

瓣膜内皮细胞与间质细胞的相互作用在钙化性主动脉瓣疾病中的研究进展

【摘要】 钙化性主动脉瓣疾病（CAVD）是包括主动脉瓣硬化和钙化性主动脉瓣狭窄的进展性疾病。CAVD 是当前最常见的瓣膜疾病，是成人心血管疾病的第三大病因。尽管针对其发生发展机制有了一定的了解，但目前尚无有效的药物治疗。主动脉瓣的细胞主要包括瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞，探究二者的相互作用对了解瓣膜稳态维持以及 CAVD 发生发展机制有着重要意义。该文就瓣膜内皮细胞和瓣膜间质细胞间的相互作用在主动脉瓣钙化中的发挥的作用进行综述。

【关键词】 钙化； 纤维化； 钙化性主动脉瓣疾病； 瓣膜内皮细胞； 瓣膜间质细胞

钙化性主动脉瓣疾病（calcified aortic valve disease, CAVD）是最常见的瓣膜病变，其疾病谱包括主动脉瓣硬化（瓣叶纤维钙化重塑但没有明显影响瓣叶活动度）以及钙化性主动脉瓣狭窄。主动脉瓣狭窄引起左心室流出道严重阻塞，导致心输出量不足、运动能力下降、进行性左心室肥大，最终导致心力衰竭和死亡 [1]。CAVD 是成人心血管疾病的第三大病因，影响约 25% 的 65 岁以上人群 [2]。通过外科手术或介入技术行主动脉瓣置换仍是目前唯一可用的治疗方法。但人工瓣膜寿命有限，且有发生血栓形成和心内膜炎等并发症的风险，所以对有效药物治疗手段的需求非常迫切 [3]。尽管 CAVD 随年龄增长更为常见，但其不是年龄增长的必然结果，相反，这可能是一个受到主动调控的病理过程，而不是仅以衰老和退行性变为特征 [4]。

解剖学显示，主动脉瓣具有 3 层结构：主动脉侧的胶原纤维层、富含糖胺聚

糖的松质中间层和心室侧富含弹性蛋白的心室肌层。主动脉瓣主要包含 2 种细胞：瓣膜内皮细胞和瓣膜间质细胞，前者覆盖于心脏瓣膜表面，后者广泛分布在瓣膜 3 层结构中，负责多种细胞外基质蛋白合成与降解的动态平衡 [5]。瓣膜间质细胞是一群高度异质性的细胞，包含至少 5 种细胞群，其中以静息样成纤维细胞为主 [1]。Chen 等 [6] 证明存在瓣膜间质细胞多能祖细胞，它们具有被诱导成为肌成纤维细胞、骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞的潜能，证明了间质细胞的异质性和可塑性。单细胞测序技术为揭示瓣膜细胞的异质性以及 CAVD 的发生发展机制提供了重要线索。Xu 等 [2] 对 2 例非 CAVD 患者的瓣膜以及 4 例因 CAVD 进行瓣膜置换患者的瓣膜进行单细胞测序，鉴定出 14 个细胞亚群，包括 3 种瓣膜间质细胞、3 种免疫细胞、2 种瓣膜内皮细胞和 6 种新的主动脉瓣来源的基质细胞。

瓣膜内皮细胞和瓣膜间质细胞之间存在双向通信，可以调节彼此的行为。瓣膜内皮损伤和功能障碍被认为是 CAVD 的起始步骤，在病理因素刺激下瓣膜间质细胞从静息状态向肌成纤维细胞样细胞或成骨细胞样细胞转化，导致瓣膜纤维化或者钙化发生，限制瓣膜的运动 [1]。先前大量研究主要聚焦于瓣膜间质细胞，近年瓣膜内皮细胞-瓣膜间质细胞相互作用也受到越来越多的关注。本文就瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞的相互作用在 CAVD 进展中的作用进行综述。

一、瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞相互作用的研究方法

1. 体外研究：研究瓣膜间质细胞与瓣膜内皮细胞相互作用的常用方法是直接或间接体外共培养。瓣膜间质细胞表型对体外培养条件高度敏感。细胞常规 2D 培养基质通常为聚苯乙烯或玻璃，高于生理情况下的硬度，瓣膜间质细胞会自发性激活、向肌成纤维样细胞分化，这从本质上限制了它们在 CAVD 体外研究模型

的应用 [7]。并且,较硬的培养基质也可以促进瓣膜内皮细胞发生内皮-间质转化 [8]。有研究通过改变培养基质硬度或使用各种细胞外基质蛋白对 2D 培养条件进行改良 [9-10]。目前,三维 (3D) 培养支架的应用越来越广泛,常用方法为使用各种天然或合成聚合物水凝胶配方来构建 3D 支架,以便在体外维持瓣膜间质细胞静止表型,并且实现瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞共培养,模拟更加符合生理条件的培养方式 [11-15]; 还可以通过改变 3D 支架原料种类和配比来模拟病理细胞外基质情况 [16]。还有研究分析了人体正常瓣膜各层的杨氏模量,通过 3D 生物打印得到模拟胶原纤维层和中间层硬度的双层水凝胶,且用成骨分化培养基诱导瓣膜间质细胞可得到类似于体内疾病发展进程的模型 [17]。还有研究将 3D 水凝胶支架与等双轴机械约束力结合起来,以一种更贴合生理的形式对细胞间相互作用进行研究 [18]。除各种水凝胶支架外,Stadelmann 等 [19]首次使用低温静电纺丝技术开发了一个由聚乳酸形成的双层低温静电纺丝支架,模拟天然主动脉瓣胶原纤维层和松质中间层的机械和生理行为。可以实现瓣膜内皮细胞黏附、瓣膜间质细胞向支架内生长,也实现了同时种植瓣膜间质细胞和瓣膜内皮细胞,并且该模型同样适用于灌注系统。还有一些研究直接使用新鲜的动物主动脉瓣瓣膜进行离体培养 [20-21]。

2. 体外培养刺激条件: 目前在 CAVD 体外研究领域,常使用转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 诱导瓣膜间质细胞向肌成纤维细胞分化,成骨分化培养基诱导瓣膜间质细胞发生成骨细胞分化 [22]。最常用的成骨分化培养基成分包含 β -甘油磷酸、抗坏血酸和地塞米松 [22],也有研究使用 β -甘油磷酸结合氯化钙 [20]。近年有研究提出可使用与瓣膜钙化部位结晶度更加一致的羟基磷灰石纳米颗粒 [23] 或者使用直接从临床组织样本分

离的钙化颗粒 [24]，这些材料可以更好地模拟疾病微环境条件，驱动瓣膜间质细胞向肌成纤维细胞和成骨样细胞分化。可以将这些材料与各种 3D 培养支架相结合，作为更贴近体内环境的体外培养系统。还有研究使用长时间的剪切应力作为唯一刺激条件，诱导出类似体内条件下形成的钙化结节 [25]。

3. 动物模型：动物模型是研究瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞相互作用的重要手段。高脂血症 [26–27]、慢性肾脏病 [28–29] 和临床常用的抗凝剂华法林 [30–31] 都是 CAVD 的促发因素，通常使用以上几种危险因素构建瓣膜钙化动物模型，但难以特异性研究瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞的相互作用。内皮来源一氧化氮 (nitric oxide, NO) 是维持瓣膜稳态的重要因素，通过构建 NO 合成途径关键酶相关基因敲除小鼠可模拟内皮功能障碍，研究瓣膜内皮细胞来源 NO 减少对瓣膜间质细胞的影响及其在 CAVD 中发挥的作用。主动脉瓣二叶畸形患者瓣膜内皮细胞中内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 表达显著降低 [32]；相应地，与野生型小鼠相比，eNOS^{-/-}小鼠主动脉瓣二叶畸形发生率显著增加 [33]，所以 eNOS^{-/-}小鼠被视为经典 CAVD 模型小鼠。随着基因编辑技术的发展，可进一步根据研究对象构建内皮/瓣膜内皮细胞特异性基因敲除小鼠。三磷酸鸟苷环化水解酶 1 (GTP cyclohydrolase 1, GCH1) 是内皮细胞合成四氢生物蝶呤 (tetrahydrobiopterin, BH4) 的关键酶，内皮特异性 Gch1 基因敲除小鼠 (Gch1^{f1/f1}; Tie2- Cre 小鼠) 中，BH4 合成受限，导致 eNOS 解偶联、内皮功能障碍。进一步将 Gch1^{f1/f1}; Tie2- Cre 小鼠与 ApoE^{-/-}小鼠杂交获得 Gch1^{f1/f1}; Tie2- Cre; ApoE^{-/-}小鼠，并予高脂饮食喂养，可建立 CAVD 模型 [34]。另外，Notch1 是第 1 个被发现与遗传性瓣膜疾病相关的基因 [35]，Notch1^{+/-} [36] 和 Rbpj^{+/-} [37] 小鼠可在高脂喂养下发生主动脉

瓣钙化。瓣膜内皮细胞特异性 Notch1 基因敲除小鼠出现主动脉瓣二叶畸形，在小鼠出生 4 个月后主动脉瓣边缘出现钙化，并随着年龄增长钙化逐渐进展至主动脉瓣主体，该小鼠可用于研究 NOTCH1 突变在主动脉瓣二叶畸形和 CAVD 中所起的作用 [38]。此外，有研究采用超声心动图引导下导丝损伤内皮的方法来造模，可以研究损伤后内皮修复以及瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞相互作用，并且通过改变导丝类型、尖端角度和旋转周数来构建轻、中、重度瓣膜狭窄模型 [39]。

二、瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞的表型转化及其相互影响

1. 瓣膜内皮细胞对瓣膜间质细胞表型转化的调控作用：瓣膜间质细胞表型转化主要包括向肌成纤维或成骨样表型转化。向肌成纤维细胞转化是机体内正常的修复过程，肌成纤维细胞是指具有平滑肌细胞特点的成纤维细胞，其具有更强的收缩能力，修复完成后这些激活的肌成纤维细胞通常通过凋亡完成清除，但持续性激活会导致瓣膜的纤维化 [40- 41]。瓣膜间质细胞向成骨样细胞的表型转换被认为是瓣膜钙化的基本标志，通常表现为碱性磷酸酶活性增高、Runt 相关转录因子 2 以及骨形态发生蛋白 2 的激活 [42]。近年来，有诸多研究表明瓣膜内皮细胞对于瓣膜间质细胞表型转化有调控作用，此外，还有研究在共培养体系中引入剪切应力探究血流动力学的影响，但是关于瓣膜内皮细胞对瓣膜间质细胞的调控以及剪切应力发挥的作用，研究结论不一致，也体现了体外复现二者相互作用的复杂性。在 2D 以及 3D 共培养条件下，多项研究表明瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞共培养可以抑制瓣膜间质细胞的病理性分化以及减少钙结节形成 [43- 47]，并且 Gould 等 [46] 表明随着培养基质硬度增加，瓣膜内皮细胞对瓣膜间质细胞向肌成纤维分化的抑制作用逐渐降低。然而，Hjortnaes 等 [48] 间接共培养瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞发现，瓣膜内皮细胞不能抑制成骨分化培养基

诱导的瓣膜间质细胞的成骨化分化，反而会促进钙化进展。Gee 等 [18] 进一步发现在不同培养条件下瓣膜内皮细胞对瓣膜间质细胞的表型影响具有双重作用。在机械应力微环境中，使用基础培养基时，瓣膜内皮细胞可抑制瓣膜间质细胞向肌成纤维细胞活化及其纤维化重塑；而在成骨分化培养基中，共培养的内皮细胞可以促进瓣膜间质细胞向成骨样细胞分化进而促进钙化，并且可影响不同表型瓣膜间质细胞的分布。

血流动力学紊乱对 CAVD 发生进展具有重要影响，但在体难以准确定量，不断发展的体外模型可定量探究不同剪切应力对瓣膜内皮细胞和瓣膜间质细胞相互作用的影响，然而体外流体动力学模拟的各项研究结论也存在一定矛盾性。Chen 等 [49] 的研究显示， 20dyne/cm^2 稳定剪切力作用 24h 会增强瓣膜内皮细胞维持瓣膜间质细胞静止表型的作用。Butcher 和 Nerem [45] 发现， 20dyne/cm^2 稳定剪切力作用 96h 可使瓣膜间质细胞活化增加，相同条件作用于瓣膜间质细胞与瓣膜内皮细胞共培养时，瓣膜间质细胞可维持在静止表型。Mendoza [25] 等在体外进行的 3D 细胞培养实验中应用了长时间（14d）的剪切力，与静息状态相比，剪切应力会促进钙化发生与进展，且 20dyne/cm^2 的促钙化效应强于 1dyne/cm^2 ，而在剪切应力刺激下，瓣膜间质细胞与瓣膜内皮细胞共培养的钙化程度会比瓣膜间质细胞单独培养更重。Hsu 等 [50] 表明当瓣膜内皮细胞暴露于低至中等震荡剪切力（振荡剪切指数=0.25）下瓣膜内皮细胞可通过旁分泌信号使瓣膜间质细胞维持在静止表型，而暴露于高震荡剪切力（振荡剪切指数=0.50）下瓣膜内皮细胞通过旁分泌信号增加瓣膜间质细胞钙化风险。此外，甲状旁腺激素是钙磷代谢的重要调节激素，高甲状旁腺激素血症与 CAVD 发生发展相关。其可引起瓣膜内皮功能障碍，包括 NO 产生减少、抗氧化能力受损、糖酵解能力增加，

甲状旁腺激素处理瓣膜内皮细胞后的条件培养基可诱导瓣膜间质细胞成骨分化 [51]。不同研究中瓣膜内皮细胞对瓣膜间质细胞表型转化的差异可能是由于共培养方式的差异（2D 培养基质的硬度不同以及 3D 支架构造差异、直接共培养还是间接共培养）、细胞来源以及诱导培养基和培养时间存在差异，所以寻找更加贴合生理情况的培养方式很有必要。

2. 瓣膜间质细胞对瓣膜内皮细胞的内皮-间质转化的调控作用：越来越多研究表明，瓣膜内皮细胞在 CAVD 进展过程中经历了向间充质或成纤维细胞样细胞的表型和功能转变，这一过程称为内皮-间质转化。在 CAVD 进展过程中，瓣膜内皮细胞和瓣膜间质细胞之间最直接的相互作用可能发生在瓣膜内皮细胞向间质细胞的转化过程中 [52]。通过内皮-间质转化，内皮细胞会获得间充质细胞表型特征，包括增殖、迁移、分泌，从而进入间质部分与周围的瓣膜间质细胞直接作用，同时丧失特定的内皮标志物和功能，引起内皮屏障功能受损 [5]。高糖、高脂、炎症因子、TGF- β 、血流动力学紊乱均可以促发内皮-间质转化 [5]。没有钙化的瓣膜内皮中检测不到间充质细胞标志物，而钙化瓣膜中可以检测到内皮和间充质细胞标志物共表达，其可以作为内皮-间质转化的间接证据 [48, 53-54]。虽然肌成纤维样细胞通常被认为来源于瓣膜间质细胞，Wang 等 [55] 使用流式细胞术证明了一部分猪瓣膜中的肌成纤维细胞带有内皮细胞标志物。有研究通过谱系追踪技术发现，成人主动脉瓣内皮细胞能够侵入瓣膜间质，并且这些细胞在 CAVD 小鼠模型中定位于钙化病变附近，但在非 CAVD 小鼠中则没有，则为 CAVD 进展过程内皮会发生内皮-间质转化提供了直接证据 [27]。

Hjortnaes 等 [48] 在体外使用 2D 间接共培养体系阐明瓣膜间质细胞可通过旁分泌调控瓣膜内皮细胞的内皮-间质转化，瓣膜间质细胞会抑制成骨分化培

培养基以及 TGF- β 1 培养引起的瓣膜内皮细胞钙化活性增强以及内皮-间质转化,但是组织培养板的非自然硬度导致体外培养的瓣膜间质细胞大多表现出肌成纤维细胞样表型,所以生理情况下静息瓣膜间质细胞对瓣膜内皮细胞的影响还是未知的。而在 Gee 等 [18] 构建的机械微应力环境中,成骨分化培养基培养条件下,瓣膜间质细胞共培养会使内皮细胞 Runt 相关转录因子 2 和基质金属蛋白酶 9 表达显著增加。关于瓣膜间质细胞如何影响瓣膜内皮细胞表型转化的研究还比较缺乏,值得进一步探索。

3. 瓣膜间质细胞和瓣膜内皮细胞在新生血管形成方面的作用: 主动脉瓣病变的一个重要特征是新生血管的形成 [56]。Arevalos 等 [57] 表明瓣膜间质细胞具备周细胞的一些行为特征,可为瓣膜内皮细胞迁移发挥辅助作用,引导瓣膜内皮细胞形成血管样结构并进一步侵入基质,这一过程受到血管生成素 (Ang) / 具有免疫球蛋白和表皮生长因子同源性结构域的酪氨酸蛋白激酶 (Tie) 轴和 Rho 激酶 (ROCK) 通路调节。Gendron 等 [58] 进一步证实了瓣膜间质细胞的周细胞分化潜能,他们发现从 CAVD 患者中分离出瓣膜间质细胞的条件培养基能够明显促进脐血内皮祖细胞的增殖、迁移和发芽,并且首次提出从钙化性主动脉瓣疾病患者中分离出的瓣膜间质细胞具有血管周围细胞分化能力和血管内皮生长因子 A 旁分泌功能。

三、瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞相互作用的信号分子及相关机制

如上文所述,瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞之间存在着复杂的双向通信、相互调控作用,探究其具体方式与机制对于了解瓣膜稳态维持和疾病进展均有着重要意义,并且可以为 CAVD 药物治疗靶点的选择提供一定的理论基础。根据目前的研究,瓣膜内皮细胞可通过 NO、NOTCH1 信号通路和 TGF- β 1 来调节瓣膜间质

细胞生物学行为。

1. NO: 瓣膜内皮细胞来源的 NO 是早期瓣膜钙化的天然抑制剂, 也是调节瓣膜稳态和病理过程的重要因素 [52]。瓣膜内皮细胞通过 NO 合成酶 3, 即 eNOS 合成 NO。心室侧 eNOS 表达水平更高, 可以部分解释心室侧钙化发生率远低于主动脉侧 [43]。多项研究发现, 外源性补充 NO (DETANONOate) 可以抑制瓣膜间质细胞向肌成纤维细胞或成骨细胞分化, 而使用 eNOS 抑制剂 (L- NAME) 则会削弱瓣膜内皮细胞对瓣膜间质细胞的保护作用, 表明瓣膜内皮细胞可通过合成 NO 发挥抑制瓣膜间质细胞病理性分化的作用 [43, 46, 59]。

BH4 是维持 eNOS 生物学功能的关键因素, 通过与 eNOS 结合保持其偶联二聚体状态, 从而合成 NO; BH4 缺乏时, 解偶联的 eNOS 会合成过氧化物, 过氧化物与 NO 反应形成过氧亚硝酸盐, 进一步降低 NO 的生物利用度 [60]。内皮中 BH4 水平降低会促进内皮过氧亚硝酸盐形成, 导致瓣膜间质细胞中 DRP1 (dynamin-related protein 1) 酪氨酸残基 Y628 位硝基化, 促进瓣膜间质细胞向成骨细胞分化, 从而导致主动脉瓣钙化。在饮食中补充叶酸, 通过提高 BH4 生物利用度来减轻高胆固醇血症引起的主动脉瓣钙化 [34]。

2. NOTCH: NOTCH 信号通路在进化上高度保守, 该通路通过相邻细胞间的直接接触调节细胞增殖、分化和凋亡。配体结合 NOTCH 受体后可促进 NOTCH 受体被蛋白水解酶切割, 有转录调节活性的 NOTCH 胞内结构域进入细胞核, 结合转录调节因子 RBPJ, 以激活靶基因 HES1 及 HEY1、2 和 HEYL 转录 [61]。NOTCH1 对于瓣膜发育具有重要作用。NOTCH1 信号促进瓣膜内皮细胞中表达 $\text{TNF-}\alpha$, 与瓣膜间质细胞上的肿瘤坏死因子受体 1 和肿瘤坏死因子受体 2 相互作用并诱导瓣膜间质细胞发生细胞凋亡, 有助于将心内膜垫塑造为成熟的瓣叶 [38]。另一方面,

瓣膜内皮细胞中的 NOTCH1 信号可激活肝素结合样表皮生长因子的表达，通过抑制 SMAD 信号抑制瓣膜间质细胞增殖 [62]。瓣膜内皮细胞内皮 NOTCH1 信号缺失会导致瓣膜间质细胞增殖过度而凋亡减少，在小鼠模型表现为左冠瓣和右冠瓣融合，导致主动脉瓣二叶畸形 [38, 62]。而 NOTCH1 通路也受到内皮来源 NO 的调节。Bosse 等 [44] 发现了 NO 可以促进 NOTCH 胞内结构域入核发挥抑制钙化的作用。Majumdar 等 [63] 发现 NO 可通过促进泛素特异性肽酶 9X 发生 S- 亚硝基化修饰，使其发挥去泛素化酶功能，抑制 Mindbomb 同源物 1 泛素- 蛋白酶体降解途径，进而维持 Mindbomb 同源物 1 稳定性。Mindbomb 同源物 1 随后激活 NOTCH1 通路，抑制瓣膜间质细胞向成骨细胞分化。然而也有研究提出，NOTCH1 信号通路有着促钙化的作用，Zeng 等 [64] 的研究显示瓣膜间质细胞中 NOTCH1 水平的增高和激活可调控细胞外调节蛋白激酶 1/2 (ERK1/2) 和核转录因子- κ B (nuclear factor κ - B, NF- κ B) 发挥促成骨化的作用。NOTCH1 是相邻细胞间通讯进而调节细胞发育的通路，但很少有研究探究瓣膜间质细胞和瓣膜内皮细胞是否直接通过该途径进行通信继而影响钙化。未来很有必要在更符合生理情况下的直接共培养体系中探究瓣膜间质细胞和瓣膜内皮细胞之间的 NOTCH1 信号传导 [52]。

3. 二肽基肽酶 4 (dipeptidyl peptidase- 4, DPP- 4) : DPP- 4 是一种多功能酶，其主要底物为肠促胰岛素，选择性 DPP- 4 抑制剂（格列汀类药物）作为一种降血糖药物可应用于 2 型糖尿病的治疗。DPP- 4 在瓣膜钙化中的作用逐渐受到关注。瓣膜内皮细胞产生的 NO 不足会导致瓣膜间质细胞中 NF- κ B 激活，NF- κ B 继而激活 DPP- 4，抑制自分泌型胰岛素样信号转导因子 1 信号传导，促进瓣膜间质细胞向成骨表型转化，体内外抑制 DPP- 4 活性可抑制瓣膜间质细胞

向成骨样细胞分化，减轻小鼠模型的主动脉瓣膜钙化 [65]。此外，双特异性磷酸酶 26 以及 CircRIC3 也对 DPP-4 进行调控。双特异性磷酸酶 26 通过与双微体同源基因 2 竞争性结合 DPP-4 从而抑制双微体同源基因 2 介导的 DPP-4 泛素-蛋白酶体途径降解，体内敲除双特异性磷酸酶 26 以及使用 DPP-4 抑制剂均可以缓解高脂血症诱导的瓣膜钙化 [66]。CircRIC3 是一种促钙化环状 RNA，它作为 miR-204-5p 的海绵来正向调节 DPP-4 表达，褪黑素通过抑制这一途径可抑制钙化 [67]。依格列汀可以抑制体外培养的瓣膜间质细胞中钙化结节的形成，以及抑制瓣膜间质细胞中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的蛋白表达水平，这提示 DPP-4 的底物可能与炎症相关 [68]。

4. TGF- β ：TGF- β 1 是一种多功能细胞因子，参与大多数慢性炎症性疾病过程，几乎可以影响全身所有器官 [69]。TGF- β 1 属于转化因子超家族，与细胞表面的 TGF- β 受体结合，下游信号通过经典的 SMAD 通路或者丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）-p38 非经典通路传导。生理情况下，瓣膜中的 TGF- β 1 主要由瓣膜内皮细胞表达和分泌，基线水平的 TGF- β 1 可维持细胞外基质稳态和抑制钙化 [47]。瓣膜内皮细胞特异性 TGF- β 1 敲除小鼠会出现瓣膜钙化和功能障碍 [47]。健康成年小鼠的主动脉瓣能够在瓣膜内皮受到轻度损伤后恢复内皮屏障功能，表现为损伤后短期内皮细胞中富集的 TGF- β 1 急剧增加和瓣膜间质内胶原三螺旋重复蛋白 1 上调，瓣膜内皮细胞和瓣膜间质细胞之间的旁分泌 TGF- β 1-胶原三螺旋重复蛋白 1 信号轴促进瓣膜细胞的增殖与修复；这种反应在衰老的成年小鼠中受损 [70]。TGF- β 1 可促进早期的修复反应，这是有益的；然而，当其持续存在时也可导致纤维化和钙化性主动脉瓣狭窄 [71]。病理情况下，血流动力学紊乱会诱导瓣膜内皮细胞 [72] 和血小板 [69, 73] 释放过

多的 TGF- β 1, 引起瓣膜间质细胞的持续性激活, 促进 CAVD 的进展。免疫组化显示, 在钙化的狭窄主动脉瓣叶中, 细胞外基质的 TGF- β 1 显著增高, 而在正常瓣膜中, TGF- β 1 没有或仅在细胞内有局灶性 TGF- β 1 免疫阳性 [74]。在体外培养条件下, TGF- β 1 对瓣膜间质细胞的效应体现了一定的矛盾性: 部分研究提示 TGF- β 1 可以促进瓣膜间质细胞向成骨细胞分化以及钙化的发生 [74-76], 而部分研究提示 TGF- β 1 促进瓣膜间质细胞向肌成纤维方向分化, 抑制其成骨分化 [20, 47, 77]。这些研究结果的差异可能归于所提取细胞、培养底物、诱导培养基以及培养时间的差异, 并且向肌成纤维样细胞分化以及向成骨细胞分化不是完全孤立的, 有研究提出二者存在一定的交叉性, 肌成纤维样激活对于成骨样分化和钙化是必需的 [11]; 另外, 也有研究显示, 高脂喂养的 apo E-/- 小鼠, TGF- β 1 在第 2 个月时最高, 在 4、6 个月反而逐步下降, TGF- β 1 的高峰出现时间要早于碱性磷酸酶, 提示其在瓣膜钙化的早期阶段升高 [78]。

5. 其他因素: 关于钙粘蛋白 11, 目前的研究主要集中在瓣膜间质细胞, 其与瓣膜间质细胞肌成纤维细胞活化、结节形成和 CAVD 相关 [40, 79]。有研究表明主动脉侧瓣膜内皮细胞比心室侧瓣膜内皮细胞表达更高水平的钙黏蛋白 11, 且主动脉瓣侧瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞共培养所导致的凝胶收缩程度要高于心室侧瓣膜内皮细胞, 这与已知的主动脉侧瓣膜更易发生钙化相一致 [80]。这提示瓣膜内皮细胞在调节瓣膜间质细胞收缩和钙化中的潜在作用, 但是这一效应是否直接通过钙粘蛋白 11 介导还有待确认。

成纤维细胞生长因子 2 被认为是健康瓣膜组织中维持瓣膜间质细胞处于静息状态的关键因子 [81]。免疫组化结果显示, 部分瓣膜内皮细胞与瓣膜间质细胞中有成纤维细胞生长因子 2 表达, 且钙化瓣膜中两种细胞表达成纤维细胞生长

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/836242213020011012>