

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.07.012

文章编号: 1005-8982 (2019) 07-0061-05

综述

周细胞在脑卒中发病机制中的作用*

马蓉¹, 王光明²

(1. 大理大学临床医学院, 云南 大理 671000; 2. 大理大学第一附属医院 基因检测中心, 云南 大理 671000)

摘要: 脑卒中是一种突发的脑血液循环障碍性疾病, 研究表明星形胶质细胞和小胶质细胞在脑卒中发病机制中扮演了重要的角色, 周细胞在脑卒中的进展和痊愈中也发挥了重要的作用。作为周围血管的多潜能细胞和参与血脑屏障 (BBB) 的主要细胞成分, 周细胞具有包括作为干细胞和祖细胞, 维持 BBB 完整性等多种功能。该文将对周细胞在脑卒中发病机制中的作用, 尤其是影响脑血流、BBB 完整性、血管发生、免疫反应、疤痕形成及纤维化等方面作一个综述。

关键词: 卒中; 血脑屏障; 周细胞

中图分类号: R743.3

文献标识码: A

Role of pericytes in pathogenesis of stroke*

Rong Ma¹, Guang-ming Wang²

(1. School of Medicine, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China; 2. Gene Test Center, The First Affiliated Hospital of Dali University, Dali, Yunnan 671000, China)

Abstract: Stroke is a cerebrovascular disorder of blood circulation. Studies have shown that astrocytes, microglia and pericytes play an important role in the pathogenesis of stroke. As perivascular multi-potent cells and an important component of the blood-brain barrier (BBB), pericytes have been shown to exert various functions including differentiation and maintaining BBB integrity. Here in this review, we summarize the roles of pericytes in stroke focusing on cerebral blood flow, BBB integrity, angiogenesis, immune responses, scar formation and fibrosis.

Keywords: stroke; blood-brain barrier; pericyte

脑卒中是一种突发的脑血液循环障碍性疾病, 全球每年约有 1 500 万脑卒中患者, 其中 20% 是致死的, 50% 以上的患者失去生活自理能力^[1-2]。根据血管堵塞或者破裂, 从广义上可以将脑卒中分为缺血性脑卒中和出血性脑卒中。缺血性脑卒中约占脑卒中的 85% 以上, 在中国所占比例逐年增加, 且出现年轻化趋势, 并已成为第一位致残和致死原因, 由此造成了严重的经济和社会负担。因此, 深入了解脑卒中的发病机制对脑卒中的有效预防和治疗显得尤为重要^[3-4]。

脑卒中发生时, 将导致包括脑血流紊乱、血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 崩溃、炎症、胶质细胞激活、血管结构改变及神经元死亡等一系列的分子和细胞事件的发生^[5]。KIM^[6]和 BECERRA-CALIXTO^[7]研究认为, 星形胶质细胞、小胶质细胞及炎症细胞参与了脑卒中的病理发生过程。近年来显示, 周细胞在脑卒中的进展和痊愈中也发挥了重要的作用。周细胞在脑卒中的发病机制中将影响包括脑血流、BBB 完整性、血管发生、免疫反应、疤痕形成及纤维化等方面的作用, 而上述

收稿日期: 2018-10-29

* 基金项目: 云南省中青年学术技术带头人后备人才基金 (No: 2014HB025)

[通信作者] 王光明, E-mail: gmwang1991@gmail.com

功能的发生依赖于周细胞与星形胶质细胞和内皮细胞等其他细胞间精确的相互作用和信号传导。本文对周细胞在缺血性和出血性脑卒中的发病机制中的作用,尤其是影响脑血流、BBB 完整性、血管发生、免疫反应、疤痕形成及纤维化等的生物学机制进行阐述。

1 周细胞的分布及生物学特性

1.1 周细胞的分布

周细胞是组成血管壁的多潜能细胞,位于毛细血管基膜侧。中枢神经系统的周细胞来源于神经壳细胞,而非中枢神经系统的器官、系统中的周细胞来源于间充质^[8]。周细胞的不同胚胎来源提示周细胞在中枢神经系统和非中枢神经系统中具有不同的生理功能。

1.2 周细胞的生物学特性

虽然周细胞与其他细胞被基膜分隔开,但是周细胞与内皮细胞间相互作用形成了紧密连接和缝隙连接等,另外,周细胞与内皮细胞间的相互作用参与了包括血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子 β (transforming growth factor-beta, TGF- β)等信号通路^[9]。在人类中,周细胞与内皮细胞间的相互作用及信号通路的缺失将导致包括糖尿病肾病、肿瘤发生、脑卒中等多种病理变化^[8-9]。内皮细胞分泌的 PDGF 能够募集周细胞,介导内皮细胞与周细胞间的相互接触,并覆盖在新生血管上。募集的周细胞与新生血管的屏障功能密切相关。体外研究认为周细胞通过释放促血管新生蛋白因子以诱导合成组成紧密连接的蛋白等,提示周细胞-内皮细胞间的相互作用可以维持 BBB 的完整性,体内试验发现周细胞募集减少后周细胞对紧密连接蛋白表达的影响消失^[10]。

与周细胞相互作用的另外一种细胞是星形胶质细胞。在血管形成过程中,周细胞募集后,星形胶质细胞也募集在血管周围。星形胶质细胞通过 WNT 等信号通路调节紧密连接的完整性。另外,星形胶质细胞在血管-神经元接触面通过离子通道和伪足上表达的水通道蛋白 4(Aquaporin-4, AQP-4)等转运分子起保护 BBB 的特性,而位于星形胶质细胞和内皮细胞间的周细胞,可以调节星形胶质细胞的功能,周细胞通过与星形胶质细胞和内皮细胞的相互作用参与 BBB 完整性的形成和维持。

2 周细胞在脑卒中发生发展中的作用

2.1 脑卒中时周细胞与脑血流

周细胞是否调节脑血流还存在争议。一方面,有研究显示周细胞可以影响脑血流,电子显微镜研究发现周细胞的骨架分子结构与平滑肌细胞相似,并在大鼠大脑中的周细胞上得到证实;另外,在脑组织细胞培养研究发现,与收缩和舒张有关的蛋白在周细胞中均表达,提示周细胞具有收缩和舒张的功能;体外研究显示大鼠脑组织中的周细胞能够对钙离子的刺激产生收缩和舒张的反应进一步支持上述观点^[11]。利用大鼠脑片培养,PEPPIATT 等^[12]发现化学刺激(三磷酸腺苷和去甲肾上腺素)和电刺激可以诱导周细胞介导的毛细血管收缩,同时谷氨酸盐可以逆转去甲肾上腺素诱导的血管收缩,说明在生理条件下周细胞可以参与调控脑血流。

另外,在诸如脑卒中等病理条件下也观察到周细胞的收缩。在脑卒中过程中,收缩的周细胞在毛细血管收缩部位包裹红细胞,从而导致微循环障碍。HALL 等^[13]利用体内缺血研究发现周细胞挤压毛细血管并且快速死亡,进一步研究发现死亡的周细胞会导致毛细血管的长期持续收缩,使得即使动脉血流恢复后,脑血流缺血时间延长。虽然周细胞以收缩和死亡的方式调节脑血流,参与了脑卒中的病理变化,但是其精确的分子机制需要进一步研究。

另一方面,有部分研究认为周细胞不能够收缩和调节脑血流。HILL 等^[14]利用不同的转基因小鼠研究时在周细胞上不能检测到 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达,利用短暂大脑中动脉闭塞模型(transient middle cerebral artery occlusion, MCAO)研究发现平滑肌细胞收缩,而不是周细胞收缩导致微血管堵塞,指出是组成毛细血管的平滑肌细胞而不是周细胞在生理和病理生理条件下影响脑血流^[14]。造成矛盾的原因可能是由于组成毛细血管的周细胞和平滑肌细胞在生化、结构和功能特性具有相似性,导致难于区分。

与缺血性脑卒中比较,出血性脑卒中的脑血流研究较少。周细胞在出血性脑卒中是否具有调节脑血流的功能还不清楚,该问题的研究将丰富相关研究者对出血性脑卒中周细胞生物特性及其功能的理解。

2.2 脑卒中时周细胞与 BBB

BBB 是一个位于中枢神经系统和循环系统间的

动态结构,中枢神经系统和循环系统间通过 BBB 进行物质交换,以维持中枢神经系统内环境的动态平衡^[15]。BBB 损坏是脑卒中一种结果,同时 BBB 损坏还能够进一步加强脑卒中的损伤^[16]。脑卒中时, BBB 紧密连接遭到破坏,形成和维持 BBB 的周细胞、星形胶质细胞等受到损伤,连接复合体上闭合蛋白减少,跨内皮细胞电阻减小, BBB 通透性增加^[17]。作为组成 BBB 主要成分的周细胞通过调节 BBB 完整性以影响卒中的病理发生。周细胞对血管的包被的减少会影响血管完整性并导致出血性脑卒中。在出血性脑卒中发展和恢复过程中,周细胞经募集后通过 PDGF B-PDGFR β 轴参与形成血管^[18]。周细胞募集后将包被在血管内皮细胞上以减少血管的通透性和稳定血管的结构^[8]。PDGF B 或 PDGFR β 发生突变后,周细胞的募集效应消失,结果导致 BBB 严重紊乱和大量出血^[18],说明周细胞包被在血管上对维持血管的完整性具有重要作用,周细胞的丧失将导致出血性脑卒中。

周细胞的非正常分化与 BBB 的功能紊乱和颅内出血相关。星形胶质细胞来源的层黏连蛋白缺失将诱导脑内周细胞的异常分化,导致 BBB 的功能紊乱和颅内出血^[19]。周细胞特异表达的叉头转录因子基因 *FOXF2* (forkhead transcription factor 2) 与脑卒中高风险有关^[20]。在小鼠胚胎及成年时期, *FOXF2* 基因未激活将引起周细胞分化异常,导致 BBB 故障^[20]。

虽然没有直接证据表明周细胞功能紊乱与缺血性脑卒中有关,但是周细胞将通过影响血管完整性以间接的参与缺血病理变化。例如,与周细胞存活密切相关的基因 *Notch3* 突变后,将出现遗传性有关的脑卒中疾病;也有证据显示周细胞可以调节 BBB 完整性,通过 VEGF、活性氧类 (reactive oxygen species, ROS) 或 NADPH 氧化酶 4 (NADPH oxidase 4, NOX4) 等途径以影响缺血损伤^[21]。

2.3 脑卒中时周细胞的血管生成特性

血管发生是正常和病理条件下的重要的过程^[22]。对包括 PDGF B-PDGFR β 等信号通路研究证明,血管发生过程中产生的内皮细胞可以募集周细胞,而募集的周细胞可以稳定新生血管^[8]。脑卒中是由于血管堵塞或者破裂引起的脑血管疾病,在损伤区域血管再生可以促进脑卒中的恢复。由于周细胞在血管发生过程中具有重要作用,因此可假设周细胞将通过调节血管发生以促进卒中的恢复。

在缺血性脑卒中中,有大量的数据支持周细胞通

过调节血管发生以促进卒中恢复的假设。首先,与血管发生密切血管的因子 VEGF, TGF- β 等在周细胞上表达^[23],并且在不同类型的啮齿类缺血性脑卒中其表达是不同的。其次,移植血管来源的周细胞的前体细胞到心梗模型中发现,周细胞的前体细胞通过血管发生,存活以及抗纤维化等以产生有益的作用^[24]。与之相似的是,骨髓来源的周细胞在缺血模型的血管再生中也具有重要作用。有研究发现,移植到小鼠缺血脑组织中的骨髓细胞可以分化为小胶质细胞和周细胞^[25],而分化形成的周细胞表达 VEGF, TGF- β 等,说明周细胞参与缺血后的血管生成和血管稳定。进一步在小鼠脑 MCAO 模型的研究发现利用重组的 VEGF 可以使毛细血管密度和周细胞对血管的覆盖度增加,改善脑组织的能量状态和血流,减小脑坏死体积^[26],说明周细胞在缺血性脑卒中可以通过促进血管生成以产生有益的效应。

部分研究认为在缺血性脑卒中中,血管再生是有害的。在缺血时促进 VEGF 的表达,会引起内皮细胞间连接的崩解,血管通透性增加,然后导致出血^[27]。在小鼠脑 MCAO 模型中应用 VEGF 拮抗剂会较少出血和减轻组织损伤。因此,由于不同的动物模型、损伤类型等,周细胞在缺血性脑卒中中可能具有双相作用。

与缺血性脑卒中不同的是,出血性脑卒中中周细胞的血管发生作用研究很少。周细胞的血管再生作用在对出血性脑卒中的益处还需要进一步研究。

2.4 脑卒中时周细胞的免疫特性

周细胞参与中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 中的先天性免疫和获得性免疫反应。针对啮齿类和人类的大量研究证实,周细胞对促炎信号产生反应,并且可以释放抗炎症因子和细胞因子。在正常生理条件下,小鼠脑内的周细胞可以产生粒细胞集落刺激因子 (granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、IL-1 α 、IL-6、单核细胞趋化蛋白 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 及一氧化氮 NO 等^[28]。在脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 诱导的炎症反应中,除上述细胞因子和趋化因子外,还表达其他许多因子^[28]。最近有学者提出,根据 CD90 的表达的不同,可以把周细胞分为两种类型^[29]。体外研究表明与 CD90 阴性的周细胞比较, CD90 阳性的周细胞表达低水平的周细胞标志和细胞外基质蛋白,有较高的基础增殖率,较

弱的促炎反应^[29]，说明周细胞是异质性的细胞群，不同的亚群其生物学功能明显不同。

与诸如树突状细胞和巨噬细胞等抗原呈递细胞相似的是，周细胞表面表达与获得性免疫相关的识别抗原的细胞表面分子。原代培养的大鼠 CNS 周细胞，组织性的表达主要组织相容性复合物（major histocompatibility complex, MHC）I 型和 II 型分子，并能够呈递抗原到处女型 T 淋巴细胞^[30]，说明周细胞具有免疫细胞样的特性及参与调节免疫反应。

脑卒中是在脑组织中的包括局部炎症反应和增强的免疫反应的神经症状，在缺血引起 CNS 受损时，周细胞可以转化为小胶质细胞和巨噬细胞，并发挥小胶质细胞样的功能，但是在出血性脑卒中，周细胞是否具有类似的功能还不清楚。

2.5 脑卒中时周细胞与疤痕形成及纤维化

在 CNS 损伤时，胶质细胞激活并且参与损伤周围胶质细胞样疤痕形成。疤痕组织的功能是阻止有害物质进入 CNS，但长期的疤痕会抑制轴突的再生和延缓恢复过程，导致纤维化^[31]。

最近的研究显示，周细胞参与了疤痕的形成和器官纤维化。在脊髓损伤模型以及缺血性脑卒中模型中，周细胞是形成胶质细胞样疤痕的主要细胞类型^[32]，但是在出血性脑卒中，周细胞是否参与其中及其如何参与疤痕形成和纤维化还不清楚。

3 展望

随着对周细胞的生物学特性及其功能相关知识的增加，利用周细胞进行治疗的策略在逐渐形成并进行验证。例如在急性心梗模型中，移植微血管来源的周细胞可以减轻心室扩张、改善心脏收缩、减少心肌纤维化，并在损伤区域减少免疫细胞浸润，已证实周细胞比心肌细胞的前体细胞的治疗效果更好^[33]。

虽然周细胞如何调节脑卒中中的病理发生取得重大进步，但是仍然有一些问题需要进一步研究。首先没有非常特异的周细胞的生物标志可以获得，其次周细胞的异质性，将来的研究工作应该是找到周细胞及周细胞亚群特异的生物标志来鉴定周细胞及其亚群，最后与缺血性脑卒中比较，出血性脑卒中方面的研究更少。对这些问题，将促使本科室去研究和发现细胞类型特异及亚型特异，以促进周细胞治疗卒中的有效性和创新性。

参 考 文 献:

- [1] FAVATE A S, YOUNGER D S. Epidemiology of ischemic stroke[J]. *Neurol Clin*, 2016, 34(4): 967-980.
- [2] THRIFT A G, THAYABARANATHAN T, HOWARD G, et al. Global stroke statistics[J]. *Int J Stroke*, 2017, 12(1): 13-32.
- [3] SUN J, GUO Y, WANG X, et al. Health for aging China: opportunities and challenges[J]. *Aging Dis*, 2016, 7(1): 53-67.
- [4] THRIFT A G, HOWARD G, CADILHAC D A, et al. Global stroke statistics: an update of mortality data from countries using a broad code of "cerebrovascular diseases"[J]. *Int J Stroke*, 2017, 12(8): 796-801.
- [5] TERASAKI Y, LIU Y, HAYAKAWA K, et al. Mechanisms of neurovascular dysfunction in acute ischemic brain[J]. *Curr Med Chem*, 2014, 21(18): 2035-2042.
- [6] KIM J Y, PARK J, CHANG J Y, et al. Inflammation after ischemic stroke: the role of leukocytes and glial cells[J]. *Exp Neurobiol*, 2016, 25(5): 241-251.
- [7] BECERRA-CALIXTO A, CARDONA-GÓMEZ G P. The role of astrocytes in neuroprotection after brain stroke: potential in cell therapy[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 88.
- [8] ARMULIK A, GENOVÉ G, BETSHOLTZ C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises[J]. *Dev Cell*, 2011, 21(2): 193-215.
- [9] CHANG J, MANCUSO M R, MAIER C, et al. Gpr124 is essential for blood-brain barrier integrity in central nervous system disease[J]. *Nat Med*, 2017, 23(4): 450-460.
- [10] DANEMAN R, ZHOU L, KEBEDE A A, et al. Pericytes are required for blood-brain barrier integrity during embryogenesis[J]. *Nature*, 2010, 468(7323): 562-566.
- [11] NEUHAUS A A, COUCH Y, SUTHERLAND B A, et al. Novel method to study pericyte contractility and responses to ischaemia in vitro using electrical impedance[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37(6): 2013-2024.
- [12] PEPPIATT C M, HOWARTH C, MOBBS P, et al. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes[J]. *Nature*, 2006, 443(7112): 700-704.
- [13] HALL C N, REYNELL C, GESSLEIN B, et al. Capillary pericytes regulate cerebral blood flow in health and disease[J]. *Nature*, 2014, 508(7494): 55-60.
- [14] HILL R A, TONG L, YUAN P, et al. Regional blood flow in the normal and ischemic brain is controlled by arteriolar smooth muscle cell contractility and not by capillary pericytes[J]. *Neuron*, 2015, 87(1): 95-110.
- [15] PERSIDSKY Y, RAMIREZ S H, HAORAH J, et al. Blood-brain barrier: structural components and function under physiologic and pathologic conditions[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2006, 1(3): 223-236.
- [16] HALEY M J, LAWRENCE C B. The blood-brain barrier after stroke: structural studies and the role of transcytotic vesicles[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2017, 37(2): 456-470.
- [17] 金桐, 熊晓星, 纳米微粒与脑卒中的诊断和治疗 [J]. 卒中与神

- 经疾, 2018, 25(5): 597-600.
- [18] BJARNEGÅRD M, ENGE M, NORLIN J, et al. Endothelium-specific ablation of PDGFB leads to pericyte loss and glomerular, cardiac and placental abnormalities[J]. *Development*, 2004, 131(8): 1847-1857.
- [19] YAO Y, CHEN Z L, NORRIS E H, et al. Astrocytic laminin regulates pericyte differentiation and maintains blood brain barrier integrity[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3413.
- [20] Neurology Working Group of the Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE). Consortium, the Stroke Genetics Network (SiGN), and the International Stroke Genetics Consortium (ISGC). Identification of additional risk loci for stroke and small vessel disease: a meta-analysis of genome-wide association studies[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(7): 695-707.
- [21] NISHIMURA A, AGO T, KURODA J, et al. Detrimental role of pericyte Nox4 in the acute phase of brain ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(6): 1143-1154.
- [22] RIBATTI D, VACCA A, RONCALI L, et al. Angiogenesis under normal and pathological conditions[J]. *Haematologica*, 1991, 76(4): 311-320.
- [23] TEICHERT M, MILDE L, HOLM A, et al. Pericyte-expressed Tie2 controls angiogenesis and vessel maturation[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 16106.
- [24] AVOLIO E, MELONI M, SPENCER H L, et al. Combined intramyocardial delivery of human pericytes and cardiac stem cells additively improves the healing of mouse infarcted hearts through stimulation of vascular and muscular repair[J]. *Circ Res*, 2015, 116(10): e81-94.
- [25] KOKOVAY E, LI L, CUNNINGHAM L A. Angiogenic recruitment of pericytes from bone marrow after stroke[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26(4): 545-555.
- [26] ZECHARIAH A, ELALI A, DOEPPNER T R, et al. Vascular endothelial growth factor promotes pericyte coverage of brain capillaries, improves cerebral blood flow during subsequent focal cerebral ischemia, and preserves the metabolic penumbra[J]. *Stroke*, 2013, 44(6): 1690-1697.
- [27] WEIS S M, CHERESH D A. Pathophysiological consequences of VEGF-induced vascular permeability[J]. *Nature*, 2005, 437(7058): 497-504.
- [28] DOHGU S, BANKS W A. Brain pericytes increase the lipopolysaccharide-enhanced transcytosis of HIV-1 free virus across the in vitro blood-brain barrier: evidence for cytokine-mediated pericyte-endothelial cell crosstalk[J]. *Fluids Barriers CNS*, 2013, 10(1): 23.
- [29] PARK T I, FEISST V, BROOKS A E, et al. Cultured pericytes from human brain show phenotypic and functional differences associated with differential CD90 expression[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26587.
- [30] BALABANOV R, WASHINGTON R, WAGNEROVA J, et al. CNS microvascular pericytes express macrophage-like function, cell surface integrin alpha M, and macrophage marker ED-2[J]. *Microvasc Res*, 1996, 52(2): 127-142.
- [31] KAWANO H, KIMURA-KURODA J, KOMUTA Y, et al. Role of the lesion scar in the response to damage and repair of the central nervous system[J]. *Cell Tissue Res*, 2012, 349(1): 169-180.
- [32] GÖRTZ C, DIAS D O, TOMILIN N, et al. A pericyte origin of spinal cord scar tissue[J]. *Science*, 2011, 333(6039): 238-242.
- [33] CHEN C W, OKADA M, PROTO J D, et al. Human pericytes for ischemic heart repair[J]. *Stem Cells*, 2013, 31(2): 305-316.

(张西倩 编辑)