

肺动脉平滑肌细胞与低氧肺血管重构

陈昌贵 吴天一

持续性低氧可导致肺血管重塑,压力增高,其结构变化主要表现为血管壁的增厚、管腔狭窄。长期过高的肺动脉压力最终会引起心力衰竭与死亡。肺血管重构是低氧肺动脉高压(hypoxic pulmonary hypertension, HPH)持续发展的病理生理基础,目前研究表明 HPH 防治关键是抑制低氧肺血管重构。持续性低氧会诱发肺血管壁的多种组成细胞发生一系列结构与功能变化,包括内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞等,其中肺动脉平滑肌细胞(pulmonary vascular smooth muscle cells, PSMCs)的异常分化、增殖、迁移在肺血管重构中起着重要的作用。

一、PSMCs 在低氧肺血管重构中的作用

肺小动脉低氧十分敏感,缺氧时,肺小动脉会立即收缩,引起肺动脉压力升高,而持续升高的肺动脉压又会导致肺小动脉发生一系列适应性的变化:主要表现为 PSMCs 迁移、肥大增殖,肌型血管中膜增厚,非肌性血管肌化以及细胞外基质合成增多,管壁变厚、管腔狭窄等。这种结构变化即血管重建,最终导致不可逆转性肺动脉高压^[1]。PSMCs 在肺血管重构过程中发挥重要作用,PSMCs 不仅是肺血管收缩的效应细胞,同时也是迁移、肥大增殖等引起结构重构的细胞基础。组织结构病理检查表明,HPH 时,肺动脉壁中 PSMCs 增多,官腔变窄^[2]。低氧引起肺血管重构的机制主要有两个方面:①低氧直接作用与 PSMCs,促进其增殖;②低氧作用于内皮细胞,使其释放多种细胞因子,作用于 PSMCs、成纤维细胞、内皮细胞等,促进其增殖。目前研究表明,低氧肺血管重构的一个重要方向是低氧诱导的 PSMCs 的异常分化、迁移、增殖相关机制研究^[3-5]。大量的研究认为抑制低氧引起的直接或间接 PSMCs 异常分化、增殖、迁移是抑制低氧肺血管重构,预防和治疗 HPH 的有效途径和方法。

二、低氧 PSMCs 增殖机制

血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)的异常增殖是血管重构性相关疾病如 HPH、动脉粥样硬化、慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)等的基本病理变化。多种细胞因子、生长因子作为细胞外刺激信号,激活细胞内相关信号通路,启动与增殖相关基因的表达,促进细胞增殖,从而导致血管重构。低氧 PSMCs 增殖对低氧肺血管重构起重要作用,抑制 PSMCs 增殖可以改善低氧肺血管重构,减轻肺动脉压力。

1. PI_3K/AKT 信号通路与低氧 PSMCs 增殖:
 PI_3K 通过两种方式激活,一种是与具有磷酸化酪氨酸残基的生长因子受体或连接蛋白相互作用,引起二聚体构象改变而被激活;另一种是通过 Ras 和 p110 直接结合导致 PI_3K 活化。活化的 PI_3K 产生第二信使 PIP_3 , PIP_3 与细胞内含有 PH 结构域的 Akt 和 PDK1 结合,改变 Akt 的结构,使之转移到细胞膜,导致膜上的 PDK-1 和 PDK-2 发生磷酸化, PDK1 的磷酸化可导致 Akt 活化。活化的 Akt 通过磷酸化作用激活或抑制其下游一系列底物如 Bad, caspase-9、NF- κ B、GSK β 3 等,从而调节细胞的增殖、分化、凋亡以及迁移等。有研究发现,生长因子刺激下, AKT 可以活化细胞周期蛋白,促进 VSMCs 的增殖,抑制 AKT 的活化可以抑制血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)刺激的 VSMCs 增殖。PTEN 基因是一种肿瘤抑制基因,可以通过去磷酸化 PIP_2 和 PIP_3 抑制 PI_3K 激活,也可通过抑制 PDK-1 和 AKT1 活化而抑制 PI_3K/AKT 信号通路,通过腺病毒转染 PTEN 基因抑制 AKT1 活化可以抑制低氧 PSMCs 增殖, LY294002 (PI_3K 的抑制剂)可以抑制 PDGF 诱导 PSMCs 增殖, Akt 对于细胞适应是至关重要的,在低氧环境下 PSMCs 中 AKT 的表达增强, AKT 活化对于低氧诱导 PSMCs 增殖是必需的,通过腺病毒转染 PKG α 基因抑制 AKT 的活化可以抑制低氧诱导的 PSMCs 增殖^[3,4]。运用 LY294002 抑制 PI_3K/AKT 信号通路的活化,可以抑制低氧诱导的

作者单位:430060 武汉大学人民医院心内科(陈昌贵);810012 青海高原医学科学研究所(吴天一)

通讯作者:吴天一,中国工程院院士,研究员,电子信箱:wutian-yiqh@hotmail.com

PASMCs 增殖以及下调低氧条件下 PASMCs 中细胞增殖核抗原(PCNA)表达^[5]。

2. ERK1/2 通路和低氧 PASMCs 增殖:丝裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是丝氨酸/苏氨酸激酶高度相关的蛋白激酶超家族,是细胞内重要的信号转导系统之一,存在于大多数细胞内,是真核细胞转导细胞外信号到细胞内引起细胞反应的一类重要信号系统。每一条 MAPK 信号通路都以三级级联方式激活,即 MAPKKK, MAPKK 和 MAPK,磷酸化 MAPK 是其活化形式。这些激酶都由不同的细胞外刺激激活,调节不同的细胞功能,主要介导细胞分化、增殖、凋亡及细胞间功能同步化等多种生理及病理过程。ERK1/2 是首先被发现的 MAPK 信号通路。抑制 MAPK 的活化可以抑制抑制 VSMCs 的增殖,MEK/ERK1/2 信号通路在 PASMCs 增殖中发挥重要作用。低氧可以刺激 PASMCs 中 ERK1/2 的表达,MEK 抑制剂 U0126 和 PD98059 可以通过抑制 ERK1/2 通路的活化抑制低氧 PASMCs 增殖^[5,6]。

3. JAK/STAT 信号通路和低氧 PASMCs 增殖:STAT 蛋白是一类脱氧核糖核酸结合蛋白,其针对特异性刺激而激活,诱导基因转录而引出各种生物功能,包括调节细胞增殖、分化、凋亡、免疫调节等许多重要的生物学功能。STAT 家族有 6 个成员 STAT1-STAT6,其结构上都含有 N-端保守序列、DNA 结合区、SH3 结构域、SH2 结构域及 C-端的转录激活区。有研究表明,JAKs 和 STAT 蛋白可以将各种各样的细胞因子和生长因子刺激转导至细胞内,Ang II 可以通过激活 STAT3 刺激的 VSMCs 增殖,而且 JAK2 特异性抑制剂 AG490 预处理或是通过电穿孔导入抗 STAT3 抗体可以抑制 Ang II 刺激的 VSMCs 增殖,在血管损伤导致的 VSMCs 增殖中 STAT3 活化增强,PDGF 刺激 VSMCs 增殖中需要 JAK2 和 STAT3 的活化。细胞因子信号转导抑制因子(suppressors of cytokine signaling 3, SOCS-3)可以抑制 JAK/STAT 通路的活化,过表达 SOCS-3 可抑制低氧 PASMCs 增殖^[7]。在体外实验中低氧可以刺激 PASMCs 的 JAK1、JAK2、JAK3 以及 STAT1、STAT3 磷酸化^[8]。通过 RNA 干扰抑制 STAT3 或 AG490 预处理抑制 JAK-STAT 通路,可以抑制低氧 PASMCs 增殖^[9]。

4. NFAT 信号通路和低氧 PASMCs 增殖:钙离子激活钙神经素,钙神经素可使 NFATs 去磷酸化并向细胞核内转移,调控细胞核内的转录因子相互作用,

环孢菌素 A 及他克莫司(tacrolimus, FK506)可以抑制钙神经素的活化从而抑制 NFAT 信号通路。NFAT 通路的参与人类子宫肌层 VSMCs 和大鼠主动脉 VSMCs 增殖。研究证实在原发性肺动脉高压患者以及野百合碱诱导的肺动脉高压大鼠 PASMCs 增殖中, NFATs 的活化是必需的,在慢性低氧新生小鼠肺动脉高压模型中,野生型肺动 PASMCs 中 NFATc3 活化增强, NFATc3 杂合子基因敲除与野生型相比肺血管壁较薄, PASMCs 增殖程度较轻,肺动脉压力较低,西地那非抑制低氧 PASMCs 增殖作用与抑制 NFAT 信号通路有关^[10-12]。环孢菌素 A 可以通过抑制 NFAT 信号通路下调低氧条件 PASMCs 的 α 肌动蛋白表达,抑制 PASMCs 由收缩型向合成型转变,收缩型 PASMCs 无增殖或增殖能力很弱,可见环孢菌素 A 可以通过抑制 NFAT 信号通路抑制低氧 PASMCs 增殖^[13]。

5. ROS 信号与低氧 PASMCs 增殖:近年来,活性氧族(reactive oxygen species, ROS)被证明作为细胞内信号分子,通过激活下游与细胞的增殖和分化有关的酶,如 MAPK 刺激许多转录因子和信号级联,参与细胞周期与增殖的调控。越来越多的研究表明,抑制 ROS 生成或清除 ROS 如抗氧化剂,能抑制 MAPK 通路,从而抑制 VSMCs 增生。超氧阴离子自由基和过氧化氢可以刺激 PASMCs 增殖,相反,超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶,超氧化物歧化酶/过氧化氢酶类似物和抗氧化剂抗坏血酸能够抑制血清刺激 PASMCs 增殖。低氧处理 PASMCs 时 ROS 产生增多,用 Mn-TBAP 清除 ROS,可以抑制 PASMCs 增殖^[14]。NOX4 可以促进细胞内 ROS 的产生,运用 RNA 干扰技术抑制 NOX4 基因可以抑制低氧 PASMCs 内 ROS 的产生和低氧 PASMCs 增殖,抗氧化剂 DPI 能减少低氧 PASMCs 内 ROS 的产生,抑制低氧 PASMCs 增殖^[15]。

三、低氧 PASMCs 表型转化机制

VSMCs 分为收缩型和合成型。正常动脉血管中的 VSMCs 以收缩型为主,其主要功能是维持血管的弹性和收缩血管,无增殖迁移能力,肌丝含量较丰富,结构蛋白含量多而合成基质的能力较差。当 VSMCs 在受到炎症因子刺激、缺血或缺氧等刺激时,由收缩型转化为合成型,合成型 VSMCs 分化程度较低,肌丝含量及结构蛋白含量较少,但其合成和分泌基质蛋白的能力强,可发生增殖、迁移入内膜,该表型的 VSMCs 可存在于病变的血管中。VSMCs 表型转化在心血管疾病扮演着重要角色,动脉粥样硬化、PCI 术

后再狭窄、低氧肺动脉高压与 VSMCs 表型转化有着密切的关系。以往的研究表明 PSMCs 表型调控是低氧肺血管重构的关键因素,缺氧条件下显着下调 PSMCs 标志蛋白 MHC、SM- α -actin 和 calponin,缺氧促进 PSMCs 从收缩型向合成类型转化,由于收缩型 PSMCs 无增长能力,所以抑制低氧诱导的 PSMCs 由收缩型向合成型转化可以抑制低氧肺动脉高压的发生^[3,16]。研究表明 ERK1/2 信号通路、P38MAPK 信号通路、PI₃K/AKT 信号通路与 VSMCs 表型调控有关,然而有关低氧诱导 PSMCs 表型转化的调控信号转导通路研究甚少。低氧时 PSMCs 首先从收缩型向合成类型转化,然后 PSMCs 增殖增强,细胞外基质合成增加,促进低氧肺血管重构的发生。心肌素是有效的 SRF 共同刺激因子,可通过与 SRF 结合促进 VSMCs 标志基因的表达式,有研究表明在低氧环境时通过 siRNA 抑制心肌素的表达可以下调 PSMCs 标志蛋白,低氧环境时过表达心肌素可上调 PSMCs 标志蛋白,通过 siRNA 抑制 PKG 表达可以下调心肌素,PKG 过表达时可以上调心肌素抑制低氧 PSMCs 的表型转化,说明 PKG 可以通过上调心肌素抑制低氧 PSMCs 表型转化^[17,18]。PKG α 过表达可以抑制低氧 PSMCs 由收缩型向合成型转化,PKG 特异性抑制剂 KT5823 可以促进低氧 PSMCs 表型转化^[4]。环孢菌素 A 可以通过抑制 NFAT 信号通路抑制低氧诱导的 PSMCs 表型转化,siRNA 抑制 STAT3 可以抑制低氧诱导 PSMCs 表型转化,可见抑制 NFAT 通路或 JAK/STAT 可以低氧 PSMCs 表型转化^[9,13]。

四、低氧 PSMCs 迁移机制

低氧条件下 PSMCs 从中膜迁移至内膜并大量增殖是低氧肺血管重构发生的重要基础,探讨低氧 PSMCs 迁移机制,是研究低氧肺动脉高压、慢性肺源性心脏病的重要方向。有关低氧诱导的 PSMCs 迁移的分子机制还有大量未知内容,尤其是其确切机制和信号转导过程还不明确。水通道蛋白 1 的上调是依赖细胞内 Ca²⁺ 增加,抑制钙通道可以抑制水通道蛋白 1 的表达及低氧诱导的 PSMCs 的迁移,通过 RNA 干扰技术抑制水通道蛋白 1 表达可以抑制低氧 PSMCs 的迁移,Ca²⁺ 依赖水通道蛋白 1 对于低氧 PSMCs 的迁移必须的,PKG α 过表达可以抑制低氧 PSMCs 迁移,PKG 特异性抑制剂 KT5823 可以促进低氧 PSMCs 迁移,低氧可以上调人 PSMCs 的 MicroRNA-21,抑制 MicroRNA-21 的表达可以抑制低

氧诱导人 PSMCs 的迁移,钠氢交换蛋白 1 (sodium-hydrogen exchanger 1, NHE1) 可以通过抑制核转录因子 E2F1 抑制低氧 PSMCs 的迁移^[4,19-21]。有研究结果表明,与肌动蛋白相关的两种蛋白转蛋白 (transgelin) 和 CapG 可促进低氧人 PSMCs 的迁移^[22]。有关低氧 PSMCs 迁移相关信号通路还存在许多未知,其可能与 VSMCs 迁移机制存在共同特征,但是 PAMSC 有自身特性,在某些迁移机制上又不完全相同。

五、展 望

HPH 是一种以肺血管收缩和重塑导致肺血管阻力的增加的疾病,神经内分泌信号,氧化应激、炎症、缺血等可能会促进肺血管重构。低氧 PSMCs 增殖、表型转化、迁移在低氧肺血管重构发生、发展中发挥着重要作用,其发生机制十分复杂,增殖、迁移、表型转化是可以相互影响,如 PSMCs 由收缩型向合成型转化可以促进其增殖、迁移能力。细胞内相关信号通路通过级联反应,转录因子相互影响参与低氧 PSMCs 增殖、表型转化、迁移,但目前其机制仍不清楚,有待于更加深入而具体的了解各种信号通路在其中的作用,今后可研究各种细胞信号通路在离体水平对低氧 PSMCs 增殖、表型转化、迁移的影响,寻找调控的关键基因和靶点,并进一步验证这一些关键靶点在低氧肺动脉高压动物模型中的作用,在细胞以及动物整体水平上揭示低氧对肺组织乃至机体的全面影响的机制,为预防和治疗低氧肺动脉高压提供重要的实验和理论基础。

参考文献

- 1 Stenmark KR, Fagan KA, Frid MG. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: cellular and molecular mechanisms [J]. Circ Res, 2006, 99(7): 675-691
- 2 Kwapiszewska G, Chwalek K, Marsh LM, et al. BDNF/TrkB signaling augments smooth muscle cell proliferation in pulmonary hypertension [J]. Am J Pathol, 2012, 181(6): 2018-2029
- 3 Luo C, Yi B, Bai L, et al. Suppression of Akt1 phosphorylation by adenoviral transfer of the PTEN gene inhibits hypoxia-induced proliferation of rat pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 397(3): 486-492
- 4 Yi B, Cui J, Ning J, et al. Over-expression of PKG 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
- 5 Li G, Xing W, Bai S, et al. The calcium-sensing receptor mediates hypoxia-induced proliferation of rat pulmonary artery smooth muscle cells through MEK1/ERK1,2 and PI₃K pathways [J]. Basic Clin

- Pharmacol Toxicol, 2010, 108(3): 185–193
- 6 Xia S, Tai X, Wang Y, *et al.* Involvement of Gax gene in hypoxia – induced pulmonary hypertension, proliferation, and apoptosis of arterial smooth muscle cells [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44(1): 66–73
 - 7 Bai L, Yu Z, Qian G, *et al.* SOCS3 was induced by hypoxia and suppressed STAT3 phosphorylation in pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *Resp Physiol Neurobiol*, 2006, 152(1): 83–91
 - 8 Wang G, Qian G, Zhou D, *et al.* JAK – STAT signaling pathway in pulmonary arterial smooth muscle cells is activated by hypoxia [J]. *Cell Biol Int*, 2005, 29(7): 598–603
 - 9 Liu T, Li Y, Lin K, *et al.* Regulation of S100A4 expression via the JAK2 – STAT3 pathway in rhomboid – phenotype pulmonary arterial smooth muscle cells exposure to hypoxia [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(8): 1337–1345
 - 10 Bonnet S, Rochefort G, Sutendra G, *et al.* The nuclear factor of activated T cells in pulmonary arterial hypertension can be therapeutically targeted [J]. *PNAS*, 2007, 104(27): 11418–11423
 - 11 Bierer R, Nitta CH, Friedman J, *et al.* NFATc3 is required for chronic hypoxia – induced pulmonary hypertension in adult and neonatal mice [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 301(6): L872–L880
 - 12 Wang C, Li J, Zhao L, *et al.* Inhibition of SOC/Ca²⁺/NFAT pathway is involved in the anti – proliferative effect of sildenafil on pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Respir Res*, 2009, 10(1): 123
 - 13 de Frutos S, Spangler R, Alo D, *et al.* NFATc3 mediates chronic hypoxia – induced pulmonary arterial remodeling with α – Actin up – regulation [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(20): 15081–15089
 - 14 Zhao J, Zhou Z, Hu H, *et al.* The relationships among reactive oxygen species, hypoxic factor α and cell proliferation in rat pulmonary arterial smooth muscle cells under hypoxic [J]. *Physiologica Sinica*, 2007, 59(3): 319–324
 - 15 Ismail S, Sturrock A, Wu P, *et al.* NOX4 mediates hypoxia – induced proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells: the role of autocrine production of transforming growth factor – β 1 and insulin – like growth factor binding protein – 3 [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 296(3): L489–L499
 - 16 易斌, 陆俊羽, 白莉, 等. 野生型蛋白激酶 G1 α 腺病毒抑制低氧肺动脉平滑肌细胞表型转换及细胞增殖 [J]. *中华内科杂志*, 2010, 49(5): 385–388
 - 17 Jie W, Guo J, Shen Z, *et al.* Contribution of myocardin in the hypoxia – induced phenotypic switching of rat pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *Exp Mol Pathol*, 2010, 89(3): 301–306
 - 18 Zhou W, Negash S, Liu J, *et al.* Modulation of pulmonary vascular smooth muscle cell phenotype in hypoxia: role of cGMP – dependent protein kinase and myocardin [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2009, 296(5): L780–L789
 - 19 Leggett K, Maylor J, Undem C, *et al.* Hypoxia – induced migration in pulmonary arterial smooth muscle cells requires calcium – dependent upregulation of aquaporin 1 [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(4): L343–L353
 - 20 Sarkar J, Gou D, Turaka P, *et al.* MicroRNA – 21 plays a role in hypoxia – mediated pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and migration [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2010, 299(6): L861–L871
 - 21 Yu L, Hales CA. Silencing of sodium – hydrogen exchanger 1 attenuates the proliferation, hypertrophy and migration of pulmonary artery smooth muscle cells via E2F1 [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(5): 923–930
 - 22 Zhang R, Zhou L, Li Q, *et al.* Up – regulation of two actin – associated proteins prompts pulmonary artery smooth muscle cell migration under hypoxia [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009, 41(4): 467–475

(收稿日期: 2013 – 05 – 13)

(修回日期: 2013 – 05 – 28)

主动脉疾病生物学标志物的研究进展

赵梦华 宋文奇 张学强

生物学标志物例如评估心肌坏死的肌钙蛋白和评估心力衰竭的脑利钠肽在临床已得到广泛应用^[1]。目前对急性主动脉夹层 (acute aortic dissection, AAD)、主动脉瘤、主动脉炎的生物标志物已进行了较为深入的研究并取得了相当大的进展, 此文对近年来主动脉疾病生物学标志物的研究进展进行综

述。

一、主动脉夹层

AAD 临床表现的多样性和极高的病死率使早期诊断既较为困难也十分迫切。AAD 常表现为典型的突发性剧烈胸痛, 但也可以表现为不典型的神经系统症状、痉挛性腹部疼痛或背部疼痛等。由于 AAD 早期每小时有约 1% 的高病死率, 所以及时诊断是十分重要的^[2]。虽然由于诊断方法特别是影像学方法以

作者单位: 056001 河北省邯郸市中心医院心内科

通讯作者: 赵梦华, 电子信箱: xn2118040@163.com