

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00787

抗血小板药阿司匹林对内皮祖细胞的影响

李张鹏¹, 邓亚萍¹, 赵婷¹, 倪敏², 沈甫明^{1*}

1. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433
2. 第二军医大学长征医院药剂科, 上海 200003

[摘要] 内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)自1997年被发现和认识后,改变了人们对血管生成的认知。EPCs在特定的细胞因子诱导下分化为血管内皮细胞,并参与血管新生。随着对EPCs研究的深入,其在心血管疾病发病机制和治疗方面的研究也有了重大突破。阿司匹林具有抗血小板聚集作用,被广泛应用于脑卒中、心肌梗死等心血管疾病的一级、二级预防。近年研究发现,低剂量阿司匹林通过其抗血小板聚集作用可增强EPCs功能,改善血管内皮功能,进而恢复内皮依赖性血管舒张功能。因此,了解阿司匹林对EPCs的影响及其可能的机制具有重要的临床意义。

[关键词] 内皮祖细胞;阿司匹林;新生血管化;细胞运动;细胞黏附

[中图分类号] R 972.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)07-0787-03

Effects of antiplatelet drug aspirin on endothelial progenitor cells

LI Zhang-peng¹, DENG Ya-ping¹, ZHAO Ting¹, NI Min², SHEN Fu-ming^{1*}

1. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Department of Pharmacy, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

[Abstract] Endothelial progenitor cells (EPCs) were discovered in 1997 and brought new insights for angiogenesis. EPCs can differentiate into mature endothelium and take part in angiogenesis. Studies have found that EPCs is a promising candidate for treating cardiovascular disease. Aspirin has antiplatelet effect and is widely used for prevention of stroke and cardiac infarction. Low dose of aspirin can improve EPCs function through antiplatelet effect, improve endothelial function, and restore the endothelium-dependent vasodilatation. Therefore it is of great significance to understand the effect of aspirin on EPCs and the related mechanisms.

[Key words] endothelial progenitor cells; aspirin; neovascularization; cell movement; cell adhesion

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(7):787-789]

内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是一种来源于骨髓、能在体外扩增并分化为内皮细胞、在体内缺血组织中与原有的成熟内皮细胞融合形成新生血管的前体细胞^[1]。EPCs在特定的细胞因子诱导下分化为血管内皮细胞,并参与血管新生,其在心血管疾病发病机制和治疗方面也具有重要意义^[2]。阿司匹林(aspirin)是临床常用的抗血小板聚集药物,可防止血栓形成,被广泛应用于心血管疾病的一级、二级预防^[3-4]。近年研究发现,低剂量阿司匹林通过其抗血小板聚集作用可增强EPCs功能,改善血管内皮功能,进而恢复内皮依赖性血管舒张功能。本文就阿司匹林与EPCs的关系作一综述,为进一步了解阿司匹林对EPCs的影响及其可能的机制提供参考。

1 EPCs 概述

1997年,Asahara等^[5]首次在成人外周血中分离出来源于CD34⁺单核细胞的细胞,将其命名为EPCs。1999年Takahashi等^[6]发现EPCs能被募集到新生血管部位,促进生理和病理性血管生成。2003年Werner等^[7]发现循环中EPCs有促进内皮再生及血管修复的功能。同年Hill等^[8]发现EPCs可阻碍危险因素诱导的进行性内皮细胞损伤。目前,普遍认为能够表达胎肝激酶1(fetal liver kinase-1, Flk-1)、CD34、CD146、von Willebrand factor (vWF),并且能够摄取乙酰化低密度脂蛋白(acetylated low-density lipoprotein, ac-LDL)的细胞是EPCs^[1,9]。实验室通常用流式细胞仪将具有干细胞特征(表达Sca-1)和内皮细胞特征(表达Flk-1)的

[收稿日期] 2013-04-03 **[接受日期]** 2013-07-09

[作者简介] 李张鹏,硕士生. E-mail: lzp_0326@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81871276, E-mail: fumingshen@126.com

细胞定义为 EPCs, 以免疫荧光 ac-LDL 和 lectin 呈双阳性予以进一步确认^[10]。

EPCs 主要来源于成体骨髓, 现已证实人脐静脉血、成人外周血及骨髓中均存在 EPCs, 且人脐静脉血、外周血中的 EPCs 均来源于骨髓^[11-12]。此外在心脏、血管、脂肪组织和骨骼肌等外周组织中也发现 EPCs 的存在^[13]。

EPCs 不仅参与人胚胎血管生成, 也参与出生后血管新生和内皮损伤后的修复过程。心肌梗死、脑卒中等心血管疾病会使 EPCs 的数目和功能明显降低, 促进动脉粥样硬化和血栓形成^[14]。随着对 EPCs 的诱导、培养、鉴定、分化、迁移及归巢等的广泛研究, 将其用于临床心血管疾病治疗的研究也有了巨大的突破; EPCs 可以促进心肌梗死后梗死区域内的毛细血管新生, 改善心脏功能, 同时也是构建心血管组织工程的新生力量^[15]。

2 阿司匹林对 EPCs 的影响

2.1 阿司匹林对 EPCs 数目的影响 循环中 EPCs 的数目是 EPCs 动员最直观、最简单的指标。Lou 等^[16]采用流式细胞术计数的方法, 证明高剂量长时间服用阿司匹林治疗的患者体内循环中 EPCs 的数目会明显减少, 而短期暴露于不同剂量的阿司匹林对内皮祖细胞数目的影响并不明确, 认为时间效应在阿司匹林对 EPCs 数目的影响中作用更大。

2.2 阿司匹林对 EPCs 功能的影响 EPCs 修复血管内皮的过程是一个复杂的调节过程, 除 EPCs 动员外, 小管新生、黏附、迁移等功能也是 EPCs 参与新生血管形成的重要标志。文献指出从人外周血分离、培养获得的 EPCs, 其增殖、迁移、黏附和体外血管形成能力可分别通过 MTT 比色法、Boyden 小室、黏附能力测定实验和体外血管形成试剂盒检测^[17]。研究显示正常人外周血 EPCs 体外培养 7 d 后, 给予不同剂量(1、2、5、10 mmol/L)阿司匹林培养 3、6、12、24 h 后, EPCs 的迁移功能、黏附功能、增殖能力以及血管新生能力都会随阿司匹林浓度和作用时间的增加而降低^[18]。另有研究指出低剂量(浓度为 0.1~100 $\mu\text{mol/L}$)阿司匹林刺激 EPCs 时, 其迁移和黏附功能随着使用剂量的增加而增强, 浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时迁移和黏附功能达到最强; 但是 0.1~100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的阿司匹林刺激 EPCs 时, 其增殖能力并没有明显的改变^[19]。从正常人外周血提取分离出的 EPCs 体外培养 7 d 后, 给予低剂量阿司匹林

(50~100 $\mu\text{mol/L}$)刺激可减少衰老细胞百分比, 进而实现 EPCs 衰老的预防^[19]。

综上所述, 低剂量(0.1~100 $\mu\text{mol/L}$)阿司匹林具有增强 EPCs 功能的作用, 这与临床上心脑血管疾病患者抗血小板治疗剂量的血药浓度相一致, 提示抗血小板药物阿司匹林预防和治疗心脑血管疾病的作用至少部分是通过改善 EPCs 功能实现的。

2.3 疾病状态下阿司匹林对 EPCs 的影响 川崎病是一种全身血管炎症性疾病, 它所导致的冠状动脉病变是儿童获得性心脏病的主要原因。2011 年的一项研究指出: 人丙种球蛋白(IVIG)和阿司匹林联合治疗可显著改善川崎病患者循环 EPCs 的增殖、迁移和贴壁功能^[20]。阿司匹林高敏性冠状动脉疾病患者使用 EPCs 捕获支架, 不论阿司匹林能否脱敏都可以加快内皮血管再生^[21]。

阿司匹林的抗血小板聚集作用主要是通过使 COX 丝氨酸位点乙酰化从而阻断催化位点与底物的结合, 导致 COX 永久失活, 进一步防止血栓素 A₂ (TXA₂)的生成。有研究指出, 在防治癌症的抗血管生成策略中, 骨髓来源的 EPCs 将会作为抗 COX-2 治疗的一个新靶点, COX-2 抑制剂通过在体外诱导细胞周期阻滞和增加细胞凋亡减少 EPCs 的增殖^[22]。这与之前阐述的阿司匹林对 EPCs 的作用相反。COX 在体内有两种同工酶: COX-1 与 COX-2, 两者都作用于花生四烯酸产生相同的代谢产物前列腺素 G₂ (PGG₂)和 PGH₂。COX-1 是结构酶, 正常生理情况下即存在, 主要介导生理性前列腺素类物质形成。COX-2 是诱导酶, 在炎性细胞因子的刺激下大量生成, 主要存在于炎症部位, 促使炎性前列腺素类物质的合成。阿司匹林是 COX 的抑制剂, 它可同时抑制 COX-1 和 COX-2, 导致 COX 永久性失活。虽然研究发现抗癌治疗中 COX-2 抑制剂可诱导细胞周期阻滞和增加细胞凋亡进而减少 EPC 的增殖^[22]; 然而在防治心脑血管疾病过程中, 阿司匹林作为抗血小板药物改善 EPCs 的功能和血管新生, 则可能是通过抑制 COX-1 实现的。

3 展 望

本文将抗血小板药物阿司匹林对 EPCs 数量和功能的影响进行了综述, 并探讨了阿司匹林在疾病状态下对 EPCs 的影响。阿司匹林抗血小板作用主要用于心肌梗死、脑卒中等心脑血管疾病的预防和治疗, 这些疾病的预后与血管新生密切相关, 而 EPCs 在特定细胞因子的诱导下可以分化为血管内

皮细胞,参与血管新生。

已有文献着重于探讨阿司匹林对 EPCs 数目和功能的影响,而关于 EPs 对疾病发生后血管新生的作用还不是很明确,更鲜有涉及其中的机制。因此我们认为进一步深入研究抗血小板药物阿司匹林对 EPCs 数目和功能的影响,并阐述其可能的机制,将会为心脑血管疾病的预防和治疗提供参考。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Zhao T, Li J, Chen A F. MicroRNA-34a induces endothelial progenitor cell senescence and impedes its angiogenesis via suppressing silent information regulator 1 [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 299: E110-E116.
- [2] Li D W, Liu Z Q, Wei J, Liu Y, Hu L S. Contribution of endothelial progenitor cells to neovascularization (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30: 1000-1006.
- [3] Antithrombotic Trialists' (ATT) Collaboration; Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, Peto R, et al. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials [J]. *Lancet*, 2009, 373: 1849-1860.
- [4] Hennekens C H. Aspirin in the primary prevention of myocardial infarction [J]. *Clin Chem*, 2012, 58: 303-304.
- [5] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, Silver M, van der Zee R, Li T, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. *Science*, 1997, 275: 964-967.
- [6] Takahashi T, Kalka C, Masuda H, Chen D, Silver M, Kearney M, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization [J]. *Nat Med*, 1999, 5: 434-438.
- [7] Werner N, Junk S, Laufs U, Link A, Walenta K, Bohm M, et al. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury [J]. *Circ Res*, 2003, 93: e17-e24.
- [8] Hill J M, Zalos G, Halcox J P, Schenke W H, Waclawiw M A, Quyyumi A A, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348: 593-600.
- [9] Wang X R, Zhang M W, Chen D D, Zhang Y, Chen A F. AMP-activated protein kinase rescues the angiogenic functions of endothelial progenitor cells via manganese superoxide dismutase induction in type 1 diabetes [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2011, 300: E1135-E1145.
- [10] 邓亚萍, 赵婷, 倪敏, 谢和辉, 沈甫明. eNOS: 糖尿病内皮祖细胞功能失调的一个关键因素 [J]. *中国药理学通报*, 2012, 28: 901-903.
- [11] Murohara T, Ikeda H, Duan J, Shintani S, Sasaki K, Eguchi H, et al. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization [J]. *J Clin Invest*, 2000, 105: 1527-1536.
- [12] Hur J, Yoon C H, Kim H S, Choi J H, Kang H J, Hwang K K, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovascularization [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24: 288-293.
- [13] Martínez-Estrada O M, Muñoz-Santos Y, Julve J, Reina M, Vilaró S. Human adipose tissue as a source of Flk-1⁺ cells: new method of differentiation and expansion [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65: 328-333.
- [14] Ghani U, Shuaib A, Salam A, Nasir A, Shuaib U, Jeerakathil T, et al. Endothelial progenitor cells during cerebrovascular disease [J]. *Stroke*, 2005, 36: 151-153.
- [15] 刘隽炜, 董念国. 内皮祖细胞研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2011, 32: 528-531.
- [16] Lou J, Povsic T J, Allen J D, Adams S D, Myles S, Starr A Z, et al. The effect of aspirin on endothelial progenitor cell biology: preliminary investigation of novel properties [J]. *Thromb Res*, 2010, 126: e175-e179.
- [17] Chen J Z, Zhu J H, Wang X X, Zhu J H, Xie X D, Sun J, et al. Effects of homocysteine on number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, 36: 233-239.
- [18] Chen T G, Chen J Z, Xie X D. Effects of aspirin on number, activity and inducible nitric oxide synthase of endothelial progenitor cells from peripheral blood [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27: 430-436.
- [19] Hu Z, Zhang F, Yang Z, Zhang J, Zhang D, Yang N, et al. Low-dose aspirin promotes endothelial progenitor cell migration and adhesion and prevents senescence [J]. *Cell Biol Int*, 2008, 32: 761-768.
- [20] Xu M G, Men L N, Zu Y, Zhao C Y, Meng X C, Wang T. The functions of endothelial progenitor cells were significantly improved after treatment with intravenous immunoglobulin and aspirin in children with Kawasaki disease [J]. *Pediatr Cardiol*, 2011, 32: 455-460.
- [21] Jim M H, Yung A S, Tang G K, Fan K Y, Chow W H. Successful use of endothelial progenitor cell capture stents in a coronary artery disease patient with aspirin hypersensitivity who failed initial aspirin desensitization [J]. *Int J Cardiol*, 2011, 148: 350-351.
- [22] Colleselli D, Bijuklic K, Mosheimer B A, Kähler C M. Inhibition of cyclooxygenase (COX)-2 affects endothelial progenitor cell proliferation [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312: 2933-2941.