文章编号:1000-5404(2009)01-0003-03

专家述评

低氧肺血管重构的分子机制研究概况及展望

王关嵩,钱桂生 (第三军医大学新桥医院呼吸内科,全军呼吸内科研究所,全军呼吸病研究重点实验室,重庆 400037)

低氧是呼吸系统多种疾病共同的病理生理特征。持续的低氧会导致低氧肺动脉高压(hypoxic pulmonary hypertension, HPH)的不可逆性损害,是严重影响患者预后的重要因素,也是临床治疗的难点。肺血管重构是HPH持续发展的病理基础,同时也是肺动脉高压药物疗效不佳的主要原因之一。所以,低氧性肺血管重构的防治研究日益受到人们的重视。深入研究与理解低氧时肺血管重构的细胞与分子机制,具有十分重要的意义。现就低氧肺血管重构的细胞分子生物学机制研究进展进行简要的回顾和展望。

1 概述

血管壁是一个处于复杂的自分泌和旁分泌相互作用中,由内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞等组成的活性组织器官。它能够感知其周围的环境变化,通过细胞间的信号传递及局部产物和介质来改变其自身的结构和功能。肺小动脉对氧分压或氧含量降低十分敏感,当氧供不足时,肺小动脉会立即收缩,导致肺压力升高,进而导致右心室压力升高。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:肺动脉平滑肌细胞肥大、管壁变厚、内径变窄等。这种结构的变化即血管重构(vascular remodeling),会导致肺动脉压力进一步升高,最终带来右心室功能衰竭。在慢性低氧时动物模型的改变具有很多共性,其结构改变包括:非肌性血管部位出现平滑肌样细胞,肌性血管中膜与外膜肥厚。中膜的增厚主要与平滑肌细胞肥大、增生与细胞外基质的沉积有关。外膜增厚主要与成纤维细胞和肌成纤维细胞的增多、外基质的沉积有关。

2 低氧肺血管重构的细胞与分子机制

慢性低氧会诱发肺血管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、外膜成纤维细胞等。同时还会诱发炎症细胞在血管部位的募集,同血管结构细胞相互作用,进而募集前体细胞参与,形成长期的改变。

2.1 血管内皮

虽然血管的各种细胞均参与重构过程,但由于内皮表面持续暴露于各种体液因素、炎症介质以及物理力量,故血管内皮细胞在血管重构中担负着非常重要的角色,即感应器的作用,并通过产生生物介质来改变血管的结构和功能。同时其本身也作为血管重构的效应器之一,并最终影响着血管的结构和功能。

低氧时内皮细胞是损伤的直接靶位,慢性低氧可导致肺管内膜增厚,其基础是内皮细胞肥大、增生,内皮细胞基底膜可能发生灶性的断裂,微原纤维增多和内皮下间隙增厚,与高血压大鼠的血管表现相似。低氧刺激还可导致肺血管渗透性增加,表现为蛋白直接溢出增多,而胞浆蛋白溢入血管腔后会直接激活血管壁的蛋白酶,进而诱导一系列的重构反应。研究表明,低氧时内皮细胞会分泌更多的导粘连蛋白、纤连蛋白与弹性蛋白,从而使内皮细胞表现出类似平滑肌细胞样的功能,同时内皮细胞产生和分泌的对平滑肌细胞生长具有限制性的硫酸类肝素蛋白多糖减少,从而对平滑肌的增殖起促进作用。

低氧对内皮细胞的结构与代谢均有明显的影响:低氧会降低内皮细胞的抗凝能力,增高渗透性,促进炎症标记物的表达,并干扰一系列代谢与细胞转运功能。低氧会直接影响内皮细胞细胞膜的脂质状态、磷脂与脂肪酸构成和细胞膜的流动性,其机制尚不清楚,可能与脂质过氧化反应有关。内皮细胞膜的变化会直接影响生长因子受体的表达与功能,同时也影响着生物胺、细胞外核苷酸、腺苷的转运与加工,从而对肺血管的张力与结构均有重要的影响。

低氧会抑制内皮细胞正常血栓调节素的合成,促进组织因子的表达[1],诱导前凝血物质的活性,影响内皮细胞的抗凝活性,还可促进IL-1、IL-6、内皮白细胞分子-1(ELAM-1)、细胞间粘附分子-1(ICAM-1)、血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)的表达。这提示低氧时内皮细胞可能通过前凝血物质与前炎症因子的表达与循环中白细胞、血小板等细胞相互作用,从而参与肺血管重构的形成。慢性低氧时内皮细胞还会合成与释放更多强力血管活性物质,不仅可以促进平滑肌细胞的收缩,还具有明显的促进增殖与合成的能力,前列环素与NO的合成与活性会降低血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)、白三烯、内皮素、5-羟色胺、PDGF、信号转录因子等产生增多[2,3]。

以上表明,低氧时内皮细胞的渗透性、凝血、炎症与蛋白合成能力均发生显著变化,这些变化可能直接或间接与平滑肌或外膜成纤维细胞相互作用,促进血管张力与结构的异常的发生。

作者简介:王关嵩,男,河南省平顶山市人,博士,研究员,主要从事低氧肺血管重建与肺损伤的发病机制和防治方面的研究。电话:(023)68755644,E-mail:wanggs2003@gmail.com

通信作者:钱桂生,男,上海市人,硕士,主任医师,教授,博士生导师,担任中国医师协会呼吸医师分会副主任委员,中华医学会内科学分会、呼吸病分会常委,全军医学科学技术委员会委员,重庆市医学会内科学会主任委员,承担国家自然科学基金6项,获国家科技进步二、三等奖各1项,军队医疗成果一等奖2项,军队和省部级科技进步二等奖17项。荣获全国优秀科技工作者、国家级有突出贡献中青年专家、全军优秀教师、中国医师奖、军队育才奖金奖,主要从事呼吸衰竭、呼吸疾病酸碱失衡的发病机制和防治方面的研究,发表论文100余篇,主编专著7部。电话:(023)68755603,E-mail:qiangs@mail.tmmu.com.cn

收稿日期:2008-11-06;修回日期:2008-11-20

2.2 血管平滑肌细胞

慢性低氧性肺动脉高压在很大程度与肺动脉中层的结构和功能的改变有关。低氧对平滑肌细胞的离子转运、生物活性物质释放、增殖功能等均有重要影响。

由于离子稳态对平滑肌细胞的许多功能,如收缩、生长、基因表达等均有重要的调节作用,所以很多研究致力于阐明慢性低氧过程中细胞内离子变化的调节机制。持续低氧可引起肺动脉平滑肌细胞(pulmonary artery smooth muscle cell, PASMC)内 K^+、Ca^{2+}、H^+等离子稳态发生明显改变,导致膜电位去极化、静息时钙离子内流增加,对血管活性物质的反应发生改变,对 PASMC 的收缩、增殖起促进作用。

在正常状态下,钾通道是 PASMC 静息膜电位的主要调节因素,低氧时钾通道活性明显降低,膜静息电位去极化。通过全细胞膜片钳技术研究发现:在鼠肺动脉高压动物模型,暴露于慢性低氧的平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMCs)的电压门控钾通道活性明显受损。近来认为钾通道活性的降低可能与该通道的调节环节或表达量的改变有关。PCR 技术分析显示,在慢性低氧动物肺动脉的 $K_V1.2$ 与 $K_V1.5$ α 亚单位的表达明显减少,提示低氧可能通过降低钾通道基因的表达使钾通道电流活性减弱。但低氧抑制钾通道表达的机制尚不明确。

慢性低氧时细胞内静息钙离子浓度明显升高,这可能与低氧诱导膜静息电位改变,导致电压门控钙离子通道活性改变、钙通道开放、钙离子内流有关。膜静息电位对细胞内钙离子浓度的调节具有重要作用。钾通道活性受抑制与继之的 PASMC 去极化,导致细胞质中 Ca^{2+} 浓度的明显变化。细胞内钙离子浓度升高后可引起细胞收缩、增殖、基因表达发生改变。

除细胞内钙离子之外,细胞内 pH (pHi)对于平滑肌功能也有相似的调节功能。研究表明暴露于慢性低氧后 PASMC 的基础 pHi 明显升高。尽管参与 pH 平衡调节的转运因子有多种,但 Na^+/H^+ 交换的激活对于生长因子诱导的 PASMC 增殖才是必需的。有研究表明:慢性低氧大鼠 SMCs 的 Na^+/H^+ 转换活性明显增强,使用 Na^+/H^+ 交换抑制因子干预能够减轻慢性低氧大鼠的肺血管重构,提示慢性低氧时 Na^+/H^+ 交换活性增加可能是基础 pHi 增加的原因。

低氧时平滑肌细胞 5-羟色胺载体与受体的功能变化也可能参与血管重构。5-羟色胺是一种重要的血管活性物质,可以由血小板、肺部的神经内分泌细胞、内皮细胞等释放,在低氧时其血浆水平明显升高,对于 SMCs 具有促进收缩与增殖的作用。SMCs 表面同时表达有 5-羟色胺转运载体 (5-HTT)和受体(5-HT-2A, 5-HT-1B/1D, 5-HT-2B),二者处于一种动态平衡状态,过表达 5-HTT 会促进低氧性大鼠肺血管重构的形成[4]。

低氧时平滑肌细胞的细胞调控涉及一系列信号转导通路,如 GTP-RhoA 及其下游的 Rho 激酶通路主要参与平滑肌细胞的增殖与分化的调节,作为第二信号分子的 Ca^{2+}、肌球蛋白轻链激酶(MLCK)与肌球蛋白轻链磷酸酶(MLCP)之间的平衡主要影响其收缩功能。血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)表型转化的过程受细胞内多条信号转导通路的调节,蛋白磷酸化往往是信号传递改变基因表达方式,转录因子或与其相互作用的蛋白质常常是磷酸化作用的靶位。以下途径可能发挥主要作用:①PI3-K/PKB(Atk)途径:PI3-K/PKB(Atk)途径在保持 VSMC 于分化表型方面起重要作用。PI3-K/PKB(Atk)抑制剂可使 VSMC 形态发生改变,并失去收缩活性。我们的研究显示 PI3-K/PKB(Atk)途径在低氧时 PASMC 中活化,基因转染 PI3-K/PKB(Atk)抑制剂 PTEN,可明显抑制细胞的异常增殖与迁移[5,6]。②JAK/STAT 途径:STAT 的 C 末端 Tyr 残基,是配体诱导 Tyr 磷酸化的位点。当配体与相应受体结合后,被激活的受体 Tyr 激酶与 SH2 功能区相互作用,并使其磷酸化发生核转位,激活配体反应性基因的转录,参与 VSMC 受损伤刺激时的应激反应。我们的研究发现,低氧时肺动脉平滑肌细胞(PASMC)JAK/STAT 通路激活,抑制 STAT3 可抑制 PASMC 的增殖反应[7]。③PKC-MAPK 途径:外界信号通过 G 蛋白偶联受体激活 PKC,活化的 PKC 使 Raf21 磷酸化,后者进一步启动 MEK-MAPK 系统,通过调控一些转录因子的磷酸化而发挥作用。PKC 还可以磷酸化 STAT 的 Ser 残基,使 STAT 活化后与相应启动子结合,激活配体反应性基因的转录[8],通过与 JAK/STAT 途径的相互作用对表型调节发挥作用。研究表明,不同的刺激因素可以激活相同的信号途径,但对 VSMC 表型的影响却不相同。

2.3 外膜成纤维细胞

以往血管外膜仅被认为起到支撑和营养作用,但近几年认识到,血管外膜在血管壁的功能调节中起着信号感知、整合、储存及释放关键调节分子的极为重要的作用,对于血管的功能、修复以及血管重构过程具有重要的影响。实际上,在许多损伤发生时,外膜是血管壁的第一感知部位。研究表明,在低氧暴露的早期,血管外膜就发生了明显的重构变化[7],外膜成纤维细胞首先被激活、增殖,并可释放调节因子,可以直接调节中层 SMC 张力与生长活性,还可促进炎症细胞的募集,对于血管的结构与功能发挥着直接与间接的调节作用。

低氧时成纤维细胞的多种生长代谢功能发生改变。体外实验表明,在低氧状态下,外膜成纤维细胞的增殖反应较 SMC 发生更早,细胞表面血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)与血管紧张素Ⅱ受体(AT)表达均上调,而二者是低氧诱导因子(HIF)-1 的下游靶位,抑制 ACE 与 AT 可明显减轻 HIF 依赖性的成纤维细胞增殖反应。

低氧活化的成纤维细胞还可通过旁分泌的方式对血管壁内其他细胞发挥重要的影响 ,如对 SMC 的增殖具有强力刺激作用,通过产生活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)影响 SMC 的收缩,破坏血管内皮细胞源性 NO 的扩血管效应,产生多种炎性细胞因子与化学介质,如 MCP-1、SDF-1、VEGF,诱发炎症细胞的募集[9]。

低氧还可诱发成纤维细胞向肌成纤维细胞表型转化。活化的成纤维细胞与肌成纤维细胞均可释放更多的胶原和其他细胞外基质蛋白,促进血管结构的变化。肌成纤维细胞对缩血管物质的反应较慢,但一旦收缩后就失去松弛的能力,促进血管张力的增大[10]。

2.4 炎症细胞与前体细胞

在低氧性肺血管重构中,炎症细胞与一些非炎症细胞也可

能发挥作用。越来越多的证据表明,多种炎症细胞、致炎性细胞因子、化学介质与粘附分子参与低氧血管重构的过程。在低氧动物模型肺部巨噬细胞、中性粒细胞数目明显增多, MCP-1、MIP-2、IL-1、IL-6 等水平升高,高原性肺水肿患者肺泡灌洗液中巨噬细胞、中性粒细胞数目明显增多,TNF、IL-1、IL-6、IL-8 水平等明显增高。白细胞可能通过释放这些炎性因子对多种血管细胞,如成纤维细胞与 SMCs 的增殖、分化、基质蛋白的产生及对血管活性物质的反应均有重要的促进作用。炎症细胞增多的原因可能与活化的外膜成纤维细胞和中膜平滑肌细胞分泌趋化性因子有关。近年来研究表明,炎症细胞还可诱导循环中的间充质前体细胞向血管部位募集,从而参与血管重构的过程。但此类研究报道较少。

3　肺血管重构发病机制的研究展望

低氧肺血管重构的进程是一个由多种细胞和分子共同参与、相互影响的复杂网络共同作用的结果。这就决定了科学研究的挑战性。今后研究的重点既要阐明不同细胞的单独作用及其分子生物学机制,还应关注 2 种及多种细胞间的交互作用及其对信号转导通路的作用。未来的研究应当着重以下几个方面。

(1)从细胞的分子生物学机制方面,深入探索新的、更有效的防治分子及其作用机制,以期发现防治低氧肺血管重构的新靶点和新的药物。

(2)从细胞的信号转导通路方面,着力研究 2 种或多种信号通路间的相互影响和对细胞的整合效应,并寻找调控这些通路的关键基因。

(3)从动物模型方面,充分利用现有的平原和高原低氧肺动脉高压的模型制作的规范方法,从大动物到小动物开展系列研究,争取在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,探讨和验证新的防治方法。

(4)从临床患者出发,平原的慢性肺源性心脏病患者和高原肺水肿、脑水肿患者均和低氧肺动脉高压有关,涉及低氧肺血管重构。积极开展多中心临床研究,进一步明确低氧肺动脉高压发病机制和易患因素,筛选有效的预防和治疗措施,具有重要的现实意义。

关键词: 血管重构;低氧;肺

中图法分类号: R563.02　　**文献标识码**: A

参考文献:

[1] Strukova S. Blood coagulation-dependent inflammation. Coagulation-dependent inflammation and inflammation-dependent thrombosis[J]. Front Biosci, 2006, 11: 59 – 80.

[2] Wang G, Qian P, Jackson F R, *et al*. Sequential activation of JAKs, STATs and xanthine dehydrogenase/oxidase by hypoxia in lung microvascular endothelial cells[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2008, 40(3): 461 – 470.

[3] Preston I R, Hill N S, Warburton R R, *et al*. Role of 12-lipoxygenase in hypoxia-induced rat pulmonary artery smooth muscle cell proliferation[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006, 290(2): L367 – L374.

[4] MacLean M R, Deuchar G A, Hicks M N, *et al*. Overexpression of the 5-hydroxytryptamine transporter gene: effect on pulmonary hemodynamics and hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. Circulation, 2004,109(17): 2150 – 2155.

[5] 易　斌, 钱桂生, 白　莉, 等. 低氧致大鼠肺动脉平滑肌细胞 Akt mRNA 表达的变化[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(3): 192 – 194.

[6] Loirand G, Guerin P, Pacaud P. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology[J]. Circ Res, 2006, 98(3): 322 – 334.

[7] Wang G S, Qian G S, Zhou D S, *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.

[8] Black S M, DeVol J M, Wedgwood S. Regulation of fibroblast growth factor-2 expression in pulmonary arterial smooth muscle cells involves increased reactive oxygen species generation[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2008, 294(1): C345 – 354.

[9] Davie N J, Crossno J T Jr, Frid M G, *et al*. Hypoxia-induced pulmonary artery adventitial remodeling and neovascularization: contribution of progenitor cells[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004, 286(4): L668 – L678.

[10] Desmouliere A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast[J]. Wound Repair Regen, 2005, 13(1): 7 – 12.

（编辑　王　红）

2008 年度第三军医大学获批国家自然科学基金资助项目和经费再创新高

2008 年度国家自然科学基金评审结果已经揭晓。第三军医大学共获批各类项目 136 项,包括面上项目 77 项、青年科学基金 55 项、重点项目 2 项、重大项目课题 1 项、海外及港澳学者合作研究基金 1 项;共获批研究经费 3 915 万元。批准项目数比 2007 年度增加 33 项,批准总经费比 2007 年度增加 1 036 万元,2 项指标均创我校历史新高。其中祝之明教授的“代谢性核受体调节脂肪代谢的分子机制”获重大项目课题资助;王宇明教授的“核苷酸类似物干预下 HBV 准种全长序列变异模式及其选择特性研究”和刘良明教授的“VEC 与 VSMC 间的直接通讯对休克血管反应性的调控机制”获重点项目资助。

（科研部计划处　供稿）