

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.02.039

## 剪切力促侧支动脉重塑研究进展\*

杨文慧<sup>1</sup>综述,郭涛<sup>2△</sup>,杨莉<sup>1</sup>审校

(1. 昆明医科大学附属延安医院老年病科 650051; 2. 昆明医科大学第一附属医院心内科 650032)

[关键词] 剪切力;侧支动脉;动脉生成

[中图分类号] R543

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)02-0257-03

冠心病治疗措施包括冠状动脉介入治疗(PCI)、冠状动脉旁路移植术(CABG)和药物治疗等。对于稳定型冠心病患者,PCI可减轻缺血症状但未能延长生存;CABG可改善多支血管病变伴左室功能降低冠心病患者心肌灌注、延长患者生存,但有较大手术风险;以他汀类药物为基础的药物治疗仅适度减轻斑块负荷、防止冠脉内形成血栓,尚不能逆转居高不下的心血管病死率和病残率。鉴于PCI、CABG的潜在风险和现有药物的局限性,探索心肌内侧支动脉新生的方法成为新的研究方向。

## 1 动脉生成的概念

动脉生成指急性动脉闭塞后,缺血区原有的细小动脉吻合支或侧支循环的小动脉代偿性生长、扩张。动脉生成包括4个阶段<sup>[1]</sup>。第1阶段出现在急性动脉阻塞或者严重狭窄后2 d,内皮细胞(EC)和平滑肌细胞(SMC)进入合成和增殖阶段,血管通透性增加。1 d后,骨髓来源的单核细胞在趋化因子作用下迁徙至病变处。第2阶段,细胞外基质和侧支小动脉的内弹性膜被消化,SMC和EC开始大量增殖。第3阶段小动脉重塑为管径较大的血管。SMC建立细胞间连接并在环形肌层中生长。同时,新合成的弹性蛋白和胶原蛋白形成新的支架结构。第4阶段,“修枝”现象出现,一些较小的血管退化,另一些则直径明显增大。侧支循环的重建可恢复正常冠状动脉最大血流的30%,外周动脉最大血流的50%<sup>[2]</sup>。心肌梗死发生后,心肌损伤范围大小不一,但通常小于闭塞冠脉灌注的范围。原因在于人类心脏存在由吻合侧支构建的血管网络。这种侧支血管网络胚胎时期就已存在,适宜条件下可生长、发育,形成有功能的侧支循环。心肌梗死后侧支血管发挥多少代偿保护作用取决于侧支血管的直径。健康者冠脉吻合支直径通常小于200 μm,当冠脉急性闭塞或严重狭窄时其代偿作用不足以避免大面积心肌梗死发生。而当侧支动脉的直径达到500~800 μm时,心肌梗死的范围和病死率将降低<sup>[3]</sup>。心肌梗死区存活高分的侧支动脉与显著降低的心力衰竭风险和远期病死率相关<sup>[4]</sup>。

## 2 动脉生成的启动

目前发现,在自然状态下流体剪切力是动脉阻塞或严重狭窄后动脉生成的主要触发因素<sup>[5-6]</sup>。阻塞或严重狭窄的出现使阻塞血管的近端和阻塞远端之间形成了一个大的压力梯度,导致侧支血流和剪切力均明显增加,增加的剪切力可激活核因子κB(NF-κB),后者上调一氧化氮(NO)并导致最初的侧支动脉扩张。

有学者认为,除剪切力外,圆周应力在动脉生产的起始也很重要,并与剪切力协同作用。圆周应力和径向应力的增加可

导致激活物蛋白-1(AP-1)介导的单核细胞趋化蛋白(MCP-1)在平滑肌细胞中表达增多,这是动脉生成的关键步骤<sup>[7]</sup>。而Pipp等<sup>[8]</sup>报道在闭塞的猪股动脉远端和伴行静脉之间建立动静脉分流,闭塞远端的血流明显增加并且压力降低,使剪切力明显增加而圆周应力则下降,而侧支血流却增加了2.3倍,大于无动静脉分流情况下最大流量的40%。圆周应力和径向应力在动脉生成过程中是否发挥重要作用至今仍有争论。

## 3 机械剪切力对血管内皮细胞的生物效应

流体剪切力直接作用于血管内皮细胞膜和膜结构上。将剪切力传导进入细胞的结构包括有小窝(caveolae)、整合素(integrin)、纽蛋白(vinculin)、踝蛋白(talin)以及桩蛋白(paxillin)等。剪切力增加的初期,内皮细胞发生了很多的变化,包括NO释放,G蛋白激活,蛋白激酶C激活,血小板内皮细胞黏附分子(PECAM-1)的酪氨酸磷酸化以及细胞迁徙。然而,剪切力信号传导详细而复杂的机制仍不完全清楚。

有研究发现,内皮细胞通过野香草相关瞬时感受器电位蛋白(TRPV4)感知剪切力变化。TRPV4是一种钙离子(Ca<sup>2+</sup>)通道,在剪切力的作用下细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度增加并导致血管扩张<sup>[9]</sup>。在剪切力增加最初的3 h内,内皮细胞变长并产生较多张力纤维,细胞间结合部增厚且形成较多的微丝。6 h后,内皮细胞显示出运动特性,细胞失去了稠密的周围带,较多的微管组织和细胞核集中到细胞的上游区域。12 h后,内皮细胞开始变长并朝着液体流动的方向排列。细胞内的张力纤维增厚变长,细胞结合部和微丝的厚度增加。这些改变像是形成一种新的细胞支架结构并且随着剪切力的改变而改变。在内皮细胞机械传导的模型中,肌动蛋白细胞骨架将细胞外的流体剪切力从细胞的一个部分传递至另一个部分,肌动蛋白细胞骨架断裂后剪切力介导的信号传递失效。

## 4 动脉生成的细胞内信号转导

内皮细胞暴露于增强的剪切力后30~60 s内,PECAM-1即发生酪氨酸磷酸化<sup>[10]</sup>。流体剪切力对内皮细胞的机械作用时,在PECAM-1扮演了机械刺激感受器的作用;PECAM-1磷酸化后,可调节SHP-2(Src同源区2的蛋白酪氨酸磷酸酶)和Gab1(Grb2-associated binder)蛋白转位至细胞连接点。SHP-2和Gab1均参与细胞应答时细胞外信号调节激酶(ERK)的激活。磷酸化的PECAM-1与SHP-2结合。SHP-2反过来再与Gab1结合,后者激活SHP-2磷酸酶的活性,并可能导致PECAM-1脱去磷酸。PECAM-1、SHP-2和Gab1之间的相互作用可产生信号并激活ERK途径。因此,可通过SHP-2对流体剪切力的动态改变而不断磷酸化和去磷酸化来连续监测流体剪切力。这可能在机械力传导通路中担任关键步骤。有研究

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81260027);云南省应用基础研究项目(2014FZ051)。 作者简介:杨文慧(1982-),主治医师,在读博士,主要从事心血管病学的研究。 △ 通讯作者,E-mail:guotao20@hotmail.com。

报道,将 PECAM 敲出小鼠股动脉阻塞,3 周后检测其远端血流灌注,结果发现野生型小鼠足底的血液灌注增加达 189.8% 而 PECAM 敲出小鼠仅增加 65.5%<sup>[11]</sup>。提示 PECAM-1 在动脉生成反应中可能发挥重要作用。

在剪切力的作用下,PECAM-1、MCP-1、eNOS 和细胞间黏附分子(ICAM-1)等众多基因表达并激活了多条通路,使处于静止状态、黏附倾向低的内皮细胞活化并释放炎症趋化因子和生长因子,从而促进单核细胞的吸引、活化和黏附。在动脉生成的起始阶段有 NF- $\kappa$ B<sup>[12]</sup>、NO、Ras-ERK 信号转导通路以及 Rho 信号通路<sup>[13]</sup>的激活。内皮细胞暴露于流体剪切力 5~10 min 后 ERK 途径就被激活。在离体小鼠肠系膜动脉分支的原位模型中发现,转录因子 AP-1 在 ERK-1、ERK-2 作用下被激活,并能增强 MCP-1 在内皮和血管平滑肌细胞的表达。由 AP-1 介导的 MCP-1 表达显著增加被公认是动脉生成的主要事件。MCP-1 是  $\beta$  趋化因子受体、C-C 家族趋化因子受体 2 (CC chemokine receptor 2, CCR2) 和 C-C 家族趋化因子受体 4 (CC chemokine receptor 4, CCR4) 的有效激动剂,这 3 个受体主要由单核细胞表达。缺乏 CCR2 的小鼠其动脉生成受损。然而,当内皮层被机械性移除后,MCP-1 的转录并未发生明显的改变。流体剪切力作用于内皮是否是动脉生成惟一的触发因素,或者压力相关的圆周应力作用于内皮下的平滑肌细胞也起到始动因素的作用,这些问题仍有待进一步研究。

尽管如此,MCP-1 表达增高可吸引单核细胞附着并浸入到冠状动脉侧支的内皮或者是外周侧支血管的外膜间隙。将股动脉闭塞后局部注入 MCP-1 可增加侧支血流传导。在内皮细胞表面,黏附分子例如选择素类、ICAM-1、ICAM-2 和血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1) 表达增多并集簇在黏着斑附近<sup>[14]</sup>。MCP-1 和 VEGF 可提高整合素在单核细胞的表达,从而增强黏附作用。然后,单核细胞上的整合素、巨噬细胞抗原复合体-1 (macrophage antigen complex-1, Mac-1) 和淋巴细胞功能相关抗原-1 (lymphocyte function associated antigen-1, LFA-1) 与内皮细胞上的黏附分子 ICAM-1、ICAM-2 和 VCAM-1 结合,并集中到黏着斑复合体。整合素与黏附分子的结合介导了单核细胞从血管内皮迁移至血管外膜和血管周间隙。抗 ICAM-1 或者  $\beta$ 2-integrins 单克隆抗体可阻断侧支动脉生成过程中单核细胞的黏附和迁移<sup>[15]</sup>。

## 5 血管周围组织间隙的重塑

一旦循环中的单核细胞归巢到动脉生成的位点并且迁移进入血管周间隙,它们将发育为成熟的巨噬细胞<sup>[16]</sup>,并且产生大量的炎症趋化因子包括 MCP-1、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、精氨酸酶-1 (arginase-1) 和基质金属蛋白酶 (MMP) 等。动脉生成过程中,在血管外膜巨噬细胞内粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 的作用下,MMP-12 和 MMP-14 表达明显上调<sup>[17]</sup>。这些酶类联合作用降解现存的纤维支架,创造动脉生长的空间,并重塑侧支动脉的管壁。转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 在血管平滑肌细胞内可增加胶原蛋白的表达<sup>[18]</sup>。新合成的胶原蛋白和弹性蛋白铺设形成新的支架结构,平滑细胞在新的支架上增殖形成一个管径更粗的血管。

## 6 血管内皮细胞和平滑肌细胞的增殖

巨噬细胞和少量的内皮细胞在增殖阶段上调生长因子的表达,包括碱性成纤维细胞因子 (bFGF)、血小板源性生长因子 (PDGF-B) 和 TGF- $\beta$ 1。研究发现,VEGF-A 和 FGF-4 过表达后可促进毛细血管的增生并刺激其管壁重塑<sup>[19]</sup>。侧支动脉的内皮细胞可表达 VEGF,从而增加平滑肌细胞内 MCP-1 的表达。用拮抗剂封闭 VEGFR 信号可以完全消除运动性动脉生成模型中侧支血流的增加和动脉的扩大。关于剪切力如何导

致 VEGF 信号增加的细节并不清楚。VEGF 是内皮细胞的强大的促细胞分裂剂,VEGF-A 在生长中的侧支动脉内皮细胞表面表达并诱导内皮细胞增殖。尽管如此,VEGF 对平滑肌细胞的增殖并没有直接的作用。流体剪切力作用于内皮细胞后导致大量平滑肌细胞增殖的机理仍不清楚。

国内外研究发现,体外心脏震波 (CSWT) 释放的低能量机械震荡类似聚焦超声波,可在心肌组织细胞间产生“空穴效应”并形成大量微气泡,微气泡膨胀继而发生非球面性破裂,对微气泡周围的心肌细胞形成快速而短暂的剪切力,在原有微血管床基础上促进新生血管形成,改善心肌灌注<sup>[20-21]</sup>。多项随机双盲安慰剂对照研究显示<sup>[22-24]</sup>,CSWT 可改善冠心病患者心肌灌注和心肌代谢,减轻心绞痛症状,减少硝酸甘油用量,改善心功能,提高运动耐力,并且具有安全性。动物及细胞试验也证实 CSWT 上调血管内皮生长因子、促进血管内皮细胞增殖、促缺血组织中毛细血管新生,改善猪 AMI 模型的冠脉侧支循环<sup>[25]</sup>。改善缺血组织血循环与血管新生和动脉生成密切相关,且动脉生成可能发挥更加重要的作用。研究剪切力促动脉生成、重塑侧支循环将是治疗缺血性血管疾病的重要进展。

## 参考文献

- [1] Troidl K, Schaper W. Arteriogenesis versus angiogenesis in peripheral artery disease[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2012, 28 Suppl 1: S27-29.
- [2] Meier P, Schirmer SH, Lansky AJ, et al. The collateral circulation of the heart[J]. *BMC Med*, 2013, 11: 143.
- [3] Xiang FL, Liu Y, Lu X, et al. Cardiac-specific overexpression of human stem cell factor promotes epicardial activation and arteriogenesis after myocardial infarction[J]. *Circ Heart Fail*, 2014, 7(5): 831-842.
- [4] Steg PG, Kerner A, Mancini GB, et al. Impact of collateral flow to the occluded infarct-related artery on clinical outcomes in patients with recent myocardial infarction: A report from the randomized occluded artery trial[J]. *Circulation*, 2010, 121(25): 2724-2730.
- [5] Oh CC, Klein JD, Migrino RQ, et al. Growing collateral arteries on demand[J]. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*, 2011, 6(3): 189-198.
- [6] Seghers L, de Vries MR, Pardali E, et al. Shear induced collateral artery growth modulated by endoglin but not by ALK1[J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(10): 2440-2450.
- [7] Dyer L, Pi X, Patterson C. Connecting the coronaries: how the coronary plexus develops and is functionalized[J]. *Dev Biol*, 2014, 395(1): 111-119.
- [8] Pipp F, Boehm S, Cai WJ, et al. Elevated fluid shear stress enhances postocclusive collateral artery growth and gene expression in the pig hind limb[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24: 1664-1668.
- [9] Bubolz AH, Mendoza SA, Zheng X, et al. Activation of endothelial TRPV4 channels mediates flow-induced dilation in human coronary arterioles: role of Ca<sup>2+</sup> entry and mitochondrial ROS signaling [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 302(3): 634-642.
- [10] Conway DE, Breckenridge MT, Hinde E, et al. Fluid shear stress on endothelial cells modulates mechanical tension across VE-cadherin and PECAM-1[J]. *Curr Biol*, 2013, 23(11): 1024-1030.

- [11] Chen Z, Rubin J, Tzima E. Role of PECAM-1 in arteriogenesis and specification of preexisting collaterals[J]. *Circ Res*, 2010, 107(11):1355-1363.
- [12] Tzima E, Irani-Tehrani M, Kiosses WB, et al. A mechanosensory complex that mediates the endothelial cell response to fluid shear stress[J]. *Nature*, 2005, 437(7057):426-431.
- [13] Eitenmüller I, Volger O, Kluge A, et al. The range of adaptation by collateral vessels after femoral artery occlusion[J]. *Circ Res*, 2006, 99(6):656-662.
- [14] Heil M, Schaper W. Influence of mechanical, cellular, and molecular factors on collateral artery growth (arteriogenesis)[J]. *Circ Res*, 2004, 95(5):449-458.
- [15] Jaipersad AS, Lip GY, Silverman S, et al. The role of monocytes in angiogenesis and atherosclerosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(1):1-11.
- [16] Bruce AC, Kelly-Goss MR, Heuslein JL, et al. Monocytes are recruited from venules during arteriogenesis in the murine spinotrapezius ligation model [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(9):2012-2022.
- [17] Yang BL, Wu S, Wu X, et al. Effect of shunting of collateral flow into the venous system on arteriogenesis and angiogenesis in rabbit hind limb[J]. *Acta Histochem Cytochem*, 2013, 46(1):1-10.
- [18] Sager HB, Middendorff R, Rauche K, et al. Temporal patterns of blood flow and nitric oxide synthase expression affect macrophage accumulation and proliferation during collateral growth[J]. *J Angiogenesis Res*, 2010, 2(1):18.
- [19] Jazwa A, Tomczyk M, Taha HM, et al. Arteriogenic therapy based on simultaneous delivery of VEGF-A and FGF4 genes improves the recovery from acute limb ischemia [J]. *Vasc Cell*, 2013, 13(1):13.
- [20] Wang Y, Guo T, Ma TK, et al. A modified regimen of extracorporeal cardiac shock wave therapy for treatment of coronary artery disease[J]. *Cardiovasc Ultrasound*, 2012, 10(8):789-790.
- [21] Di Meglio F, Nurzynska D, Castaldo C, et al. Cardiac shock wave therapy: assessment of safety and new insights into mechanisms of tissue regeneration[J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(4):936-942.
- [22] Gabrusenko SA, Malakhov VV, Shitov VN, et al. An experience of the use of a curative method of cardiac shock wave therapy in patients with ischemic heart disease[J]. *Kardiologiia*, 2013, 53(5):20-26.
- [23] Ito K, Fukumoto Y, Shimokawa H. Extracorporeal shock wave therapy for ischemic cardiovascular disorders [J]. *Am J Cardiovasc Drugs*, 2011, 11(5):295-302.
- [24] Yang P, Guo T, Wang W, et al. Randomized and double-blind controlled clinical trial of extracorporeal cardiac shock wave therapy for coronary heart disease[J]. *Heart Vessels*, 2013, 28(3):284-291.
- [25] Tao SM, Guo T, Wang Y, et al. Extracorporeal cardiac shock wave therapy improved myocardial micro-vascular circulation after acute myocardial infarction at early stage in pigs[J]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2011, 42(2):222-226.

(收稿日期:2015-07-15 修回日期:2015-08-03)

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.02.040

## Breg 与自身免疫性疾病的研究进展\*

刘 青<sup>1</sup>, 吕辉洋<sup>2</sup>综述, 罗 莉<sup>1△</sup>审校

(1. 新疆医科大学第一附属医院风湿科, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学第五附属医院超声诊断科, 乌鲁木齐 830000)

[关键词] 免疫系统疾病; Breg; 关节炎, 类风湿; 红斑狼疮, 系统性

[中图分类号] R593.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)02-0259-04

### 1 Breg 的发现及分类

**1.1 Breg 的发现过程** 早在 20 世纪 50 年代, 有研究表明缺乏 B 细胞的小鼠会出现与自身免疫性疾病相关的症状; 1974 年首次证明了 B 细胞可抑制迟发型超敏反应, 该实验的研究对象为豚鼠脾脏; 1996 年 Wolf 等<sup>[1]</sup>分别用遗传性 B 细胞缺陷的小鼠和野生型小鼠建实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalo-myelitis, EAE) 小鼠模型, 结果表明遗传性 B 细胞缺陷的小鼠体内诱导的 EAE 更易恶化, 而后者部分有自愈的倾向, 该研究最先提出了 Breg 的存在。早在 1997 年, Mizoguchi 通过对炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 模型的研究, 第一次指出 Breg 为一类具有免疫调

节特性且与分泌免疫球蛋白无关联的 B 细胞亚群。5 年后, Mizoguchi 在 IBD 模型中发现 CD1d 的 B 细胞亚群可分泌 IL-10, 且可抑制疾病进展, 同时首次开始使用 Breg 这个术语。2008 年, Yanaba 等通过对 CHS (contact hypersensitivity) 小鼠模型的研究, 鉴定了一类 CD5<sup>+</sup> CD1dhi 调节性 B 细胞亚群, 这些 B 细胞可抑制 T 细胞的增殖及其介导的炎性反应, 同时存在抗原特异性。

**1.2 Breg 的分类及表型** 根据 B 细胞的来源、表面标志及存在器官的不同, 把 B 细胞分为两个谱系: B1 和 B2。其中 B1 细胞主要源自胎儿肝脏, 在胸膜、肠黏膜及腹膜中表达较多。B1 细胞又包括 B1a 细胞 (CD11b<sup>+</sup> CD5<sup>+</sup>) 和 B1b 细胞 (CD11b<sup>+</sup>

\* 基金项目: 新疆维吾尔自治区高校科研计划科学研究重点项目 (XJEDU2013120); 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (2015Z121C042)。作者简介: 刘青 (1986—), 住院医师, 在读硕士, 主要从事类风湿疾病的诊断与治疗研究。△ 通讯作者, E-mail: 442334051@qq.com。