

· 综 述 ·

细胞骨架与内皮衰老关系的研究进展

王 强¹ 雷 燕¹ 李 敏² 王 洋²

到 2050 年,我国老龄化将达到峰值,60 岁及以上人口将超过 4 亿,占总人口的 30% 以上;65 岁及以上人口将超过 3 亿,占总人口的 20% 以上^[1]。Harman D^[2] 指出衰老是疾病发生重要的决定性因素。有研究证实,即使在心血管疾病其他危险因素有效控制的情况下,心血管事件的发生率仍然会随着年龄而增加,而这种差异与年龄相关的血管结构和功能的改变相关,因此血管年龄是心血管事件和死亡率重要的预测因素^[3]。血管老化是人体衰老发生的关键因素,不仅加速了机体衰老的进程,导致动脉粥样硬化的发生,而且可以诱发多种疾病^[4]。

内皮细胞作为血管的重要组成部分,是血液和血管平滑肌之间的一层半通透性屏障,其结构和功能的完整对于全身和局部血流动力学以及细胞增生的调节都具有重要的决定作用。随着年龄的增加,即使在没有其他危险因素的情况下,血管内皮会出现 NO 产生减少,内皮缩血管因子的增加,引起低密度脂蛋白的氧化、平滑肌的增殖、黏附分子的表达、内皮素的生成,从而导致血小板聚集、平滑肌收缩、单核细胞和血小板黏附^[5],因此血管老化与内皮细胞的功能损伤密切相关。内皮细胞的增龄改变主要包括内皮细胞功能失调、凋亡、通透性改变、细胞内氧化产物的积聚等^[6]。其功能失调不仅会导致血管功能的改变,还会引起血管硬化、弹性下降等病理结构的变化,从而导致血管老化,因此内皮细胞生物学改变是人类衰老和疾病的基础,内皮细胞功能失调是血管老化的主要特征之一^[7]。

细胞骨架是指真核细胞质中的蛋白质纤维网架体系,它对于血管内皮细胞的形状、细胞的运动、细胞内物质的运输、染色体的分离和细胞分裂等起到重要作用。有广义和狭义之分,广义是指细胞核中存在的核骨架-核纤层体系,其与中间纤维在结构上相互连接,构成贯穿于细胞核和细胞质的网络体系;而狭义是指

真核细胞中与保持细胞形态结构和运动有关的纤维网络。在内皮衰老中所涉及的细胞骨架多是狭义层面,包括微管、微丝、中间纤维,研究深入是微管和微丝。微管由约 55 kD 的 α 及 β 微管蛋白所组成,正常时以 β 二聚体形式存在,并以头尾相连的方式聚合,构成微管蛋白原纤维;微管是细胞骨架的架构主干,能够确定膜性细胞器的位置以及作为膜泡运输的导轨。微丝由肌动蛋白和肌球蛋白所组成,在细胞中发挥支撑、非肌性运动和信息传导的作用^[8,9]。鉴于目前研究两者间关系的报道较少,因此从细胞骨架层面研究内皮衰老的机制有重要的借鉴性。本综述主要从血管内皮细胞的通透性、与内皮相关的血管舒缩功能、内皮凋亡等方面阐述与细胞骨架的关系。

1 细胞骨架与内皮细胞通透性的改变 内皮细胞的通透性是检测内皮功能障碍的重要指标。内皮细胞表面除了离子屏障外,细胞骨架与血管的通透性密切相关,在缺血等病理状态下,细胞因子和炎症介质诱导的内皮细胞的纤维形肌动蛋白骨架重组是导致内皮通透性增加及内皮功能下降的重要病理基础^[10]。血管内皮细胞的收缩性改变是各种因素引起通透性增加的共同通路,其收缩受骨架蛋白中肌动蛋白和肌球蛋白的影响,并且依赖肌球蛋白轻链磷酸化的影响^[11]。F-actin 可以形成致密外周带和应力纤维^[12]。外周致密带主要维持内皮细胞的正常形态和完整性,可以调节细胞间的黏附力;应力纤维除了调节细胞与细胞外基质之间的黏附外,还可以作为细胞产生收缩力的分子机械装置,诱发细胞收缩。外周致密带的消散,可以破坏细胞的黏附,应力纤维的增多促使血管内皮细胞的收缩、细胞间隙增大,导致内皮屏障功能降低和通透性增高^[13]。

细胞骨架可以维持内皮细胞正常形态和完整性,并且调节细胞之间与基质间的黏附,因此细胞骨架破坏必然导致内皮屏障的破坏。细胞之间连接包括紧密连接、黏附连接、缝隙连接^[14]。内皮细胞间的裂隙是血管通透性增高和大分子物质透出的重要途径。细胞器作为细胞间的连接功能,包括紧密连接和黏附连接,通过调节溶质和免疫细胞的渗透性调节形成了细胞连接处的屏障^[15]。血管内皮钙黏蛋白(vascular endo-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81273976)

作者单位:1.中国中医科学院医学实验中心(北京 100700);2.中国中医科学院广安门医院分子生物学实验室和综合内科(北京 100053)

通讯作者:雷 燕, Tel:13651217893, E-mail: lei999@163.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2015. 04. 0506

thelial cadherin, VE-cadherin), 又称为 cadherin 5 (CD144) 是内皮细胞特异性的黏附蛋白, 是调节细胞间隙形成的内皮黏附连接的主要组成部分, 存在于细胞连接处, 可以连接跨膜蛋白与肌动蛋白细胞骨架, 传递细胞内信号, 其结构和功能的改变可引起细胞连接破坏, 细胞骨架结构改变, 从而导致细胞间缝隙形成, 血管通透性升高。

2 细胞骨架与内皮相关血管功能的改变 血管内皮功能主要由内皮依赖性舒张因子、内皮依赖性收缩因子、内皮依赖性超级化因子调节, 血管老化的突出表现是内皮功能的障碍^[16]。内皮衰老主要包括内皮诱导的血管收缩和舒张功能的失调^[17-19]。血管收缩和舒张功能的失调主要是 NO 生物活性的下降、环加氧酶诱导的缩血管产物的增多引起的^[16]。NO 是血管内皮细胞产生扩血管物质, 对血管墙有一定的保护作用, 由 L-精氨酸在一氧化氮合成酶的作用下合成, 起到扩张血管、抑制血小板聚集和血管平滑肌细胞增生的作用。精氨酸酶是 NO 生成的重要物质, Ryoo S 等^[20]发现微管可以调节精氨酸酶, 从而影响 NO 的合成。微丝骨架蛋白与 eNOS 蛋白有一定的关联性, 在翻译后 eNOS 活性的调节起到至关重要的作用^[21]。常见缩血管因素主要通过 COX、RAS、ET-1 3 种途径影响血管的舒缩功能^[22]。Ang II 是心血管疾病发生和进展的重要因素, 它可以调节内皮细胞微管的重组, 因此由 Ang II 导致的血管衰老与微管重组导致的内皮功能的紊乱有很大关系^[23]。COX-2 的激活对损伤条件下保持血管墙的舒张和抗栓至关重要^[24]。Eligini S 等^[25]通过自分泌对 PGI₂ 的作用, 发现微管和微丝之间的相互作用在微管分解的内皮细胞对 COX-2 的调节中有至关重要的作用。

3 细胞骨架与内皮细胞凋亡的关系 内皮细胞衰老常和凋亡相伴随, 出现细胞质原有的疏松、有序的细胞骨架结构变得致密和紊乱。实际上, 细胞骨架的改变不仅是细胞凋亡的结果, 而且可以影响细胞凋亡的过程。微丝和微管均参与了诱发细胞凋亡起始的过程。Gourlay CW 等^[26]发现, 微丝是细胞凋亡的上游成分, 在酵母细胞和 HL-60 等动物细胞中, 微丝的解聚能诱发细胞凋亡。此外, Leadsham JE 等^[27]发现微管和微丝在酵母的凋亡调节中起到重要的作用, 微丝通过调节线粒体的分布和形态影响细胞衰老和凋亡; 微管的稳定可以通过调节压力诱导细胞凋亡。van der Heijden M 等^[28]通过对人脐静脉内皮细胞观察发现, 通过保持 PI3 激酶和 Akt 的激活, Rho 激酶抑制或细胞松弛素 D 治疗预防肌动蛋白微丝的重

组降低了缺血再灌注导致的内皮细胞的凋亡。Suarez-Huerta N 等^[29]为了解肌动蛋白微丝在凋亡过程中的作用, 观察 TNF 诱导的牛主动脉内皮细胞的变化, 发现 F-actin 的解聚与凋亡细胞死亡 DNA 降解和形态学的变化是并存的。

4 细胞骨架在内皮细胞信号转导通路中的作用 有学者发现: Cdc42、Rac1 和 Rho 小 GTP 酶家族的成员通过调控肌动蛋白细胞骨架的装备, 参与稳定内皮的屏障作用^[30-32]。Rho 和 Rho 激酶通过影响应力纤维的形成, 调节内皮细胞的通透性^[33-35], 因此 RhoA/Rho kinase 是内皮屏障的重要调节因子^[36]。PKC 和 PKG 参与内皮细胞骨架的信号传导调节, 当 PKC 活化时, 内皮细胞骨架蛋白发生改变, 同时破坏内皮细胞紧密连接, 引起通透性增加, 提示其调节内皮细胞骨架的信号传导功能^[37]。P38MAPK 可能通过 HSP27、MLC、tau 或 stathmin 调节 MT 网络结构的稳定和 MT 到肌动蛋白细胞骨架的信号传递^[38]。TNF α 和氧化应激均可以调节细胞骨架的重组, Ghosh S 等^[39]发现 TNF α 可以诱导氧化应激, 从而影响 Akt 的激活调节微丝肌动蛋白的重组。NF- κ B 是与免疫球蛋白重链和 κ 轻链基因增强子序列特异结合的核蛋白因子, Donato AJ 等^[40]发现 NF- κ B 在健康老年人的内皮细胞中表达增加, 通过进一步研究证实 NF- κ B 在年龄相关的血管炎症的病理、内皮功能失调和冠心病的发生中起到关键的作用^[41]。

5 中医药防治内皮衰老的现代研究 雷燕等^[42]通过人参三七川芎提取物干预衰老小鼠, 发现可以明显改善主动脉内皮细胞的脱落。邹美圣^[43]发现灵芝多糖可以作为类似 Ang II 拮抗剂延缓内皮细胞衰老, 从而起到保护血管内皮细胞的作用。王桂敏等^[44]通过首乌延寿丹抗血管内皮细胞老化的实验研究, 发现首乌延寿丹可以增强机体的抗氧化能力, 抑制脂质过氧化反应, 保护内皮细胞, 减轻细胞及细胞膜的损伤程度, 从而达到抗动脉粥样硬化和抗衰老的功效。杨静等^[45]通过人参三七川芎提取物作用于复制性衰老脐静脉内皮细胞, 发现人参三七川芎提取物能够延缓内皮细胞复制性衰老, 通过活性氧途径下调 DADPH 氧化酶 p47phox 的表达, 最终使 ROS 产生减少, 并且可以减少 AT1R、AT2R 的表达, 改善内皮功能。本研究发现中医药防治血管内皮衰老的机制多从抗氧化应激角度分析, 但是通过 Pub Med、万方数据库、CNKI 检索发现细胞骨架层面的研究鲜见报道, 因此从细胞骨架层面研究中医药防治内皮衰老亟需加强。

6 小结与展望

内皮细胞衰老是血管老化的关键环节,细胞骨架系统作为细胞的重要组成部分参与内皮衰老的改变,本文主要从细胞骨架与内皮衰老过程中通透性、凋亡及内皮衰老导致血管功能的变化阐述机制变化。从信号转导通路角度,论述了 Rho GTP 酶、酪氨酸蛋白激酶、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶等通路在调节细胞骨架和内皮功能的关系。此外,结合中医药干预内皮细胞衰老的实验,说明了中医药在防治内皮细胞衰老方面起到重要的作用,但是中医药防治衰老的机制并未完全明确,因此在中医药理论的指导下,结合现代分子生物学的技术,从细胞骨架等微结构层面研究内皮衰老的机制,有望进一步揭示内皮细胞衰老的具体机理,为中医药防治衰老提供有力的证据。

参 考 文 献

- [1] 沈自尹. 重视衰老与老年相关疾病的研究[J]. 成都医学院学报, 2012, 7(3): 335.
- [2] Harman D. Extending functional life span[J]. *Exp Gerontol*, 1998, 22: 95–112.
- [3] Barodka VM, Joshi BL, Berkowitz DE, et al. Review article: implications of vascular aging[J]. *Anesth Analg*, 2011, 112(5): 1048–1060.
- [4] Lakatta EG. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging[J]. *Circulation*, 2003, 107(3): 490–497.
- [5] Virdis A, Ghiadoni L, Giannarelli C, et al. Endothelial dysfunction and vascular disease in later life[J]. *Maturitas*, 2010, 67(1): 20–24.
- [6] 李虹, 白小涓, 陈香美. 血管衰老机理及检测指标的研究进展[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(3): 212–215.
- [7] Mannarino E, Pirro M. Endothelial injury and repair: a novel theory for atherosclerosis[J]. *Angiology*, 2008, 59(2 Suppl): 69S–72S.
- [8] Chen CL, Wang Y, Sesaki H, et al. Myosin I links PIP3 signaling to remodeling of the actin cytoskeleton in chemotaxis[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(209): 10.
- [9] Yan J, Mihaylov V, Xu X, et al. A Gβγ effector, Elmoe, transduces GPCR signaling to the actin network during hemotaxis[J]. *Dev Cell*, 2012, 22(1): 92–103.
- [10] Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease[J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2): 115–126.
- [11] 于海波. 外源性刺激诱导血管内皮细胞 F-actin 骨架蛋白重构和内皮通透性增高的分子机制研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2005, 4.
- [12] Ermer L, Brückner H, Walrath D, et al. Role of endothelial cytoskeleton in high-permeability edema due to botulinum C2 toxin in perfused rabbit lungs[J]. *Am J Physiol*, 1995, 268(5 Pt 1): L753–761.
- [13] 彭红艳, 常青, 唐海兰, 等. 同型半胱氨酸对血管内皮细胞骨架的影响[J]. 临床心血管病杂志, 2008, 24(4): 294–297.
- [14] Rüffer C, Strey A, Janning A, et al. Cell-cell junctions of dermal microvascular endothelial cells contain tight and adherens junction proteins in spatial proximity[J]. *Biochemistry*, 2004, 43(18): 5360–5369.
- [15] Furuse M, Tsukita S. Claudins in occluding junctions of humans and flies[J]. *Trends Cell Biol*, 2006, 16: 181–188.
- [16] Herrera MD, Mingorance C, Rodríguez-Rodríguez R, et al. Endothelial dysfunction and aging: An update[J]. *Ageing Res Rev*, 2010, 9(2): 142–152.
- [17] Ferrari AU, Radaelli A, Centola M. Invited review: aging and the cardiovascular system[J]. *J Appl Physiol*, 2003, 95(6): 2591–2597.
- [18] Matz RL, Andriantsitohaina R. Age-related endothelial dysfunction: potential implications for pharmacotherapy[J]. *Drugs Aging*, 2003, 20(7): 527–550.
- [19] Brandes RP, Fleming I, Busse R. Endothelial aging[J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 66(2): 286–294.
- [20] Ryoo S, Lemmon CA, Soucy KG, et al. Oxidized low-density lipoprotein-dependent endothelial arginase II activation contributes to impaired nitric oxide signaling[J]. *Circ Res*, 2006, 99(9): 951–960.
- [21] Su Y, Edwards-Bennett S, Bubbs MR, et al. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by the actin cytoskeleton[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 284(6): C1542–1549.
- [22] El Assar M, Angulo J, Vallejo S, et al. Mechanisms involved in the aging-induced vascular dysfunction[J]. *Front Physiol*, 2012, 3: 132.
- [23] Hashimoto-Komatsu A, Hirase T, Asaka M, et al. Angiotensin II induces microtubule deorganization mediated by a deacetylase SIRT2 in endothelial cells[J]. *Hypertens Res*, 2011, 34(8): 949–956.
- [24] Cheng Y, Austin SC, Rocca B, et al. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A₂[J]. *Science*, 2002, 296(5567):

- 539–541.
- [25] Eligini S, Songia P, Cavalca V, et al. Cytoskeletal architecture regulates cyclooxygenase-2 in human endothelial cells: autocrine modulation by prostacyclin[J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(12): 3847–3856.
- [26] Gourlay CW, Carpp LN, Timpson P, et al. A role for the actin cytoskeleton in cell death and aging in yeast[J]. *J Cell Biol*, 2004, 164(6): 803–809.
- [27] Leadsham JE, Gourlay CW. Cytoskeletal induced apoptosis in yeast[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(7): 1406–1412.
- [28] van der Heijden M, Versteilen AM, Sipkema P, et al. Rho-kinase-dependent F-actin rearrangement is involved in the inhibition of PI3-kinase/Akt during ischemia-reperfusion-induced endothelial cell apoptosis[J]. *Apoptosis*, 2008, 13(3): 404–412.
- [29] Suarez-Huerta N, Mosselmans R, Dumont JE, et al. Actin depolymerization and polymerization are required during apoptosis in endothelial cells[J]. *J Cell Physiol*, 2000, 184(2): 239–245.
- [30] Broman MT, Kouklis P, Gao X, et al. Cdc42 regulates adherens junction stability and endothelial permeability by inducing alpha-catenin interaction with the vascular endothelial cadherin complex[J]. *Circ Res*, 2006, 98(1): 73–80.
- [31] Gündüz D, Thom J, Hussain I, et al. Insulin stabilizes microvascular endothelial barrier function via phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-mediated Rac1 activation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(6): 1237–1245.
- [32] Wójciak-Stothard B, Potempa S, Eichholtz T, et al. Rho and Rac but not Cdc42 regulate endothelial cell permeability[J]. *Cell Sci*, 2001, 114(Pt 7): 1343–1355.
- [33] Essler M, Amano M, Kruse HJ, et al. Thrombin inactivates myosin light chain phosphatase via Rho and its target Rho kinase in human endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(34): 21867–21874.
- [34] Vouret-Craviari V, Boquet P, Pouyssegur J, et al. Regulation of the actin cytoskeleton by thrombin in human endothelial cells: role of Rho proteins in endothelial barrier function[J]. *Mol Biol Cell*, 1998, 9(9): 2639–2653.
- [35] Wójciak-Stothard B, Entwistle A, Garg R, et al. Regulation of TNF-alpha-induced reorganization of the actin cytoskeleton and cell-cell junctions by Rho, Rac, and Cdc42 in human endothelial cells[J]. *J Cell Physiol*, 1998, 176(1): 150–165.
- [36] Hirase T, Node K. Endothelial dysfunction as a cellular mechanism for vascular failure[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 302(3): H499–505.
- [37] Desai TR, Leeper NJ, Hynes KL, et al. Interleukin-6 causes endothelial barrier dysfunction via the protein kinase C pathway[J]. *J Surg Res*, 2002, 104(2): 118–123.
- [38] Birukova AA, Birukov KG, Gorshkov B, et al. MAP kinases in lung endothelial permeability induced by microtubule disassembly[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289(1): L75–84.
- [39] Ghosh S, Tewari R, Dixit D, et al. TNFalpha induced oxidative stress dependent Akt signaling affects actin cytoskeletal organization in glioma cells[J]. *Neurochem Int*, 2010, 56(1): 194–201.
- [40] Donato AJ, Eskurza I, Silver AE, et al. Direct evidence of endothelial oxidative stress with aging in humans: relation to impaired endothelium-dependent dilation and upregulation of nuclear factor-kappaB[J]. *Circ Res*, 2007, 100: 1659–1666.
- [41] Donato AJ, Black AD, Jablonski KL, et al. Aging is associated with greater nuclear NF kappa B, reduced I kappa B alpha, and increased expression of proinflammatory cytokines in vascular endothelial cells of healthy humans[J]. *Aging Cell*, 2008, 7(6): 805–812.
- [42] 雷燕, 杨静, 赵浩, 等. 人参三七川芎提取物延缓衰老小鼠血管老化的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2010, 30(9): 946–951.
- [43] 邹美圣. 灵芝多糖对血管紧张素 II 诱导的人脐静脉内皮细胞衰老的影响及机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2012: 4.
- [44] 王桂敏, 吴秀青. 首乌延寿丹抗血管内皮细胞老化的实验研究[J]. *中医药学刊*, 2002, 20(3): 314–315.
- [45] 杨静, 雷燕, 崔巍, 等. 人参三七川芎提取物延缓内皮细胞复制性衰老的机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(12): 1544–1547.

(收稿: 2013-09-16 修回: 2014-12-25)