

慢性应激在血管内膜增生中的作用及分子机制的研究进展

王 铮(综述), 李 香(审校)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号:82060052)

作者单位: 133000 吉林, 延边大学附属医院心血管内科

作者简介: 王 铮, 在读硕士研究生, 研究方向: 心血管疾病发病机制。E-mail: 836510827@qq.com

通信作者: 李 香, 医学博士, 硕士研究生导师, 研究方向: 心血管疾病发病机制。E-mail: 15526770377@163.com

[摘要] 血管内膜增生是多种血管增生性疾病的基本病理生理特征, 而慢性应激可导致血管内膜增生。近年来, 慢性应激对于血管内膜增生的作用及通过组织蛋白酶 S、组织蛋白酶 K 相关信号通路引起血管内膜增生的研究日趋增多, 两者之间关系越来越受到关注。该文就慢性应激在血管内膜增生中的作用及分子机制的研究进展作一综述。

[关键词] 慢性应激; 血管内膜增生; 组织蛋白酶 S; 组织蛋白酶 K

[中图分类号] R 543 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)07-0658-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.07.21

Research progress on the role of chronic stress in vascular intimal hyperplasia and its molecular mechanism

WANG Zheng, LI Xiang. Department of Cardiovascular Medicine, Yanbian University Hospital, Jilin 133000, China

[Abstract] Vascular intimal hyperplasia is the basic pathophysiological feature of a variety of vascular proliferative diseases, and chronic stress may lead to vascular intimal hyperplasia. In recent years, the role of chronic stress in vascular intimal hyperplasia and the studies of vascular intimal hyperplasia caused by cathepsin S (CatS) and cathepsin K (CatK) related signaling pathways have been increasing, and the relationship between chronic stress and vascular intimal hyperplasia has attracted more and more attention. This paper reviews the research progress on the role of chronic stress in vascular intimal hyperplasia and its molecular mechanism.

[Key words] Chronic stress; Vascular intimal hyperplasia; Cathepsin S; Cathepsin K

血管内膜增生是一种以血管内膜过度增厚和管腔狭窄为主要特征的血管病变, 其形成涉及内皮细胞功能紊乱、免疫炎症反应和血管中膜平滑肌细胞增殖等过程^[1]。血管内膜增生也是动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)、血管成形术、冠状动脉旁路移植术后再狭窄等心血管疾病共同的病理生理特征, 与血管重塑关系密切。防止内膜增生及术后再狭窄一直是国内外研究的重要课题^[2-3]。慢性应激是指机体内长期受到各种负面因素的刺激而产生的非特异性全身反应。在消极的生活事件中, 慢性应激普遍存在, 并与血管内膜增生密切相关^[4]。研究发现, 慢性应激情况下, 血管内膜增生是增强的^[5-6]。组织蛋白酶(cathepsin)是溶酶体蛋白酶家族的重要成员。目前已发现 19 种组织蛋白酶, 可分为丝氨酸、天门冬氨酸和半胱氨酸组织蛋白酶三大类, cathepsin S (CatS)、cathepsin K (CatK) 属于半胱氨酸组织蛋白酶^[7-8]。以往研究表明, CatS、CatK 两种亚型可促进血管内膜增生病变的进展, 慢性应激可使损伤血管增生内膜的 CatS、CatK 基因及蛋白表达增加, 增加其在血管内膜病变中含量^[6,9], 增强其对下游信号通路激活作用, 进而促进血管内膜增生。本文将慢性应激与 CatS、CatK 促进血管内膜增生的信号通路联系进行阐述, 以期人们更了解慢性应激对血管内膜增生的重要作用, 进而从高危因素的源头预防疾病的发生。

1 慢性应激在血管内膜增生中的作用

在传统的危险因素中, 例如高脂血症, 40% 的 AS 危险因素与慢性应激有关^[10]。慢性应激引起血管内膜增生的作用分为以下几方面: (1) 慢性应激可引起

血流动力学改变,导致局部内皮损伤。受损的血管内皮细胞可使受损的血管内膜暴露于多种致病因素下,激活内源性和外源性凝血途径,进而导致血栓形成,而局部血栓形成可逐渐导致早期管腔狭窄或闭塞。(2)慢性应激造成血管内膜损伤后,局部受损的血管可产生多种细胞因子、趋化因子和炎症介质,如血小板源性生长因子、胰岛素样生长因子等^[11]。在这些因素的刺激下,平滑肌细胞大量增殖,导致新生内膜增生,加重血管狭窄的病理转归。(3)长期的应激还可导致一氧化氮和内皮素之间的失衡,并导致内皮功能障碍,最终促进血管内膜增生^[5,12]。(4)慢性炎症性应激可导致组织蛋白酶表达的增加,调节血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)在心血管炎症和代谢紊乱中的细胞迁移、侵袭^[13],这无疑加速了血管内膜增生的进程。在基础研究方面,Meng 等^[6]在应激小鼠模型实验中,发现应激病变与非应激病变相比,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2 和 MMP-9 基因水平及凝胶溶解活性明显升高,在血管重塑过程中,应激增强了细胞外基质蛋白的水解,最终导致血管内膜增生。而新生血管形成的过程与各种蛋白水解系统的细胞外基质重塑有关。大量研究支持 MMP 参与这一过程^[14-15]。Meng 等^[5]通过建立新西兰兔应激模型研究发现,与单纯的高脂饮食组相比,高脂饮食增加慢性应激后,内膜及中膜厚度的增加更为显著。该研究证实,慢性应激与其他危险因素[例如低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)或总胆固醇(total cholesterol, TC)]相比更能促进血管内膜和中膜增生。它是内膜和中膜增生的重要的独立危险因素之一。这为预防应激相关的血管内膜增生的发生发展提供了理论依据。

2 慢性应激参与血管内膜增生的分子机制

2.1 慢性应激可通过 CatS 相关的信号通路促进血管内膜增生 组织蛋白酶家族是半胱氨酸组织蛋白酶的一种,其在人体各种细胞溶酶体中起“清道夫”作用。目前,人体组织及细胞内共发现 19 种组织蛋白酶,其中 CatS 具有较强的胶原蛋白和弹性蛋白分解活性^[16],其表达水平可预测 AS 心血管疾病的发生、发展及预后^[17]。研究发现,CatS 存在于人 AS 病变中,而正常血管中 CatS 表达很少。早期 AS 斑块中,CatS 主要表达于内膜和中膜的平滑肌细胞,而在进展的粥样斑块中,CatS 主要定位于纤维帽的巨噬细胞和平滑肌细胞中^[15-18]。动物实验结果也表明,损伤后增生的新生内膜中 CatS 表达增高,并参与血管重构^[19-20]。过

氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR- γ) 是可连接转录因子核超家族的成员,PPAR- γ 通过与类视黄醇 X 受体结合作为专属性异二聚体的 PPAR 反应调节元件,控制参与脂肪生成、血管生成和维持代谢稳态的基因网络的表达,PPAR- γ 活化与多种细胞生物学事件的调节有关,包括细胞分化、迁移和增殖。2015 年 Li 等^[14]报道了 CatS 介导的 PPAR- γ 活化以及 PI3K/Akt-血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)信号转导通路调节血管内皮细胞及其祖细胞增殖行为,促进血管再生的新机制。研究结果提示,CatS 可能成为慢性应激导致的经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous transluminal coronary intervention, PCI)术后血管增生性再狭窄的新靶点。周毅^[21]则通过实验证明 PPAR- γ 活化后能够通过上调 VSMC 中解偶联蛋白 2 的表达,减轻了细胞的氧化应激,进而减轻因 VSMC 增殖、迁移引起的血管内膜增生。Wang 等^[9]建立小鼠颈动脉结扎损伤模型,通过测量颈动脉横切面的新生内膜面积和新生内膜/中膜面积的比值来评估慢性应激对损伤相关的新生内膜形成的影响。结果表明,与非应激对照组相比,慢性应激可显著增加 CatS^{+/+}小鼠血管新生内膜的面积及病变中新生内膜/中膜面积的比值。但其损伤的 CatS^{-/-}小鼠与 CatS^{+/+}小鼠相比颈动脉内膜病变明显减少。其分子机制可能是在慢性应激条件下,小鼠损伤颈动脉的 CatS 基因和蛋白表达均增加,进而通过 Toll 样受体-2/Toll 样受体-4(Toll-like receptor-2/Toll-like receptor-4, TLR-2/TLR-4)信号通路调节炎症、免疫活动和平滑肌细胞增殖来促进血管内膜增生。Wu 等^[19]研究发现,与 CatS^{-/-}小鼠相比,CatS^{+/+}小鼠形成了明显的内膜病变和长病变损伤,内膜/中膜面积比值也较高。定量检测结果显示 CatS^{-/-}小鼠的内膜增生面积明显低于 CatS^{+/+}小鼠,增殖细胞核抗原染色显示,CatS^{-/-}小鼠损伤的颈动脉内膜和中膜的增殖活性均低于 CatS^{+/+}小鼠。最终得出结论:(1)在分子水平上,CatS 的缺失延缓了损伤诱导的 TLR-2 基因及其下游炎症基因以及 p38MAPK、Akt 和 HDAC6 信号的激活;(2)TLR-2 沉默减轻了 HDAC6、p38MAPK、Akt 和 VSMC 功能的磷酸化,减轻了 VSMC 的增殖和迁移。由此可知,CatS 可能通过 TLR-2 介导的 p38MAPK/Akt 信号通路激活和 HDAC6 介导的 VSMC 迁移和增殖控制损伤相关的血管修复。这与 Muto 等^[22]的研究结果一致,即 p38MAPK、Akt 和有丝分裂活化蛋白激酶 1/2 (mitogen-activated protein kinase 1/2, ERK1/2) 信号

通路在 VSMC 增殖、迁移和新生内膜形成过程中起重要作用。Yu 等^[23]建立了兔的慢性应激模型,实验结果显示,手术 + 高脂饮食 + 慢性应激组与对照组、高脂饮食组、手术 + 高脂饮食组相比,血管生成素(angiotensin, Ang)蛋白增加了 348.6 倍。促血管生成基因 Ang 和 VEGF-A 的表达各增加了 2.2 倍。VEGF 家族是最常见的促进血管生成的因子,VEGF-A 作为重要的成员,可通过促进单核细胞活化、黏附和迁移,增加内皮细胞通透性,促进内膜增生^[24-25]。由此可见,慢性应激作为一种实验条件,在增加此因素后,促血管生成的因素明显增加,最终导致新生血管的增加。

2.2 慢性应激可通过 CatK 相关的信号通路促进血管内膜增生 CatK 属于半胱氨酸组织蛋白酶的成员^[7], CatS、CatK 是发现在人类 AS 病变中表达的组织蛋白酶^[14]。以往研究表明,与非应激对照斑块相比,应激 AS 斑块含有高水平的 CatK^[26]。除 AS 斑块外,在球囊损伤性再狭窄模型中,也发现了动脉内膜病变中 CatK 的表达增加^[27]。慢性应激可加速炎症和小鼠的血管内膜增生,在损伤后内膜增生的过程中,CatK 参与应激诱导的血管重塑^[28]。Meng 等^[6]通过建立小鼠结扎诱导颈动脉损伤模型以及增加慢性应激条件,观察到慢性应激可增强 CatK 基因、CatK 蛋白表达,慢性应激 CatK^{+/+}小鼠中的受损颈动脉中 p-p38、p-mTOR 和 p-Akt 蛋白的水平以及 CatK 和 AT1R 蛋白的水平高于对照组小鼠,有助于结扎损伤后应激相关的血管重塑。CatK 抑制剂降低了应激小鼠受损颈动脉中 AT1R、p-p38、p-mTOR 和 p-Akt 蛋白水平,减轻了应激小鼠损伤颈动脉中新内膜的形成和新内膜与中膜的比率。综上所述,CatK 可通过 AT1R-Akt/mTOR 和 p38 信号依赖的 VSMC 增殖,进而促进血管内膜增生。表明 CatK 有望成为血管内介入治疗后慢性应激相关再狭窄的新治疗靶点。Hu 等^[28]建立小鼠结扎诱导颈动脉损伤模型的实验结果显示,CatK^{-/-}与 CatK^{+/+}小鼠相比,动脉病变中 TLRs (TLR-2/TLR-4) 表达明显减少。CatK 的缺乏也降低了动脉病变中 p-PI3K、p-Akt、p-p38MAPK 和 p-mTOR 蛋白的水平。在分子水平上,CatK 缺乏延缓损伤诱导的 TLR-2/TLR-4 及其下游炎症基因和 PI3K/Akt 介导的 p38MAPK 和 p-mTOR 信号通路激活。利用 CatK 抑制剂后产生的抗增殖作用可能与 TLR-2/TLR-4 介导的 PI3K/Akt-mTOR 和 PI3K/Akt-p38MAPK 信号通路激活减少有关。综上所述,CatK 通过 TLR-2/TLR-4 介导的 PI3K/Akt-p38MAPK 和 PI3K/Akt-mTOR 信号通路可能是应激损伤诱导的血管重塑和新内膜形成的共同机制。内皮 Notch1 受

体已被证明对血管生成至关重要^[29]。Jiang 等^[30]建立了缺氧应激模型,在培养的内皮细胞中,缺氧应激增强了 VEGF 诱导的 CatK 表达和活性,基因或药物干预对 CatK 的抑制损害了成熟内皮细胞和内皮祖细胞的促血管生成活性,并伴随着与 VEGF 蛋白表达以及 Akt 磷酸化降低相关的 c-Notch1 的产生减少。综上所述,慢性应激可通过激活 CatS、CatK 相关多种信号通路引起血管内膜增生。这些信号通路的级联起点是 CatS、CatK,由此假设是否可以通过应用以上两种蛋白酶的抑制剂减轻病理性血管内膜增生,CatS、CatK 是否可以成为防止血管内膜增生治疗新靶点,有待更多的研究证实。

3 结语

大量研究均证实了慢性应激及 CatS、CatK 相关信号通路在血管内膜增生的关键作用。然而,目前对于慢性应激及其相关信号通路影响血管内膜增生的研究还不够详尽,还缺乏有关的临床研究及证据去证实是否可以将 CatS、CatK 作为治疗靶点减轻血管内膜增生。随着科技不断进步,CatS、CatK 相关信号通路有望成为新的治疗靶点来减少血管内膜增生性疾病的发生。

参考文献

- [1] 高 昆,刘红霞,何朝勇. 锌指转录因子家族调控血管内膜增生的研究进展[J]. 山东医药,2020,60(19):89-92.
- [2] 刘小龙. 脂联素与血管内膜增生的研究进展[J]. 医学研究生学报,2013,26(4):407-410.
- [3] Wang H, Jin Z, Pei T, et al. Long noncoding RNAs C2dat1 enhances vascular smooth muscle cell proliferation and migration by targeting MiR-34a-5p[J]. J Cell Biochem, 2019,120(3):3001-3008.
- [4] Yao BC, Meng LB, Hao ML, et al. Chronic stress: a critical risk factor for atherosclerosis[J]. J Int Med Res, 2019,47(4):1429-1440.
- [5] Meng LB, Qi R, Xu L, et al. The more critical murderer of atherosclerosis than lipid metabolism: chronic stress[J]. Lipids Health Dis, 2018,17(1):143.
- [6] Meng X, Piao L, Wang H, et al. Deficiency of cysteinyl cathepsin K suppresses the development of experimental intimal hyperplasia in response to chronic stress[J]. J Hypertens, 2020,38(8):1514-1524.
- [7] 彭舟扬帆,李亚培,曾萍玉,等. 组织蛋白酶在高血压中作用的研究进展[J]. 中南大学学报(医学版),2017,42(12):1447-1451.
- [8] Wu H, Du Q, Dai Q, et al. Cysteine protease cathepsins in atherosclerotic cardiovascular diseases[J]. J Atheroscler Thromb, 2018,25(2):111-123.
- [9] Wang H, Meng X, Piao L, et al. Cathepsin S deficiency mitigated chronic stress-related neointimal hyperplasia in mice[J]. J Am Heart

- Assoc, 2019,8(14):e011994.
- [10] Benitez R, Delgado-Maroto V, Caro M, et al. Vasoactive intestinal peptide ameliorates acute myocarditis and atherosclerosis by regulating inflammatory and autoimmune responses[J]. J Immunol, 2018, 200(11):3697–3710.
 - [11] Li Y, Lu Y, Chen Q, et al. Probing of peripheral blood mononuclear cells anchoring on TNF-alpha challenged-vascular endothelia in an in vitro model of the retinal microvascular[J]. Biomed Microdevices, 2017,19(3):54.
 - [12] Wang D, Uhrin P, Mocan A, et al. Vascular smooth muscle cell proliferation as a therapeutic target. Part 1: molecular targets and pathways[J]. Biotechnol Adv, 2018,36(6):1586–1607.
 - [13] 胡 玥. 组织蛋白酶 K 与慢性应激诱导的小鼠血管内膜增生的性别关联性研究[D]. 桂林:桂林医学院,2021.
 - [14] Li X, Cheng XW, Hu L, et al. Cathepsin S activity controls ischemia-induced neovascularization in mice[J]. Int J Cardiol, 2015,183:198–208.
 - [15] Cheng XW, Kuzuya M, Nakamura K, et al. Mechanisms underlying the impairment of ischemia-induced neovascularization in matrix metalloproteinase 2-deficient mice[J]. Circ Res, 2007,100(6):904–913.
 - [16] Wilkinson RD, Williams R, Scott CJ, et al. Cathepsin S: therapeutic, diagnostic, and prognostic potential [J]. Biol Chem, 2015, 396(8):867–882.
 - [17] 韩新生,张洪阳,韩 苗,等. 脑梗死患者血清 Cat S 及 Cys C 水平与颈动脉狭窄程度的相关性[J]. 中国临床新医学,2018,11(9):855–858.
 - [18] Yu H, Clarke MC, Figg N, et al. Smooth muscle cell apoptosis promotes vessel remodeling and repair via activation of cell migration, proliferation, and collagen synthesis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011,31(11):2402–2409.
 - [19] Wu H, Cheng XW, Hu L, et al. Cathepsin S activity controls injury-related vascular repair in mice via the TLR2-mediated p38MAPK and PI3K-Akt/p-HDAC6 signaling pathway[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2016,36(8):1549–1557.
 - [20] Xu W, Yu C, Piao L, et al. Cathepsin S-mediated negative regulation of Wnt5a/SC35 activation contributes to ischemia-induced neovascularization in aged mice[J]. Circ J, 2019,83(12):2537–2546.
 - [21] 周 毅. PPAR γ 介导的抗氧化机制在血管平滑肌细胞表型转化中作用和机制研究[D]. 重庆:第三军医大学,2016.
 - [22] Muto A, Fitzgerald TN, Pimiento JM, et al. Smooth muscle cell signal transduction:implications of vascular biology for vascular surgeons[J]. J Vasc Surg, 2007,Suppl A(6S):A15–A24.
 - [23] Yu ZM, Deng XT, Qi RM, et al. Mechanism of chronic stress-induced reduced atherosclerotic medial area and increased plaque instability in rabbit models of chronic stress[J]. Chin Med J(Engl), 2018, 131(2):161–170.
 - [24] 周倩倩,唐 颖. 丹皮酚对 VEGF 和 SDF-1 在糖尿病大鼠视网膜上表达的干预作用[J]. 中国临床新医学,2021,14(5):468–472.
 - [25] Wiszniak S, Schwarz Q. Exploring the intracrine functions of VEGF-A[J]. Biomolecules, 2021,3011(1):128.
 - [26] Lei Y, Yang G, Hu L, et al. Increased dipeptidyl peptidase-4 accelerates diet-related vascular aging and atherosclerosis in ApoE-deficient mice under chronic stress[J]. Int J Cardiol, 2017,243:413–420.
 - [27] Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, et al. Increased expression of elastolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, in the neointima of balloon-injured rat carotid arteries[J]. Am J Pathol, 2004,164(1):243–251.
 - [28] Hu L, Cheng XW, Song H, et al. Cathepsin K activity controls injury-related vascular repair in mice[J]. Hypertension, 2014,63(3):607–615.
 - [29] Takeshita K, Satoh M, Ii M, et al. Critical role of endothelial Notch1 signaling in postnatal angiogenesis[J]. Circ Res, 2007,100(1):70–78.
 - [30] Jiang H, Cheng XW, Shi GP, et al. Cathepsin K-mediated Notch1 activation contributes to neovascularization in response to hypoxia[J]. Nat Commun, 2014,5:3838.

[收稿日期 2022-01-27][本文编辑 韦 颖]

本文引用格式

王 铮,李 香. 慢性应激在血管内膜增生中的作用及分子机制的研究进展[J]. 中国临床新医学,2022,15(7):658–661.