

细胞微环境在钙化性主动脉瓣疾病中的作用*

刘再强¹ 李秋焯¹ 王志坚^{1,2}

(1. 首都医科大学附属北京安贞医院, 北京 100029; 2. 首都医科大学附属北京安贞医院南充医院·南充市中心医院, 四川 南充 637000)

【摘要】 钙化性主动脉瓣疾病(CAVD)是心血管疾病死亡主要原因之一,其患病率和发病率逐年增加。CAVD的潜在机制复杂,其病理特征是瓣叶进行性纤维化增厚和瓣膜钙化,在病程后期出现左心室流出道梗阻,引发晕厥、黑矇等临床症状。目前除了通过手术解除主动脉瓣膜狭窄外,暂无有效的药物能够延缓CAVD进展。目前认为瓣膜间质细胞(VICs)表型转化是瓣膜钙化的细胞基础,其所处的细胞微环境改变是导致表型转化的重要因素之一。综合理解细胞微环境改变对VICs表型转化的作用,对全面理解CAVD并探究潜在治疗手段有很大帮助。本文就VICs所处的微环境如何影响CAVD的进展作一述评。

【关键词】 钙化性主动脉瓣疾病;细胞微环境;瓣膜间质细胞;瓣膜内皮细胞

【中图分类号】 R542.5+2 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2025.03.001

Role of cellular microenvironment in calcific aortic valve disease

LIU Zaiqiang¹, LI Qiuxuan¹, WANG Zhijian^{1,2}

(1. Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China;

2. Beijing Anzhen Nanchong Hospital of Capital Medical University, Nanchong Central Hospital, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 Calcific aortic valve disease (CAVD) is one of the main causes of death from cardiovascular diseases, and its incidence and prevalence are increasing year by year. The underlying mechanism of CAVD is complex, and its pathological features are progressive fibrosis and thickening of the valve leaflets, as well as calcification of the valve, leading to left ventricular outflow tract obstruction in the late stages of the disease, which causes syncope, blackouts, and other clinical symptoms. Currently, there are no effective drugs to delay the progression of CAVD, and surgical intervention to relieve the valve stenosis is the only option. It is currently believed that the phenotypic conversion of valve interstitial cells is the cellular basis of valve calcification, and the change of the cellular microenvironment in which they are located is one of the important factors leading to phenotypic conversion. Understanding the role of cellular microenvironment changes in valve interstitial cell phenotypic conversion is helpful for us to gain a comprehensive understanding of CAVD and explore potential treatment options. In this review, we describe how the microenvironment of the valve interstitial cells affects the progression of CAVD.

【Key words】 Calcific aortic valve disease; Cellular microenvironment; Valve interstitial cells; Valvular endothelial cells

基金项目:国家自然科学基金面上项目(82370449)

执行编委简介:王志坚,医学博士、心血管病学博士后、美国哈佛公共卫生学院流行病学硕士,首都医科大学附属北京安贞医院老年心血管中心副主任,北京安贞医院南充医院副院长,心血管内科主任医师,教授,博士研究生导师,国家卫计委冠心病介入培训导师。美国心脏病学会会员(FACC),中华医学会心血管病学分会代谢性心血管病学组委员,中国老年医学会青委会副主任委员,北京内科学会青年委员会委员,北京心血管病防治研究会会员,北京围手术期医学研究会常务委员,北京医师协会心脑血管健康慢病管理专家委员会委员。2023年入选北京市医院管理中心“登峰”人才培养计划。长期从事冠心病预防与治疗,目前个人完成介入治疗超万例,擅长左主干病变、慢性完全闭塞病变等复杂、高危的冠心病介入治疗手术。主持国家自然科学基金、北京市自然科学基金及首都卫生发展科研专项等科研课题多项。以第一或通信作者发表论著60余篇,其中SCI 30余篇。主编学术著作《冠状动脉搭桥术后再次血运重建策略》(人民卫生出版社),并参编著作多部,获多项中华医学科学技术奖。E-mail: zjwang1975@hotmail.com

引用本文:刘再强,李秋焯,王志坚.细胞微环境在钙化性主动脉瓣疾病中的作用[J].西部医学,2025,37(3):313-320. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2025.03.001

钙化性主动脉瓣疾病 (Calcific aortic valve disease, CAVD) 是目前世界范围内常见的与年龄相关的心脏瓣膜疾病^[1]。随着人均寿命年限升高,其逐渐成为我国老年人群中最常见的心脏瓣膜疾病,严重影响老年人群的生活质量并加重医疗卫生机构负担^[2-3]。CAVD 是一种以主动脉瓣小叶增厚、纤维化,或伴有瓣叶组织中钙化小结节沉积为特征的慢性疾病,存在两种主要形式^[4]:①主动脉瓣硬化,包括组织硬化、纤维化和早期钙化。②钙化性主动脉瓣狭窄,包括广泛钙化和瓣膜开口变窄。部分 CAVD 还可在数年内急速进展导致患者出现不良心血管事件,但其潜在的原因目前尚不明确。指南推荐对于 CAVD 的治疗仍以手术治疗为主,包括外科主动脉瓣置换术 (Surgical aortic valve replacement, SAVR) 和经导管主动脉瓣置换术 (Transcatheter aortic valve replacement, TAVR)^[5]等。目前国内外已开展多项随机临床对照实验积极探索治疗主动脉瓣狭窄的药物方案^[6-11],但还未发现对延缓主动脉瓣狭窄进展有积极作用的药物。

正常人类主动脉瓣膜小叶可分为纤维层(心室侧)、海绵层和弹性层(主动脉侧)三层结构。小叶表面覆以瓣膜内皮细胞 (Valve endothelial cells, VECs), VECs 直接接触血液,构成调节瓣膜通透性、炎症细胞粘附和旁分泌信号的屏障,但目前对于 VECs 是否属于纤维层或心室层仍存在争议^[12]。小叶三层结构中的间质成分主要是由瓣膜间质细胞 (Valvular interstitial cells, VICs) 和细胞外基质 (Extracellular matrix, ECM) 相互穿插组成。VICs 参与调节 ECM 的合成和降解,是瓣膜中最主要的细胞类型,也是瓣膜重塑的关键。随着目前科学技术手段的发展,如单细胞测序技术等,对于 VICs 的研究分析愈发细致。VICs 作为一种异质细胞群,具有多种细胞亚型,如成纤维样细胞、肌成纤维样细胞、成骨样细胞、平滑肌样细胞等,且不同细胞亚型之间在转录表达谱、细胞表面标志物等方面有着明显差异。ECM 中富含胶原蛋白、蛋白聚糖或弹性蛋白,为维持长时间重复周期性应变提供生物力学基础^[13]。纤维层和心室层分别面向主动脉和左心室,以周向分布的胶原蛋白和径向分布的弹性纤维组成^[14]。胶原蛋白保证了组织的张力强度,弹性纤维则为瓣叶提供了弹性,以确保在心室舒张期瓣叶完美闭合,防止反流^[15]。中间的海绵层由富含蛋白聚糖的疏松结缔组织组成,保证瓣膜组织的弹性和收缩性^[16]。

1978 年, R. Schofield 首次提出了“微环境”(Microenvironment 或 Niche) 假说来描述支持干细胞生

长的生理性微环境。随着研究深入,细胞微环境的概念逐渐丰富完整,目前主要指的是细胞周围的局部环境,包括 ECM、邻近细胞、溶解的分子(如生长因子和细胞因子)和物理信号(如机械压力和温度)等。微环境对细胞的行为、增殖和分化等有重要影响^[17-18]。目前研究表明,CAVD 的影响因素众多,主要涉及瓣膜内皮损伤、脂质沉积、炎症反应和氧化应激等^[19-20],具有成骨倾向和成纤维倾向的活跃 VICs 的瓣膜钙化的基础^[21-22]。VECs 及 VICs 所处的微环境动态改变,在瓣膜钙化的细胞转化过程中发挥重要作用^[23]。在特殊的微环境刺激下,VECs 发生上皮间质转化 (Endothelial to mesenchymal transition, EMT) 以及生理情况下保持静止状态的 VICs 被激活转化,均可成为具有成骨倾向和成纤维倾向的活跃 VICs。本文拟探讨在 CAVD 发生发展过程中细胞微环境改变对 VECs 和 VICs 的影响。

1 物理微环境与 CAVD

1.1 机械应力在瓣膜钙化中的作用 在心脏发育过程中,机械牵张力和血流剪切力等机械应力可激活胚胎内皮细胞中的 Notch1、WNT/ β -catenin、TGF-超家族成员(包括 TGF- β 和 BMP2)、血管内皮生长因子及其受体等信号通路^[24],使胚胎内皮细胞分化并逐渐形成心脏瓣膜。心脏瓣膜形成后就开始周期性的开闭,人的一生中大约要开闭 3 亿次^[24-25],自此瓣膜小叶开始长期接受机械牵张力和血流剪切力的刺激^[26]。Amoakwa 等^[27]发现高静息心率通过调节血流剪切力促进主动脉瓣钙化的进展。当机械牵张力和血流剪切力发生改变时对 VECs 和 VICs 产生的病理性刺激,目前被认为是 CAVD 的使动因素之一。

VECs 覆盖于瓣膜小叶表面,直接接受来自左心室和主动脉内的血流冲击,是感知机械应力环境异常的主要细胞,并可直接对机械刺激做出反应。Esmerats 等^[28]发现由于左心室和主动脉内血流动力学不同,瓣膜两侧的 VECs 基因表达存在一定差异。与心室侧的 VECs 相比,主动脉侧的 VECs 表达的抗钙化基因水平更低且更易产生钙化表型^[29],这与临床上观察的钙化瓣膜病理表现一致。在分子层面,血流动力学紊乱可破坏 VECs 中的 miR-483-ubiquitin E2 连接酶 C (UBE2C)-Von Hippel-Lindau (VHL)-缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 轴,激活炎症反应并促进 EMT^[30]。VECs 还可将机械应力信号传递到瓣膜内部,通过激活表面机械反应分子和信号通路直接影响 VICs,从而使 VICs 发生成纤维样分化和成骨样分化^[31]。

VICs 分布于瓣膜三层结构的间质之中,在瓣膜周期性开闭中接受各种组织牵拉和血流冲击。异常

的机械应力可导致 VICs 的物理屏障作用丧失,进而导致瓣膜组织受到慢性炎症刺激和脂质沉积等;此外也可以通过调控细胞内分子信号直接影响 VICs 功能,使其向成纤维样细胞和成骨样细胞转化^[31]。Bouchareb 等^[32]研究发现机械应力可异常激活 VICs 内的 RhoA/ROCK 信号通路导致瓣膜钙化。在体外对猪主动脉瓣小叶进行生理循环拉伸可促进 TGF- β 1 介导的 VICs 肌成纤维样细胞分化,同时使 ECM 中的胶原纤维含量增加^[33]。

1.2 体外瓣膜钙化模型中的力学环境应用 血流动力学异常在人体内或动物模型中对瓣膜钙化发生发展的影响是肯定的,为了更好的研究力学环境对细胞的影响作用,部分体外瓣膜钙化模型研究也对此类异常细胞微环境进行模拟。目前绝大多数 VICs 钙化模型仅涉及二维细胞培养,如 Jiang 等^[34]在体外利用磁扭流式细胞术(Magnetic twisting cytometry, MTC)对猪 VICs 施加微机械力,建立了 MTC 促钙化模型。但是二维细胞培养并不能客观的模拟实际微环境对细胞的影响,在研究细胞相互作用、调控和机制方面有一定的局限性^[35]。Shih 等^[36]开发了一种新的三维细胞培养平台以用于模拟不同力学条件下细胞生长情况,进一步探究力学刺激在瓣膜重塑中作用,推进未来的治疗和药理学研究。Tandon 等^[37]应用以胶原蛋白为基础的水凝胶构建了一个双层纤维和海绵状组织,将主动脉瓣 ECM、猪 VICs 和 VECs 共培养,并联合动态机械刺激建立了一种 3D 瓣膜芯片模型(Valve-on-chip, VOC)系统,能在体外较大程度还原瓣膜结构和机械应力,可成为探究 CAVD 启动过程的新体外模型。

2 VECs 在 CAVD 中的作用

2.1 VECs 损伤改变细胞微环境 机械应力紊乱及有害物质侵袭可引起 VECs 损伤,当 VECs 的修复能力不能代偿损伤时,其物理屏障功能丧失^[38],瓣膜组织的基底膜破裂并且内膜完整性被破坏,各种物质沉积于内皮下,改变 VICs 所处的微环境。

瓣膜内皮损伤后,血液中的 Lp(a)及载脂蛋白 B 等脂质成分沉积到内皮下,诱发瓣膜病变。Lp(a)可通过影响 VECs 中各种蛋白的表达,如细胞间黏附分子 1(ICAM-1)和血管细胞黏附分子 1(VCAM-1),导致细胞间粘附功能丧失^[39]。氧磷脂(OxPL)通过上调 PFKFB-3 表达影响细胞糖酵解过程,损伤细胞间粘附作用和内皮功能^[40]。Lp(a)和 OxPL 都能诱导 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)和糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)磷酸化,通过影响细胞收缩和 β -连环蛋白核易位^[41],协同促进 VICs、VEC 和巨噬细胞的炎症和

成骨作用^[38, 42]。Lp(a)携带的载脂蛋白 C-III 等物质可以使 VICs 线粒体功能障碍,上调白细胞介素 6(IL-6)和 BMP2 的表达,从而增强炎症和钙化作用^[43]。同时沉积在瓣膜中的低密度脂蛋白胆固醇(LDL)可以氧化形成氧化 LDL(ox-LDL),通过 Notch1 和 NF- κ B 途径促进 VICs 成骨样分化^[44]。

当内皮损伤后,不仅脂质成分可沉积到内皮下,血液中的巨噬细胞及血小板等也可黏附聚集于内皮下暴露的胶原纤维中^[29],通过重塑间质内 ECM 并释放多种细胞因子使 VICs 发生成纤维或成骨样分化。

2.2 瓣膜内皮向间质转化 EMT 是内皮细胞失去特征性表型并逐渐获得间充质细胞的表型和功能的过程^[45]。EMT 对胚胎心脏发育至关重要,在心脏发育过程中部分内皮细胞受到信号调控通过 EMT 转为间充质祖细胞,并进一步分化为 VICs,随后逐渐形成心脏瓣膜^[46]。同时也有证据表明,出生后通过基础水平的 EMT 可以补充瓣膜内衰老死亡的 VICs,保证 VICs 的数量稳定^[47]。目前认为 VICs 成纤维样分化和成骨样分化是 CAVD 发生发展的基础。Xu 等^[21]通过单细胞测序及体外实验提供了在主动脉瓣小叶病变增厚过程中 VECs 向 VICs 转变的证据,明确 EMT 在 CAVD 中的关键作用。机械应力、脂质浸润、炎症刺激和氧化应激都有助于 VECs 发生 EMT^[48-50]。EMT 涉及到的细胞内信号通路十分繁杂,目前已经证实 TGF- β 1 及其下游 PI3K/Akt、P38 MAPK 和 MEK1/2/ERK1/2 通路^[51-52]、BMP 家族成员^[53-55]、Notch1 信号通路^[56]和 Wnt/ β -catenin 通路^[57]等参与了 EMT。VEC 通过 EMT 侵袭瓣膜间质间隙,破坏瓣膜内皮屏障,并引起瓣膜炎症反应、氧化应激和纤维化^[58]。通过影响细胞微环境,诱导 VICs 的病理重塑和钙化^[59-60]。Hjortnaes 等^[61]的体外通过细胞共培养体系研究发现,在 TGF- β 1 诱导的 VECs 中,VICs 可抑制 α -SMA 的表达,表明 VICs 可能负调控 VECs 中的 EMT 过程,从而阻止瓣膜的病理性重构。因此通过阻断 EMT 中的信号转导减少 EMT 发生,对减缓 CAVD 进展有巨大潜力。

2.3 内皮来源分子信号影响瓣膜钙化 VECs 除了通过 EMT 影响 CAVD 过程,也会通过分泌信号因子改变 VICs 所处的微环境或直接作用于 VICs 影响 CAVD 发生发展。VEC 通过内皮一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)合成 NO,抑制 VECs 的致病性分化和主动脉瓣钙化^[62]。在正常和钙化的人主动脉瓣中,eNOS 在瓣膜心室侧中的表达比在主动脉侧的表达要高得多,离体主动脉瓣的纤维层比心室层更容易发生钙化^[63]。四氢生物蝶呤

(BH4)是 eNOS 生物学功能的关键决定因素, Liu 等^[64]研究发现 VECs 来源的 BH4 水平降低可促进过氧亚硝酸盐形成,导致动力蛋白相关蛋白 1(DRP1)酪氨酸硝化和 VICs 成骨样分化,从而导致主动脉瓣钙化。在活化的 VICs 中加入 VECs 来源的 NO 可以使 VICs 恢复到静止状态^[58],NO 可以暂时抑制 VICs 向肌成纤维细胞样的分化^[65],当 NO 被消耗完后,VICs 会重新表达肌成纤维细胞标记物,同时可以激活 NF- κ B 信号通路,随后通过抑制胰岛素样生长因子-1(IGF-1)信号传导,促进二肽基肽酶-4(DPP-4)表达并诱导 VICs 成骨样分化^[66]。Kennedy 等^[67]在猪 VICs 中有类似发现,添加非特异性 NO 供体(DETA NON-Oate)可抑制 VICs 成骨样分化;相反,eNOS 抑制剂会导致 VICs 钙化增加。Peltonen 等^[68]发现主动脉瓣狭窄患者瓣膜的特点是 C 型利钠肽(CNP)、其加工酶和受体基因表达明显下调,进一步研究发现 VECs 可以通过分泌保护性旁分泌信号 CNP 对 VICs 成骨样分化进行调节^[26]。除了上述几种生物信号分子外,Wang 等^[69]发现分泌蛋白酸性和富含半胱氨酸(SPARC)相关的模块钙结合 1(SMOC1)也作为 VECs 和 VICs 之间的化学信使,通过 BMP 受体介导的信号通路,在正常细胞外钙离子水平抑制 VICs 发生成骨样分化,而在高细胞外钙离子水平促进 VICs 发生成骨样分化。进一步深入研究 VECs 和 VICs 之间的信号相互作用,可以对 CAVD 这一复杂的过程有更全面的了解。

3 ECM 参与 CAVD 过程

CAVD 发生发展涉及到两个病变过程:瓣膜纤维化和瓣膜钙化,这两个过程相互影响,最终导致瓣膜狭窄,上述两个过程都涉及到 ECM 成分的改变。ECM 是一个复杂的微环境,有大量生物化学信号分子储存其中。VICs 与 ECM 直接接触并受到 ECM 中的各种信号调控以维持正常生理功能。当 ECM 的成分及理化性质发生改变时,调控 VICs 的信号紊乱,导致其发生成纤维样或成骨样分化^[70]。二瓣型主动脉瓣(Bicuspid aortic valve, BAV)是 CAVD 的高危因素,除了结构异常导致的血流动力学紊乱等因素外,Hinton 等^[71]在新生儿和婴儿的 BAV 中组织学分析显示瓣叶中蛋白多糖和胶原纤维水平升高,VICs 排列紊乱,细胞呈非增殖性集群出现,但病理上并没有出现瓣膜钙化。这些数据表明,先天性 BAV 与异常的 ECM 有关,可能是 BAV 患者发生 CAVD 的重要因素。CAVD 成年患者的病变瓣膜组织切片也显示 ECM 紊乱,弹性蛋白碎片化,胶原含量增加,金属蛋白酶和组织蛋白酶的表达升高。CAVD 患者和非

CAVD 人群相比,瓣叶中蛋白聚糖的表达增加^[72],蛋白聚糖可能作为内源性危险信号通过促进炎症影响 CAVD 发展。在体外 VICs 中,蛋白聚糖通过激活 Toll 样受体 2(TLR2)信号通路来促进细胞钙化^[73]。

VICs 是维持 ECM 成分的关键因素,VICs 通过分泌基质金属蛋白酶(MMPs)及其组织抑制剂(TIMPs)维持 ECM 中胶原蛋白及弹性纤维等成分相对稳定。当 VICs 发生成纤维样分化或成骨样分化后,其对 ECM 成分的调节作用减退,造成 ECM 成分进一步失调,导致恶性循环并促进 CAVD 的进展。此外,ECM 作为一个细胞外分子信号池,容纳多种信号分子。TGF- β 1 在细胞外一部分与 ECM 结合,当 ECM 发生改变时,结合的 TGF- β 1 可游离出来与 VICs 表面受体结合介导其发生成骨样分化,促进 CAVD 发展^[74]。目前关于 ECM 影响 VICs 成骨样分化的研究多是聚焦于 ECM 成分改变,导致 ECM 与 VICs 之间稳态失调。通过靶向 ECM 和 VICs 之间的信号通路延缓 ECM 重塑,可能是 CAVD 的治疗方向之一。

4 炎性微环境影响 CAVD 的进展

在 VECs 损伤后,循环中的炎症细胞和炎症因子通过损伤的内皮侵袭到瓣膜间质中,共同构成了 VICs 所处的炎性微环境,推动 CAVD 发展。某些炎症反应诱导物质如脂多糖(LPS)可通过与 VICs 表面的 TLR2/4 相结合,激活 NF- κ B 信号通路,触发 p65 亚基的核易位和 IL-6/8 的分泌,导致成骨转化标志物 BMP2 和 RUNX2 的表达增加^[75]。同时,体外实验进一步发现,与正常的 VICs 相比,来自钙化瓣膜的 VICs 对于 LPS 的体外刺激表现出更强的反应,可以分泌更多的 IL-8、ICAM-1 等炎症分子。主动脉瓣组织内有大量免疫细胞,包括巨噬细胞、肥大细胞、树突状细胞和 T 细胞^[76],其中最主要是巨噬细胞^[77],介导相关的炎症反应。Raddatz 等^[78]的研究表明,在钙化的瓣膜组织中 CCR2⁺巨噬细胞通过影响 VICs 中 STAT3 异构体剪接事件,减少 STAT3 β 异构体的表达,导致 STAT3 β 结合 RUNX2 并抑制其转录因子功能的能力下降,促进了钙化信号 RUNX2 的表达。

内皮损伤、机械应力异常、脂质沉积、氧化应激和炎症细胞浸润等因素都会导致 VICs 所处微环境中炎症分子如白介素家族成员、肿瘤坏死因子家族成员和花生四烯酸等物质增加,促进 VICs 成纤维样和成骨样分化。在白细胞介素中,IL-6 通过 NF- κ B/IL-6/BMP 信号通路表达 NF- κ B 配体超家族成员 11(RANKL)的受体激活因子介导炎症反应^[79-80];IL-1 通过增强炎症因子基质金属蛋白酶(MMPs)的表达参

与主动脉瓣重构和钙化^[81-82]。在细胞因子中, TNF- α 作为 NF- κ B 的直接诱导剂, 可以进一步介导下游 ERK1/2、c-Jun N 末端激酶(JNK)和 p38/MAPK 的激活^[83], 导致瓣膜钙化。IL-1、IL-6 和 TNF- α 的作用是一个复杂的、自我放大的机制的一部分, 不能完全分开。IL-18 和 IL-32 通过促进 IL-8、MCP-1/CCL2 和粘附分子的分泌共同促进 CAVD 的发展^[82,84]。花生四烯酸衍生的代谢物是重要的炎症介质。在钙化的瓣膜中, 参与白三烯生成的多不饱和脂肪酸 5-脂氧合酶(ALOX5)的表达增加了 2.2 倍^[85]。在体外培养的 VICs 中, 白三烯 C4 增加了细胞内钙的水平和活性氧(ROS)的产生^[86]。Klotho 缺陷小鼠(一种与血管和瓣膜钙化相关的早衰模型)前列腺素合成酶 2 (Ptgs2, 也称为 Cox2)表达增加, 类前列腺素的合成增多^[87], 而 Ptgs2 的缺失一定程度上减轻了 Klotho 缺陷小鼠的瓣膜钙化。人钙化瓣膜组织中 ROS 水平升高, 并与瓣膜炎症水平相关^[86], 它是炎症的重要调节因子, 它可以抑制或促进 NF- κ B 信号传导。此外, ROS 通过氧化还原调节炎症介质(DAMPs、HMGB1 和 S100 蛋白)、转录因子(Nrf2、NF- κ B、HIF-1 α 和 AP-1)以及氧化还原依赖性蛋白复合物(Nrf2-keap1)的表达, 通过多种炎症通路促进 CAVD 的发展^[88-89]。

5 其他细胞外成分对 CAVD 的影响

正常的瓣膜组织中不存在微血管结构, Moreno 等^[90]在钙化瓣膜中发现了微血管的形成, 且血管形成与小叶钙化程度呈正相关, 新生血管最活跃的区域是钙沉积周围的炎症密集区。同时, Akahori 等^[91]的研究发现 78% 的瓣膜钙化患者出现瓣膜内微出血, 并且微出血与新生血管形成和巨噬细胞浸润有关。发生瓣膜内微出血后, 瓣膜间质内红细胞沉积并破裂, 大量铁离子聚集。在炎性环境中铁离子被 VICs 吸收, 并促进 VICs 增殖、ECM 重塑和钙化^[92]。目前也有研究表明, 活化的血小板与 CAVD 的发展有关, Bouchareb 等^[93]发现在钙化瓣膜中存在活化血小板的聚集, 并通过 P2RY1-GPIIb/IIIa-LysoPA 通路促进 VICs 的成骨样分化。目前还发现 CAVD 存在性别差异^[94], 即女性 CAVD 患者瓣膜纤维化程度更重, 而男性 CAVD 患者瓣膜主要是钙化病变为主, 这可能与瓣膜微环境中性激素水平不同有关, 但还需要进一步的研究揭示其中的差异。

6 总结与展望

CAVD 既往仅仅被认为是一个与年龄相关的退行性疾病, 但是随着研究的深入, 发现 CAVD 是一个由诸多因素和途径调节的综合过程, 包括机械应力损伤、内皮功能障碍、脂质沉积和炎症反应等因素。

CAVD 以 VICs 发生纤维化和成骨样分化为特点, 最终导致 ECM 重塑、瓣膜的纤维化和钙化。为了更深入理解瓣膜细胞和微环境信号相互调节的机制, 通过靶向这些相互作用, 可能在早期阶段延缓 CAVD 的进展。同时, 目前关于 CAVD 的体外模型缺乏对细胞微环境的综合模拟, 如何更好的还原 VECs 和 VICs 所处的微环境状态以及细胞微环境的动态改变, 对研究 CAVD 发展过程中的影响因素有极大的作用。

【参考文献】

- [1] PRAZ F, BEYERSDORF F, HAUGAA K, *et al.* Valvular heart disease: from mechanisms to management [J]. *Lancet*, 2024, 403(10436): 1576-1589.
- [2] 胡盛寿, 王增武. 《中国心血管健康与疾病报告 2022》概述 [J]. *中国心血管病研究*, 2023, 21(7): 577-600.
- [3] 谢祯晖, 陈长源. 老年退行性心脏瓣膜病的流行病学现状及诊疗进展 [J]. *国际心血管病杂志*, 2023, 50(2): 65-68.
- [4] RAJAMANNAN N M, EVANS F J, AIKAWA E, *et al.* Calcific aortic valve disease: not simply a degenerative process: a review and agenda for research from the national heart and lung and blood institute aortic stenosis working group. executive summary: calcific aortic valve disease-2011 update [J]. *Circulation*, 2011, 124(16): 1783-1791.
- [5] VAHANIAN A, BEYERSDORF F, PRAZ F, *et al.* 2021 ESC/EACTS guidelines for the management of valvular heart disease: developed by the task force for the management of valvular heart disease of the European society of cardiology (ESC) and the European association for cardio-thoracic surgery (EACTS) [J]. *Rev Esp Cardiol*, 2022, 75(6): 524.
- [6] PAWADE T A, DORIS M K, BING R, *et al.* Effect of denosumab or alendronic acid on the progression of aortic stenosis: a double-blind randomized controlled trial [J]. *Circulation*, 2021, 143(25): 2418-2427.
- [7] CHAN K L, TEO K, DUMESNIL J G, *et al.* Effect of lipid lowering with rosuvastatin on progression of aortic stenosis: results of the aortic stenosis progression observation: measuring effects of rosuvastatin (ASTRONOMER) trial [J]. *Circulation*, 2010, 121(2): 306-314.
- [8] ROSSEBØ A B, PEDERSEN T R, BOMAN K, *et al.* Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(13): 1343-1356.
- [9] DIEDERICHSEN A C P, LINDHOLT J S, MÖLLER S, *et al.* Vitamin K2 and D in patients with aortic valve calcification: a randomized double-blinded clinical trial [J]. *Circulation*, 2022, 145(18): 1387-1397.
- [10] COWELL S J, NEWBY D E, PRESCOTT R J, *et al.* A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(23): 2389-2397.
- [11] EVANGELISTA A, GALIAN-GAY L, GUALA A, *et al.* Atorvastatin effect on aortic dilatation and valvular calcification progression in bicuspid aortic valve (BICATOR): a randomized clinical trial [J]. *Circulation*, 2024, 149(25): 1938-1948.

- [12] ZEBHI B, LAZKANI M, BARK D Jr. Calcific aortic stenosis—a review on acquired mechanisms of the disease and treatments [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 734175.
- [13] HINTON R B, YUTZEY K E. Heart valve structure and function in development and disease[J]. *Annu Rev Physiol*, 2011, 73: 29-46.
- [14] VESELY I, NOSEWORTHY R. Micromechanics of the fibrosa and the ventricularis in aortic valve leaflets [J]. *J Biomech*, 1992, 25(1): 101-113.
- [15] SOHMER B, JAFAR R, PATEL P, *et al.* Aortic valve cusp coaptation surface area using 3-dimensional transesophageal echocardiography correlates with severity of aortic valve insufficiency[J]. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 2018, 32(1): 344-351.
- [16] GRANDE-ALLEN K J, CALABRO A, GUPTA V, *et al.* Glycosaminoglycans and proteoglycans in normal mitral valve leaflets and chordae: association with regions of tensile and compressive loading[J]. *Glycobiology*, 2004, 14(7): 621-633.
- [17] SCADDEN D T. The stem-cell niche as an entity of action[J]. *Nature*, 2006, 441(7097): 1075-1079.
- [18] BRUNET A, GOODELL M A, RANDO T A. Ageing and rejuvenation of tissue stem cells and their niches[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(1): 45-62.
- [19] GOODY P R, HOSEN M R, CHRISTMANN D, *et al.* Aortic valve stenosis; from basic mechanisms to novel therapeutic targets[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(4): 885-900.
- [20] PEETERS F E C M, MEEUX S J R, DWECK M R, *et al.* Calcific aortic valve stenosis: hard disease in the heart: a biomolecular approach towards diagnosis and treatment[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(28): 2618-2624.
- [21] XU K, XIE S B, HUANG Y M, *et al.* Cell-type transcriptome atlas of human aortic valves reveal cell heterogeneity and endothelial to mesenchymal transition involved in calcific aortic valve disease[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(12): 2910-2921.
- [22] BLASER M C, KRALER S, LÜSCHER T F, *et al.* Multi-omics approaches to define calcific aortic valve disease pathogenesis[J]. *Circ Res*, 2021, 128(9): 1371-1397.
- [23] WANG H, LEINWAND L A, ANSETH K S. Cardiac valve cells and their microenvironment: insights from in vitro studies [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2014, 11(12): 715-727.
- [24] SCHOEN F J. Evolving concepts of cardiac valve dynamics; the continuum of development, functional structure, pathobiology, and tissue engineering [J]. *Circulation*, 2008, 118(18): 1864-1880.
- [25] O'DONNELL A, YUTZEY K E. Mechanisms of heart valve development and disease [J]. *Development*, 2020, 147(13): dev183020.
- [26] GOULD S T, SRIGUNAPALAN S, SIMMONS C A, *et al.* Hemodynamic and cellular response feedback in calcific aortic valve disease[J]. *Circ Res*, 2013, 113(2): 186-197.
- [27] AMOAKWA K, FASHANU O E, TIBUAKUU M, *et al.* Resting heart rate and the incidence and progression of valvular calcium: the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA)[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 273: 45-52.
- [28] ESMERATS J F, HEATH J, JO H. Shear-sensitive genes in aortic valve endothelium[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 25(7): 401-414.
- [29] MONCLA L M, BRIEND M, BOSSÉ Y, *et al.* Calcific aortic valve disease: mechanisms, prevention and treatment[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023, 20(8): 546-559.
- [30] FERNANDEZ ESMERATS J, VILLA-ROEL N, KUMAR S, *et al.* Disturbed flow increases UBE2C (ubiquitin E2 ligase C) via loss of miR-483-3p, inducing aortic valve calcification by the pVHL (von Hippel-Lindau protein) and HIF-1 α (Hypoxia-Inducible Factor-1 α) pathway in endothelial cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(3): 467-481.
- [31] BARDON K M, GARELNABI M. The impact of altered mechanobiology on aortic valve pathophysiology[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2020, 691: 108463.
- [32] BOUCHAREB R, BOULANGER M C, FOURNIER D, *et al.* Mechanical strain induces the production of spheroid mineralized microparticles in the aortic valve through a RhoA/ROCK-dependent mechanism[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 67: 49-59.
- [33] DAYAWANSA N H, BARATCHI S, PETER K. Uncoupling the vicious cycle of mechanical stress and inflammation in calcific aortic valve disease [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 783543.
- [34] JIANG Y F, CHEN J J, WEI F X, *et al.* Micromechanical force promotes aortic valvular calcification[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2022, 164(6): e313-e329.
- [35] DUVAL K, GROVER H, HAN L H, *et al.* Modeling physiological events in 2D vs. 3D cell culture[J]. *Physiology*, 2017, 32(4): 266-277.
- [36] SHIH J Y, GEE T, SCUDERI G, *et al.* Biomechanical remodeling of aortic valve interstitial cells during calcified lesion formation in vitro[J]. *Ann Biomed Eng*, 2024, 52(5): 1270-1279.
- [37] TANDON I, WOESSNER A E, FERREIRA L A, *et al.* A three-dimensional valve-on-chip microphysiological system implicates cell cycle progression, cholesterol metabolism and protein homeostasis in early calcific aortic valve disease progression[J]. *Acta Biomater*, 2024, 186: 167-184.
- [38] BOFFA M B, KOSCHINSKY M L. Oxidized phospholipids as a unifying theory for lipoprotein(a) and cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(5): 305-318.
- [39] HU J H, LEI H, LIU L L, *et al.* Lipoprotein(a), a lethal player in calcific aortic valve disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 812368.
- [40] SCHNITZLER J G, HOOGEVEEN R M, ALI L, *et al.* Atherogenic lipoprotein(a) increases vascular glycolysis, thereby facilitating inflammation and leukocyte extravasation[J]. *Circ Res*, 2020, 126(10): 1346-1359.
- [41] YU B, HAFIANE A, THANASSOULIS G, *et al.* Lipoprotein (a) induces human aortic valve interstitial cell calcification[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2017, 2(4): 358-371.
- [42] SCIPIONE C A, SAYEGH S E, ROMAGNUOLO R, *et al.*

- Mechanistic insights into lp(a)-induced IL-8 expression: a role for oxidized phospholipid modification of apo(a) [J]. *J Lipid Res*, 2015, 56(12): 2273-2285.
- [43] SCHLOTTER F, DE FREITAS R C C, ROGERS M A, *et al.* ApoC-III is a novel inducer of calcification in human aortic valves [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100193.
- [44] ZENG Q C, SONG R, AO L H, *et al.* Augmented osteogenic responses in human aortic valve cells exposed to oxLDL and TLR4 agonist: a mechanistic role of Notch1 and NF- κ B interaction [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e95400.
- [45] SOUILHOL C, HARMSSEN M C, EVANS P C, *et al.* Endothelial-mesenchymal transition in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(4): 565-577.
- [46] WIRRIE E E, YUTZEY K E. Conserved transcriptional regulatory mechanisms in aortic valve development and disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(4): 737-741.
- [47] PARUCHURI S, YANG J H, AIKAWA E, *et al.* Human pulmonary valve progenitor cells exhibit endothelial/mesenchymal plasticity in response to vascular endothelial growth factor-A and transforming growth factor-beta2 [J]. *Circ Res*, 2006, 99(8): 861-869.
- [48] DAHAL S, HUANG P, MURRAY B T, *et al.* Endothelial to mesenchymal transformation is induced by altered extracellular matrix in aortic valve endothelial cells [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105(10): 2729-2741.
- [49] TERNACLE J, CÔTÉ N, KRAPP L, *et al.* Chronic kidney disease and the pathophysiology of valvular heart disease [J]. *Can J Cardiol*, 2019, 35(9): 1195-1207.
- [50] SHU L, YUAN Z, LI F, *et al.* Oxidative stress and valvular endothelial cells in aortic valve calcification [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2023, 163: 114775.
- [51] GONG H, LYU X, WANG Q, *et al.* Endothelial to mesenchymal transition in the cardiovascular system [J]. *Life Sci*, 2017, 184: 95-102.
- [52] WERMUTH P J, LI Z D, MENDOZA F A, *et al.* Stimulation of transforming growth factor- β 1-induced endothelial-to-mesenchymal transition and tissue fibrosis by endothelin-1 (ET-1): a novel profibrotic effect of ET-1 [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0161988.
- [53] LEVET S, OUARNÉ M, CIAIS D, *et al.* BMP9 and BMP10 are necessary for proper closure of the ductus arteriosus [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(25): E3207-E3215.
- [54] HOPPER R K, MOONEN J R, DIEBOLD I, *et al.* In pulmonary arterial hypertension, reduced BMPR2 promotes endothelial-to-mesenchymal transition via HMGAI and its target slug [J]. *Circulation*, 2016, 133(18): 1783-1794.
- [55] XU X B, FRIEHS I, ZHONG-HU T C, *et al.* Endocardial fibroelastosis is caused by aberrant endothelial to mesenchymal transition [J]. *Circ Res*, 2015, 116(5): 857-866.
- [56] ZHOU X, CHEN X, CAI J J, *et al.* Relaxin inhibits cardiac fibrosis and endothelial-mesenchymal transition via the Notch pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 4599-4611.
- [57] ALBANESE I, YU B, AL-KINDI H, *et al.* Role of noncanonical Wnt signaling pathway in human aortic valve calcification [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(3): 543-552.
- [58] DRISCOLL K, CRUZ A D, BUTCHER J T. Inflammatory and biomechanical drivers of endothelial-Interstitial interactions in calcific aortic valve disease [J]. *Circ Res*, 2021, 128(9): 1344-1370.
- [59] GEE T W, RICHARDS J M, MAHMUT A, *et al.* Valve endothelial-Interstitial interactions drive emergent complex calcific lesion formation in vitro [J]. *Biomaterials*, 2021, 269: 120669.
- [60] WANG L T, TANG R N, ZHANG Y X, *et al.* PTH-induced EndMT via miR-29a-5p/GSAP/Notch1 pathway contributed to valvular calcification in rats with CKD [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54(6): e13018.
- [61] HJORTNAES J, SHAPERO K, GOETTSCH C, *et al.* Valvular interstitial cells suppress calcification of valvular endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 242(1): 251-260.
- [62] BOSSE K, HANS C P, ZHAO N, *et al.* Endothelial nitric oxide signaling regulates Notch1 in aortic valve disease [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 60: 27-35.
- [63] RICHARDS J, EL-HAMAMSY I, CHEN S, *et al.* Side-specific endothelial-dependent regulation of aortic valve calcification: interplay of hemodynamics and nitric oxide signaling [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(5): 1922-1931.
- [64] LIU Z T, DONG N G, HUI H P, *et al.* Endothelial cell-derived tetrahydrobiopterin prevents aortic valve calcification [J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(17): 1652-1664.
- [65] MAJUMDAR U, MANIVANNAN S, BASU M, *et al.* Nitric oxide prevents aortic valve calcification by S-nitrosylation of USP9X to activate NOTCH signaling [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(6): eabe3706.
- [66] CHOI B, LEE S, KIM S M, *et al.* Dipeptidyl peptidase-4 induces aortic valve calcification by inhibiting insulin-like growth factor-1 signaling in valvular interstitial cells [J]. *Circulation*, 2017, 135(20): 1935-1950.
- [67] KENNEDY J A, HUA X, MISHRA K, *et al.* Inhibition of calcifying nodule formation in cultured porcine aortic valve cells by nitric oxide donors [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 602(1): 28-35.
- [68] PELTONEN T O, TASKINEN P, SOINI Y, *et al.* Distinct downregulation of C-type natriuretic peptide system in human aortic valve stenosis [J]. *Circulation*, 2007, 116(11): 1283-1289.
- [69] WANG Y Q, GU J, DU A N, *et al.* SPARC-related modular calcium binding 1 regulates aortic valve calcification by disrupting BMPR-II/p-p38 signalling [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(3): 913-928.
- [70] CHEN J H, SIMMONS C A. Cell-matrix interactions in the pathobiology of calcific aortic valve disease: critical roles for matrixellular, matricrine, and matrix mechanics cues [J]. *Circ Res*, 2011, 108(12): 1510-1524.
- [71] HINTON R B JR, LINCOLN J, DEUTSCH G H, *et al.* Extracellular matrix remodeling and organization in developing and diseased aortic valves [J]. *Circ Res*, 2006, 98(11): 1431-1438.
- [72] STEPHENS E H, SALTARRELLI J G, BAGGETT L S, *et al.* Differential proteoglycan and hyaluronan distribution in calci-

- fied aortic valves[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2011, 20(6): 334-342.
- [73] DERBALI H, BOSSÉ Y, CÔTÉ N, *et al*. Increased biglycan in aortic valve stenosis leads to the overexpression of phospholipid transfer protein via Toll-like receptor 2[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(6): 2638-2645.
- [74] VILORIA K, HILL N J. Embracing the complexity of matricellular proteins; the functional and clinical significance of splice variation[J]. *Biomol Concepts*, 2016, 7(2): 117-132.
- [75] MENG X Z, AO L H, SONG Y, *et al*. Expression of functional toll-like receptors 2 and 4 in human aortic valve interstitial cells; potential roles in aortic valve inflammation and stenosis[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294(1): C29-C35.
- [76] HULIN A, HORTELLS L, GOMEZ-STALLONS M V, *et al*. Maturation of heart valve cell populations during postnatal remodeling[J]. *Development*, 2019, 146(12): dev173047.
- [77] KIM A J, XU N, YUTZEY K E. Macrophage lineages in heart valve development and disease[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(3): 663-673.
- [78] RADDATZ M A, HUFFSTATER T, BERSI M R, *et al*. Macrophages promote aortic valve cell calcification and alter STAT3 splicing[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(6): e153-e165.
- [79] ZHENG K H, TZOLOS E, DWECK M R. Pathophysiology of aortic stenosis and future perspectives for medical therapy[J]. *Cardiol Clin*, 2020, 38(1): 1-12.
- [80] TANASE D M, VALASCIUC E, GOSAV E M, *et al*. Contribution of oxidative stress (OS) in calcific aortic valve disease (CAVD): from pathophysiology to therapeutic targets [J]. *Cells*, 2022, 11(17): 2663.
- [81] TRETJAKOV S, LURINS J, SVIRSKIS S, *et al*. Thioredoxin-1 and correlations of the plasma cytokines regarding aortic valve stenosis severity[J]. *Biomedicines*, 2021, 9(8): 1041.
- [82] ALUSHI B, CURINI L, CHRISTOPHER M R, *et al*. Calcific aortic valve disease-natural history and future therapeutic strategies[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 685.
- [83] REUSTLE A, TORZEWSKI M. Role of p38 MAPK in atherosclerosis and aortic valve sclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 3761.
- [84] CONTE M, PETRAGLIA L, CAMPANA P, *et al*. The role of inflammation and metabolic risk factors in the pathogenesis of calcific aortic valve stenosis[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2021, 33(7): 1765-1770.
- [85] NAGY E, ANDERSSON D C, CAIDAHL K, *et al*. Upregulation of the 5-lipoxygenase pathway in human aortic valves correlates with severity of stenosis and leads to leukotriene-induced effects on valvular myofibroblasts[J]. *Circulation*, 2011, 123(12): 1316-1325.
- [86] VALERIO V, KECELI G, MOSCHETTA D, *et al*. Enduring reactive oxygen species emission causes aberrant protein S-glutathionylation transitioning human aortic valve cells from a sclerotic to a stenotic phenotype[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2022, 37(13-15): 1051-1071.
- [87] WIRRIE E E, GOMEZ M V, HINTON R B, *et al*. COX2 inhibition reduces aortic valve calcification in vivo[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(4): 938-947.
- [88] STEVEN S, FRENIS K, OELZE M, *et al*. Vascular inflammation and oxidative stress: major triggers for cardiovascular disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7092151.
- [89] POZNYAK A V, GRECHKO A V, OREKHOVA V A, *et al*. Oxidative stress and antioxidants in atherosclerosis development and treatment[J]. *Biology*, 2020, 9(3): 60.
- [90] MORENO P R, ASTUDILLO L, ELMARIAH S, *et al*. Increased macrophage infiltration and neovascularization in congenital bicuspid aortic valve stenosis[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2011, 142(4): 895-901.
- [91] AKAHORI H, TSUJINO T, NAITO Y, *et al*. Intraleaflet haemorrhage is associated with rapid progression of degenerative aortic valve stenosis[J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(7): 888-896.
- [92] LAGUNA-FERNANDEZ A, CARRACEDO M, JEANSON G, *et al*. Iron alters valvular interstitial cell function and is associated with calcification in aortic stenosis[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(47): 3532-3535.
- [93] BOUCHARREB R, BOULANGER M C, TASTET L, *et al*. Activated platelets promote an osteogenic programme and the progression of calcific aortic valve stenosis[J]. *Eur Heart J*, 2019, 40(17): 1362-1373.
- [94] MYASOEDOVA V A, MASSAIU I, MOSCHETTA D, *et al*. Sex-specific cell types and molecular pathways indicate fibro-calcific aortic valve stenosis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 747714.

(收稿日期: 2024-10-15; 修改日期: 2025-01-10; 编辑: 刘灵敏)