

·综述·

脑血管内皮细胞与动脉粥样硬化性脑小血管病的研究进展

刘睿,喻志源,骆翔

作者单位
华中科技大学同济
医学院附属同济医
院神经内科
武汉 430030
基金项目
国家自然科学基金
(No. 81771341);
湖北省自然科学基金
(No. 2017CFB70
5)
收稿日期
2020-05-21
通讯作者
骆翔
flydottjh@163.com

摘要 脑小血管病是一种由脑微血管功能异常引起的白质高信号和其他脑成像异常,如新发的皮质下梗死和腔隙性脑梗死等。它可以引起卒中和血管性痴呆。动脉粥样硬化性脑小血管是脑小血管病中最常见的一种,又称为年龄和血管危险因素相关的小血管病,其特征为血管中膜平滑肌细胞的缺失,同时微血管出现动脉粥样硬化。在此过程中,脑血管内皮细胞形态上无明显变化,但其功能出现异常,具体表现为:局部脑血流量改变;内皮活化;血脑屏障通透性改变。本文结合最新的研究进展,对脑血管内皮细胞在动脉粥样硬化性脑小血管病的发生发展中的作用予以综述。

关键词 内皮细胞;脑小血管病;脑血流量;血脑屏障

中图分类号 R741;R741.02;R743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgnj.20200122

本文引用格式:刘睿,喻志源,骆翔. 脑血管内皮细胞与动脉粥样硬化性脑小血管病的研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2020, 15(10): 588-589, 593.

脑小血管病(cerebral small vessel disease, CSVD)是一种由脑微血管功能异常引起的白质高信号和其他脑成像异常,如新发的皮质下梗死和腔隙性脑梗死,目前发病机理尚不清楚^[1]。CSVD可分为2大类,即散发性CSVD和遗传性CSVD^[2]。本文主要讨论动脉粥样硬化性CSVD(atherosclerotic cerebral small vessel disease, aCSVD),它是最常见的散发性CSVD,与年龄、高血压、糖尿病密切相关。其特征为直径40~150 μm的小动脉或微动脉的平滑肌细胞发生缺失或胶原化。aCSVD过程中血管病变为具有不同程度狭窄的、细长曲折、缺乏细胞的透明样变管腔。在此过程中,血管内皮细胞形态上无明显变化,但功能发生改变^[3],包括:血脑屏障功能异常、血管舒张功能异常及僵硬等^[1]。脑血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)不同于机体其他部位的内皮,它参与构成血脑屏障(blood brain barrier, BBB),为脑组织供能,并具有特异性的表达谱。此外,ECs参与局部脑血流量的调节^[3]。内皮细胞的功能异常是aCSVD的首要改变^[4]。在严重的aCSVD患者中,即使其他单核细胞和壁细胞完全丢失,内皮细胞层仍然完好,但内皮细胞的功能出现异常^[3]。下面从以下3个方面来详述ECs如何参与aCSVD的发生发展。

1 aCSVD中ECs的活化

内皮细胞活化(endothelial activation)指内皮细胞受到有害刺激后,表面标志物的表达出现变化^[5]。活化后的内皮细胞表现出促炎、促血管收缩、增殖和促凝的特性。这是由于内皮细胞分泌因子之间的平衡被打破,趋于促凝集、促血栓生成效应。如凝血酶作用于内皮细胞,使其分泌的血小板活化因子(platelet-activating factor, PAF)及 von

Willebrand(vWF)因子,具有促进血小板活化的作用。同时,内皮细胞的形态和通透性发生改变,其表面的黏附因子分泌增多,有利于内皮细胞对白细胞的募集。ECs分泌的血管生成因子和抑制剂的平衡可影响aCSVD预后^[6]。

目前国内外的许多研究对aCSVD患者循环血管内皮活化的标志物进行检测。研究表明,在aCSVD患者血清中,存在内皮活化因子水平的升高,提示aCSVD进程中内皮细胞的活化。可能可作为aCSVD诊断标记物的内皮活化因子包括细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1),可溶性血栓调节蛋白(soluble thrombomodulin, sTM),白介素-6(interleukin-6, IL-6),纤溶酶原激活物抑制物-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1),vWF等^[3,7]。需要注意的是,内皮活化标志物常需要多种联合使用,以作为aCSVD的诊断标记物。aCSVD患者外周血中内皮活化因子的升高已经被证明。但在病灶周围,即弥漫性白质损伤灶(white matter lesion, WML)区域的内皮细胞是否活化尚存在争议。有研究发现,在aCSVD患者脑组织中,脑内皮细胞的ICAM-1、IL-6水平并无明显变化,sTM水平相比对照组轻度升高^[8]。这提示ECs在aCSVD进程中可能并未发生活化。据此有研究提出,脑小血管病病变可能是全身性血管病的一个组成部分;在全身性血管病的病程中,不同器官的血管内皮细胞的活化表达谱不同^[9]。为阐明这一问题需要进一步深入的研究。

2 ECs参与aCSVD中局部脑血流量改变

在生理状况下,ECs参与局部脑血流量(cerebral blood flow, CBF)的调节,介导血管对神经递质、代谢因子和药物等刺激的舒张反应^[10]。这些

作用大多是通过内皮细胞的一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)催化 L-精氨酸合成的一氧化氮(nitric oxide, NO)介导的。这种调节基于血管内皮对血管平滑肌的作用。其主要机制为血管活性分子的产生和释放,这些活性分子扩散到特定的分子靶点,并使血管平滑肌细胞发生内皮依赖性的超极化^[10]。通过这些机制,内皮细胞可以影响静息状态下的脑血流。

WML 区域的 CBF 下降是 aCSVD 的影像学特征,这使得白质损伤区域处于低灌注状态;灌注不足的程度与 WML 的严重程度相关^[11]。内皮来源的 NO 是调节局部 CBF 的重要因子,通过 NO/cGMP 信号通路调节局部血管^[12]。因此 CBF 调节异常可作为阐明内皮损伤的标志物^[3]。内皮来源的 NO 扩散至血管平滑肌细胞,通过刺激可溶性鸟苷酸环化酶促进 cGMP 的合成,引起血管舒张。其他血管扩张途径包括内皮源性超极化因子和前列环素^[12]。此外,内皮来源的 NO 通过抑制血小板的凝聚,具有抑制动脉粥样硬化形成的能力^[13]。另一方面,哺乳动物的神经活动变化也可引起局部脑血流量的变化,这一过程通常被称为神经血管耦联(neurovascular coupling, NVC)或功能性充血(functional hyperaemia)^[14]。当内皮细胞功能出现异常时,由于 NVC 的部分反应是内皮依赖性的,内皮功能障碍也会导致 NVC 调节能力的损伤^[10,15]。

3 ECs 参与 aCSVD 中 BBB 通透性改变

ECs 是使 BBB 维持脑稳态的最重要组成部分^[16]。BBB 的内皮细胞具有特定的转运蛋白和受体,以供代谢物及营养物质通过^[17]。而内皮细胞之间形成的紧密连接则构成了 BBB 的第一道防线。相邻的内皮细胞通过紧密连接蛋白结合。大脑中紧密连接蛋白(tight junctions, TJs)有 3 大家族:闭锁蛋白(occludins)、claudin 蛋白和连接黏附分子(junctional adhesion molecules, JAM)^[18]。这些 TJs 都通过内皮细胞内的封闭蛋白 ZO-1 锚定在内皮细胞骨架上。此外,脑内皮细胞没有窗孔,跨胞囊泡的数目少,限制了细胞间物质运输^[19]。与 CBF 类似, BBB 的通透性也受到 NVC 的调控^[20]。

目前,动态对比增强 MRI(DCE-MRI)已成为评估 aCSVD 患者 BBB 功能的首选成像技术^[21]。许多临床研究表明,在合并卒中、认知障碍,或有影像学特征性改变的脑小血管病患者中,可观察到 BBB 功能障碍。BBB 功能障碍随着脑白质高信号负荷的增加而增加,其损伤的严重程度可提示脑小血管病的预后^[22]。在 aCSVD 动物模型易卒中自发性高血压大鼠中,同样可以观察到 BBB 的通透性改变;对其脑组织染色,可见脑组织损伤区域内皮细胞 claudin-5 的水平相对对照组明显降低^[23]。这提示 BBB 通透性改变可能是由于内皮细胞间 TJs 的破坏所导致。在正常的衰老过程中, BBB 也会发生轻度的功能障碍;但这一过程可由于遗传易感性而加速^[1]。例如,在 ECs 中表达的基因 Foxf2 就与散发性 CSVD 病程中 BBB 的损伤有关^[24]。

当脑组织处于低灌注状态或缺血再灌注损伤后,活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)和细胞因子通过激活肌球蛋白

轻链磷酸化(phosphorylation of myosin light chains, MLC)信号通路,肌动蛋白丝聚合成纤维^[25]。这种聚合通常伴随着肌球蛋白的收缩和细胞骨架张力的增加,从而引起脑内皮细胞 TJs 的重排,使紧密连接松散,最终引起导致 BBB 通透性增加甚至出现渗漏^[26]。缺血后 BBB 的早期损伤主要是通过 ROCK/MLC 信号通路引起的,并参与之后发生的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)介导的 BBB 开放^[27,28]。内皮细胞释放的 MMP2 和 MMP9 参与了缺血后再灌注损伤过程中 BBB 的破坏^[29]。通过对 MMP2/9 进行基因敲除或通过药物抑制其功能可以保护 BBB 的完整性,并减少缺血再灌注后的脑损伤^[30]。

除 TJs 的改变外,另一个导致 BBB 通透性升高的机制是内皮细胞跨细胞作用的增多。跨细胞作用是指载有各种分子的囊泡穿越细胞的运输方式^[31]。研究发现,卒中后 6 h,内皮细胞中可观察到跨胞小泡的增多;此时内皮细胞的 TJs 无明显变化^[32]。目前关于脑小血管病病理过程中 BBB 的破坏是否存在上述机制尚无定论,需要进一步研究以得出结论。

4 结语

脑小血管病引起 25% ~ 30% 的缺血性卒中,但目前对其发病机制的理解仍然不够全面^[33]。内皮功能异常作为 aCSVD 的首要改变,内皮来源的一系列生物活性物质的含量也发生变化:eNOS 和 NO 的含量降低,引起局部脑血流量降低;同时对血小板的抑制能力也下降;内皮活化后分泌的一系列分子如 ICAM-1、PAI-1、IL-6 等,使内皮趋于促炎、促凝集的效应;在 ROS、细胞因子等缺氧相关物质作用下,内皮细胞细胞骨架发生重排,TJs 变得松散,从而导致 BBB 通透性降低。此外,内皮细胞作为神经血管单元(neurovascular unit, NVU)的中心,参与神经血管耦联,调节 CBF 和 BBB 通透性,维持脑内环境的稳态。目前 ECs 在 CSVD 进程中的作用日益清晰,但其功能异常与 aCSVD 发生的先后顺序、因果关系仍不确定^[8]。进一步研究内皮细胞功能异常在 CSVD 发病机制中的作用,可为今后脑小血管病的预防和治疗提供新的靶点。

参考文献

- [1] Wardlaw JM, Smith C, Dichgans M, et al. Small vessel disease: mechanisms and clinical implications[J]. Lancet Neurol, 2019, 18: 684-696.
- [2] Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges[J]. Lancet Neurol, 2010, 9: 689-701.
- [3] Hainsworth AH, Oommen AT, Bridges LR, et al. Endothelial cells and human cerebral small vessel disease[J]. Brain Pathol, 2015, 25: 44-50.
- [4] Rajani RM, Quick S, Ruigrok SR, et al. Reversal of endothelial dysfunction reduces white matter vulnerability in cerebral small vessel disease in rats[J]. Sci Transl Med, 2018, 10: eaam9507.
- [5] Gallin JI, Snyderman R. Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates[M]. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia.
- [6] Pescini F, Abbate R. Markers of endothelial dysfunction, oxidative stress, and inflammation in cerebral small vessel disease[M]. Cerebral small vessel disease. Cambridge University Press, 2014: 192-199.
- [7] Poggesi A, Pasi M, Pescini F, et al. Circulating biologic markers of

组. 中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南2014[J]. 中华神经科杂志, 2015, 48: 258-273.

[40] Yang Z, Wang L, Zhang W, et al. Plasma homocysteine involved in methylation and expression of thrombomodulin in cerebral infarction[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 473: 1218-1222.

[41] Kalani A, Kamat PK, Tyagi SC, et al. Synergy of homocysteine, microRNA, and epigenetics: a novel therapeutic approach for stroke[J]. Mol Neurobiol, 2013, 48: 157-168.

[42] Baccarelli A, Wright R, Bollati V, et al. Ischemic heart disease and stroke in relation to blood DNA methylation[J]. Epidemiology, 2010, 21: 819-828.

[43] Iso H, Moriyama Y, Sato S, et al. Serum total homocysteine

concentrations and risk of stroke and its subtypes in Japanese[J]. Circulation, 2004, 109: 2766-2772.

[44] Zhou Z, Liang Y, Qu H, et al. Plasma homocysteine concentrations and risk of intracerebral hemorrhage: a systematic review and meta-analysis[J]. Sci Rep, 2018, 8: 2568.

[45] Kang SS, Wong PW, Susmano A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease[J]. Am J Hum Genet, 1991, 48: 536-545.

[46] Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy[J]. J Lab Clin Med, 1989, 114: 473-501.

(本文编辑:唐颖馨)

(上接第589页)

endothelial dysfunction in cerebral small vessel disease: A review[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2016, 36: 72-94.

[8] Giwa MO, Williams J, Elderfield K, et al. Neuropathologic evidence of endothelial changes in cerebral small vessel disease[J]. Neurology, 2012, 78: 167-174.

[9] Thompson CS, Hakim AM. Living beyond our physiological means: small vessel disease of the brain is an expression of a systemic failure in arteriolar function: a unifying hypothesis[J]. Stroke, 2009, 40: e322-e330.

[10] Hu X, De Silva TM, Chen J, et al. Cerebral Vascular Disease and Neurovascular Injury in Ischemic Stroke[J]. Circ Res, 2017, 120: 449-471.

[11] Croall ID, Tozer DJ, Moynihan B, et al. Effect of Standard vs Intensive Blood Pressure Control on Cerebral Blood Flow in Small Vessel Disease: The PRESERVE Randomized Clinical Trial[J]. JAMA Neurol, 2018, 75: 720-727.

[12] Karlsson WK, Sørensen CG, Kruuse C, et al. L-arginine and L-NMMA for assessing cerebral endothelial dysfunction in ischaemic cerebrovascular disease: A systematic review[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2017, 44: 13-20.

[13] Li H, Horke S, Förstermann U, et al. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis[J]. Atherosclerosis, 2014, 237: 208-219.

[14] Lo EH, Rosenberg GA. The neurovascular unit in health and disease: introduction[J]. Stroke, 2009, 40: S2-S3.

[15] Shimokawa H, Sunamura S, Satoh K, et al. RhoA/Rho-kinase in the cardiovascular system[J]. Circ Res, 2016, 118: 352-366.

[16] Maiuolo J, Gliozzi M, Musolino V, et al. The "Frail" Brain Blood Barrier in Neurodegenerative Diseases: Role of Early Disruption of Endothelial Cell-to-Cell Connections[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19: 2693.

[17] Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, et al. Structure and function of the blood-brain barrier[J]. Neurobiol Dis, 2010, 37: 13-25.

[18] Rajani RM, Williams A. Endothelial cell-oligodendrocyte interactions in small vessel disease and aging[J]. Clin Sci (Lond), 2017, 131: 369-379.

[19] Nitta, T, Hata, M, Gotoh S, et al. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice[J]. J Cell Biol, 2003, 161: 653-660.

[20] Cipolla MJ. The Cerebral Circulation[M]. Morgan & Claypool Life Sciences, 2016: 1-80.

[21] Thrippleton MJ, Backes WH, Sourbron S, et al. Quantifying blood-brain barrier leakage in small vessel disease: Review and consensus recommendations[J]. Alzheimers Dement, 2019, 15: 840-858.

[22] Thrippleton MJ, Backes WH, Sourbron S, et al. Quantifying blood-brain barrier leakage in small vessel disease: Review and consensus recommendations[J]. Alzheimers Dement, 2019, 15: 840-858.

[23] Bailey EL, Wardlaw JM, Graham D, et al. Cerebral small vessel endothelial structural changes predate hypertension in stroke-prone spontaneously hypertensive rats: a blinded, controlled immunohistochemical study of 5- to 21-week-old rats[J]. Neuropathol Appl Neurobiol, 2011, 37: 711-726.

[24] Malik R, Chauhan G, Traylor M, et al. Multiancestry genome-wide association study of 520,000 subjects identifies 32 loci associated with stroke and stroke subtypes[J]. Nat Genet, 2018, 50: 524-37.

[25] Gulino-Debrac D. Mechanotransduction at the basis of endothelial barrier function[J]. Tissue Barriers, 2013, 1: e24180.

[26] Allen C, Srivastava K, Bayraktutan U, et al. Small GTPase RhoA and its effector rho kinase mediate oxygen glucose deprivation-evoked in vitro cerebral barrier dysfunction[J]. Stroke, 2010, 41: 2056-2063.

[27] Vandenbroucke E, Mehta D, Minshall R, et al. Regulation of endothelial junctional permeability[J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1123: 134-145.

[28] Shi Y, Zhang L, Pu H, et al. Rapid endothelial cytoskeletal reorganization enables early blood-brain barrier disruption and long-term ischaemic reperfusion brain injury[J]. Nat Commun, 2016, 7: 10523.

[29] Rosell A, Cuadrado E, Ortega-Aznar A, et al. MMP-9-positive neutrophil infiltration is associated to blood-brain barrier breakdown and basal lamina type IV collagen degradation during hemorrhagic transformation after human ischemic stroke[J]. Stroke, 2008, 39: 1121-1126.

[30] Asahi M, Asahi K, Jung J C, et al. Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia: effects of gene knockout and enzyme inhibition with BB-94[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2000, 20: 1681-1689.

[31] Simionescu M, Popov D, Sima A, et al. Endothelial transcytosis in health and disease[J]. Cell Tissue Res, 2009, 335: 27-40.

[32] Knowland D, Arac A, Sekiguchi KJ, et al. Stepwise recruitment of trans-cellular and paracellular pathways underlies blood-brain barrier breakdown in stroke[J]. Neuron, 2014, 82: 603-617.

[33] Cognat E, Cleophax S, Domenga-Denier V, et al. Early white matter changes in CADASIL: evidence of segmental intramyelinic oedema in a pre-clinical mouse model[J]. Acta Neuropathol Commun, 2014, 2: 49.

(本文编辑:唐颖馨)