

综述

瓣膜内皮细胞在钙化性主动脉瓣疾病发病过程中的作用研究现状

刘汉凝、孙骋*综述, 郑哲审校

摘要 心脏瓣膜病是一类重要的心脏疾病, 其发病病因近半个世纪发生了很大的变化。目前退行性瓣膜病的发病率逐渐升高, 钙化性主动脉瓣疾病是退行性瓣膜病的最重要的表现之一。瓣膜内皮是瓣膜组织中直接接触血流的细胞, 在瓣膜疾病的发病过程中扮演重要的角色。血流剪切力作用于瓣膜内皮细胞, 使其形态、基因表达发生相应地变化, 导致瓣膜内皮细胞发生上皮-间质转换, 成为具有增殖能力的瓣膜间质细胞, 或者使瓣膜内皮细胞的旁分泌机制发生变化, 影响瓣膜间质细胞的功能, 从而导致瓣膜病的发生。

关键词 钙化性主动脉瓣疾病; 血流剪切力; 瓣膜内皮细胞; 上皮-间质转换; 旁分泌

心脏瓣膜病是一类常见的心脏疾病, 主要表现为心脏瓣膜的狭窄或关闭不全以及由此引起的血流动力学改变而造成的心脏、肺血管等器官的病变。在美国, 瓣膜性心脏病的患病率达 2.5%^[1]。瓣膜性心脏病主要包括先天性瓣膜病和获得性瓣膜病(成人瓣膜病)。成人瓣膜病根据病因不同, 主要分为风湿性瓣膜病和退行性瓣膜病。流行病学研究表明, 上世纪 50 年代以前, 在全球范围内成人瓣膜病以风湿性瓣膜病为主; 50 年代以后, 成人瓣膜病的病因出现了明显的地区差异^[2]。在发达国家, 随着卫生条件的改善和抗生素的广泛应用, 风湿性瓣膜病的数量逐渐减少, 而退行性瓣膜病成为成人瓣膜病的主要病因。有调查显示, 欧洲地区的瓣膜病患者中, 有 63% 是退行性瓣膜病, 22% 是风湿性瓣膜病^[3]。在发展中国家, 风湿性瓣膜病发病率仍然较高。在亚洲地区, 每年约有 35~50 万人死于风湿性瓣膜病^[4]。据《中国心血管病报告 2012》, 我国风湿性心脏病患者数量高达 250 万人^[5]。而随着人口老龄化的加剧和生活及卫生条件的进一步改善, 发展中国家尤其是我国成人瓣膜病的主要病因也逐步由风湿性转为退行性。

退行性瓣膜病是一类由于结缔组织形态变化引起瓣膜结构改变, 进而导致瓣膜及其附属结构正常功能受损的非感染性瓣膜疾病, 主要表现为主动脉瓣的增厚和钙化。过去认为, 退行性瓣膜病是一种与年龄相关的退行性病变, 近年来, 越来越多的研究表明, 退行性主动脉瓣疾病是一个主动的病理生理过程, 包括慢性炎症、脂质沉积以及钙化等一系列的改变^[6]。所以, 近年来更倾向于将“退行性主动脉瓣疾病”称为“钙化性主动脉瓣疾病”。国内学者报道目前我国老年人群中, 瓣膜钙化的超声检出率为 8.1%~48.5%^[7-9]。一项对社区老年人钙化性瓣膜病五年的纵向研究结果表明, 2011 年 60 岁以上老年人钙化性瓣膜病为 15.6%, 较 2005 年的 13.4% 有明显上升^[10]。目前, 瓣膜病的治疗主要依赖于外科修复和置换, 治疗成本高, 由此带来的社会经济负担大。探索瓣膜病的发

病机制, 进一步寻求对因治疗策略已经成为瓣膜病防治研究的热点。

心脏瓣膜组织由瓣膜内皮细胞(VECs)和瓣膜间质细胞(VICs)以及细胞外基质组成。VECs 是覆盖在瓣膜表面的单层内皮细胞, 通过调节渗透、炎症以及防止血栓形成保护瓣膜内部的组织结构^[11]。VECs 在瓣膜表面, 能够直接接触到血液, 循环中的血流动力学以及血液的生化改变能够直接作用于 VECs, 外界的种种变化通过 VECs 感受并引起相应的变化, 这样的过程可能在钙化性主动脉瓣疾病的发生、发展过程中起到重要的作用^[12]。

1 血流动力学变化对主动脉瓣内皮细胞的影响

首先, 从组织学的角度来讲, 主动脉瓣组织的结构本身是对血流动力学的一种主动的适应。主动脉瓣的细胞外基质可以分为三层, 分别是位于主动脉侧的纤维层、位于左心室侧的弹力蛋白层和二者之间的疏松层。三层的分布以及组织结构很好地适应了血流动力的需要。在收缩期, 血流由左心室流向主动脉, 血流的剪切力作用于主动脉瓣的心室侧, 心室侧的弹力蛋白被拉伸, 而主动脉侧的纤维收缩, 使主动脉侧皱缩, 瓣膜开放; 而在舒张期, 心室侧的血流剪切力减弱, 血液作用于主动脉侧, 心室侧弹力蛋白回缩, 主动脉侧的纤维回复, 主动脉瓣关闭。在整个过程中, 位于中间的疏松层起到对血液剪切力以及其引起的瓣膜相对运动的缓冲作用, 并且其内的亲水性的氨基聚糖能够稳定地吸收水分, 保证瓣膜组织能够抵抗渗透压而不会肿胀^[13]。

而从另一方面, 血流动力学也作用于主动脉瓣组织, 使其被动地适应血流动力学变化。受血流动力学影响最直接最明显的是瓣膜内皮细胞。

首先, 血流引起的剪切力是实现瓣膜内皮细胞功能重要刺激。内皮细胞对血流剪切力的敏感性表现在许多方面, 其中最直接的是形态学的变化。在血管中, 内皮细胞能够顺着血流方向延长平行排列, 而在血流分叉处, 内皮细胞却表现

基金项目: 北京协和医学院博士生创新基金(2013-1002-47)

作者单位: 100037 北京市, 北京协和医学院 中国医学科学院 国家心血管病中心 阜外医院 心外科

作者简介: 刘汉凝 博士研究生 主要从事心血管外科的基础与临床研究 Email: fuwailhn@hotmail.com 通讯作者: 郑哲 Email: zhengzhe@fuwai.com

*为共同第一作者

中图分类号: R54 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614(2015)10-1021-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2015.10.024

为多边形或者圆形^[14-16]。在主动脉瓣的发育过程中,瓣膜内皮细胞也存在类似的现象^[17];然而在出生后的成熟瓣膜中,有部分区域的内皮细胞的延伸方向与血流方向相垂直,对这种现象可能的解释是因为存在于瓣膜内皮细胞下的胶原纤维以圆周状分布,其对瓣膜内皮细胞的接触作用造成了这样的形态学变化^[18]。有趣的是,肌动蛋白始终能够将任何形态的瓣膜内皮细胞向血流方向拉伸^[19]。另外,最近的研究表明,体外培养的人主动脉瓣内皮细胞能够平行于血流方向排列^[20]。总之,尽管在形态上,瓣膜内皮细胞与血管内皮细胞具有差异,但是能够依血流方向排列是这两类内皮细胞的共同特点。

其次,不同的血流动力学的变化可能也会导致主动脉瓣两侧的内皮细胞基因表达差异。转录组学的研究告诉我们,主动脉侧更容易发生纤维化以及钙化,而抗氧化可以使其免于这种病理变化。在高脂饮食饲养两周诱导的早期主动脉疾病猪模型中,研究者在更容易患病的主动脉侧瓣膜发现了保护性的内皮细胞表型^[21]。体外研究表明,与瓣膜病发病有联系的氧化、炎症以及成软骨相关的基因在层流的剪切力作用下表达降低^[22]。另外有研究表明,在紊乱的剪切力作用下,炎症相关的基因,包括血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1)、细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、骨成型蛋白-4 (BMP-4)以及转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)表达升高。但是这种升高仅仅出现在主动脉侧的瓣膜内皮细胞,表明主动脉侧对于剪切力更为敏感,而这种敏感可能与疾病相关^[23]。

2 主动脉瓣内皮细胞对瓣膜间质细胞的调控

主动脉瓣疾病进程中出现的一系列变化包括心肌细胞外基质 (ECM) 的重构、钙化等很大程度上都是通过瓣膜间质细胞调控的。而血流动力对瓣膜的作用可能通过瓣膜内皮细胞向间质细胞传递从而实现瓣膜间质细胞的调控^[12]。Butcher 等^[22]研究表明,在体外共培养 VICs 与 VECs 时,当 VECs 处于具有流体剪切力的情况下,VIC 中成肌纤维细胞标记物 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 表达明显降低。这说明,流体剪切力确实通过 VECs 对 VICs 实现了调控。VEC 对于 VICs 的调控很可能是通过旁分泌实现的,目前的研究认为,VEC 调控 VICs 旁分泌的因子主要有一氧化氮 (NO) 和 C 型尿钠肽 (CNP)。流体剪切力会使内皮细胞中 NO 合成酶 mRNA 的表达升高^[24],而在体外,NO 可以防止 VIC 收缩介导的钙化小结形成^[25]。CNP 具有和 NO 相似的作用,即能够诱导环磷酸鸟苷 (cGMP) 的产生^[26]。CNP 在表达在正常主动脉瓣组织,尤其是在心室侧的内皮细胞中高表达^[27]。而在体外培养时,CNP 能够阻止 VICs 分化为成肌纤维细胞和成骨细胞,表明 CNP 在维持主动脉瓣正常功能中具有重要作用^[28]。而在狭窄的人主动脉瓣中,CNP 的表达会明显降低^[29]。

3 主动脉瓣内皮细胞向间质细胞转换在瓣膜疾病中的作用

上皮细胞向间质细胞转化 (EMT) 是上皮细胞通过特定程序转化为具有间质表型细胞的生物学过程。EMT 现象在胚胎发育、慢性炎症、组织重建、癌症转移和多种纤维化疾病中具有重要作用。心脏在胚胎发育过程中,经历两次 EMT 形成原始心脏,此后,在房室交界处和心室流出道的位置又通过 EMT 形成原始瓣膜。对于脊椎动物,心内膜垫 (Endocardial cushion) 的形成是瓣膜发育的开始^[30]。来自心肌层等的信号因子启动邻近心内膜的内皮细胞发生 EMT^[31],这些细胞通过

EMT 转化为间质祖细胞,间质祖细胞具有高度增殖的能力,它们可以进一步形成瓣膜间质细胞 (VICs)^[32]。间质祖细胞与心内膜垫的 ECM 形成瓣膜原基。此后,瓣膜原基在各种信号通路的调控下,瓣叶部分逐渐变薄变长。在此过程中,间质祖细胞分化为 VICs 而丧失增殖能力,成熟的 VICs 基本不具有增殖能力^[32];同时 ECM 也发生重建,形成三层结构,分别富含弹力蛋白、胶原纤维和蛋白多糖^[33]。通过这样的一系列变化,心脏瓣膜逐渐发育成熟。

近年的研究表明,许多成人心脏病的发生都与胚胎发育过程的生理现象重新激活有着重要的关系。越来越多的研究认为,心脏瓣膜疾病的发病机理也与胚胎期发育相关信号通路的激活有关^[34-36]。Paruchuri 等^[37]的研究发现,成年人瓣膜中同时表达 CD31 (内皮细胞标记物) 和 α -SMA (间质细胞标记物) 的细胞,即发生 EMT 的细胞数量约为胚胎发育 14-19 周时期的十分之一。在对缺血性二尖瓣反流患者的瓣膜研究中发现,患者的二尖瓣瓣叶面积明显增大,Chaput 等^[38]认为这种病理改变是因为二尖瓣瓣叶的代偿并以此减少二尖瓣的反流。Dal-Bianco 等^[39]进一步通过机械损伤绵羊瓣膜模型模拟缺血性二尖瓣反流患者的病理变化,并发现处理组增厚的二尖瓣内皮细胞发生 EMT 的数量高出对照组 4 倍。另外,研究者还在 4 例缺血性二尖瓣反流患者的瓣膜的上皮细胞层发现了 α -SMA 阳性的细胞。首次证实了在瓣膜病组织标本中同样存在 EMT 的激活。这些证据表明,在二尖瓣增厚增大的病理改变过程中,EMT 的重新激活是一个重要的病理变化。在钙化性主动脉瓣疾病中,在瓣膜的主动脉侧具有共表达 CD31 与 α -SMA 的发生 EMT 的细胞,而作为对照的儿童主动脉瓣没有发生 EMT 的细胞^[40]。

4 结语

钙化性主动脉瓣疾病已经并且越来越成为威胁人类身体健康的心脏疾病,探索此类疾病的病因对于寻找更加有效的治疗策略具有重要的意义。瓣膜内皮细胞作为联系外界因素与瓣膜间质的重要桥梁,在发病过程中扮演重要角色。VEC 接受血流动力学变化的刺激,一方面自身可能发生改变,激活向间质转换的能力;另一方面,其旁分泌的物质可能发生变化,从而调控瓣膜间质细胞的病理过程。对 VECs 更进一步的研究重点应该集中在 EMT、旁分泌以及血流动力因素对 VECs 的调控这几个方面。对于 VECs 发生 EMT 的机制以及 EMT 在疾病进程中的作用、更多旁分泌因子的发现以及调控通路的研究和如何减少血流动力变化对 VECs 的影响将给瓣膜病病因与新的治疗手段的探索带来更多的启示。

参考文献

- [1] Nkomo VT, Gardin JM, Skelton TN, et al. Burden of valvular heart diseases: a population-based study. *Lancet*, 2006, 368: 1005-1011.
- [2] Lung B, Vahanian A. Epidemiology of valvular heart disease in the adult. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8: 162-172.
- [3] Lung B, Baron G, Tornos P, et al. Valvular heart disease in the community: a European experience. *Curr probl cardiol*, 2007, 32: 609-661.
- [4] Carapetis JR. Rheumatic heart disease in Asia. *Circulation*, 2008, 118: 2748-2753.
- [5] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.中国心血管病报告 2012 概要.中

- 国循环杂志, 2013, 29: 408-412.
- [6] Freeman RV, Otto CM. Spectrum of calcific aortic valve disease: pathogenesis, disease progression, and treatment strategies. *Circulation*, 2005, 111: 3316-326.
- [7] 彭禹. 彩色多普勒血流仪诊断老年心脏瓣膜退行性变. *中国介入心脏病学杂志*, 2000, 8: 147-148.
- [8] 王彩荣, 张蕾. 老年人群钙化性心脏瓣膜病的超声所见与常见病相关因素分析. *中国超声医学杂志*, 2003, 19: 631-632.
- [9] 范甲卯, 孟方, 樊小丽, 等. 老年退行性心脏瓣膜病患病情况调查分析. *中国慢性病预防与控制*, 2000, 8: 37-38.
- [10] 王琳. 社区老年人群退行性心脏瓣膜病的五年纵向研究. 解放军总医院博士论文, 2011. [http://www.cnki.net]
- [11] Butcher JT, Nerem RM. Valvular endothelial cells and the mechanoregulation of valvular pathology. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2007, 362: 1445-1457.
- [12] Gould ST, Sriganapalan S, Simmons CA, et al. Hemodynamic and cellular response feedback in calcific aortic valve disease. *Circ Res*, 2013, 113: 186-197.
- [13] Schoen FJ, Levy RJ. Founder's Award, 25th Annual Meeting of the Society for Biomaterials, perspectives. Providence, RI, April 28-May 2, 1999. Tissue heart valves: current challenges and future research perspectives. *J Biomed Mater Res*, 1999, 47: 439-465.
- [14] Reidy MA, Langille BL. The effect of local blood flow patterns on endothelial cell morphology. *Exp Mol Pathol*, 1980, 32: 276-289.
- [15] Langille BL, Adamson SL. Relationship between blood flow direction and endothelial cell orientation at arterial branch sites in rabbits and mice. *Circ Res*, 1981, 48: 481-488.
- [16] Noria S, Cowan DB, Gotlieb AI, et al. Transient and steady-state effects of shear stress on endothelial cell adherens junctions. *Circ Res*, 1999, 85: 504-514.
- [17] Gau GS, Ryder TA, Mackenzie ML. The effect of blood flow on the surface morphology of the human endothelium. *J Pathol*, 1980, 131: 55-64.
- [18] Deck JD. Endothelial cell orientation on aortic valve leaflets. *Cardiovasc Res*, 1986, 20: 760-767.
- [19] Wong AJ, Pollard TD, Herman IM. Actin filament stress fibers in vascular endothelial cells in vivo. *Science*, 1983, 219: 867-869.
- [20] Holliday CJ, Ankeny RF, Jo H, et al. Discovery of shear- and side-specific mRNAs and miRNAs in human aortic valvular endothelial cells. *Am J Physiol-heart C*, 2011, 301: H856-867.
- [21] Guerraty MA, Grant GR, Karanian JW, et al. Hypercholesterolemia induces side-specific phenotypic changes and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma pathway activation in swine aortic valve endothelium. *Arterioscl Throm Vas*, 2010, 30: 225-31.
- [22] Butcher JT, Nerem RM. Valvular endothelial cells regulate the phenotype of interstitial cells in co-culture: effects of steady shear stress. *Tissue Eng*, 2006, 12: 905-915.
- [23] Sucosky P, Balachandran K, Elhammali A, et al. Altered shear stress stimulates upregulation of endothelial VCAM-1 and ICAM-1 in a BMP-4- and TGF-beta1-dependent pathway. *Arterioscl Throm Vas*, 2009, 29: 254-260.
- [24] Weber KT, Janicki JS, Pick R, et al. Myocardial fibrosis and pathologic hypertrophy in the rat with renovascular hypertension. *Am J Cardiol*, 1990, 65: 1-7.
- [25] Kennedy JA, Hua X, Mishra K, et al. Inhibition of calcifying nodule formation in cultured porcine aortic valve cells by nitric oxide donors. *Eur J Pharmacol*, 2009, 602: 28-35.
- [26] Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev*, 2006, 27: 47-72.
- [27] Muller AM, Cronen C, Kupferwasser LI, et al. Expression of endothelial cell adhesion molecules on heart valves: up-regulation in degeneration as well as acute endocarditis. *J Pathol*, 2000, 191: 54-60.
- [28] Yip CY, Blaser MC, Mirzaei Z, et al. Inhibition of pathological differentiation of valvular interstitial cells by C-type natriuretic peptide. *Arterioscl Throm Vas*, 2011, 31: 1881-1889.
- [29] Peltonen TO, Taskinen P, Soini Y, et al. Distinct downregulation of C-type natriuretic peptide system in human aortic valve stenosis. *Circulation*, 2007, 116: 1283-1289.
- [30] Combs MD, Yutzey KE. Heart valve development: regulatory networks in development and disease. *Circ Res*, 2009, 105: 408-421.
- [31] Person AD, Klewer SE, Runyan RB. Cell biology of cardiac cushion development. *Int Rev Cytol*, 2005, 243: 287-335.
- [32] de Lange FJ, Moorman AF, Anderson RH, et al. Lineage and morphogenetic analysis of the cardiac valves. *Circ Res*, 2004, 95: 645-654.
- [33] Hinton RB Jr, Lincoln J, Deutsch GH, et al. Extracellular matrix remodeling and organization in developing and diseased aortic valves. *Circ Res*, 2006, 98: 1431-1438.
- [34] Schoen FJ. Evolving concepts of cardiac valve dynamics: the continuum of development, functional structure, pathobiology, and tissue engineering. *Circulation*, 2008, 118: 1864-1880.
- [35] Armstrong EJ, Bischoff J. Heart valve development: endothelial cell signaling and differentiation. *Circ Res*, 2004, 95: 459-470.
- [36] Bruneau BG. The developmental genetics of congenital heart disease. *Nature*, 2008, 451: 943-948.
- [37] Paruchuri S, Yang JH, Aikawa E, et al. Human pulmonary valve progenitor cells exhibit endothelial/mesenchymal plasticity in response to vascular endothelial growth factor-A and transforming growth factor-beta 2. *Circ Res*, 2006, 99: 861-869.
- [38] Chaput M, Handschumacher MD, Tournoux F, et al. Mitral leaflet adaptation to ventricular remodeling: occurrence and adequacy in patients with functional mitral regurgitation. *Circulation*, 2008, 118: 845-852.
- [39] Dal-Bianco JP, Aikawa E, Bischoff J, et al. Active adaptation of the tethered mitral valve: insights into a compensatory mechanism for functional mitral regurgitation. *Circulation*, 2009, 120: 334-342.
- [40] Mahler GJ, Farrar EJ, Butcher JT. Inflammatory cytokines promote mesenchymal transformation in embryonic and adult valve endothelial cells. *Arterioscl Throm Vas*, 2013, 33: 121-130.

(收稿日期: 2015-04-29)

(编辑: 王宝茹)