

肺动脉平滑肌细胞与低氧性肺血管重塑形成机制

张凌云 综述, 高宝安 审校

(三峡大学第一临床医学院宜昌市中心人民医院呼吸内科, 湖北省宜昌市 443003)

[关键词] 肺动脉平滑肌细胞; 低氧性肺动脉高压; 肺血管重塑

[摘要] 低氧条件下肺血管收缩、重塑,继而导致肺血管的持续对抗,其中以中膜增厚为主的肺血管重塑是导致低氧性肺动脉高压持续不可逆性病理改变的重要因素。肺动脉平滑肌细胞是肺动脉中膜的主要构成部分,慢性缺氧条件下由于各种活性介质及细胞生长因子稳态的失衡,肺动脉平滑肌细胞聚集、增殖、肥大及分泌胞外基质;另外,肺动脉平滑肌细胞通过各种信号通路与内膜的内皮细胞及外膜的成纤维细胞相互作用,在低氧性肺血管重塑过程中起着至关重要的作用,本文将对肺动脉平滑肌细胞与低氧性肺血管重塑形成机制的最新研究概况作一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Relationship Between Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells and Mechanism of Hypoxia-induced Pulmonary Vascular Remodeling

ZHANG Ling-Yun, and GAO Bao-An

(Department of Respiration Medicine, The First College of Clinical Medical Science of China Three Gorges University, Yichang Central People's Hospital, Yichang, Hubei 443003, China)

[KEY WORDS] Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell; Hypoxic Pulmonary Artery Hypertension; Pulmonary Vascular Remodeling

[ABSTRACT] Under conditions of hypoxia generalized vasoconstriction and remodeling of the pulmonary vascular leads to pulmonary vascular persistent resistance. The medial thickening is the main reason of pulmonary vascular remodeling and hypoxic pulmonary artery hypertension, pulmonary artery smooth muscle cells (PASMC) are the principal structure of media, and chronic hypoxia induces the imbalance of vasoactive substances and growth factors. Under this condition, the main medial thickening is believed to be attributable to proliferation, hypertrophy and increased accumulation of PASMC as well as expression of extracellular matrix proteins. Moreover, PASMC has an interaction with endothelial cell of intima and fibroblast of adventitia through multiple signal pathways and plays a crucial role in the development of pulmonary vascular remodeling. The article will make a summary of latest research on PASMC and mechanism of hypoxic pulmonary vascular remodeling.

肺高血压是以肺血管抵抗和肺动脉压力升高为主要特征的持续不可逆性疾病,最终导致右心衰竭甚至死亡,低氧性肺动脉高压(hypoxic pulmonary artery hypertension, HPAH)属于肺高血压中的第三大类,主要是由于高原疾病或肺部疾病所致的慢性持续缺氧所致,有着很高的发病率和死亡率,它是一个由肺动脉三层膜都参与的复杂病理生理过程,其中低氧所致肺血管的重塑及增厚中膜中肺动脉

平滑肌细胞(pulmonary artery smooth muscle cells, PASMC)的异常增殖是肺动脉高压持续发展的关键因素,决定着肺动脉高压的持续存在与发展,随着对HPAH发病机制研究的迅速进展,针对不同环节的特异性药物陆续研发成功并取得一定的疗效^[1]。然而消除低氧是不可能的,那么通过对其细胞分子机制及相关信号通路的深入剖析,找出潜在关键的作用靶点进行干预治疗是目前研究的重点。

[收稿日期] 2012-02-27

[基金项目] 湖北省自然科学基金(2011CDB178);湖北省教育厅中青年人才基金(Q20111202)

[作者简介] 张凌云,硕士,研究方向为低氧与肺动脉平滑肌细胞增殖的相关机制,E-mail 为 lingyun861220@yahoo.cn。通讯作者高宝安,硕士研究生导师,研究方向为肺循环疾病的基础与临床,E-mail 为 222xiao Zhao@163.com。

1 低氧性肺血管重塑

1.1 低氧条件下肺血管的形态学改变

慢性缺氧条件下肺动脉各种细胞组分的结构、生物活性及功能表型为了适应低氧条件都会发生改变,比如表达 α -actin“类平滑肌细胞”的外延性扩展导致无肌性小动脉的肌化、小血管的丢失导致肺血管床横断面积的降低等^[2],最终导致肺血管重塑和肺动脉高压的形成,而且这种改变与物种的类别、性别及发育阶段密切相关^[3,4]。在对慢性缺氧大鼠肺动脉高压模型的研究中发现,肺动脉内膜在形态学上改变微小^[5],而以肺动脉中膜和外膜的增厚为主,最终导致肺动脉管腔直径的缩小。肺动脉中膜的增厚主要是由于 PASMC 的聚集、肥大及胞外以胶原和弹力蛋白为主的细胞基质的沉积,而外膜的增厚主要是由于成纤维细胞、肌纤维母细胞的聚集以及胞外基质的增加所致^[6]。

1.2 低氧条件下肺血管重塑的细胞学机制

目前随着对肺循环的细胞分子学的深入研究发现,低氧条件下不同部位血管结构的改变随着其细胞组分、细胞表型及细胞所处的局部微环境不同而改变,而且不同细胞因其遗传谱系、胚胎来源的不同而功能不一,所以低氧性肺血管重塑具有时间和空间限制性^[7-8]。在大鼠 HPAH 模型实验中发现,低氧时肺大动脉中膜平滑肌细胞的增殖至少在 3 天后才出现,而且经过短暂的增殖过程后开始下降,这意味着大鼠肺动脉中膜的增厚主要以 PASMC 的肥大和胞外基质的沉积为主^[9-10];而在大型哺乳动物比如牛、猪等研究中发现,其肺大动脉中膜的增厚主要以未分化的类平滑肌细胞亚群的增殖为主,而且肺大动脉和肺微动脉中膜平滑肌细胞因其电生理学特征不同,其增殖能力及对低氧或其他促增殖因子刺激的反应不同甚至相反^[11]。目前对于低氧性肺血管重塑形成的具体细胞机制还不清楚,也没有明确的具有代表性的细胞表型标记物,需进一步研究。

1.3 低氧所致重塑肺动脉中肺动脉平滑肌细胞的来源

肺动脉中膜的增厚除了其固有 PASMC 的增生和肥大之外,目前比较统一的研究结果表明低氧可促进肺动脉外膜中成纤维细胞/肌纤维母细胞的早期激活、分化成“类平滑肌细胞”继而移行至中膜导致中膜增厚^[12]。此外,无论是胚胎干细胞还是成熟个体的血管内皮细胞都具有分化成平滑肌细胞的

潜能,特别是在低氧或多种炎症因子的刺激下^[13-14]。对新生小牛在慢性缺氧条件下肺动脉中膜的细胞组分研究表明,至少有两种不同表型的平滑肌细胞出现,一种为高分化的、以肥大为主,另一种是未分化的、有着较高的增殖和迁移能力,而且后者并非原有中膜的固有组成细胞,类似于循环祖细胞,不排除由血液中的干细胞或血管外膜本身含有的干细胞分化迁移而来^[15],在低氧及血流动力学改变的压力下,这些未分化的平滑肌细胞可以快速增殖进而导致血管壁的增厚。所以,低氧性肺血管重塑时肺动脉中膜中 PASMC 的来源可能是多源性的,须以一种动态的眼光来看待整个病理生理过程。

2 低氧条件下肺动脉平滑肌细胞的收缩和增殖

无论体内或体外实验研究都发现,低氧可通过多种不同的信号通路来促进肺动脉中膜中表达 α -actin 的平滑肌细胞的收缩和增殖效应,比如激活低氧诱导因子(hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)的表达进而促进其下游一系列促细胞增殖因子的分泌^[16],加强平滑肌细胞对蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 通路的反应,通过激活 GPRC 进而促进由 G α i-和 Gq-介导的胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2) 的活化等^[17]。而且在内皮屏障受损、内源性舒血管物质合成减少时该效应会放大,同时内膜的内皮细胞及外膜的肺动脉成纤维细胞都参与了这一过程,其具体作用机制错综复杂,不能以单一通路来解释,以下对其中几个重要途径的最新研究概况加以解析。

2.1 5-HT 途径

急性和慢性缺氧条件下由血小板、肺神经内分泌细胞及内皮细胞分泌的 5-HT 增多,可直接促进平滑肌细胞的收缩和增殖进而参与肺血管的重塑过程^[18]。PASMC 膜上的受体主要有 5-HT-2A, 5-HT-1B/1D 及 5-HT-2B, 通过 5-羟色胺载体 (hydroxytryptamine transporter, 5-HTT) 抑制剂或基因敲除 5-HT-1B 发现小鼠肺血管重塑及肺动脉高压的程度可显著降低,由 Gq 耦联的 5-HT-1BR 可与 Gi 耦联的 5-HT-2BR 相互作用并共同促进肺动脉高压的形成,且 5-HT-2B 还可以对 5-HTT 的活性起调节作用^[19];另外,5-HT 受体可通过 NADPH 类氧化酶激活氧自由基 (reactive oxygen species, ROS)-丝裂酶原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 信号通路来诱导平滑肌细胞的增殖。所以,

5-HT 及其载体和受体的相互作用共同参与了肺血管的重塑过程,这也为肺动脉高压的治疗提供了新的思路。

2.2 离子通道途径

目前多个研究表明亚急性或急性缺氧可扰乱 PASMCMC 内外离子(K^+ 、 Ca^{2+} 、 H^+)的平衡状态,进而导致细胞电生理学及对各种有效刺激反应的变化。慢性缺氧可降低 PASMCMC 胞膜上 K_v 通道的活性,同时还可直接调节控制 K_v 通道基因的变化而引起 PASMCMC 的收缩和增殖^[20];除此之外,胞质中充足的钾离子还可以抑制 PASMCMC 的凋亡。慢性缺氧时除了电压依赖性钙通道的激活以外,由瞬时受体电位通道(canonical transient receptor potential, TRPC)基因家族编码的非选择性阳离子通道为 Ca^{2+} 进入 PASMCMC 提供了新的旁路途径,由多个不同 TRPC 亚基构成了不同功能的钙池调控钙离子通道(store-operated Ca^{2+} channels, SOCC)和受体调控钙离子通道(receptor-operated Ca^{2+} channels, ROCC),低氧时主要以 TRPC1 和 TRPC6 升高为主,其他 TPRC 亚基基本没有改变^[21]。TRPC 表达的增多可通过 GPCRs-PKC-DAG 途径促进静息状态下胞内 Ca^{2+} 浓度的升高;另外,低氧可直接通过 NADPH 氧化酶刺激线粒体内 ROS 的产生,并激活 PKC ϵ 途径升高胞内 Ca^{2+} 浓度^[22],从而促进 PASMCMC 的增殖及上调肺血管对各种收缩刺激因子(ET-1、5-HT、Ang II)的敏感性。

2.3 Rho 激酶途径

PASMCMC 的收缩状态是由肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)的磷酸化和去磷酸化决定的,MLC 磷酸化是由非 Ca^{2+} /钙调节蛋白依赖的 MLC 激酶催化,其去磷酸化是由 Ca^{2+} /钙调节蛋白依赖的 MLC 磷酸酶(MLC phosphatase, MLCP)催化,两种限速酶的平衡状态控制着细胞的收缩敏感性。Rho 激酶是 Rho 的下游作用底物,低氧时可被激活,主要通过介导 MYPT-1(MLCP 的调节亚单位)的磷酸化来抑制 MLCP 的活性,还通过改变细胞对 Ca^{2+} 的敏感性进而调节细胞骨架的组装、细胞的迁移及平滑肌的收缩来发挥生物学作用^[23]。抑制 Rho 激酶的活性可引起血管的舒张和肺动脉高压的降低,目前 Rho 激酶抑制剂法舒地尔的小样本临床研究已在进行,已证明其可以降低肺动脉压力并增加心指数,但具体适用范围及相关副作用还需进一步研究^[24]。

3 低氧条件下肺动脉平滑肌细胞的凋亡

PASMCMC 增殖和凋亡失衡是导致低氧性肺血管

重塑的重要原因,细胞的凋亡主要通过内部和外部两个途径来完成,内部主要通过线粒体膜的破裂及细胞色素酶 C 的释放来实现,而外部主要通过 CD95、TNF- α 、Fas 配体等蛋白与细胞膜凋亡受体结合进而启动凋亡程序。促进 PASMCMC 凋亡的主要活性物质有 ROS、NO 及 AT-II,此外,低氧时相关离子通道蛋白的增加和减少及 Bcl 基因家族也都参与了 PASMCMCs 的凋亡过程。另有研究提示,HPAH 大鼠可能存在 PASMCMC 凋亡延迟的现象,导致增殖和凋亡的平衡被打破,加重了低氧性肺血管重塑^[25]。所以,能否通过促进 PASMCMC 的凋亡来改善肺血管重塑也是一个新的研究方向。

4 低氧性肺血管重塑的干预措施

HPAH 的基础治疗主要以吸氧、抗凝、利尿为主,而随着对低氧性肺血管重塑形成机制研究的深入,多种新药物开始应用于临床并且取得一定疗效,比如前列环素及其结构类似物、内皮素受体拮抗剂、5 型磷酸二酯酶抑制剂和 Rho 激酶抑制剂等^[1]。最新研究发现免疫炎症反应在低氧性肺血管重塑过程中起着启动和促进效应,而干预该途径可有效逆转肺血管重塑。Ogawa 等^[26]研究发现具有抗炎和免疫抑制作用的糖皮质激素可有效抑制 PDGF 对人肺动脉平滑肌细胞的促增殖效应, Wang 等^[27]从动物模型试验研究中也证实了地塞米松可有效逆转肺动脉高压。另外, Bartelds 等^[28]研究发现通过肥大细胞膜稳定剂色甘酸钠来降低肥大细胞早期的活化可有效改善低氧性肺血管重塑。Nakano 等^[29]研究还发现他汀类药物也能很好地降低和延缓肺动脉高压进展,其主要机制是通过降低 NF- κ B 诱导的炎症反应及肺血管重塑来实现的,同时多种炎症因子及炎症因子拮抗剂也开始用于 HPAH 动物模型的干预研究^[30],所以通过抑制炎症通路和调节免疫反应来干预低氧性肺血管重塑和降低肺动脉高压是未来一个重点的研究方向。

5 展望

低氧性肺血管重塑是一个由多种细胞和分子参与的复杂病理生理过程,其主要诱因为低氧,为了适应和对抗低氧,机体会产生一系列活性介质,导致肺血管膜各层细胞增殖、凋亡、迁移及分化的失衡,最后导致肺血管重塑及 HPAH 的形成。我们需要以一种动态、辩证的思维去探索 HPAH 形成的

整个过程,通过阻遏一条或多条信号通路的激活,进而达到最佳治疗效果,同时,其所带来的相关副作用也需要重视。最近有很多研究表明,低氧所致慢性炎症的细胞分子学机制与肿瘤过度生长所致低氧炎症相似^[31],我们是否可以利用肿瘤基础研究的最新成果来为 HPAH 的治疗提供新的路径和突破点。同时热点研究干细胞移植也显示间充质干细胞可通过分泌多种细胞因子参与免疫调节并抑制炎症反应,尤其联合基因治疗可能会更好的逆转 HPAH^[32]。但目前关于 PSMC 相关信号通路和低氧性肺血管重塑形成的具体机制还不清楚,许多基础研究才刚刚开始,相信随着研究的不断深入会逐渐被揭示,HPAH 也将会得到有效的缓解和治疗。

[参考文献]

- [1] Pabani S, Mousa SA. Current and future treatment of pulmonary hypertension[J]. *Drugs Today (Barc)*, 2012, 48 (2): 133-147.
- [2] Yin H, Li Q, Qian G, et al. Rab1 GTPase regulates phenotypic modulation of pulmonary artery smooth muscle cells by mediating the transport of angiotensin II type 1 receptor under hypoxia[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2011, 43 (3): 401-408.
- [3] Rhodes J. Comparative physiology of hypoxic pulmonary hypertension: historical clues from brisket disease[J]. *J Appl Physiol*, 2005, 98(3): 1 092-100.
- [4] Bosc LV, Resta T, Walker B, et al. Mechanisms of intermittent hypoxia induced hypertension[J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(1-2): 3-17.
- [5] Thorsen LB, Eskildsen-Helmond Y, Zibrandtsen H, et al. BAY 41-2272 inhibits the development of chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 647(1-3): 147-154.
- [6] Stenmark KR, Davie N, Frid M, et al. Role of the adventitia in pulmonary vascular remodeling [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2006, 21: 134-145.
- [7] Owens GK. Molecular control of vascular smooth muscle cell differentiation and phenotypic plasticity[J]. *Novartis Found Symp*, 2007, 283: 174-191.
- [8] Yi B, Cui J, Ning JN, et al. Over-expression of PKG1 α inhibits hypoxia-induced proliferation, Akt activation, and phenotype modulation of human PSMCs: the role of phenotype modulation of PSMCs in pulmonary vascular remodeling[J]. *Gene*, 2012, 492(2): 354-360.
- [9] Christou H, Reslan OM, Mam V, et al. Improved pulmonary vascular reactivity and decreased hypertrophic remodeling during nonhypercapnic acidosis in experimental pulmonary hypertension[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 302(9): L875-890.
- [10] Kobs RW, Muvarak NE, Eickhoff JC. Linked mechanical and biological aspects of remodeling in mouse pulmonary arteries with hypoxia-induced hypertension[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(3): H 1 209-217.
- [11] Frid MG, Li M, Gnanasekharan M, et al. Sustained hypoxia leads to the emergence of cells with enhanced growth, migratory, and promitogenic potentials within the distal pulmonary artery wall[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 297(6): L 1 059-072.
- [12] Li M, Riddle SR, Frid MG, et al. Emergence of fibroblasts with a proinflammatory epigenetically altered phenotype in severe hypoxic pulmonary hypertension[J]. *J Immunol*, 2011, 187(5): 2 711-722.
- [13] Moonen JR, Krenning G, Brinker MG, et al. Endothelial progenitor cells give rise to pro-angiogenic smooth muscle-like progeny [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 86 (3): 506-515.
- [14] Díez M, Musri MM, Ferrer E, et al. Endothelial progenitor cells undergo an endothelial-to-mesenchymal transition-like process mediated by TGF β RI[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 88(3): 502-511.
- [15] Yeager ME, Frid MG, Stenmark KR. Progenitor cells in pulmonary vascular remodeling[J]. *Pulm Circ*, 2011, 1 (1): 3-16.
- [16] Yee Koh M, Spivak-Kroizman TR, Powis G. HIF-1 regulation: not so easy come, easy go[J]. *Trends Biochem Sci*, 2008, 33(11): 526-534.
- [17] Lannér MC, Raper M, Pratt WM, et al. Heterotrimeric G proteins and the platelet-derived growth factor receptor-beta contribute to hypoxic proliferation of smooth muscle cells[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 33 (4): 412-419.
- [18] Maclean MR, Dempsey Y. The serotonin hypothesis of pulmonary hypertension revisited[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 661: 309-322.
- [19] Kekewska A, Hübner H, Gmeiner P, et al. The bulky N6 substituent of cabergoline is responsible for agonism of this drug at 5-hydroxytryptamine 5-HT_{2A} and 5-HT_{2B} receptors and thus is a determinant of valvular heart disease [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 338(1): 381-391.
- [20] Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(6): 537-547.
- [21] Liu XR, Zhang MF, Yang N, et al. Enhanced store-operated Ca²⁺ entry and TRPC channel expression in pulmonary arteries of monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 302 (1): C77-87.
- [22] Rathore R, Zheng YM, Niu CF, et al. Hypoxia activates

- NADPH oxidase to increase [ROS] i and [Ca^{2+}] i through the mitochondrial ROS-PKCepsilon signaling axis in pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 45(9) : 1 223-231.
- [23] Luke T, Maylor J, Undem C, et al. Kinase-dependent activation of voltage-gated Ca^{2+} channels by ET-1 in pulmonary arterial myocytes during chronic hypoxia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 302 (10) : L1 128-139.
- [24] Fujita H, Fukumoto Y, Saji K, et al. Acute vasodilator effects of inhaled fasudil, a specific Rho-kinase inhibitor, in patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *Heart Vessels*, 2010, 25(2) : 144-149.
- [25] Gurbanov E, Shiliang X. The key role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of pulmonary hypertension [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2006, 30(3) : 499-507.
- [26] Ogawa A, Firth AL, Yao W, et al. Prednisolone inhibits PDGF-induced nuclear translocation of NF-kappaB in human pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008, 295 (4) : L648-L657.
- [27] Wang W, Wang YL, Chen XY, et al. Dexamethasone attenuates development of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension [J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38 (5) : 3 277-284.
- [28] Bartelds B, van Loon RL, Mohaupt S, et al. Mast cell inhibition improves pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension [J]. *Chest*, 2012, 141 (3) : 651-660.
- [29] Chen L, Nakano K, Kimura S, et al. Nanoparticle-mediated delivery of pitavastatin into lungs ameliorates the development and induces regression of monocrotaline-induced pulmonary artery hypertension [J]. *hypertension*, 2011, 57(2) : 343-350.
- [30] Price LC, Wort SJ, Perros F, et al. Inflammation in pulmonary arterial hypertension [J]. *Chest*, 2012, 141(1) : 210-221.
- [31] Sakao S, Tatsumi K. Vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension: multiple cancer-like pathways and possible treatment modalities [J]. *Int J Cardiol*, 2011, 147(1) : 4-12.
- [32] Morecroft I, White K, Caruso P, et al. Gene therapy by targeted adenovirus-mediated knockdown of pulmonary endothelial Tph1 attenuates hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Mol Ther*, 2012, 20(8) : 1 516-528.
- (此文编辑 李小玲)