乙酰胆碱、血管紧张素 II、组胺、5-羟色胺、去甲肾上腺素等可促进 EDRF 的合成和释放。EDRF 的化学性质可能是一氧化氮(NO)及其衍生物^[23], 有极强的抗血小板聚集、粘附和扩血管作用, 并与 PGI₂ 有协同效应。EC 产生的血管收缩因子(EDCF)主要包括 Tx A_2 、血管紧张素 II、氧自由基和内皮素(endothelin,

ET)。ET 为 21 肽, 是迄今已知最强的缩血管物质。缺氧、凝血酶、肾上腺素、 A_{23187} 等激活 EC 可迅速增加 ET 的合成。EC 产生的血管收缩因子和舒张因子在体内保持平衡, 调节血流动力学和器官血流量。这个平衡被破坏可能是许多临床疾病重要的发病机制^[24]。例如, 血清 ET 水平增高与内毒素休克时血管阻力增高和肾功能衰竭发生有关。

3. 炎症介质 EC 被激活后分泌大量炎症介质, 调节炎症细胞功能。PAF 是一种效应很强的脂类炎症介质, EC 是体内 PAF 的重要来源。体外培养的 EC 受 IL-1 或 TNF 激活后, 通过乙酰转移酶合成大量 PAF^[25]。 A_{23187} 、血管紧张素 II 和血管升压素等通过促进 EC 细

胞外 Ca^{2+} 内流、激活了膜磷脂酶 A_2 活性,使 PAF 的合成增加^[26]。同时, PAF 通过自分泌和旁分泌的作用,增强 EC 激活过程,使之产生更多的炎症介质,如 IL-1、集落刺激因子(CSF)、IL-6、IL-8、单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic protein, MCP)等。这样 EC 对炎症介质的调节就形成一个相互促进的循环,在炎症组织的病理生理变化中起着重要作用^[27]。因此,EC 被认为是体内极其重要和活跃的炎症细胞。

EC 被激活后在形态、功能和代谢方面发生的变化与许多疾病有关,因此吸引了众多的病理学、免疫学、肿瘤学和分子生物学等学者的关注。今后研究将主要集中在 3 个方面:(1) EC 激活抗原(主要是细胞粘附蛋白)表达及其对炎症、免疫反应和肿瘤转移的影响,利用粘附蛋白单抗对临床疾病进行诊断和治疗;(2) EC 产生的活性物质对内环境稳定(homeostasis)的影响及其在炎症、免疫性疾病中的意义;(3) EC 在血管通透屏障中的作用,在烧伤、感染、休克等病理情况下稳定 EC 细胞骨架、维护细胞间紧密连接结构对血管通透性增高和组织水肿的防治作用。

摘 要

血管内皮细胞被多种炎症介质激活后,主要表现为 3 个方面的变化:(1) 细胞收缩变圆,细胞连接间出现裂隙,内皮层通透性增高;(2) 细胞膜表面表达一些新的蛋白质抗原,如主要组织相容性抗原和多种细胞粘附分子,影响炎症、免疫和肿瘤转移过程;(3) 细胞合成分泌对凝血、纤溶系统和血管张力有调节作用的活性因子以及多种炎症介质,影响体内环境的稳定,参与某些疾病的发病过程。

参 考 文 献

- [1] Pober J. S., 1988, *Am. J. Pathol.*, 133 (3): 426—433.
- [2] Majno G. et al., 1969, *J. Cell Biol.*, 42 (3): 647—672.
- [3] Jaffe E. A. et al., 1973, *J. Clin. Invest.*, 52 (6): 2745—2756.
- [4] Gimbrone M. A. et al., 1974, *J. Cell Biol.*, 60 (3): 673—684.
- [5] 丁自强等, 1993, 第二军医大学学报, 14 (2): 101—106.
- [6] Ruszczak Z. et al., 1990, *J. Invest. Dermatol.*, 95 (6): 693—699.
- [7] Montesano R. et al., 1985, *J. Cell. Physiol.*, 122 (3): 424—434.
- [8] Stolpen A. H. et al., 1986, *Am. J. Pathol.*, 123(1): 16—24.
- [9] Bussolino F. et al., 1987, *J. Immunol.*, 139 (7): 2439—2446.
- [10] Cotran R. S. et al., 1988, *J. Immunol.*, 140 (4): 1183—1189.
- [11] Gottlieb A. L. et al., 1991, *Lab. Invest.*, 65 (2): 123—137.
- [12] Lapierre L. A. et al., 1988, *J. Exp. Med.*, 167 (3): 794—804.
- [13] Pober J. S. et al., 1986, *J. Immunol.*, 136(5): 1680—1687.
- [14] Messadi D. V. et al., 1987, *J. Immunol.*, 139 (5): 1557—1562.
- [15] Osborn L. 1990, *Cell*, 62 (1): 3—6.
- [16] Pober J. S. et al., 1986, *J. Immunol.*, 137 (6): 1893—1896.
- [17] Carlos T. M. et al., 1990, *Blood*, 76 (6): 965—969.
- [18] Hattori R. et al., 1989, *J. Biol. Chem.*, 264(14): 7768—7771.
- [19] Geng J. G. et al., 1990, *Nature*, 343 (6260): 757—760.
- [20] Lawrence M. B., Springer T. A., 1991, *Cell*, 65 (5): 859—873.
- [21] Vane J. R. et al., 1990, *New Engl. J. Med.*, 323(1): 27—36.
- [22] Gryglewski R. J., et al., 1988, *Hypertension*, 12(6): 530—548.
- [23] Harrison D. G. et al., 1992, *Am. J. Cardiol.*, 70(8): 11B—17B.
- [24] Editorial, 1991, *Lancet*, 337: 79—81.
- [25] Bussolino F. et al., 1988, *J. Biol. Chem.*, 263 (24): 11856—11861.
- [26] Camussi G. et al., 1983, *J. Immunol.*, 131 (5): 2397—2403.
- [27] Braquet P. et al., 1989, *Trends Pharmacol. Sci.*, 10 (1): 23—29.