

血管平滑肌细胞

温进坤 韩梅 主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

血管平滑肌细胞是构成血管壁组织结构及维持血管张力的主要细胞成分,其结构及功能的改变是导致高血压、动脉粥样硬化和血管成形术后再次狭窄等多种心血管病的细胞病理学基础。近年来,血管平滑肌细胞研究进展迅速,新成果不断涌现。本书重点介绍生理及病理情况下的血管平滑肌细胞表型重塑及调控机制、血管平滑肌细胞收缩蛋白的结构和功能、血管平滑肌细胞功能调节的信号转导途径、血管平滑肌细胞与基质的相互作用及其与血管重塑的关系、血管舒-缩活性肽网络及其对血管平滑肌细胞张力的调节、NO介导的血管平滑肌细胞舒张机制、血管平滑肌细胞凋亡机制、血管发育与血管新生、益气活血化瘀中药的心血管效应和研究血管平滑肌细胞结构与功能的常规技术。本书对心、脑血管研究领域的临床与科研人员、博士和硕士研究生了解血管平滑肌细胞的研究现状与发展趋势,以及进行心、脑血管病基础与临床研究的科学选题具有参考价值。

图书在版编目(CIP)数据

血管平滑肌细胞/温进坤,韩梅主编. —北京:科学出版社,2005.5
ISBN 7-03-014516-X

I. 血… II. ①温…②韩… III. 人体-血管-平滑肌-机能(生物)
IV. R331.3

中国版本图书馆CIP数据核字(2004)第119970号

责任编辑:马学海 乐俊河/责任校对:刘小梅
责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005年5月第一版 开本:B5(720×1000)

2005年5月第一次印刷 印张:28 3/4

印数:1—1 500 字数:657 000

定价:73.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换(科印))

本书编写人员

主 编

温进坤 韩 梅

编著者 (按汉语拼音排序)

程云会 韩 梅 李菁菁

刘智敏 聂 磊 温进坤

郑 斌

前 言

心、脑血管病是危害人类生命和健康的最严重的疾病，我国每年因该类疾病死亡的人数约有 260 万，平均每小时死亡约 300 人，成为人类健康的头号杀手。同时，由于环境的污染、饮食习惯的改变和生活节奏的加快，促使心、脑血管病的发病率逐年上升。

高血压、动脉粥样硬化和血管成形术后再狭窄是导致冠心病、心肌梗死、脑卒中等心、脑血管病的主要诱发因素，作为构成血管壁组织结构及维持血管张力的主要细胞成分——血管平滑肌细胞，在该类病变中扮演着重要角色，各种原因诱发的血管平滑肌细胞生物学行为改变是心、脑血管病的主要细胞学基础。近年来，随着分子生物学和细胞生物学的进展，人类对血管平滑肌细胞表型的可塑性、增殖、迁移、分化、凋亡和细胞外基质的合成与分泌等方面的认识不断深化，有关血管平滑肌细胞研究的新理论、新概念和新技术层出不穷。为了便于广大科研和临床工作者能够紧密跟踪该领域研究的前沿，从浩如烟海的信息中捕捉有价值的研究成果、开阔科研思路，本书结合作者多年在该领域所取得的研究成果，并在查阅国内外最新进展的基础上编纂而成。

本书共包括 11 章，其内容涵盖血管平滑肌细胞研究领域的各个方面，包括生理及病理情况下的血管平滑肌细胞表型重塑及调控机制、血管平滑肌细胞收缩蛋白的结构和功能、血管平滑肌细胞功能调节的信号转导途径、血管平滑肌细胞与基质的相互作用及其与血管重塑的关系、血管舒-缩活性肽网络及其对血管平滑肌细胞张力的调节、NO 介导的血管平滑肌细胞舒张机制、血管平滑肌细胞凋亡机制、血管发育与血管新生、益气活血化瘀中药的心血管效应和研究血管平滑肌细胞结构与功能的常规技术。相信本书对心、脑血管病领域的临床和科研人员了解血管平滑肌细胞的研究现状与进展，以及进行心、脑血管病基础与临床研究的科学选题会有一定的帮助。

但是，血管平滑肌细胞是一个十分活跃的研究领域，进展迅速，新的研究成果不断涌现，书中难免存在欠缺和不妥之处，恳请专家和读者提出宝贵意见，以便今后修订和再版时进行完善。

本书出版受到国家自然科学基金委员会科学出版专项基金和河北省教育厅学术著作出版基金资助。

温进坤 韩 梅

2004. 9. 8

目 录

前言

第一章 血管平滑肌细胞概论	1
第一节 血管平滑肌细胞的起源和不均一性	1
一、血管平滑肌细胞的起源	1
二、血管平滑肌细胞的不均一性	2
三、弹性与肌性分化	3
四、血管平滑肌细胞的来源和不均一性相关	4
五、血管平滑肌细胞不均一性的意义	4
第二节 血管平滑肌细胞的生长	5
一、血管平滑肌细胞生长的生理意义	5
二、血管平滑肌细胞生长的类型	7
第三节 血管平滑肌细胞表型转化	9
一、影响血管平滑肌细胞表型转化的因素	9
二、血管平滑肌细胞基因标志物的分离	10
三、表型特异转录因子	13
四、调节血管平滑肌细胞表型的信号转导途径	16
五、在人类疾病中的意义	18
第四节 血管平滑肌细胞特异性基因表达及其分化的分子机制	19
一、SRF、GATA 和 NK 三元复合物调控肌特异基因	19
二、Myocardin 作为 SRF 的辅助因子激活肌特异基因表达	21
三、HAND 因子增强肌特异基因的表达	26
四、血管平滑肌细胞分化的分子机制	28
第五节 平滑肌收缩蛋白基因转录调节	31
第六节 SRF 调节平滑肌细胞分化的研究进展	33
一、SRF 表达与 SMC 分化	33
二、SRF 结合与 SMC 分化	34
三、SRF 剪接变体与 SMC 分化	35
四、CArG 的染色质重塑与 SMC 分化	35
五、RhoA 介导的肌动蛋白微管掺入与 SMC 分化	36
六、转录因子复合物形成与 SMC 分化	37
参考文献	38
第二章 血管平滑肌细胞收缩蛋白	41
第一节 血管平滑肌细胞收缩功能的结构基础	41
一、致密体和致密斑	42

二、中间纤维	42
三、肌丝	42
四、平滑肌细胞的三维结构模型	45
第二节 血管平滑肌的收缩及调节机制	46
一、肌丝滑动学说	46
二、横桥循环与平滑肌张力的维持	47
第三节 收缩蛋白	47
一、肌动蛋白	47
二、肌球蛋白	55
第四节 收缩调节蛋白	58
一、Caldesmon (CaD)	58
二、Calponin (CaP)	63
第五节 SM22 α : 血管平滑肌细胞的表型标志基因	67
一、SM22 α 基因及产物结构	67
二、SM22 α 的表达调控	68
第六节 其他收缩调节蛋白	75
一、原肌球蛋白	75
二、肌球蛋白轻链激酶/端蛋白	76
三、结蛋白	77
第七节 平滑肌细胞骨架的调节机制	77
一、表型弹性和平滑肌的异质性	77
二、收缩表型标志蛋白表达的调控	79
三、平滑肌的机械弹性	81
四、平滑肌机械弹性的分子机制	82
五、展望	84
参考文献	84
第三章 血管平滑肌细胞信号转导	87
第一节 调节血管平滑肌细胞收缩的信号转导途径	89
一、MLCK 途径	89
二、PKC 途径	89
三、Ca ²⁺ 及钙调蛋白对平滑肌细胞收缩的调节	89
第二节 血管平滑肌细胞中的 Ca ²⁺ 转运机制	91
一、Ca ²⁺ 内流机制	91
二、细胞内 Ca ²⁺ 的吸收机制	95
三、细胞内的 Ca ²⁺ 释放机制	96
四、Ca ²⁺ 的排出机制	97
五、Ca ²⁺ 信号整合	98
六、结论	100
第三节 平滑肌肌球蛋白磷酸化的调节	101

一、rMLC 对收缩的调节作用	101
二、rMLC 磷酸化和收缩对 Ca^{2+} 敏感性的调节作用	102
三、展望	105
第四节 调节血管平滑肌细胞骨架的信号转导途径	105
一、Rho 相关小 G 蛋白调节应力纤维的形成	105
二、蛋白激酶 C 对微丝骨架重构的调节	107
第五节 黏着斑和小热激蛋白在血管平滑肌细胞收缩和肌动蛋白重建中的调节作用	109
一、整合素介导张力传递	109
二、整合素介导的信号转导途径	110
三、FAK 和 c-Src 在平滑肌细胞骨架的信号转导途径调节中的作用	113
四、平滑肌信号转导途径中细胞骨架重建的下游靶分子	114
五、小热激蛋白是平滑肌微丝重建的效应蛋白	116
六、结论	118
第六节 血管平滑肌细胞中 cGMP 依赖性蛋白激酶信号途径调节细胞张力和基因表达的机制	118
一、平滑肌细胞的舒张机制	119
二、血管平滑肌细胞的表型调节	121
三、PKG 基因的表达调节	123
参考文献	125
第四章 血管平滑肌细胞与细胞外基质的相互作用	128
第一节 整合素的分子生物学	128
一、整合素的结构	129
二、整合素的配体	133
第二节 整合素与细胞外基质的关系	136
一、细胞外基质的种类	136
二、血管中细胞外基质的组成	138
三、整合素介导细胞—细胞外基质的耦联	138
第三节 整合素与细胞骨架的关系	141
一、肌动蛋白结合蛋白在整合素介导的信号转导过程中的作用	142
二、整合素调控肌动蛋白结构和功能的相关信号途径	145
第四节 整合素与生长因子受体的协同作用	148
一、生长因子及其受体的生物学特征和功能	148
二、整合素与生长因子受体的协同作用	151
第五节 整合素与心血管疾病的关系	153
一、整合素与血管平滑肌细胞	153
二、整合素与心血管疾病的关系	156
参考文献	157
第五章 血管壁细胞外基质重塑	159
第一节 概述	159

一、糖蛋白	160
二、胶原	161
三、蛋白聚糖	162
第二节 胶原	162
一、血管胶原的分子结构	163
二、血管壁胶原的生物学作用	165
三、血管壁胶原与动脉粥样硬化	165
四、胶原与血管重塑	166
第三节 弹性蛋白	166
一、弹性蛋白的分子结构	167
二、动脉壁弹性蛋白的功能	167
三、弹性蛋白与平滑肌细胞	168
四、弹性蛋白与动脉粥样硬化	168
第四节 纤连蛋白	168
一、纤连蛋白的分子结构	168
二、纤连蛋白与血管平滑肌细胞	169
三、纤连蛋白与动脉粥样硬化	170
第五节 层黏连蛋白	170
一、层黏连蛋白的分子结构	171
二、层黏连蛋白与基底膜结构	172
三、层黏连蛋白与血管平滑肌细胞	172
第六节 骨桥蛋白	173
一、骨桥蛋白的分子结构	173
二、骨桥蛋白的基因结构及其表达调控	174
三、骨桥蛋白调节血管平滑肌细胞的黏附和迁移	175
四、骨桥蛋白与心血管疾病	175
第七节 其他细胞外基质成分	176
第八节 细胞外基质对血管平滑肌细胞生物学行为的影响	177
一、细胞外基质与血管平滑肌细胞表型	177
二、细胞外基质对血管平滑肌细胞迁移的影响	177
三、细胞外基质对血管平滑肌细胞增殖的影响	178
四、细胞外基质对血管平滑肌细胞凋亡的影响	179
第九节 基质金属蛋白酶与血管细胞外基质重塑	180
一、基质金属蛋白酶的分类	180
二、基质金属蛋白酶的结构与底物	181
三、基质金属蛋白酶活性的调节	184
四、基质金属蛋白酶与血管重塑性疾病	187
参考文献	188

第六章 血管活性肽与血管平滑肌细胞	191
第一节 肾素—血管紧张素系统	192
一、肾素—血管紧张素系统主要成员	192
二、血管紧张素受体	199
三、血管紧张素 II 对血管平滑肌细胞生物学行为的影响	202
四、血管紧张素 II 与动脉粥样硬化	206
第二节 血管内皮素系统	209
一、内皮素家族的分子生物学	210
二、内皮素受体	216
三、内皮素-1 的功能	217
四、内皮素-1 与动脉粥样硬化	219
五、内皮素-1 与肾素—血管紧张素系统的关系	221
第三节 降钙素 /降钙素基因相关肽超家族	221
一、概述	222
二、降钙素基因相关肽的分子生物学	225
三、肾上腺髓质素的分子生物学	227
第四节 其他血管活性肽	232
一、激肽释放酶—激肽系统	232
二、利尿钠肽家族	234
三、其他一些血管活性肽及其对血管的作用	236
参考文献	237
第七章 一氧化氮与血管平滑肌细胞	243
第一节 一氧化氮合酶在血管中的表达与调节	243
一、NOS 结构	243
二、NOS 在血管系统中的分布	244
三、NOS 活性调节	246
四、NOS 敲除后的血管表型变化	250
第二节 一氧化氮调节血管功能的作用机制	251
一、NO 从血管内皮的释放	251
二、NO 在心血管系统中的生理功能	252
三、NO 调节血管平滑肌细胞功能的作用机制	255
第三节 一氧化氮的血管病理生理学	257
一、引起 NO 缺乏或生物活性降低的原因	257
二、NO 缺乏与血管疾病	261
三、iNOS 源性的 NO 过多是造成脓毒症低血压的主要原因	264
四、基于 NO 作用机制的临床治疗策略	264
第四节 NOS 基因治疗心血管疾病	266
一、心血管病基因治疗的原则	267
二、血管 NOS 基因转移的生物学作用	268

三、NOS 基因转移对心血管病的治疗作用	269
四、哪种类型的 NOS 更适用于基因治疗?	273
五、NOS 基因治疗的辅助策略	274
六、小结	275
参考文献	275

第八章 血管平滑肌细胞凋亡..... 279

第一节 概述	279
一、细胞凋亡的特征	279
二、细胞凋亡与细胞坏死的区别	280
三、细胞凋亡的意义与应用前景	281
第二节 参与细胞凋亡的酶类	283
一、内切核酸酶	283
二、Caspase 蛋白酶	283
三、转谷氨酰胺酶.....	288
第三节 细胞凋亡的分子机制	288
一、促进(诱导)细胞凋亡的基因.....	288
二、细胞凋亡的抑制基因	294
三、细胞凋亡的诱导因素	299
四、细胞凋亡的调节	299
第四节 血管平滑肌细胞凋亡	301
一、血管平滑肌细胞凋亡的影响因素	302
二、影响凋亡的因素之间的相互作用	305
三、VSMC 凋亡的基因调控	306
四、参与 VSMC 凋亡的信号途径	309
五、凋亡通路的调节	317
第五节 细胞凋亡与血管重塑性疾病	321
一、细胞凋亡与动脉粥样硬化	321
二、血管再狭窄过程中的细胞凋亡和增殖	324
第六节 血管平滑肌细胞凋亡抑制蛋白的研究进展.....	325
一、IAP	326
二、HIAP-1 和 HIAP-2	328
三、XIAP	328
四、ML-IAP	329
五、Survivin	329
六、Livin	330
参考文献	330

第九章 血管发育与血管新生..... 334

第一节 血管壁的组成和一般结构.....	334
一、血管内膜	335

二、血管中膜	335
三、血管外膜	336
第二节 血管发生及其转录调节	336
一、血管发生的一般过程	336
二、血管发育的转录调节	338
第三节 血管新生	343
一、血管新生的简要过程	345
二、血管新生中细胞的来源及其特征	346
三、血管新生的调节因素	347
四、血管退化	351
第四节 动脉生长	352
一、动脉生长的一般模式	353
二、动脉生长的过程	354
三、动脉生长的调节	355
四、动脉生长和动脉粥样硬化之间的关系	358
参考文献	359
第十章 益气活血化瘀与血管平滑肌细胞功能调节	361
第一节 基因组和蛋白质组学与中医药研究	361
一、基因组学与蛋白质组学	361
二、筛查药物作用的靶标	362
三、筛选中药新的有效成分	363
四、中药作用机制的研究	363
第二节 益气活血化瘀与血管平滑肌细胞基因表达调节	364
一、益气活血调节血管活性肽在血管平滑肌细胞中的表达	365
二、益气活血抑制 VSMC 表型转化和细胞增殖相关基因表达	365
三、益气活血调节细胞外基质代谢和 VSMC 黏附与迁移能力	366
四、益气活血调整 VSMC 增殖与凋亡之间的动态平衡	366
第三节 益气活血化瘀中药抑制血管平滑肌细胞增殖及迁移	367
一、中药单体对 VSMC 增殖及迁移的影响	367
二、中药复方对 VSMC 增殖和迁移的影响	370
第四节 益气活血化瘀中药抑制血管内皮剥脱后内膜增生	371
一、血管内皮剥脱后内膜增生的发生机制	371
二、益气活血化瘀中药抑制血管内膜增生	372
第五节 益气活血化瘀中药抑制动脉粥样硬化斑块形成	375
一、中医学对动脉粥样硬化的认识	375
二、益气活血化瘀中药抑制动脉粥样硬化斑块形成	376
参考文献	376
第十一章 血管平滑肌的细胞与分子生物学研究技术	378
第一节 血管细胞的培养	378

一、血管平滑肌细胞的分离与培养	378
二、血管内皮细胞的培养	381
三、血管的器官培养	384
第二节 血管平滑肌细胞凋亡的分析	385
一、细胞凋亡的形态学研究方法	385
二、细胞凋亡的生物化学研究方法	392
三、细胞凋亡的免疫化学分析方法	396
四、细胞凋亡的分子生物学研究方法	398
五、细胞凋亡时 Ca^{2+} 浓度测定	402
六、细胞凋亡研究方法的选择	403
第三节 血管平滑肌细胞增殖的分析	404
一、细胞计数法	404
二、台盼蓝染色法	404
三、MTT 比色法	405
四、细胞生长曲线法	406
五、 $[\text{}^3\text{H}]$ -TdR 掺入法	407
六、BrdU 掺入法	407
第四节 血管平滑肌细胞黏附与迁移的分析	409
一、细胞与基质的黏附实验	409
二、细胞间黏附的分析	409
三、血管平滑肌细胞迁移分析	410
第五节 其他血管平滑肌细胞和分子生物学研究技术	411
一、ABC 免疫酶标技术 (DAB 显色法)	411
二、免疫荧光染色法	415
三、细胞骨架的染色方法	415
四、平滑肌细胞收缩能力的测定	417
五、生物大分子相互作用的研究方法	418
第六节 常用心血管疾病动物模型的制备	425
一、动脉粥样硬化动物模型	425
二、高血压动物模型	429
三、球囊血管内皮剥脱动物模型	430
参考文献	432
英汉对照名词索引	434

第一章 血管平滑肌细胞概论

血管平滑肌细胞 (VSMC) 位于血管壁中膜, 呈长梭形, 长约 $6\ \mu\text{m}$, 宽 $2\ \mu\text{m}$, 细胞核为圆形或椭圆形, 多位于细胞中央。VSMC 的主要功能是通过舒缩调节血管的张力。VSMC 可合成与分泌细胞外基质成分和多种细胞因子, 并通过其细胞表面的细胞因子和生长因子受体, 接受不同因子对细胞的刺激以及发生细胞生物学行为的改变。

第一节 血管平滑肌细胞的起源和不均一性

一、血管平滑肌细胞的起源

血管平滑肌细胞是维持血管张力和功能的主要细胞成分, 在血管壁病理过程中也发挥重要作用。胚胎期血管系统从脏壁中胚层招募其第一批构筑材料, 即内皮细胞。内皮细胞的分化在内胚层一间充质的界面处开始, 内皮祖细胞一旦被启动, 它们立即成为可移动的细胞, 并形成具有很大可塑性的血管网。此后, 再进一步发育便成为较大的血管, 即动、静脉的中膜。脏壁中胚层作为血管平滑肌细胞主要来源的理由如下: 首先, 围绕着内皮管的脏壁中胚层被分化为平滑肌细胞系, 不过, 目前尚缺乏支持这一观点的细胞系研究结果; 其次, 虽然人们一直在寻找鉴定成年血管平滑肌的分化标志, 但至今在血管平滑肌细胞系尚未找到像横纹肌中的 myoD 那样公认的标志物。

从早期血管发育向成熟血管壁的发展过程中, 伴随着血管平滑肌细胞的分化, 有一些细胞骨架和收缩蛋白标志物发生有价值的变化。从不同物种 (包括人) 中所鉴定的收缩蛋白标志物的数目不断增加, 例如, SM22 α 、1E12、smoothelin 和平滑肌 (SM) 肌球蛋白。值得注意的是, 这些蛋白的表达均在 SM α -肌动蛋白之后。在血管发育早期, 上述标志物并不是血管平滑肌细胞所特有的, 它们也在骨骼肌和心肌细胞中进行表达。对于血管成熟而言, SM α -肌动蛋白是早期最有用的标志物, 因为在胚胎发育过程中这种蛋白在血管内皮细胞中不表达。将细胞骨架标志物结蛋白 (desmin)、黏着斑蛋白 (vinculin) 和 meta-vinculin 作为平滑肌细胞分化指标的价值正在被研究。

血管平滑肌细胞来自中胚层的另一个证据是体内实验所提供的。体内实验显示, 表达 SM α -肌动蛋白的第一层细胞围绕在内皮细胞所形成的管腔周围, 该层细胞是由内皮细胞反向分化而来。这种反向分化机制首先发现于鸡胚的背腹主动脉, 目前还不清楚这种机制是背腹主动脉所特有的还是存在于血管壁正常发育 (包括疾病状态下的血管内膜增厚) 过程中的较普遍的现象。

与血管平滑肌细胞起源于内皮细胞和脏壁中胚层不同的实验证据是冠状动脉的平滑肌细胞一部分来自脏壁中胚层, 一部分来自心外膜。有实验表明, 心外膜也可以生成冠状动脉血管壁的外膜细胞。最近, 有人用反转录病毒报告基因示踪心外膜也取得类似的结

果。在冠状动脉发育过程中，至今尚未观察到内皮细胞反向分化为平滑肌细胞的现象。

血管平滑肌细胞的另一个来源是神经胚层，即神经嵴中外胚层，也就是以前认为的内皮细胞-平滑肌细胞转化。鸡—鹤鹑嵌合体图谱分析和反转录病毒报告基因转移实验结果均表明，神经嵴细胞能够分化成胸、头、颈部动脉的平滑肌细胞。另外，神经嵴细胞也存在于大静脉的血管壁中。

神经嵴图谱分析显示，在含有和不含神经嵴细胞的血管之间存在着明显的边界。目前已知，非神经嵴动脉有肺动脉、冠状动脉和锁骨下动脉。血管平滑肌细胞的已知来源列于表 1-1。

表 1-1 主动脉中膜平滑肌细胞的胚胎来源

动脉名称	中胚层	内皮细胞	神经嵴	心外膜来源细胞
升主动脉	?	?	+	-
主动脉弓	?	?	+	-
降主动脉	+	+	-	-
锁骨下动脉	+	?	-	-
肺动脉干	?	?	+	-
肺动脉	?	?	-	-
导管动脉	?	?	+	-
冠状动脉	-	-	-	+

?, 表示未进行研究或未知; +, 表示存在; -, 表示缺乏或未发现。

在研究血管平滑肌细胞起源过程中发现，血管平滑肌细胞和成纤维细胞在起源上有很多共同的特征，例如有人报告，血管外膜与中膜细胞具有类似的胚胎发生过程，提示成纤维细胞和平滑肌细胞有着共同的起源。

综上所述，血管平滑肌细胞起源于神经胚层（神经嵴）和在一定程度上发生分化（内皮、心外膜）的多种中胚层细胞。此外，仍未分化的脏壁中胚层在形成血管中膜的过程中也起着相当重要的作用。

二、血管平滑肌细胞的不均一性

血管平滑肌细胞的不均一性是已为人们所熟知的现象。然而，关于对平滑肌细胞表型及分化标志物表达意义的解释目前还有很大的争议。这是因为，实验结果有的来自体外实验，有的来自整体动物，实验材料有的来自成年血管，有的是胎儿血管或不同动物种类的细胞。体外所培养的细胞可以是来自正常和患病血管的内膜、中膜的内层或外层，也可以是血管的外膜。

来自体外研究的结果大部分能够反映在体的情况。对早期胚胎发育的研究结果显示，在 1E12 期血管平滑肌细胞就开始表达 SM α -肌动蛋白、辅肌动蛋白标志物和 smoothelin；相对出现较晚的分化标志物有 SM22 α 、calponin、1-钙调蛋白结合蛋白和 SM 肌球蛋白，这些蛋白的表达水平逐渐增加，直至达到成熟血管壁的表达水平为止。在血管发育过程中，也有一些标志物，如细胞角蛋白和一些纤连蛋白剪接变异体的表达

被下调。从血管壁分层角度来说，位于血管壁内膜侧的平滑肌细胞比中膜靠近中间及外侧的细胞分化程度低。

在内膜增生，如动脉粥样硬化斑块形成和血管再狭窄发生过程中，胚胎期表达的基因出现重新表达的现象。

一般情况下，位于血管中膜外侧部分的平滑肌细胞的排列具有一定的方向性，但靠近管腔侧的细胞以比较无序的方式存在。少数血管中存在着显示特异分化谱型的细胞簇。在牛的肺动脉，细胞簇以稳定的方式表达 meta 黏着斑蛋白，以便为向收缩细胞亚群分化做好准备。在导管动脉还可见到一种不同的现象，即在导管关闭过程中，伴随着胚胎基因的再表达，在胚胎细胞角蛋白表达消失之后，又出现细胞角蛋白阳性细胞簇。

结合来自体外的实验资料，能够得出下述结论：从形态学的观点，可以将血管平滑肌细胞至少分为两种表型，即上皮样细胞和梭形细胞，也可称为细长形细胞和衰老的细胞。呈梭形的收缩型细胞不能进行增殖和迁移，上皮样的合成型细胞是已进入细胞周期的正处于增殖状态的细胞。这些在形态学上不同的细胞很可能与体内收缩型细胞（梭形）和合成型细胞（上皮样形状）的功能分类相一致。在一些研究中，合成型细胞也被称为非肌型细胞，因为这种细胞缺乏收缩型分化标志物。对胚胎、新生儿和成年血管进行比较时发现，在发育早期血管平滑肌细胞的表型差异已经开始出现，此后差异越来越明显；到成年血管壁，已变得特别明显，即在血管内膜中存在合成型细胞，在中膜为收缩型细胞。用体外培养的细胞进行研究时发现，在细胞成为融合的单层细胞时，这种表型特征相对稳定。改变细胞培养条件，梭形平滑肌细胞可使其表型转变为上皮样表型，但这种表型变化能否在体内观察到尚不清楚。近年有人证实，血管内膜和中膜层是各种表型细胞的混合物。不同表型平滑肌细胞的最终命运是不相同的，上皮样（合成型）细胞无论是在体和离体还是在生理抑或是病理性内膜增厚过程中都更易于凋亡。

一般来说，平滑肌细胞的表型状态与一些分化标志物表达相关，占收缩型细胞绝大多数的梭形平滑肌细胞可表达分化标志物，如 SM22 α 、calponin 和 h-钙调蛋白结合蛋白，这些蛋白与细胞的收缩能力有关。这些标志物的表达出现于一些纤连蛋白分化标志物，如纤连蛋白剪接变异体、肌钙蛋白和黏着斑蛋白的表达之前，后一标志物在胎儿平滑肌细胞表型中比较明显，但有些标志物在新生儿和成年细胞中被丢失。然而，这些胎儿期平滑肌细胞标志物在血管内膜增生过程中再次表达，并成为平滑肌细胞去分化的标志。与此类似的现象也见于导管动脉闭锁过程中的中膜细胞溶解性坏死。胎儿标志物的再表达伴有细胞凋亡的增加，胎儿细胞骨架分化标志物在所谓成肌纤维细胞系中持续存在，这种类型的细胞是作为外膜细胞还是作为平滑肌干细胞尚待进一步研究。用完整的血管壁器官培养物证实，这些成肌纤维细胞可从外膜迁移到血管腔表面，并在此部位反向分化成内皮样细胞及在内膜增厚过程中分化成合成表型的平滑肌细胞。在这方面，所谓树状细胞也需要进一步研究，因为这类细胞的来源和作用仍不清楚。

三、弹性与肌性分化

迄今，关于血管分化为弹性还是肌性表型的调节问题还没有解决。血管的结构能很好地适应维持血压和推动血液到达各种器官的需要，但是一个特定的血管如何和怎样分

化为具有弹性的升主动脉、肌性的冠状动脉和肌性的导管动脉尚不清楚。在这方面，早期调节基因，如决定咽弓形状形成或在血管壁中进行表达的成对同源框基因 Prx1 和 Prx2 均难以解释血管壁的形成。因为多种分子在导管动脉中的表达均具有其特殊的谱型，所以这种动脉仍然是很引人注意的血管。在胎儿导管动脉中，血管紧张素 II 和 Prx2 具有很高的表达。导管动脉的中膜外侧部分存在视黄酸应答信号，说明这一部位的平滑肌细胞分化程度较高。

四、血管平滑肌细胞的来源和不均一性相关

动脉粥样硬化新生内膜中的平滑肌细胞的特殊特征使人们试图分离单一来源的单克隆细胞，这样一种干细胞来源的细胞主要存在于中胚层和中外胚层，即平滑肌细胞起源的部位。因为血管内膜增厚是可发生在很多血管中的一种病理过程，而这些血管含有或不含神经嵴来源的平滑肌细胞成分。因此，神经嵴细胞可能不形成特异的平滑肌细胞表型或平滑肌干细胞。然而，有证据表明，神经嵴来源的平滑肌细胞对血管壁弹性结构的形成具有调节效应，但这是一种发生较晚的现象。神经嵴来源的平滑肌细胞的行为不同于中胚层来源的细胞，后一来源的细胞能在体外培养中演变生成，但这种细胞对 TGF- β 显示不同的反应。

第二种干细胞的候选者可能是内皮细胞，因为近年发现，内皮细胞可以反向分化为平滑肌细胞。通过用反转录病毒介导的报告基因示踪内皮细胞证明，内皮细胞可以进入中膜，甚至迁移到外膜，在这些部位它们表达报告基因和平滑肌细胞标志物钙调蛋白结合蛋白和 calponin，但是目前尚不清楚在动脉硬化发生过程中是否需要内皮细胞来源的平滑肌细胞。在这方面，虽然血管外膜的成纤维细胞也有不同的胚胎来源，但这种细胞也可能发挥重要作用。

五、血管平滑肌细胞不均一性的意义

血管平滑肌细胞是构成正常血管中膜的惟一的细胞群。在血管中膜，这类细胞起维持血管张力的作用。因此，收缩表型的血管平滑肌细胞是稳定血流动力学所必需的。除了血管外膜被损伤之外，血管平滑肌细胞是惟一能通过迁移、增殖和合成细胞外基质来修复受损血管壁的血管细胞，因而，血管平滑肌细胞能转化成执行这些功能的表型是至关重要的。血管平滑肌细胞表型的不均一性或可塑性正好适合其发挥不同的功能。血管平滑肌细胞可转化成能够分泌各种生长因子并对其进行应答的表型是与 Ross 等人于 1976 年提出的动脉粥样硬化发生发展的损伤—反应假说相一致的。然而，近年越来越多的证据表明，内膜中的血管平滑肌细胞在合成和稳定晚期斑块纤维帽方面发挥一定作用。因为血管平滑肌细胞是惟一能合成纤维帽的细胞，所以，血管修复反应障碍可以造成纤维帽变薄和斑块破裂，引发致命性心血管事件。由此可见，旨在抑制血管平滑肌细胞从收缩型向合成型转化的治疗策略可能是错误的。的确，有人认为，在血管发育成熟过程中所激活的基因表达程序有利于促进动脉粥样硬化斑块的稳定。因此，如果实施旨在稳定动脉粥样硬化损伤的治疗策略，有必要了解人血管平滑肌细胞的基因表达调节机

制。今后研究的重点是，阐明使内膜血管平滑肌细胞比中膜血管平滑肌细胞更不易于增殖而较倾向于死亡的细胞机制，确定提供纤维帽抗张强度基因表达的诱导因子。近年，PCR 削减筛选技术的出现为解决上述问题提供了较理想的实验方法。

有证据证明，人和啮齿动物的血管平滑肌细胞表型存在明显的不均一性。然而，最初所描述的体外培养细胞的收缩型和合成型可能是血管平滑肌细胞在体内所发生的表型连续变化的两个极端的例子。目前认为，血管平滑肌细胞的不同表型由不同的基因表达程序所决定。通过研究血管平滑肌细胞所表达的基因及确定调节其表达的内源性和外源性因子，有望得出一个较好的基于基因表达程序的血管平滑肌细胞表型定义。这为将来治疗性调节血管平滑肌细胞表型提供了最理想的途径。

第二节 血管平滑肌细胞的生长

血管平滑肌细胞能够对不同生长因子进行反应，是最具有可塑性的细胞之一。血管平滑肌细胞可以增殖（伴随细胞数量增加的增生）、肥大（细胞体积增加、DNA 含量不变）、核内再复制（DNA 含量增加、细胞体积不变）和凋亡。各种刺激因素通过自分泌和旁分泌生长途径介导血管平滑肌细胞的上述各种反应。自分泌生长机制是指细胞对某种生长因子进行反应时合成和/或分泌一种能刺激同类细胞进行生长的物质，旁分泌生长机制是指细胞对生长因子进行反应时合成和/或分泌一种刺激邻近另一类细胞的物质。在很多情况下，自分泌和旁分泌生长机制同时存在，难以区分。

现已阐明，几乎所有的血管平滑肌细胞生长因子都能触发自/旁分泌生长途径，很多其他的刺激，包括调节血管平滑肌细胞功能的细胞外基质、生物机械力、ROS、脂类和一些蛋白质也能通过触发自/旁分泌生长机制而改变血管平滑肌细胞的生长。血管平滑肌细胞具有可塑性是血管对血流动力学、发育和损伤刺激进行反应的关键机制，自/旁分泌生长机制的作用是使血管平滑肌细胞适应血管的重要生物学功能。在这方面，生理学上的例子包括血管发育、血管对组织损伤的反应和血管对组织需要所发生的重塑；病理学上的例子包括动脉硬化、高血压、血管成型术后再狭窄和血管炎。显然，在各种情况下，血管壁中的内皮细胞与血管平滑肌细胞以及血管平滑肌细胞与其他细胞（成纤维细胞、树状细胞、炎细胞）之间的相互作用决定生长反应的性质。

一、血管平滑肌细胞生长的生理意义

1. 发育

血管发育、生长和重塑为探讨成年血管功能和血管平滑肌细胞的生长机制提供了重要工具。胚胎的血管形成过程称为血管发生，涉及到成血管细胞分化成内皮细胞及原始血管网的装配。之后，血管网进行生长和再塑，即血管生成。在成年，有 3 种方式可以形成新血管，即血管发生（vasculogenesis）、血管生成（angiogenesis）和动脉生成（arteriogenesis）。动脉生成通常也称为继发性血管生长，指的是小动脉扩张形成大血管。

与初生血管形成有关的第一种细胞是内皮细胞。一旦形成原始内皮细胞管，内皮则分泌一些能够募集和/或诱导初生平滑肌细胞的生长因子，此过程称为血管肌细胞生成。

关于血管平滑肌细胞的分化和生长，目前认为：①血管生成素-1 (angiopoietin-1) 介导内皮细胞产生血管平滑肌细胞诱生因子，该因子引起中胚层细胞的分化；②通过自分泌机制，血管生成素-1 使内皮细胞分化成血管平滑肌细胞（反向分化）以及从骨髓前体细胞或巨噬细胞进行反向分化；③心外膜细胞转化成冠脉血管平滑肌细胞；④神经嵴的中外胚层分化成血管平滑肌细胞。血管平滑肌细胞的来源与其所处的位置有关，例如，冠状静脉的血管平滑肌细胞来自心房肌，冠状动脉的血管平滑肌细胞来自心外膜。这就表明，在不同部位的血管，每种生长因子及其受体对血管平滑肌细胞的生长和分化具有不同的影响。

血管平滑肌细胞在血管形成过程中的作用可以分为 3 个方面，即分化、募集与生长、重塑。血管平滑肌细胞的分化与由 SRF、Prx-1 和 Prx-2、CRP2/SmLIM、HOX 成员 MEF-2 以及 GATA 家族转录因子介导的一系列的基因转录有关。对刺激血管平滑肌细胞的因子已进行广泛的研究，这些因子包括 PDGF 和 TGF- β 以及作为血管平滑肌细胞趋化因子的 PDGF-BB 和 EGF。用缺乏 PDGF-BB 和 PDGFR- β 的小鼠进行实验的结果表明，在一些血管周围可以通过不依赖于 PDGF-BB 的过程生成可表达 PDGFR- β 的血管平滑肌细胞祖细胞；之后，由这些细胞形成血管，这一过程是否依赖于 PDGF-BB 取决于血管所处的部位。胚胎内皮细胞分泌的生长因子的本质尚有待于确定。此外，血管平滑肌细胞本身在与胚胎内皮细胞相互作用时也有可能激活导致血管平滑肌细胞增生 (hyperplasia) 的自/旁分泌途径。TGF- β 1 和 endoglin (内皮细胞的 TGF- β 结合蛋白) 能够刺激血管平滑肌细胞分化和细胞外基质沉积，增强内皮细胞与血管平滑肌细胞之间的相互作用。内皮素-1 对来自神经嵴细胞的血管平滑肌细胞的迁移和分化具有重要作用。对血管平滑肌细胞分化和生长具有重要作用的生长因子还有组织因子、与肝素结合的 EGF 样因子 (HBEGF) 和 Eph-Ephrin 系统。发育过程中的重塑涉及到基因转录、生长因子和物理力。在敲除 MFH-1、dHAND 或 Msx1、pax-3、Prx-1、视黄酸受体、Wnt-1、连接蛋白 43 和内皮素-1 的小鼠，因为重塑缺陷而造成主动脉弓异常。物理力通过促进血液流动及调节 NO 的产生，对刺激初生血管重塑产生重要影响。显然，许多基因转录和与生长因子相关的事件参与血管平滑肌细胞创建血管中膜的过程，这些过程在成年动脉和血管生成中可以再现。

2. 损伤

血管平滑肌细胞的生长出现于血管损伤之后。多年来，对大鼠颈动脉球囊损伤模型进行了广泛的研究。血管修复和内膜增生的过程在不同物种（包括猪、小鼠、人）和不同动脉（主动脉、髂动脉、股动脉、肱动脉）是类似的。应用药理学和基因治疗对调节血管平滑肌细胞生长的各种因子进行研究时发现，肾素—血管紧张素系统、儿茶酚胺、ANF、内皮素-1、凝血酶、PDGF、TGF- β 和其他活化素 (activin)、FGF 等在血管损伤后血管平滑肌细胞生长调节方面发挥重要作用。近年，用转基因鼠得出的研究结果进一步佐证了上述分子作为血管平滑肌细胞生长调节剂的结论。尽管经过了多年的研究，但目前仍不能确定导致新生内膜形成的细胞的确切来源（是去分化的血管平滑肌细胞、血管平滑肌细胞祖细胞还是成肌纤维细胞）。目前，终止血管平滑肌细胞生长及调节血管平滑肌细胞数量的机制尚不清楚。虽然对血管平滑肌细胞凋亡机制的研究已取得很大进

展,但是有关血管大小及中膜厚度的调节机制尚待研究。可以肯定的是自/旁分泌生长机制对新生内膜形成是必要的。

3. 重塑

血管重塑是血管对血流、血压改变和动脉粥样硬化的生理性反应,涉及血管平滑肌细胞生长、迁移的变化以及血管基质的改变。血管重塑可以根据血管直径改变的性质进行分类。在对血流变化进行反应时,血管重塑主要依赖于完整内皮的存在,因为血流引起的重塑由血管张力及直径所介导,其中介物是血管活性分子。在各种血管活性分子中,由 eNOS 催化产生的 NO 发挥主要作用。用 eNOS 抑制剂抑制 NO 产生证实,血流引起的离心性重塑 70% 是由内皮产生的 NO 所造成的。在血流减少引起的向心性重塑发生过程中,血管平滑肌细胞凋亡增加和增殖减少同时存在。在缺血引起的重塑,单核细胞发挥重要作用。在血流增加时,内皮细胞表达单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 和细胞间黏附分子-1 (ICAM-1),单核细胞被募集到血管壁,浸润并消化血管中膜。内皮细胞被单核细胞激活后可表达 bFGF、PDGF-BB 和 TGF- β ,然后,这些生长因子引起血管平滑肌细胞生长及血管扩大。血压升高所引起的血管重塑归因于自分泌机制的激活,自分泌释放的各种生长因子可刺激血管平滑肌细胞生长及引起血管壁基质的变化。已知与高血压血管重塑有关的生长因子有 PDGF、TGF- β 、IGF-I、IGF-I 结合蛋白和肝细胞生长因子,血管内皮产生的内皮素-1 和血管紧张素 II 以旁分泌方式参与高血压血管重塑。

二、血管平滑肌细胞生长的类型

1. 血管平滑肌细胞的不均一性

血管壁平滑肌细胞的不均一性与下述两方面因素有关:第一,血管中膜含有不同胚胎来源的细胞和/或由血管平滑肌细胞干细胞分化成的具有不同形态和功能的细胞。此外,外膜细胞、平滑肌干细胞、成肌纤维细胞、树状细胞等其他类型的细胞也参与血管壁的形成。不同来源的血管平滑肌细胞对生长因子的反应性不同,用 TGF- β 处理来自神经嵴的血管平滑肌细胞可增加其 DNA 合成,处理来自间充质的细胞则抑制 DNA 合成。自分泌生长反应高度依赖于血管平滑肌细胞不均一性的性质。分离血管平滑肌细胞所采用的技术不同,可得到不同的细胞亚群,由此可以解释体外实验结果所出现的一些差异。第二,血管壁平滑肌细胞的不均一性与局部环境改变有关,例如:①血流动力学的变化可以改变局部营养物质的梯度或局部代谢情况,当血流出现湍流及形成振动流动谱型时,局部区域的内膜出现增殖,其原因可能与内皮源性的抑制血管平滑肌细胞生长的因子减少及促进血管平滑肌细胞生长的因子增加有关。②基质组成的改变也起着重要作用,纤连蛋白促进细胞生长,层黏连蛋白则起抑制作用。血管平滑肌细胞在胶原、纤连蛋白、玻连蛋白上生长时,机械张力增加细胞 DNA 合成,弹性蛋白和层黏连蛋白则不然。当张力施加于含有层黏连蛋白和玻连蛋白的基质时,张力的丝裂效应取决于基质中玻连蛋白的含量。另外,基质分子的装配也决定细胞生长反应的性质和幅度,例如,在聚合的 I 型胶原纤维上生长的血管平滑肌细胞被阻滞在 G₁ 期,而单体胶原则促进血管平滑肌细胞增殖。在聚合胶原上生长的细胞,cdk2 抑制剂 p27^{kip1} 和 p21^{cip1/Waf1} 增加,

可见，纤维胶原可以特异性地调节整合素信号，继而引起 cdk2 抑制剂上调及平滑肌细胞增殖受阻。③血管结构变化所引起的物理力学和血流方式的改变可以调节血管平滑肌细胞的功能。虽然流体剪切力是影响内皮细胞功能的主要力，但是机械张力对血管平滑肌细胞较为重要。已经证实，机械张力的变化可诱导 PDGF、bFGF、IGF-1、TGF- β 等多种血管平滑肌细胞生长因子。此外，机械张力可以使血管平滑肌细胞对其他因子（如血管紧张素 II）的丝裂效应更加敏感。总之，血管平滑肌细胞的不均一性是血管壁的重要特征，是发育和环境因素所造成的。

2. 增生

增生指的是血管平滑肌细胞数量的增加。控制血管平滑肌细胞周期及增殖的机制与其他细胞相同。重要的是，在对刺激 G 蛋白—耦联受体和酪氨酸激酶—耦联受体的兴奋剂进行反应时，可引起血管平滑肌细胞增生。血管平滑肌细胞增生是高血压的重要特征，在慢性高血压动物的血管中膜，血管平滑肌细胞增殖速率和细胞数量显著增加。增生是中等动脉和大动脉的特征，而小血管是进行重塑。在动脉粥样硬化、血管再狭窄和血管损伤等血管疾病，也可出现增生现象。在人类慢性高血压，增生是一个缓慢的过程。在正常情况下，大鼠主动脉平滑肌细胞的生长是 0.01% /d，在高血压模型，其生长达到 1% /d。如果保持这种生长率，按血管中膜厚度为 20 μ m、细胞直径为 5 μ m 计算，一个直径为 30 μ m 的动脉经 40 天时间就会发生闭塞。由此可以推测，在血管壁中仅有一定比例的细胞可以进行复制，其他细胞的生长受到某种机制的抑制或有些细胞不断发生死亡（坏死和/或凋亡）。

3. 肥大

与心肌和骨骼肌细胞相似，血管平滑肌细胞也能发生肥大（hypertrophy）。因为肥大是可逆的，所以是很有价值的生长反应。肥大是指平滑肌细胞体积的增加，伴有 DNA 含量增加的肥大（核内再复制）是高血压的共同特征。然而，血管平滑肌细胞发生肥大的主要机制是细胞变大而不伴有 DNA 含量的变化。细胞体积增加是细胞内蛋白质和水分增加的结果，蛋白质合成增加和蛋白质降解减少均可造成蛋白含量增加，调节离子和水进行跨膜运动的膜蛋白发生变化对维持增大的细胞体积至关重要。血管紧张素 II 所引起的肥大刺激可增加 Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Na⁺-K⁺-2Cl⁻协同转运蛋白等特异分子的表达，但对 Na⁺/H⁺ 交换蛋白的表达没有影响。在不伴有核内再复制时，肥大是可逆的。然而，当 DNA 合成增加后，细胞体积的变化则不再可逆。一般来说，肥大是由刺激 G 蛋白—耦联受体（不是酪氨酸激酶—耦联受体）的兴奋剂所诱发。应该注意的是，在许多情况下，G 蛋白—耦联受体兴奋剂（如血管紧张素 II）通过自分泌生长机制刺激细胞肥大，而该机制涉及到酪氨酸激酶—耦联受体兴奋剂（如 PDGF）。一条可能的共同途径是由细胞膜 NAD(P)H 氧化酶催化产生的 ROS，已经证明，NAD(P)H 氧化酶受血管平滑肌细胞兴奋剂的刺激，并且与血管平滑肌细胞肥大有关。另一种机制是 G 蛋白兴奋剂能够通过直接的细胞内机制（称为反式激活过程）激活酪氨酸激酶受体，例如，血管紧张素 II 和凝血酶能够介导 EGF 和 PDGF 受体的酪氨酸磷酸化。

第三节 血管平滑肌细胞表型转化

血管内皮细胞在胚胎期和出生后均可不断增殖、衰老和脱落，又不断新生和生长。骨骼肌和心肌细胞一旦分化后即失去增殖能力。血管平滑肌细胞与这些细胞不同，其分化呈可逆状态，处于高分化状态的血管平滑肌细胞可返回未分化状态，并再进行增殖。高分化型的血管平滑肌细胞称为收缩型血管平滑肌细胞，其主要功能是通过收缩来调节血管张力。收缩型血管平滑肌细胞含有较丰富的肌纤维，粗面内质网和高尔基体等细胞器较少。相反，未分化的血管平滑肌细胞称为合成型血管平滑肌细胞，这种血管平滑肌细胞缺乏肌纤维，富含粗面内质网、高尔基体、核糖体，细胞外基质合成活跃。在胚胎发育过程中，血管中膜的血管平滑肌细胞伴随着血管的成熟从合成型转变为收缩型，与此过程相反，在血管病变部位，血管平滑肌细胞又从收缩型返回到合成型。血管平滑肌细胞从收缩型转变为合成型的过程称为表型转化或去分化。

一、影响血管平滑肌细胞表型转化的因素

血管平滑肌细胞表型受控于周围环境，包括生长因子及其抑制剂、细胞外基质、机械性作用力、神经调节以及细胞间相互作用。

1. 生长因子、细胞因子、心血管活性多肽和细胞外基质对血管平滑肌细胞表型转化的影响

当血管受损时，损伤部位的多种细胞（包括内皮细胞、血管平滑肌细胞、巨噬细胞和 T 细胞等）所释放的生长因子和细胞因子均可诱导即刻早期基因（如 *c-fos*、*c-jun*、*c-myc*）表达，而后血管平滑肌细胞由分化表型转变为去分化表型，并从中膜向内膜下迁移及大量增殖；当消除刺激因素（如新生内膜已形成）后，血管平滑肌细胞的去分化表型特征逐渐减弱，标志基因（如 SM22 α 、Sm-LIM、SM α -肌动蛋白、SM-MHC、h1-calponin）表达增强，代之以分化表型的恢复。

体外实验发现，含高浓度血清的培养基可促进血管平滑肌细胞生长，低血清培养则增强分化标志基因 h-caldesmon 的表达，但不影响 SM-MHC 和 h1-calponin 表达，无血清培养可使 SM-MHC 表达增加，说明无血清饥饿培养可以在体外使血管平滑肌细胞处于分化状态。另外，对血管平滑肌细胞给予不同的刺激因素，对分化的影响不同。PDGF-BB、凝血酶、bFGF 和 10% 胎牛血清同为促丝裂原，但对血管平滑肌细胞分化标志蛋白 SM α -肌动蛋白、SM-MHC 和 SM 原肌球蛋白表达的影响却不尽相同；PDGF-BB 在刺激血管平滑肌细胞生长的同时，对上述标志蛋白的表达具有显著的抑制作用；凝血酶、bFGF、胎牛血清同样可诱导血管平滑肌细胞生长，但对上述标志蛋白表达却影响较小或无影响。另有研究发现，PDGF-AA 可下调 SM-MHC 表达，但不影响血管平滑肌细胞增殖；TGF- β 和 IGF-I 在不影响血管平滑肌细胞生长情况下，可促进 SM-MHC 的表达。这些实验表明，某些生长因子对血管平滑肌细胞分化和增殖的影响是彼此独立的。

细胞外基质也可以影响血管平滑肌细胞分化，例如，在层黏连蛋白和Ⅳ型胶原上生长的血管平滑肌细胞表达 SM-肌动蛋白增加，在纤连蛋白生长，其表达则受抑制，说明细胞外基质成分不同，其作用亦不相同。Matrigel 是一种从 EHS 肿瘤中分离的富含基底膜的基质材料，培养的血管平滑肌细胞在这种基质材料上生长时，可增强 SM α -肌动蛋白的表达以及收缩兴奋剂诱导的钙反应性。

组织因子 (tissue factor, TF) 是一种细胞表面蛋白，可在内皮细胞、单核细胞和平滑肌细胞中表达。TF 与凝血因子Ⅶ结合可同时激活内源性和外源性的凝血反应。实验证明，TF 与凝血因子Ⅶ所形成的复合物可以促进血管平滑肌细胞的表型转化和迁移，用 TFPI 抑制两者的结合，可以有效抑制血管平滑肌细胞的表型转化和迁移。

2. 收缩兴奋剂和神经递质对血管平滑肌细胞表型转化的影响

血管紧张素Ⅱ和血管加压素可选择性地诱导血管平滑肌细胞表达分化标志蛋白 SM α -肌动蛋白、SM 原肌球蛋白和 SM-MHC，内皮素-1 可促进血管平滑肌细胞合成细胞外基质和表达 SM α -肌动蛋白；切断传入神经，可使各种平滑肌组织生长减慢并丧失收缩能力；在原代培养的血管平滑肌细胞组织块中，交感神经细胞的存在可减缓血管平滑肌细胞的表型变化。总之，许多可短暂刺激血管平滑肌细胞收缩的因素，对血管平滑肌细胞分化有较长时间的促进作用。

3. 机械性作用力对血管平滑肌细胞分化的影响

实验表明，让血管平滑肌细胞在三维Ⅰ型胶原基质中伸展，可使细胞内收缩性肌丝含量增加，提示机械性作用力可促进血管平滑肌细胞分化。

二、血管平滑肌细胞基因标志物的分离

用差异显示技术对含有成年大鼠收缩型和合成型血管平滑肌细胞标志物的 cDNA 文库进行筛选，分离并鉴定了 12 种 cDNA，其中 10 种主要在主动脉中膜分化型血管平滑肌细胞中表达，它们是 SM α -肌动蛋白、SM γ -肌动蛋白、calponin、SM22 α 、受磷蛋白 (phospholamban)、aquaporin-1、SM-肌球蛋白重链 (SM-MHC)、弹性蛋白、osteoglycin 和遍在蛋白；2 种主要在处于增殖状态的血管平滑肌细胞中表达的标志物，它们是基质 Gla 蛋白 (MGP) 和骨桥蛋白。这些基因的蛋白产物可以分为两类：一类与细胞的收缩功能有关，这类蛋白包括 α -和 γ -肌动蛋白、SM-MHC、calponin、SM22 α 、聚遍在蛋白和受磷蛋白；另一类与细胞外基质有关，包括弹性蛋白、osteoglycin、MGP 和骨桥蛋白。这两组基因正好反映了血管平滑肌细胞的两种主要功能，即收缩功能和血管壁细胞外成分的合成与维持。cDNA 差异显示技术所鉴定的基因有些在以前看来是与血管系统无关的，因此，为研究血管平滑肌细胞的作用提供了新的线索。例如，骨桥蛋白和 MGP 最初在处于发育过程中的骨组织中被发现，后来的研究证实，这两种基因也在血管钙化中发挥重要作用。同样，aquaporin-1 在血管平滑肌细胞中的高表达提示该蛋白在血管平滑肌细胞对水的快速跨膜转运方面具有至今尚未被认识的作用。

1. 人类疾病状态下血管平滑肌细胞标志物的表达

用原位杂交技术研究人体血管中基因表达情况时发现，动脉粥样硬化斑块中的血管平滑肌细胞表型和基因表达存在明显的不均一性。在一些斑块的纤维帽中的血管平滑肌细胞内，一些收缩相关基因高表达，相反，这些基因在靠近斑块的中膜收缩型血管平滑肌细胞中表达显著下调，在伴有慢性血管排异的移植血管的中膜血管平滑肌细胞中，这些收缩相关基因表达也出现下调。另外，在不同部位的血管平滑肌细胞中，基因表达也具有不均一性，例如，calponin 在中膜血管平滑肌细胞中表达，而在内膜血管平滑肌细胞、弥漫性增厚的正常血管或晚期动脉粥样硬化斑块中不表达；同样 SM22 α 在中膜血管平滑肌细胞中高表达，在弥漫性增厚的内膜血管平滑肌细胞中几乎不表达，但在一些晚期斑块的纤维帽中的内膜细胞中表达水平较高。此外，在因晚期动脉粥样硬化损伤而变薄的中膜血管平滑肌细胞中，SM22 α 仍然表达较高，但在相同的细胞中，calponin 的表达被下调。相反，基质蛋白 osteoglycin 和 MGP 基因在早期的内膜血管平滑肌细胞、弥漫性增厚的内膜和晚期斑块中都进行表达，在正常血管中膜的收缩型血管平滑肌细胞中，这两种基因呈构成型表达。这些观察表明，在体血管平滑肌细胞基因调节的复杂性远比从细胞培养实验所预示的结果复杂得多。由此可见，体外培养的血管平滑肌细胞能否作为研究体内血管平滑肌细胞生物学行为的模型还值得怀疑。这些发现也提出很多有关人类疾病发生发展过程中血管平滑肌细胞表型调节的问题。因为人们认为，体外培养的血管平滑肌细胞的增殖和表型变化可以反映体内血管平滑肌细胞对丝裂原刺激所产生的反应，所以人们常将大鼠颈动脉内皮剥脱所引发的新生内膜形成过程中的血管平滑肌细胞基因表达作为血管平滑肌细胞对损伤所产生的反应的比较“纯”的模型。

2. 大鼠颈动脉球囊损伤后血管平滑肌细胞标志物的表达

用球囊导管损伤大鼠颈动脉能诱导中膜血管平滑肌细胞进入细胞周期并迁移到内膜，这些细胞在内膜继续增殖达 14 天之久，并最终形成新生内膜。以前基于 SM α -肌动蛋白含量的生物化学研究表明，内膜细胞和中膜一部分细胞发生去分化后才能迁移到内膜进行增殖，直到损伤后 60 天，这些细胞也没有表现出再分化的现象。这些实验表明，在血管被球囊导管损伤的早期，收缩蛋白基因表达下调。然而，与预期结果相反，在内膜损伤 7 天以后，处于增殖状态的新生内膜细胞高水平地表达编码收缩相关蛋白，如 calponin、SM22 α 和受磷蛋白的 mRNA 及基质蛋白，如 osteoglycin、MGP、骨桥蛋白和弹性蛋白。这种基因表达谱型说明收缩和合成表型的基因同时被上调，这与新生内膜细胞呈去分化型的观点相矛盾。但也有一些研究结果表明，H19 和肌细胞特异增强子结合因子（MEF2）家族成员在新生内膜中高表达，这两种因子可能是新生内膜形成过程中血管平滑肌细胞分化的调节因子，确实，血管平滑肌细胞分化标志物的表达在新生内膜中远高于中膜血管平滑肌细胞。总之，现有研究结果表明，收缩蛋白基因低水平表达就能维持成年血管中膜的静止期血管平滑肌细胞于分化表型，这可能提示收缩蛋白的转换速率较低；而相当于血管损伤部位的处于增殖状态的新生内膜细胞同时上调血管收缩和修复所需要的基因。有人认为，新生内膜中 MEF2 因子表达高于中膜这一现象提示，收缩蛋白合成的初始阶段和其后的维持阶段所涉及的转录调控机制可能是不同的。

因为成熟血管的修复过程，即血管平滑肌细胞增殖、分化和基质合成非常类似于新血管形成所经历的过程，由此表明，在血管修复过程中，血管平滑肌细胞能够再现胚胎或新生儿表型。与上述观点一致的是，有很多研究结果提示，体外培养的新生内膜与新生儿血管平滑肌细胞在形态学、基质蛋白基因表达和一些分化因子（如 H19）方面具有类似性。因此，在明确血管损伤后的血管平滑肌细胞基因表达谱型后，应进一步研究血管发育过程中相同基因的表达。

3. 新生儿主动脉发育过程中血管平滑肌细胞标志物的表达

迄今为止，控制血管平滑肌细胞分化的分子机制尚不十分清楚。近年来，通过对血管发育早期阶段基因表达的研究和对血管平滑肌细胞特异表达基因启动子区域的序列分析，已找到血管平滑肌细胞分化调控过程的一些线索。已经发现，在受孕后第 9~10 天的小鼠胚胎主动脉前体细胞开始向血管平滑肌细胞转化，此时，可检出平滑肌特异基因的表达。此后，这种细胞进行增殖并表达 SMC 分化标志物，如 SM-MHC、SM22 α 和 calponin。下一个主要变化发生在新生儿早期，这时，血管平滑肌细胞增殖突然减慢，但通过血管平滑肌细胞肥大和细胞外基质的合成仍在进行生长。在这个阶段，血管平滑肌细胞合成基质蛋白并形成血管壁的三维结构，细胞呈现成熟、收缩和成年表型的形态学特征。当分析新生儿主动脉发育过程中的基因表达谱型时，发现在出生后，血管平滑肌细胞分化标志物，如 calponin、SM22 α 、受磷蛋白和聚遍在蛋白的表达上调。这些标志物在出生后 2 周左右开始上调，在第 4 至第 12 周之间达到高峰，此后，这些基因的表达回复到成年的基础水平。在第 4 至第 12 周期间，基质蛋白，特别是弹性蛋白基因的表达也出现短暂的明显上调。因此，在出生后血管发育早期，已经转化为血管平滑肌细胞系的细胞可高水平地表达编码收缩蛋白和基质蛋白的基因，从基因表达的角度来看，这些细胞的表型介于收缩型和合成型之间。

总之，研究表明，在血管修复过程中血管平滑肌细胞所表达的基因类似于出生后血管发育早期所表达的基因。在一定程度上，血管修复过程中的血管平滑肌细胞并没有转变成（去分化）胚胎表型，它们只是显示出血管发育成熟过程中的中间表型特征，而这种中间表型具有血管平滑肌细胞的特性。上述结果提示，成年血管平滑肌细胞能够退回到不太成熟的表型，选择性地形成未分化的细胞群。

越来越多的资料表明，血管平滑肌细胞特异的转录活性至少有 3 个时相：第一，子宫内发育早期，在该时期，血管平滑肌细胞特异的转录因子首先驱动血管平滑肌细胞特异性蛋白进行表达（决定期）；第二，出生后血管生长期，在该时期，细胞表达收缩和基质蛋白两类基因（成熟期）；第三，成年期，在该时期，血管生长已经结束，血管平滑肌细胞基因表达降低到维持血管收缩功能所需要的水平（收缩期）。

将基于基因的表型调节学说用于解释控制血管平滑肌细胞表型的机制是过于简单的，但这确实为实验室检测血管平滑肌细胞表型提供了一种范例。Shanahan 等人将血管平滑肌细胞表型调制分为下述 3 种不同的（可能是重叠的）转录程序：第一，与血管平滑肌细胞特异基因最初表达有关的转录因子（决定程序）；第二，出生后收缩蛋白和基质蛋白基因的受控性表达（成熟程序）；第三，适量收缩蛋白表达的维持（收缩程序）。按照上述观点，成年血管平滑肌细胞在血管损伤后重新激活成熟程序。

4. 不同表型血管平滑肌细胞的分离

体外培养的血管平滑肌细胞在适当刺激条件下或通过分离处于某种转录程序的细胞，可以重新建立不同时相的基因表达。用不同物种细胞进行的大量研究已经证明，细胞因子、细胞外基质成分和机械刺激均能影响血管平滑肌细胞表型和行为。以前已经发现，体外培养的血管平滑肌细胞根据其来源及动物年龄可以显示不同的稳定表型。因此，从胎鼠分离的血管平滑肌细胞比成鼠细胞具有更强的增殖活性，从新生动物分离的细胞表达较高水平的基质蛋白。近来有人发现，从新生大鼠分离的血管平滑肌细胞在体外进行培养时，在前几代表达高水平的 SM α -肌动蛋白，而来自成年鼠的细胞 SM α -肌动蛋白表达迅速下调。对来自新生鼠细胞的 mRNA 进行 Northern 印迹分析的结果显示，这些细胞也高水平地表达许多其他血管平滑肌细胞分化标志物，包括 SM γ -肌动蛋白、泛素、calponin 和 SM-MHC。因此，这些资料支持不同来源的血管平滑肌细胞在基因表达方面存在不同的、稳定的差异。在体外培养的细胞，这些差异能够被保持及进行各种研究。

三、表型特异转录因子

早已证明，在细胞培养过程中，血管平滑肌细胞的表型受局部环境的影响。因为与特定表型相关的基因的表达情况取决于与血管平滑肌细胞特异基因上的启动子和/或阻抑物特异结合的转录因子活性，所以很多研究都在致力于鉴定血管平滑肌细胞特异基因启动子区域中的关键调节元件。通过将 SM-特异启动子区域重组进易于定量的报告基因，如氯霉素乙酰基转移酶上游，再用其转染血管平滑肌细胞并用感兴趣的物质进行刺激，就可以达到上述目的。一旦调节元件被鉴定，即可用人工合成的相应寡聚核苷酸通过电泳迁移率改变分析从细胞核提取物中鉴定调节因子。已经有人用这种技术证明，血管紧张素 II 对 SM α -肌动蛋白的诱导表达是由同源异型域 (HD) 转录因子 Mhox 和 2 个 CArG 元件之间相互作用所介导的，CArG 元件存在于 α -肌动蛋白启动子区-155bp 区域之内。该基因启动子的这一区域也介导加压素诱导的 SM α -肌动蛋白表达。另外，一种新的 TGF- β 应答元件 (即 TCE) 也在很多 SM 特异启动子区域中被发现，它们与 CArG 元件一起，共同介导 TGF- β 对血管平滑肌细胞基因表达的调节。

上面介绍的实验方法可用于鉴定介导环境影响血管平滑肌细胞基因表达和表型的转录因子和调节元件。然而，来自新生儿和成年血管的细胞在同样的环境条件下显示不同的表型，这说明在两种细胞的基因表达反应程序上存在内在的差异。大量研究证据表明，SM 特异的启动子区域在不同的血管平滑肌细胞分离物中具有不同的活性，例如有人报道，含有 4 个 MEF2 结合位点的氯霉素乙酰基转移酶报告基因在类似的培养条件下，在成年大鼠血管平滑肌细胞的不同分离物中被激活的程度不同。还有人发现，含有 SM22 α 启动子的氯霉素乙酰基转移酶报告基因在胎儿、新生儿和成年血管平滑肌细胞中的表达活性也不相同，这就表明，启动子的不同区域在不同类型的细胞中是有活性或无活性的。对血管平滑肌细胞特异启动子在体外培养的不同表型的细胞中指导报告基因表达的活性进行研究，将有助于鉴定调节细胞表型的转录因子。

1. MEF-2

MEF-2 (myocyte enhancer factor-2) 属于 MADS-box 转录因子, 其分子结构中含有一个高度保守的 MADS 区和一个 MEF-2 区。MEF 包括 A、B、C、D 4 个成员, 在骨骼肌、心肌和血管平滑肌细胞中均有表达。MEF-2 与肌相关基因启动子和增强子区富含 A/T 的序列结合, 通过直接或间接的转录激活作用参与该类基因的转录调控, 其中 A、B、D 3 个成员与血管平滑肌细胞表型转化有关。有研究发现, 在颈动脉内膜剥脱术后的新生内膜中 MEF-2A、MEF-2B、MEF-2D 的表达逐渐增高, 14 天达到高峰, 其表达谱型与新生内膜中表达上调的其他基因相一致, 提示 MEF-2 参与血管平滑肌细胞的表型转化。

2. GATA 家族

GATA 是含锌指结构的转录因子, 其基因定位于 18q11-1~11-2, 与 DNA 调控区 (A/T) GATA (A/G) 相互作用。该家族包括 6 个成员, 其中 GATA-6 与血管平滑肌细胞的增殖与分化调控有关。现已证实, GATA-6 在 G₀ 期大鼠血管平滑肌细胞中进行表达, 当血管平滑肌细胞因外界刺激而增殖时, 其表达明显下调, 该基因表达谱型与血管平滑肌细胞收缩蛋白基因的表达相一致。GATA-6 过表达不仅可阻止促分裂素诱导的细胞周期的启动, 而且还可以减弱增殖细胞核抗原 (PCNA) 的表达, 显示抑制细胞增殖的效应。研究还发现, 大鼠主动脉球囊损伤后第 1~3 天, GATA-6 表达明显下调, 第 7 天恢复正常, 向血管壁中导入 GATA-6 可使损伤减少 50% 左右, 同时可以逆转血管平滑肌细胞分化标志基因, 如 SM α -肌动蛋白、SM-MHC 和 calponin 表达的变化。虽然 GATA-6 与这类基因之间是否有直接调控关系尚不清楚, 但是从多种血管平滑肌细胞特异性表达基因的启动子区内含有 GATA-6 结合位点这一现象, 可以推测 GATA-6 可能参与血管平滑肌细胞的调控过程。

3. LIM 蛋白

LIM 蛋白是一类富含半胱氨酸而且具有一个或多个锌指结构的蛋白质家族。目前发现的 LIM 蛋白已有 60 多种, 它们不仅参与多种基因的转录调控, 而且与许多细胞的分化和发育相关。LIM 蛋白分为 LIM-HD、LIM-only、LIM-K 和含一端 LIM 结构域的 LIM 蛋白共 4 类。其中 CRP2/SmLIM 与平滑肌细胞的表型调控关系密切。已经证明, CRP2/SmLIM 主要在血管平滑肌细胞中表达。PDGF-BB 刺激平滑肌细胞或当血管受到损伤时 CRP2/SmLIM 表达下调, 提示 CRP2/SmLIM 参与血管平滑肌细胞增殖和分化的调控过程。

4. 同源异形结构域蛋白

同源异形结构域蛋白含有由同源异形盒基因 (*Hox gene*, *Hox* 基因) 编码的蛋白结构域, 由 60 个氨基酸组成, 进化上高度保守, 具有螺旋—转角—螺旋 (HTH) 结构。目前发现有 3 种 *Hox* 基因表达与血管平滑肌细胞的表型转化有关。*Hox1.11* 在发育过程中的胚胎和脏器中均有表达, 但在成年动物, 只有血管平滑肌细胞和肺组织表达

该种基因, 说明 *Hox1.11* 可能在血管平滑肌细胞内发挥特异的转录调节作用。

另外一个 *Hox* 基因——*Mhox* (与肌肉肌酸激酶增强子内的富含 A+T 区相结合的同源异形结构域蛋白) 亦在血管平滑肌细胞中表达。体外研究发现, 当血管平滑肌细胞被血管紧张素 II 刺激时, $SM\alpha$ -肌动蛋白和 SM -MHC 等分化标志基因的表达上调与 *Mhox* 表达上调相一致, 进一步研究证实 *Mhox* 可增强 SRF 对 CArG 元件的亲合力, *Mhox* 过表达可反式激活 $SM\alpha$ -肌动蛋白。但是单独用 *Mhox* 并不能使血管平滑肌细胞的表型发生转化, 由此推测, *Mhox* 是通过增强 SRF 对 CArG 元件的亲合力而发挥作用的。

Gax (growth-arrest specific homeobox) 是另外一个 *Hox* 基因, 在成年大鼠心、肺血管平滑肌细胞中有不同程度的表达。在 G_0 期血管平滑肌细胞中 *Gax* 表达量较高, 经 PDGF、血管紧张素刺激后, 其表达迅速下调, 提示 *Gax* 表达与血管平滑肌细胞处于静止状态或收缩表型密切相关。目前发现, *Gax* 抑制血管平滑肌细胞表型转化和抗迁移作用独立于丝裂原刺激, 且与 PDGF 受体表达无关。此外, *Gax* 还可以通过下调 $\alpha\beta_3$ 和 $\alpha v\beta_3$ 整合素的表达而实现其抗迁移作用。

5. SRF

SRF 是一种 67kDa 的蛋白质, 属 MADS 家族成员, 最初因在胎牛血清培养的细胞中激活 *c-fos* 启动子被发现。*c-fos* 启动子含有称为 SRE 的顺式作用元件, SRF 单体二聚体化后以与第三种 62kDa 蛋白形成三元复合物的形式结合到 SRE 上并反式激活启动子。之后, p62 三元复合因子 (ternary complex factor, TCF) 被鉴定为是 Elk-1 和 SAP-1 二者之一 (Ets 家族的转录因子)。因为 SRF 在血清刺激前、中、后均结合在 *c-fos* 的 SRE 上, 所以, 仅与 SRF 结合不足以起到反式激活作用。三元复合物形成和/或 Elk-1、SAP-1 激活或 SRF 磷酸化可增强转录活性。SRF 的磷酸化能增强其对 DNA 结合位点的亲合力。用样, 与同源异形域蛋白 *Phox1* (小鼠为 *Mhox1*) 结合也能增强 SRF 与相应位点的结合活性。

c-fos SRE 的中心部位含有 CArG 框序列, 该序列 5' 近旁是 Ets 结合位点, 此位点对 *c-fos* 与 TCF 结合和 SRF 依赖的反式激活是非常重要的。在一些基因, 靠近 CArG 框或者与 CArG 框重叠的核因子结合基序常常通过增强与 SRF 的相互作用或者通过对 DNA 结合的竞争来调节基因的转录, 例如, *c-fos* SRE 也能和 YY1、NF-IL6、E12 和 *Phox1* 结合。在一些基因的启动子 (包括骨骼肌 α -肌动蛋白基因的启动子), YY1 的结合可抑制 SRF 结合及转录激活。

在大多数类型的细胞中, SRF 的水平不高, 其表达能被血清刺激所诱导。在骨骼肌、心肌和平滑肌中选择性表达的基因, 其启动子内大多含有 CArG 序列, 该序列与 SRF 结合是这些基因转录所必需的。SRF 表达对骨骼肌成肌细胞分化为成熟的肌管至关重要, 在禽胚胎成肌细胞分化过程中, SRF mRNA 和蛋白水平升高 40 倍。SRF 基因启动子的活性需要 SRF 与 2 个 CArG 框中的 1 个相结合, 由此提示, 自身正反馈调节机制维持 SRF 的高表达。抑制 SRF 表达或活性可阻止骨骼肌成肌细胞向成熟的肌管分化, 甚至还可在已发生分化的骨骼肌细胞中抑制收缩蛋白基因转录。

6. Sp1

Sp1 是 4 种锌指转录因子 (Sp1—Sp4) 家族中的一个成员, 最初因其激活 SV40 早

期启动子而被发现。后来证实，该转录因子在“管家”基因、细胞增殖基因、生长因子及其受体基因、细胞外基质蛋白基因、肌基因等多种基因的转录激活方面发挥重要的作用。除了作为基因转录的激活剂以外，在一些基因，Sp1的结合也能显著抑制基因表达。Sp1与富含GC的基序(GC框)结合，GC框的保守序列为(G/A)(G/A)GGCC(G/T)(G/A)(G/A)(G/T)。像SRF和MEF2一样，Sp1与相应位点的结合既受其他核因子(如Sp3)的竞争性调节，也受Sp1翻译后磷酸化修饰的调节。Sp1的C端被酪蛋白激酶II磷酸化后，DNA结合活性降低，被cAMP依赖的蛋白激酶A磷酸化后DNA结合活性增加。Sp1也含有O联N-乙酰葡萄糖胺残基，但是糖基化不改变Sp1的DNA结合活性，糖基化程度的降低可以加速Sp1的降解。

最近的研究表明，Sp1与维持细胞于较低的分化状态有关。肝细胞一旦终末分化，其Sp1磷酸化增加，DNA结合活性降低。在骨骼肌成肌细胞向成熟肌管分化的过程中，Sp1的丰度降低。这种变化可以由MyoD强制性过表达所模拟。Sp1降低对基因表达具有重要的功能，例如，成肌细胞分化后，由于GLUT1基因启动子受Sp1反式激活的程度降低，结果使GLUT1葡萄糖转运蛋白基因转录减少。有趣的是，骨骼肌分化抑制剂Id也受Sp1的正性调节，因此，在处于分化过程中的骨骼肌细胞，Sp1降低可减少Id表达及增强MyoD活性。然而，目前尚不清楚是否在平滑肌细胞中也存在这种机制。最近的研究证实，在新生内膜中分化程度降低的合成型平滑肌细胞，Sp1的免疫反应性升高。

7. Yin-Yang 1

Yin-Yang 1 (YY1)是一种含锌指结构的转录因子，因为其在多种基因中具有增强或者抑制转录的双重功效而得名。YY1是与NF-E1、UCRBP和核基质蛋白-1相同的蛋白质。YY1结合位点的保守基序，包括CCAT和ACAT 2个核心序列。YY1能够通过与其他激活剂竞争结合DNA等多种机制抑制基因转录，其抑制SRF与相应位点结合就是通过这种竞争来实现的。YY1也能促进SRF和SRE结合。显然，YY1在DNA双螺旋分子的大沟接触DNA，SRF在小沟接触相同的序列。YY1过表达能反式激活小鼠SM22 α 启动子。YY1也能够通过与TFIIB结合而启动转录。此外，YY1还能与*c-myc*、Sp1等多种核因子相互作用。

8. Nkx

有关内容见本章第四节。

9. Myocardin

有关内容见本章第四节。

四、调节血管平滑肌细胞表型的信号转导途径

血管平滑肌细胞的表型转化过程受多条信号传递途径的调节，蛋白质磷酸化往往是信号传递系统改变基因表达的直接方式，转录因子或与其相互作用的蛋白质常常是磷酸

化作用的靶点。

1. JAK/STAT 途径

STAT 的 C 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。

2. PKC-MAPK 途径

外界信号通过 G 蛋白耦联受体激活 PKC，活化的 PKC 使 Raf-1 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。通过上述方式 JAK/STAT 途径可与 G 蛋白耦联受体及酪氨酸激酶途径发生交汇。

3. PKG 途径

从 NO 能够抑制血管平滑肌细胞增殖这一现象可知，NO-PKG 途径对血管平滑肌细胞表型起重要的调节作用（图 1-1）。NO 刺激产生的 cGMP 可使 PKG 活化，后者通过磷酸化离子通道蛋白分子上的丝/苏氨酸，对细胞内 Ca^{2+} 浓度发挥调节作用。转染 PKG，可使体外培养的合成型血管平滑肌细胞转化为收缩表型，不但细胞形态学明显

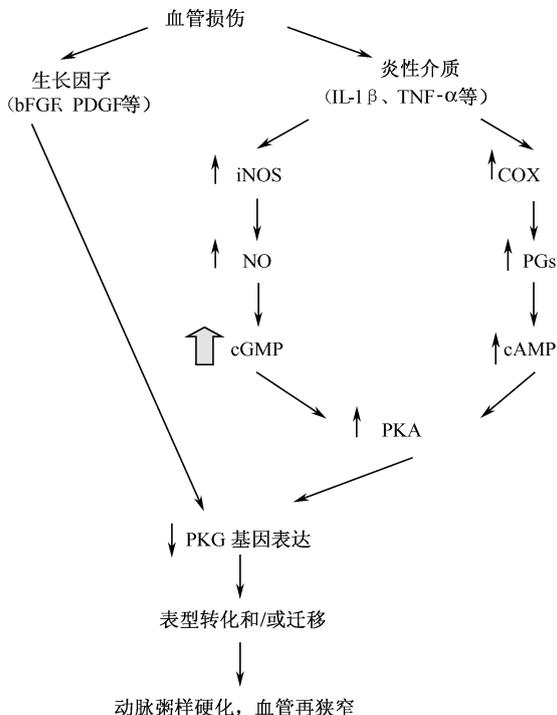


图 1-1 PKG 在血管平滑肌细胞表型调节中的作用

发生变化，而且一些表型标志基因的表达也发生相应的变化，如 SM-MHC、SM α -肌动蛋白和 calponin 等基因表达上调，同时伴有骨桥蛋白和 PDGF 受体表达水平下降；抑制 PKG 的表达，则血管平滑肌细胞又可转化为合成表型。实验还观察到 PKG 的活化可以使 *c-fos*、*c-jun* 表达水平升高。

4. PI3-K/PKB (Akt) 途径

PI3-K/PKB (Akt) 途径在保持血管平滑肌细胞于分化表型方面起着重要作用，PI3-K/PKB (Akt) 抑制剂可使血管平滑肌细胞表型发生改变并失去收缩活性。

已经证明，不同的刺激因素可以激活相同的信号途径，但对血管平滑肌细胞表型的影响却不相同。体外实验发现，向细胞培养液中加入 N-乙酰半胱氨酸 (NAC) 和过氧化氢酶使氧化反应下降时，处于静止状态的血管平滑肌细胞表达分化标志蛋白明显下调。相反，用 SOD 和 SODNAC2 使细胞氧化反应增强时，分化标志蛋白的表达明显升高。这说明，氧化反应可以诱导血管平滑肌细胞分化。ROS 促血管平滑肌细胞分化与 H₂O₂ 有关，H₂O₂ 主要通过激活 P₃₈MAPK，而使分化标志蛋白表达增多；用 SB202190 阻断 P₃₈MAPK 信号通路，则分化标志蛋白表达下降，这意味着无论细胞产生的氧化产物还是后续的 P₃₈MAPK 的激活，均可以介导静止期血管平滑肌细胞于分化状态。另外，应用 MKK6 (P₃₈MAPK 的激活剂) 亦可使分化标志蛋白表达上调，提示 P₃₈MAPK 的激活无论是氧化依赖性或非氧化依赖性的，均可以增加分化标志蛋白的表达。

用不饱和溶血磷脂酸 (LPA) 刺激体外培养的血管平滑肌细胞，发现不饱和 LPA 既可通过激活 PI3-K/PKB (Akt) 途径保持血管平滑肌细胞于分化表型，又同时激活 ERK 和 P₃₈MAPK，诱导血管平滑肌细胞去分化。如果同时阻断 ERK 和 P₃₈MAPK，可以使血管平滑肌细胞保持分化表型。这说明不饱和 LPA 的刺激信号可通过 PI3-K/PKB (Akt) 和 P₃₈MAPK 两条途径进行转导，二者共同调控血管平滑肌细胞的表型。

五、在人类疾病中的意义

虽然很多研究已经为血管平滑肌细胞特异基因表达调节提供了重要线索，但是，这些研究大多都是基于啮齿动物的血管平滑肌细胞，它们可能不同于人类血管平滑肌细胞。特别是许多有关血管平滑肌细胞不均一性的研究已经显示，在血管平滑肌细胞表型及不均一程度方面存在物种之间的差异，在啮齿动物和人血管平滑肌细胞的基因表达方面也具有明显差异。而且，大多数研究者认为，人血管平滑肌细胞的体外培养比大鼠血管平滑肌细胞困难。然而，也有一些研究提示，来自中膜的人血管平滑肌细胞原代培养物能够被建立并可以进行传代培养。相对而言，来自动脉粥样硬化斑块的细胞增殖能力较差，衰老较早，容易发生凋亡。像啮齿动物一样，在来自不同来源的人血管平滑肌细胞之间也可鉴定出表型的稳定差异。现在，需要进一步研究血管平滑肌细胞分化标志物的表达情况，以便明确人类细胞是否等同于啮齿动物的细胞。