

颈动脉粥样硬化分子病理学研究进展

门保忠 综述, 周定标, 石怀银 审校

(中国人民解放军总医院神经外科, 北京市 100853)

[关键词] 神经病学; 颈动脉粥样硬化分子病理学研究; 综述; 缺血性脑血管病; 基因表达

[摘要] 缺血性脑血管病是严重危害人类健康和生命的疾病之一, 颈动脉粥样硬化性狭窄在缺血性脑卒中的发病中占有重要地位。本文通过对细胞因子的表达、血管平滑肌细胞的增殖与凋亡、基质的变化和酶类的表达、细胞膜受体的表达、粘附分子的表达、原癌和抗癌基因表达与基因调控, 阐述近年来颈动脉粥样硬化发生的分子病理学机理的研究进展, 并指出今后基因治疗的方向, 从根本上解决病因治疗问题。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

缺血性脑血管病是严重危害人类健康和生命的疾病之一。脑卒中的患者中, 70% ~ 90% 为缺血性脑卒中^[1]。其中, 粥样硬化性颈动脉狭窄在缺血性脑卒中发病中占有重要的地位。因此, 颈动脉粥样硬化病理学研究, 特别是有望阐明动脉粥样硬化形成机制的分子病理学研究, 其重要性显得尤为突出。

1 细胞因子和生长因子的表达

动脉粥样硬化是一个炎症性疾病, 涉及多基因表达。血小板源生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)产生于血小板、平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)、内皮细胞和单核巨噬细胞^[2], PDGF-B 具有强大的促血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖和内膜下迁移的作用。PDGF 处理鼠损伤后动脉内膜, 10 天可见内膜肌性增厚; 用 PDGF 拮抗剂处理, 15 天可观察到内膜增生受到抑制^[3]。血小板激活因子与斑块内的血管形成与出血有关^[4]。内皮素主要在内皮细胞表达, VSMC 也可表达。内皮素具有强大的缩血管作用和促分裂作用, 可以促进 ras、fos 和 jun 癌基因及细胞周期基因 CDK-2 和 Cyclin-A 表达, 促进 VSMC 增殖。未损伤的血管只在内皮细胞中表达, 内皮损伤后也可在 VSMC 中表达^[5]。内皮损伤后, 血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)基因开始表达, 血管紧张素 II 可以促进 fos 原癌基因和细胞周期调节基因(Cyclin)的表达, 促进合成型 VSMC 在内膜下增殖, 促进收缩型 VSMC 肥大, 并与 PDGF 有协同作用^[6]。在人粥样硬化斑块中, ACE 高度表达, 表明 ACE 与炎症反应和动脉粥样硬化形成过程有关。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)主要由内皮细胞和单核巨噬细胞产生, VSMC 中也发现有 VEGF mRNA, 促进内皮新生和血管增生。体外实验证明 VEGF 具有抑制 VSMC 增殖

的作用并在粥样硬化内膜的 VSMC 和泡沫细胞中表达^[7]。最近的研究表明, 巨噬细胞诱导的肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- β , TNF- β)通过自分泌和直接通路促进 VSMC 坏死, 造成斑块的不稳定^[8]。总之, 多基因表达构成粥样硬化发病机理复杂, 寻找这些基因表达因果关系及调控, 是今后的研究发展方向。

2 血管平滑肌细胞的增殖与凋亡

平滑肌细胞(SMC)的增殖、迁移、吞噬及基质的分泌和凋亡在动脉硬化形成的过程中发挥着重要作用。PDGF-B 可以促进核内 ID 蛋白质表达, 引起细胞去分化, 使细胞增殖。另外, 细胞周期分裂基因 cdc-2 表达产物 PP 及 Cyclin 和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)亦促进 VSMC 增殖。转录调节因子 c-jun 基因表达产物促进 SMC 增殖, 其 DNA 酶 DZ13 能抑制 SMC 增殖^[9]。动脉粥样硬化早期, VSMC 过度增殖加快狭窄程度的发生。细胞凋亡表现为细胞浆浓缩, 染色质固缩, 细胞内形成凋亡小体, 无溶酶体破裂和细胞内含物外溢, 不引起炎症反应, 最后形成多个凋亡小体而被吞噬。bax 基因是一种促凋亡基因, bcl-2 是一种抗凋亡基因, bax/bcl-2 比例关系决定细胞凋亡的多少。在人体颈动脉斑块中用免疫组织化学技术检测到凋亡基因 bax 表达产物, 而抗凋亡基因 bcl-2 阴性, 正常血管中二者均阴性^[10]; 另外, Fas/Apo-1 基因与细胞凋亡有关, 其表达产物是细胞表面的蛋白质, 与肿瘤坏死因子具有同源性, 转 Fas 基因细胞易于凋亡。促凋亡基因 Fas/CD95 在人颈动脉粥样斑块中高表达, 并与斑块破裂倾向相一致, 细胞凋亡碎片水平与斑块破裂后的血栓形成有关。新近发现粥样斑块有肺炎衣原体和外周血清中检测到与凋亡呈平行关系的抗体, 并在泡沫细胞中表达^[11]。细胞凋亡直接影响粥样硬化动脉的形态、结构和斑块的稳定性, 晚期凋亡使纤维帽区和交界区 VSMC 减少, 基质分泌减少, 使斑块易于破裂, 动脉瘤和血栓形成。

3 基质金属蛋白酶的表达

[收稿日期] 2003-11-17

[修回日期] 2004-03-22

[作者简介] 门保忠, 博士, 从事颈动脉粥样硬化的分子病理学研究。周定标, 教授, 承担颈动脉粥样硬化的外科治疗课题研究, 为国家重大疾病科研基金资助项目。石怀银, 副教授, 从事神经病理研究和动脉粥样硬化的分子病理学研究。

动脉粥样硬化时,基质溶解相关酶类在泡沫细胞中表达增强是分子病理变化的突出特征,基质的变化与溶解与临床短暂性脑缺血发作密切相关。人体不稳定性斑块中,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)1 和 3 的高表达与肥大细胞脱颗粒和斑块的不稳定化呈正相关;环状加氧酶 2(COX-2)、前列腺素 E₂(PGE₂)在有症状者的粥样斑块细胞中表达明显高于无症状者,与斑块的不稳定性和脑缺血发作综合症密切相关。MMP-1、MMP-3 和 MMP-8 在人体斑块中表达均与基质胶原溶解和不稳定性相关^[12];外周血中的 MMP-3 和 MMP-9 与粥样斑块的再塑过程明显相关^[13],斑块中微血管的破坏,炎性细胞的聚集,Ⅵ型胶原和弹性蛋白的重排,与斑块内出血及后期斑块的不稳定性相关。MMP 表达与胶原的溶解和斑块的不稳定性密切相关。强力霉素可抑制 MMP-1 的表达,对斑块的不稳定性有一定的治疗作用,但对其它金属蛋白酶的表达无抑制作用^[14]。研究多能 MMP 抑制剂,使不稳定性斑块向稳定性转化,是今后生物工程制药的重点研究方向。

4 细胞膜受体的表达

细胞膜受体是细胞膜上特殊的蛋白质,是细胞信息传递的媒介。内皮细胞过氧化体增殖物激活型受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ)是一种配体活化转录因子,PPAR γ 表达调节着组织型纤溶酶原激活物抑制剂 1(PAI-1)表达,提示 PPAR γ 调节内皮细胞的基因表达^[15]。具有对 VSMC 增殖和迁移有抑制作用的 PDGF- α 受体,在有症状者的颈动脉斑块中表达下调,表明其与临床症状有关^[16];极低密度脂蛋白受体在正常血管和动脉粥样硬化斑块泡沫细胞中均有表达,表明它与血管的病理变化有关;氧化型低密度脂蛋白受体 LOX-1 在正常血管中低表达,而在粥样硬化早期病变内皮细胞和新生微血管内皮细胞、VSMC 和巨噬细胞中高表达,表明 LOX-1 与氧化型低密度脂蛋白吸收、巨噬细胞和 VSMC 转型及粥样硬化形成过程中发挥重要作用^[17],并与斑块中凋亡细胞共表达。与粥样硬化有关的受体还有 Toll-like-R^[18]、血管紧张素受体等^[19]。受体表达与细胞信息传递和旁路调节有关,如何阻止粥样硬化转变细胞受体的表达和信息传递,也是今后研究防治动脉硬化的一个切入点。

5 粘附分子的表达

细胞粘附分子是介导白细胞和血小板粘附并促进局部炎症反应的蛋白质分子。血管细胞粘附分子 1(vascular cellular adhesion molecule-1, VCAM-1)可在人粥样斑块树突状细胞中表达,提示其与细胞间的联系相关^[19];在早期病变内皮细胞和晚期 VSMC 中表达;在内皮细胞的表达与巨噬细胞的聚集呈平行关系,标志着 VCAM-1 炎症与粥样硬化进展的关系^[20];另一粘附分子细胞间粘附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1),在有症状者或高级别病变较无症状或低级别者内皮细胞中高表达,预示着炎症介质促进斑块的转型^[21];并可能通过正反馈机制促进炎性细胞粘附和向血管

内浸润,并可在内皮细胞、单核巨噬细胞、VSMC 中与 VCAM、P 选择素共同表达。脑卒中后 P 选择素和 E 选择素外周血水平增高,在脂蛋白缺失的鼠模型中,动脉内膜损伤后 P 选择素在单核细胞聚集于粥样斑块的过程中起主导作用^[22]。钙依赖性细胞粘附分子 E-Cadherin,在人体颈动脉斑块巨噬细胞源性泡沫细胞中和氧化型低密度脂蛋白共表达,表明其在脂质积累和细胞转型中发挥作用。P2Y₂ 核苷酸受体调节 VCAM-1 的表达,促进炎细胞聚集^[23]。总之,粘附分子的表达也是动脉粥样硬化发生的一个分子病理机制。

6 原癌和抗癌基因表达与基因治疗

原癌基因是一类编码生长因子及受体、细胞内信息传递分子和转录调节因子的正常细胞基因,有 100 余种。c-myc 在人体颈动脉粥样斑块中 VSMC 表达率为 89.8%,正常颈动脉表达率为 17.7%,表明其调节 VSMC 增殖的作用;c-myc 反义寡核苷酸能抑制 VSMC 增殖,其正反两方面证实 c-myc 在 VSMC 增殖和粥样硬化的关系^[24]。c-fos 等基因具有类似的作用^[25]。抗癌基因如 Rb 基因,具有转录调节功能,它抑制细胞周期调节基因 cdc、CDK 的表达,从而抑制细胞周期从 G 向 S 发展,抑制细胞的增殖。p53 基因在 VSMC 中表达并具有抑制 VSMC 增殖和促凋亡的作用,鼠动物模型在颈动脉 VSMC 中导入反义 p53 寡核苷酸,可促进内膜增生^[26]。基因治疗的策略包括以下方面:①抗血栓生成基因,如 tPA 基因转染内皮细胞,可有效地防止血栓形成。②血管活性物质基因,如重组的 NOS 基因,通过质粒转染平滑肌细胞,抑制平滑肌细胞增殖。③导入抑癌基因和反义原癌基因,如反义 c-jun 基因^[27]、反义 PDGF 基因,可抑制平滑肌细胞分化和增殖。值得注意的是,反义寡核苷酸技术^[28]在近年的基因治疗中受到格外重视。但目前基因治疗技术还很不成熟,主要还在动物实验阶段。所幸的是,这一问题列入国家“十五”重点攻关课题,解放军总医院周定标教授承担了这一重大课题,作了大量开拓性的工作,取得了宝贵的临床经验和再狭窄基础研究方面可喜的进展^[29,30]。

综上所述,有关动脉粥样硬化的分子病理学研究,在基因表达产物蛋白质水平和 RNA 转录水平研究较深入,如细胞因子、凋亡蛋白的表达、基质金属蛋白酶的表达、细胞膜受体的表达、粘附分子的表达等。但基因表达与基因调控的机理尚未有突破性的进展,多基因表达构成其分子发生机理的复杂性。反义寡核苷酸技术是近年来发展的一项控制基因表达方法,目前处于动物实验阶段;基因治疗在此领域方兴未艾,转基因的安全性和有效性尚未解决,有待于继续深入研究。

[参考文献]

- [1] 周定标. 积极开展缺血性脑血管病的外科治疗. 中华神经外科杂志, 1999, 15 (3): 129-130
- [2] Ross R, Bowen-Pope DF, Raines EW. Platelet-derived growth factor: its potential role in wound healing, atherosclerosis, neoplasia, and growth and development. Ciba Found Symp, 1985, 116: 98-112
- [3] Wilcox JN, Smith KM, Williams LT, Schwartz SM. Platelet-derived growth factor mRNA detection in human atherosclerotic plaques by in situ hybridization. J

- Clin Invest*, 1988, 82 (3): 1 134-143
- [4] Lupia E, Pucci A, Peasso P, Merlo M, Baron P, Zanini C. Intra-plaque production of platelet-activating factor correlates with neoangiogenesis in human carotid atherosclerotic lesions. *Int J Mol Med*, 2003, 12 (3): 327-334
 - [5] Wu JP, Tang J. Effects of ET, AGT and ANP on VSMC proliferation. *Chin Sci*, 1993, 36: 948
 - [6] Masayo Fukuhara, Geary RL. Angiotensin-converting enzyme expression in human carotid artery atherosclerosis. *Hypertension*, 2000, 35: 353
 - [7] Nakagawa K, Chen YX, Ishibashi H. Angiogenesis and its regulation: roles of vascular endothelial cell growth factor. *Semin Thromb Hemost*, 2000, 26 (1): 61-66
 - [8] Boyle JJ, Weissberg PL, Bennett MR. Tumor necrosis factor- α promotes macrophage-induced vascular smooth muscle cell apoptosis by direct and autocrine mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23 (9): 1 553-558
 - [9] Khachigian LM, Fahmy RG, Zhang G. c-Jun regulates vascular smooth muscle cell growth and neointima formation after arterial injury. Inhibition by a novel DNA enzyme targeting c-Jun. *J Biol Chem*, 2002, 277 (25): 22 985-991
 - [10] Saxena A, McMeekin JD, Thomson DJ. Expression of Bcl-x, Bcl-2, Bax, and Bak in endarterectomy and atherectomy specimens. *Pathol*, 2002, 196 (3): 335-342
 - [11] Neureiter D, Heuschmann P, Stintzing S, Kolominsky-Rabas P, Barbera L, Jung A. Detection of Chlamydia pneumoniae but not of Helicobacter pylori in symptomatic atherosclerotic carotids associated with enhanced serum antibodies, inflammation and apoptosis rate. *Atherosclerosis*, 2003, 168 (1): 153-162
 - [12] Herman MP, Sukhova GK, Libby P. Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: a novel collagenolytic pathway suggested by transcriptional profiling. *Circulation*, 2001, 104 (16): 1 899-904
 - [13] Beaudoux JL, Giral P, Bruckert E, Bernard M, Foglietti MJ, Chapman MJ. Serum matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 as potential markers of carotid atherosclerosis in infraclinical hyperlipidemia. *Atherosclerosis*, 2003, 169 (1): 139-146
 - [14] Axisa B, Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, Jones L, Bell PR. Prospective, randomized, double-blind trial investigating the effect of doxycycline on matrix metalloproteinase expression within atherosclerotic carotid plaques. *Stroke*, 2002, 33 (12): 2 858-864
 - [15] Marx N, Bourcier T, Sukhova GK. PPAR γ activation in human endothelial cells increases plasminogen activator inhibitor type-1 expression: PPAR γ as a potential mediator in vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19 (3): 546-551
 - [16] Irvine CD, George SJ, Sheffield E. The association of platelet-derived growth factor receptor expression, plaque morphology and histological features with symptoms in carotid atherosclerosis. *Cardiovasc Surg*, 2000, 8 (2): 121-129
 - [17] Li DY, Chen HJ, Staples ED. Oxidized low-density lipoprotein receptor LOX-1 and apoptosis in human atherosclerotic lesions. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2002, 7 (3): 147-153
 - [18] Beutler B, Beutler E. Toll-like receptor 4 polymorphisms and atherogenesis. *N Engl J Med*, 2002, 347 (24): 1978-980
 - [19] Wang CH, Li SH, Weisel RD, Fedak PW, Dumont AS, Szmitko P. C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation*, 2003, 107 (13): 1 783-790
 - [20] Hanyu M, Kume N, Ikeda T. VCAM-1 expression precedes macrophage infiltration into subendothelium of vein grafts interposed into carotid arteries in hypercholesterolemic rabbits—a potential role in vein graft atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2001, 158 (2): 313-319
 - [21] Dietrich H, Hu Y, Zou Y. Mouse model of transplant arteriosclerosis: role of intercellular adhesion molecule-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20 (2): 343-352
 - [22] Koyama H, Maeno T, Fukumoto S, Shoji T, Yamane T, Yokoyama H. Platelet P-selectin expression is associated with atherosclerotic wall thickness in carotid artery in humans. *Circulation*, 2003, 108 (5): 524-529
 - [23] Seye CI, Yu N, Jain R, Kong Q, Minor T, Newton J. The P2Y2 nucleotide receptor mediates UTP-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in coronary artery endothelial cells. *J Biol Chem*, 2003, 278 (27): 24 960-965
 - [24] Marin ML, Gordon RE, Veith FJ. Distribution of c-myc oncoprotein in healthy and atherosclerotic human carotid arteries. *J Vasc Surg*, 1993, 18 (2): 170-176
 - [25] Mills CJ, Northrup JL, Hullinger TC. Temporal expression of c-fos mRNA following balloon injury in the rat common carotid artery. *Cardiovasc Res*, 1996, 32 (5): 954-961
 - [26] Matsushita H, Morishita R, Aoki M. Transfection of antisense p53 tumor suppressor gene oligodeoxynucleotides into rat carotid artery results in abnormal growth of vascular smooth muscle cells. *Circulation*, 2000, 101 (12): 1 447-452
 - [27] Yasumoto H, Kim S, Zhan Y. Dominant negative c-jun gene transfer inhibits vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia in rats. *Gene Ther*, 2001, 8 (22): 1 682-689
 - [28] Elsan A, Mann MJ, Dell'Acqua G. Long-term stabilization of vein graft wall architecture and prolonged resistance to experimental atherosclerosis after E2F decoy oligonucleotide gene therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2001, 121 (4): 714-722
 - [29] 周定标. 重视颈动脉粥样硬化性狭窄、诊治的研究. *解放军医学杂志*, 2002, 27 (8): 659-662
 - [30] 王晓刚, 周定标, 尹卫东, 石怀银, 张笑明, 张晓晨. 肥大细胞在颈动脉粥样斑块中的分布. *解放军医学杂志*, 2002, 27 (8): 671-673

(此文编辑 文玉珊)

•读者•作者•编者•

编辑部重要更正

刊发在我刊第11卷第7期第669~671页的文章[中国病理生理学会主办的科技期刊引证分析(作者朱雯霞等,编辑胡必利)]出现重大差错,应予更正。主要是:(1)文章中关于中国病理生理学会主办的科技学术期刊有误,《中国微循环》不是中国病理生理学会主办的。中国病理生理学会主办的科技学术期刊除《中国病理生理杂志》、《中国动脉硬化杂志》和《中国实验血液学杂志》外,有关的还有《微循环杂志》(武汉大学人民医院与中国病理生理学会微循环专业委员会共同主办,湖北省卫生厅主管)。(2)依据上述事实,按照该文章题目,应删除有关《中国微循环》的一切数据。(3)《微循环杂志》的有关数据(2001年)是:影响因子0.188,总被引频次,即年指标0,他引率0.722,被引半衰期4.14;来源文献量76,参考文献量578,平均引文率7.61,平均作者数3.70,地区分布数17,机构数44,国际论文比0.03,基金论文比0.20,发表时滞2.79。

对此文出现的差错,编辑部负责人负有不可推卸的把关不严的责任。为此,他深表歉意,并向指出此文差错的专家致以真切的谢意。