

目前，凋亡的作用由一些血管疾病时来公认的。它是由遗传机制控制的程序性细胞死亡，是机体正常存在的必要条件。它的主要任务是破坏有缺陷或突变的细胞。死细胞颗粒被巨噬细胞吸收而不引起炎症反应。细胞凋亡在胚胎发生、细胞止血、肿瘤细胞破坏等过程中起着积极的作用。本过程可以分为三个阶段：信号相位、效应相、降解阶段。其主要成分是胞质蛋白酶——半胱天冬酶。半胱天冬酶是在细胞质中处于不活跃状态为无活性的酶原的形式。当被激活时，它们分裂成亚单位。Bcl-2 蛋白是线粒体凋亡通路的积极参与者。它们影响线粒体外膜的通透性。细胞凋亡机制的紊乱是许多疾病的基础，包括缺血性损伤、自身免疫性疾病和恶性肿瘤。影响细胞生存或死亡的能力因其巨大的治疗潜力而闻名。目前，对控制细胞周期和凋亡的信号相位的研究正在积极开展。本文综述了血管壁内皮细胞和平滑肌细胞死亡的机制，并探讨了细胞凋亡在动脉粥样硬化中的潜在作用。

**关键词：**细胞凋亡；内皮细胞；再狭窄；动脉粥样硬化斑块；平滑肌细胞

---

Apoptosis is recognized as a programmed cell death controlled by genetic mechanisms and required for normal existence of an organism. Its main task is elimination of defective or mutant cells. The particles of dead cells are engulfed by macrophages with no development of inflammatory reaction. Apoptosis actively participates in embryogenesis, cellular homeostasis, elimination of tumor cells, and may be divided to three phases: signal, effector, and degradation. Its main components are cytoplasmic proteases – caspases. Caspases exist in the cytoplasm in inactive condition – in the form of procaspases. Being activated, they break down to subunits. Proteins of Bcl-2 family are active participants of the mitochondrial pathway of apoptosis. They influence permeability of the outer membrane of mitochondria. Disorders in the mechanisms of apoptosis underlie many diseases including ischemic lesions, autoimmune disorders, malignant neoplasms. The ability to influence survival or death of cell is known to possess enormous therapeutic potential. At present, active research is under way to study signal pathways that control cell cycle and apoptosis. The article discusses the mechanisms participating in death of vascular endothelium and smooth muscle cells, potential role of apoptosis in atherosclerosis is also described.

**Keywords:** *apoptosis; endothelial cells; restenosis; atherosclerotic plaque; smooth muscle cells.*

---

在很长一段时间里，研究人员对观察血管壁细胞在没有明显坏死的情况下的死亡很感兴趣[1]。在 1972 年，J. F. Kegg 和他的同事们研究了一种新的细胞死亡形式，而不是坏死，称

为细胞凋亡(源自古希腊的《落下》或《落叶》)[2]。它是由遗传机制控制的程序性细胞死亡,是机体正常存在的必要条件。它的主要作用是维持细胞组成的稳定性及破坏有缺陷的细胞[3]。细胞死亡机制的破坏是许多疾病的基础,包括缺血性损伤、自身免疫性疾病和恶性肿瘤。

### 细胞凋亡的分子机制

一方面,细胞凋亡可以通过一个内部信号系统被激活。细胞启动内部自毁程序,以响应血流动力学参数的变化或失去与邻近细胞的接触。另一方面,它可以通过外部刺激,如细胞因子、激素、氧化脂质、电离或病毒因子,同时进行更敏锐和大规模启动。一些细胞死亡途径倾向于广泛传播(例如,那些与DNA辐射损伤相关的),而另一些只存在于特定的细胞中,这确保了它们的有效清除。促凋亡和抗凋亡分子的比例决定了细胞在特定时间的命运[4]。

在程序性细胞死亡的级联反应中,已经确定了一些关键的功能阶段。

在启动或信号阶段,细胞接受诱导信号。这是通过附加特定分子来实行(如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) Fas-配体)死亡受体(TNFR1、Fas)在细胞表面,其次是一组死域所需的蛋白质(例如, FADD),为了需要激活半胱天冬酶-8[5]。

在控制或效应阶段,随着线粒体膜电位的丧失,半胱天冬酶被激活了。半胱天冬酶是半胱氨酸蛋白酶家族的一种,参与细胞凋亡程序的转导和执行。它们的形式是不活跃的前酶,通过蛋白水解切割激活。3, 8和9的半胱天冬酶位于在细胞凋亡路径上的中心通道。

执行阶段由一系列Bcl-2蛋白控制,这些蛋白抑制线粒体中细胞色素C或凋亡诱导因子的释放。Bcl-2家族蛋白包含死亡的抑制剂(Bcl-2、Bcl-xL等)和诱导剂(Bcl-xS、Bax、Bid、Bad、Bak等)[6]。抗凋亡蛋白与促凋亡蛋白的比值决定了细胞是否死亡。在接收到相应的信号后,Bax或Bak会发生确证变化,并向线粒体膜移动,在那里它们会导致细胞色素C释放到胞质中[7]。

基因组DNA降解阶段导致细胞活力的不可逆损失。

在识别阶段,由于周围细胞的吞噬作用,死细胞通过各种机制从组织中被清除(例如,通过磷脂酰丝氨酸(PS)或蛋白受体)[8]。

### 内皮细胞凋亡

血管壁内皮细胞参与多种生理过程,其死亡可能代表了病理状态发展的初始阶段。细胞间接触对于内皮细胞的维持和保存是必要的,而它们的丢失会导致死亡程序的激活。细胞外基质可产生抑制p53调控的凋亡通路的信号。例如,交互通过整合素与细胞外基质蛋白 $\alpha$ v $\beta$ 3抑制p53活动,减少了Bax的水平,并激活NF- $\kappa$ B的通路,从而导致细胞的生存。另一种机制是通过刺激Bcl-2家族蛋白的活性来激活抗凋亡通路。生长因子(VEGF)抑制细胞

死亡，以应对各种刺激，如 TNF- $\alpha$ ，因此细胞外基质的破坏发生。这是由于蛋白激酶 C 或 PI3K-Akt 的信号通路受到刺激，抗凋亡的 Bcl-2 蛋白被激活[9]。

成纤维细胞生长因子 (FGF-2) 是另一种用于保护内皮细胞的血管内因子。A. Karsan (1997年) 的一项研究表明，FGF-2 特异性地诱导 Bcl-2，但不诱导其他 Bcl 家族蛋白。然而，其他 Bcl-2 无关的机制，如酪氨酸磷酸化，也可以使用 FGF-2 抑制内皮细胞死亡[10]。

血管内皮细胞不断暴露在多种血流动力学力的作用下，这些血流动力学力对其细胞结构和功能有很大的影响[11]。剪切应力释放的一氧化氮 (NO) 代谢物抑制 caspase-3 的激活，防止细胞死亡[12,13]。抑制细胞凋亡和半胱天冬酶-3 激活的剪切应力的生理水平可以通过药物抑制 NO 合酶来预防[14]。

内皮细胞与 TNF- $\alpha$  的孵化显著增加通过半胱氨酸蛋白酶-3 的激活细胞凋亡。这个过程可以被半胱天冬酶抑制剂完全取消[15]。另一方面，TNF- $\alpha$  能够诱导 Bcl-2 家族蛋白质，以及激活 NF- $\kappa$ B 的途径。因此，TNF- $\alpha$  可以启动促凋亡和抗凋亡途径[16]。Bcl-2 和 Bcl-XL 蛋白能够通过特异性抑制 NF- $\kappa$ B 通路来抑制内皮细胞的活化。这证明了这些蛋白具有细胞保护作用来对抗促炎症刺激。有趣的是，白细胞介素-10 (IL-10) 具有抗凋亡作用，因此细胞存活和死亡的平衡可能取决于促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间的平衡。

### 平滑肌细胞凋亡

经过大量的研究，平滑肌细胞 (SMC) 的生长被认为细胞增殖和凋亡相反作用的结果。据了解，SMC 的许多生长因子作为丝裂原，部分阻止细胞凋亡，支持 Bcl-2 蛋白的分泌。例如，IGF-I 通过 PI3—激酶依赖途径刺激非活性磷酸化形式的 Bad 的表达增加。生长因子及其相应受体在许多血管疾病中被合成，可以阻止动脉壁内 SMC 的凋亡 [17]。

机械因素。M. J. Pollman (1999年) 发现经皮腔内气囊血管成形术 (PTBA) 可导致正常动脉壁内 SMC 的快速死亡[18]。SMC 的凋亡与应激激活蛋白激酶的激活有关，抗氧化剂的引入对其有抑制作用。由于 Bcl-xl 在新生内膜 SMC 中的激活，该信号通路不能被激活[19]。氧化型低密度脂蛋白 (LDL) 可通过抑制 Bcl-2 和激活半胱天冬酶-3 而导致 SMC 凋亡。

**血管活性的物质。**PTBA 后，动脉壁局部产生高 NO 水平抑制细胞生长和新生内膜形成 [19]。而血管壁的血管紧张素 II (AT II) 又促进了 SMC 的生长和壁的增厚[20]。NO 诱导的细胞凋亡可通过抑制 cGMP 依赖的蛋白激酶 I $\alpha$  以及添加 at II 来阻止。值得注意的是，NO 的促凋亡作用表现在超过敏性 (病理或炎症) 水平，而其抗凋亡作用则表现在生理 (内皮) 浓度水平 [21]。同样，AT II 通过刺激 AT1 受体阻止 SMC 的死亡，但通过刺激 AT2 受体促进细胞凋亡 [22]。

致癌基因和肿瘤抑制基因。C-myc 癌基因在动脉粥样硬化斑块 (ASP) 的 SMC 中表达，与正常动脉壁的 SMC 相比，这些细胞的生长速率较低。T. Jacob (2012年) 研究表明，表明 MMC

ASP 对 p53 介导的凋亡高度敏感。P53 的激活可暂时增加 Fas 的表面表达，并使细胞对死亡敏感[23]。

### 动脉粥样硬化的细胞凋亡

随着 ASP 的发展，细胞增生和死亡都会发生。目前，有证据表明所有 ASP 细胞都存在凋亡：SMC、巨噬细胞、淋巴细胞和内皮细胞。它最常在巨噬细胞中发现，这表明这些细胞参与了它的诱导。程序性细胞死亡在正常动脉中几乎检测不到，在脂肪条带中几乎检测不到，在常见的动脉粥样硬化病变中更为常见[24]。尽管存在生长因子，但 SMC 在 ASP 中死亡。这是由于在没有 Bcl-2 蛋白的情况下，c-myc 癌基因的表达以及对 p53 敏感性的增加[25]。最近的数据显示增加促凋亡蛋白 Bax 在人脂肪带和常见的 ATB 中的活性。Bax 没有发现在正常动脉，其中 Bcl-x1 蛋白表达为主。动脉粥样硬化中促凋亡蛋白和抗凋亡蛋白之间的平衡倾向于前者，这意味着 SMC 在额外的促凋亡刺激的存在下会死亡[26]。

细胞凋亡在动脉粥样硬化发展中的作用是双重的。SMC 的死亡可以通过减少细胞外基质的合成来削弱斑块的纤维涂层，从而导致其破裂。另一方面，巨噬细胞的死亡会减弱炎症反应，减少金属蛋白酶的合成，进而破坏细胞外基质，因此有助于稳定斑块。斑块内细胞死亡水平为 2-10%，增殖水平小于 1%。事实上，细胞凋亡与脂质《坏死》核的形成与动脉粥样硬化病变的自然进展有关。巨噬细胞的死亡常在脂质核的边缘被发现，这表明它可能积极促进其形成。从 ASP 中去除凋亡细胞可能是无效的，因为它们与 LDL 竞争被巨噬细胞去除。未去除的细胞易发生继发性坏死，导致炎症反应的发生。

细胞凋亡在动脉粥样硬化中的主要作用之一与其促凝潜能有关。PS 对细胞表面的影响显著增加了组织因子的活性，组织因子决定了 ASP 的血栓形成性，并促进急性缺血性事件的发生[27]。

### 动脉粥样硬化中凋亡的调节作用

M. J. Pollman (1998 年) 报道了使用反义寡核苷酸抑制 Bcl-x1 表达后再诱导新生内膜凋亡的兔斑块回归[28]。

NO 是一种功能强大的内皮细胞抗凋亡分子。B.Y.Wang (1999 年) 也观察到 L-精氨酸通过 NO 合成诱导巨噬细胞凋亡后，兔动脉粥样硬化病变的消退[29]。另一方面，由于动脉粥样硬化病变细胞具有血栓形成前的潜能，如果不进行抗凝治疗而导致细胞大量死亡可能是危险的。死亡的内皮细胞主要位于低剪切应力的狭窄区。因此，添加 L-精氨酸或内皮生长因子的 NO 可限制细胞死亡、血栓形成，改变动脉粥样硬化的进展[30]。

而 AT II 受体拮抗剂和钙通道阻滞剂则是诱导细胞凋亡的强信号通路。抗氧化剂如曲美他嗪、普罗布考、维生素 C 和 E 可抑制术后 SMC 的凋亡[31,32]。这些药物的使用在文献中还没有得到充分的研究，并且结果是矛盾的。

最后，ASP 中细胞死亡的发生在很大程度上依赖于炎症平衡。IL-10 的引入可能是一种减少炎症反应、凋亡细胞死亡从而稳定斑块的合理策略。

### 细胞凋亡和再狭窄

在各种动脉粥样硬化和再狭窄病变中，从 2 到 50% 的细胞发生凋亡。在 PTBA 后使用不同动物形成新内膜的模型中，发现在恢复过程中凋亡发生的时间和水平不同。

H.Perlman (1997 年) 的研究发现，早在 PTBA 后 30 分钟 SMC 就会死亡，并与 Bcl-x 蛋白的减少有关。之后，观察到了第二波凋亡，这与 SMC 增殖增加有关[33]。在缺乏增殖的情况下，晚期细胞死亡参与了内膜增厚的调控。

J.M.Isner (1995 年) 发现了再狭窄病变中凋亡的频率高于冠状动脉的原发性动脉粥样硬化[34]。然而，G. Bauriedel (1998 年) 对这一结论提出了质疑，他们观察到了再狭窄区细胞凋亡水平下降。高细胞密度是手术区再狭窄晚期的一个重要发现，与并对应于细胞凋亡率降低导致增生的范式。这与在冠状动脉再狭窄材料中检测到 p53 活性降低是一致的[35]。

R.Shibata (2003 年) 注意，PTBA 导致 Bax 蛋白的放线度略有增加，术后 14 天 Bcl-x1 水平显著升高。本研究中使用 Rho 激酶抑制剂可通过激活 Bax 诱导 SMC 新生内膜凋亡，从而减少新生内膜的形成[36]。

P. Krishnan (2019 年) 在他的研究中，研究了 PTBA 期间使用药物涂层球囊后的再狭窄病变。他们显著减少了新生内膜细胞的数量、SMC、成纤维细胞密度、增加了半胱天冬酶 3 的活性，并与使用无涂层球囊时的损伤情况进行比较，鉴别出 III 型胶原沉积[37]。

### 结论

将来研究细胞死亡和增殖的过程对于开发预防各种疾病发展的干预措施是必要的。