

富半胱氨酸 61 的心血管作用

张春炳 综述, 朱 健 审校

(上海交通大学医学院附属第九人民医院急诊科, 上海市 200011)

[关键词] 病理学与病理生理学; 富半胱氨酸 61; 血管生成; 动脉粥样硬化; 血管增生后再狭窄

[摘要] 富半胱氨酸 61 是结缔组织生长因子 CCN 家族成员之一, 具有广泛的生物学特性, 影响细胞的生长、分化、粘附和运动, 在发育和分化、伤口修复、肿瘤生长和凋亡等多种生物学过程中起重要作用。在血管生成、动脉粥样硬化和血管增生再狭窄中亦具有重要的生物学作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

富半胱氨酸 61(cystein rich 61, Cyr61, CCN1)、结缔组织生长因子、肾母细胞瘤过度表达基因(nephroblastoma overexpressed gene, Nov, CCN3)、Elm1(expressed low in metastasis 1)或称 WISP-1(Writ-1 induced secreted protein 1, CCN4)、HICP(Heparin inducible CTGF、cyr61 inov-like protein 或 rCop1 或 V. 7SP-2, CCN5)和 WISP-3(CCN6)是近些年来研究人员发现的具有广泛生物学功能的蛋白质, 已经在人、小鼠、大鼠、鹌鹑、蛙、猪和牛等多种组织中检测到这些蛋白质的表达, 并把它们归为 CCN 家族, 同时推测该家族基因起源于 1~4 千万年前的同一基因。Lau 等^[1]用血清或血小板衍生生长因子刺激小鼠 BALB/c 3T3 成纤维细胞时发现了富含半胱氨酸(含 10% 的半胱氨酸残基)的 CCN1, 并被命名为 Cyr61。CYR61 是一种神秘的细胞外基质蛋白, 经不断的研究发现, Cyr61 具有广泛的生物学功能, 包括软骨内骨化、血管生成、伤口修复、炎症作用、妊娠、发育和分化、肿瘤生长、凋亡、细胞外基质的产生和影响细胞的生长、分化、粘附和运动等多种生物学过程, 并且在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)和血管再狭窄等生物学过程中亦起着重要作用。

1 富半胱氨酸 61 分子结构特点

富半胱氨酸 61(Cyr61)分子结构由 5 个外显子和 4 个内含子组成的, 包括 24 个氨基酸信号多肽和 4 个结构域, 编码 381 个相对分子质量为 42 kDa 的氨基酸残基, 其中包括 38 个保守的半胱氨酸。结构与功能分析更加证实了 Cyr61 蛋白具有四个保守的结构域。结构域 1 是类胰岛素生长因子结合区域, 由 68 个氨基酸组成, 与胰岛素样生长因子结合蛋白 1~6 的富含半胱氨酸的 N-末端具有约 32% 的同源性, 这个蛋白因此被称为富含半胱氨酸的蛋白质。结构域 2 包含一个 von Willebrand 型 C 结构域(VWC), 这种结构域存在于 von Willebrand 因子、不同种类的粘蛋白和血小板反应蛋白和胶

原纤维中, 因此, 该结构域可能参与蛋白寡聚化过程。结构域 2 和结构域 3 之间的区域是自由半胱氨酸铰链区, 在长度和序列上高度易变。结构域 3 是血小板反应 I 型蛋白, 含有一个 WSXCSXXCG 位点, 是一个细胞接触位点, 可结合硫酸甘氨酸结合物。结构域 4 是 C 末端结构域, 含有 10 个半胱氨酸, 这种结构也出现在神经生长因子, 转化生长因子和血小板源性生长因子中。由于神经生长因子, 转化生长因子和血小板源性生长因子的一些受体结合于胱氨酸花结(10 个半胱氨酸中的 6 个半胱氨酸聚集成胱氨酸花结)的不同区域, C 末端结构域可能含有二聚化和受体结合区域, 因此, 结构域 4 可能参与细胞表面受体的结合^[2]。

2 富半胱氨酸 61 生物学功能

富半胱氨酸 61(Cyr61)的 4 个结构域独立行使且相互依存的功能, 使其可以和多种因子相互作用, 这些因子包括在细胞生长调节和信号传导通路中起重要作用的蛋白质, 因此不同的结合赋予了 Cyr61 多种不同的功能, 在生物体的不同组织和不同发育阶段发挥不同的生物效应。Latinkic 等^[3]研究发现 Cyr61 在正常的非洲蟾蜍属动物原肠胚形成过程中是必需的, 因此, Cyr61 是胚胎发育过程中重要的调节因子。Cyr61 在肿瘤的形成生长中扮演了重要的角色, 研究发现 Cyr61 在人类高度恶性的乳腺癌、胰腺癌腹膜转移灶、胃癌等患者中高度表达, 能增强癌细胞的侵袭性, 并抑制肿瘤细胞的凋亡^[4-7]。Isabella 等^[8]发现在正常位和异位的狒狒子宫内 膜异位症模型中 Cyr61 的表达升高明显, 并与血管内皮(细胞)生长因子的高表达具有相关性。然而, Wenwen Chien 等^[9]研究了 CYR61 在子宫内膜癌中的作用, 子宫内膜癌相对于正常子宫内膜低表达 Cyr61, 低表达的 Cyr61 促进了肿瘤细胞的增殖。Cyr61 在伤口愈合过程中具有促进细胞间的粘附、迁移、存活和生长因子诱导的促有丝分裂作用, 从而促进伤口愈合^[10]。同时, CYR61 在血管生成、As 和动脉增生再狭窄中亦具有重要的作用。

2.1 在血管生成中的作用

Cyr61 在胚胎血管的形成发展中起重要作用。它通过整合素 $\alpha 6 \beta 1$ 和硫酸乙酰肝素糖蛋白相互作用促进成纤维细

[收稿日期] 2007-10-22

[修回日期] 2008-05-20

[作者简介] 张春炳, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向为老年医学, 联系电话为 13611864051, E-mail 为 zhangcb123456@sina.com。朱健, 硕士, 主任医师, 研究方向为老年医学, E-mail 为 Jianz06@hotmail.com。

胞、平滑肌细胞和内皮细胞发挥特别的作用。 $\alpha 6\beta 1$ 结合位点在 Cyr61 结构域 3 的 T1 位置。结构域 4 的 2 个新的 16 残基序列 H1, H2 能支持依赖 $\alpha 6\beta 1$ 和硫酸乙酰肝素糖蛋白的细胞黏附^[11]。整合素 $\alpha \beta 3$ 与 Cyr61 结构域 2 的约 20 个碱基残余序列 V2 区(NCKHQCTCIDGAVGCIPLCP) 结合能促进血管形成前内皮细胞的活性^[12]。Mo 等^[13] 发现缺乏 Cyr61 的鼠易导致其在胚胎期死亡, 30% 的鼠胚胎期死亡是由于绒(毛)膜尿囊的融合作用缺陷, 其余是因为鼠类胎盘的血管功能不全和血管发育不良等。这些发现证实 Cyr61 是重要的血管形成的调节因子。Cyr61 缺乏导致在绒(毛)膜尿囊结合处血管分叉(非生长性血管形成)的特点缺陷, 从而引起胎盘在血管化作用时缺乏合胞体滋养层的正常分化。CYR61 在人类胎盘的血管内皮细胞、基质绒毛细胞和间质滋养层细胞上有明显的表达, 并且随着胎盘的正常发育, CYR61 的表达逐渐增强, 提示在妊娠妇女胎盘的正常发育过程中, CYR61 参与了血管的形成及滋养层细胞的迁移。从怀孕的中期到后期, CYR61 在正常人类胎盘表达的增强和在鼠胎盘发育期间 CYR61 的表达增强是一致的^[14]。

2.2 在动脉粥样硬化中的作用

动脉粥样硬化(As)的形成是复杂的病理过程, 涉及大量炎症免疫反应, 炎症参与 As 的发展全过程。在人类 As 斑块损伤处可发现 Cyr61 的高表达, 通过与 $\alpha \text{m}\beta 2$ 整合素的作用诱导人类外周血单核细胞和巨噬细胞的黏附、迁移, 从而在 As 的形成过程中发挥作用。目前尽管 As 发病的分子机制尚未完全明确, 但 Cyr61 可能在动脉粥样斑块的形成中起到重要作用^[15]。Hilfiker 等研究表明 CYR61 在载脂蛋白 E 缺陷小鼠的动脉硬化血管上明显表达, 然而在正常小鼠中几乎检测不到。在人类经皮腔内斑块旋切术后的颈动脉和冠状 As 血管中, CYR61 在新生内膜结缔组织、外膜、周围毛细血管和一般血管上明显表达, 而在正常动脉中没有阳性发现。CYR61、ACE 和血管紧张素 I 均可在人类 As 斑块损伤处表达, 同时在体内和体外实验中发现血管紧张素 I 能诱导血管平滑肌细胞、成纤维细胞合成 CYR61 蛋白。CYR61 能被肾素血管紧张素系统激活, 通过增强对微血管形成和细胞增殖的调节从而促进 As 斑块中新生血管的形成^[16]。高血压和糖尿病等均可导致 As 的产生, 在自发性高血压大鼠的动脉血管上可发现 Cyr61 的表达明显升高。在高血压形成、发展中, 高表达的 CYR61 可能在血管的重塑过程中发挥重要作用^[17]。

2.3 在动脉增生再狭窄中的作用

富半胱氨酸 61(CYR61) 是一种用生长因子刺激平滑肌细胞后能即刻早期在平滑肌细胞表达的血管生成因子, 并且与血管的成形术后再狭窄密切相关。动物实验证实在大鼠的血管损伤增生再狭窄过程中有 Cyr61 的高表达, 并通过 $\alpha 6\beta 1$ 整合素和细胞表面硫酸乙酰肝素蛋白多糖支持血管平滑肌细胞的粘附, 同时刺激血管平滑肌细胞的趋化^[18]。付鹏等^[19] 实验证实, 通过对球囊损伤的大鼠腹主动脉血管进行逆转录聚合酶链反应及免疫蛋白印迹分析发现, 假手术组 Cyr61mRNA 及其蛋白呈低水平的表达, 球囊损伤组第 4 天时 Cyr61 表达开始增高, 7~14 d 时 Cyr61 表达达高峰, 14 d 后减

弱, 28 d 时仍有微弱表达, 说明在血管损伤过程中, Cyr61 可能参与了这一过程。同时对内膜增殖情况的观察发现, 7 d 时新生内膜开始形成, 并可见血管平滑肌细胞增殖, 损伤后 14 d 和 28 d, 中膜的血管平滑肌细胞穿过断裂的基底膜移行至内膜, 大量平滑肌细胞增殖, 新生内膜明显增厚, 引起管腔狭窄。结合免疫组织化学结果表明假手术组中膜平滑肌细胞 Cyr61 呈阴性表达, 而在球囊损伤 7 d、14 d 组增殖的平滑肌细胞中 Cyr61 呈明显的阳性表达, 说明 Cyr61 在平滑肌细胞由中膜迁移至内膜的过程中可能发挥了一定的作用。在血管损伤动物模型试验中, 前列环素具有抗 As 和抑制血管新生内膜形成的作用。用前列腺素干预治疗后, 人类平滑肌细胞能明显减少 Cyr61 的表达, 其在体内的血管保护作用可能是由于抑制了血管损伤处 Cyr61 的表达^[20]。血管平滑肌细胞的增殖和迁移是 As 和血管介入治疗后导致内膜过度增生等血管疾病的主要特征。Young Lee 等^[21] 研究发现 FOXO3a(forkhead transcription factor) 是 CYR61 转录的负性调节因子, FOXO3a 干预后能明显抑制平滑肌细胞表达 CYR61, 而 CYR61 表达下降减少了平滑肌细胞的增殖和迁移, 从而抑制了血管成形术后大鼠颈动脉血管新生内膜的过度增殖。

血管压力负荷增高, 心肌梗塞, 神经激素(如血管紧张素 I 、 $\alpha 1$ 肾上腺素能刺激物等) 能诱导心肌表达 Cyr61。根据以前的研究, Cyr61 在新生血管形成过程中能活化单核细胞, 内皮细胞, 成纤维细胞等。心肌受损后, 广泛表达的 Cyr61 的这些特性在目前的研究中也得到证实, 这表明 Cyr61 能促进新生血管的形成和血管床的重塑以适应心肌张力的改变。因此, 亦有学者提出 Cyr61 具有促进血管修复的功能^[22]。

3 结语

Cyr61 参与细胞内、外信号的传导, 影响细胞的生长、分化、粘附和运动, 具有广泛的生物学特性。Cyr61 最初被划归于即刻早期基因产物或生长因子, 也有学者将其归入细胞外基质分子或细胞外信号分子。Cyr61 具有 4 个结构域, 可以和不同的因子结合, 不同的结合使 Cyr61 具备多种不同的功能, 甚至在不同疾病过程中发挥了相反的作用, 扮演着十分吸引人的“兼职蛋白”的角色, 如在有些肿瘤中, Cyr61 可以促进肿瘤细胞存活和增殖, 并能增加肿瘤细胞的侵袭性, 而在另外一些肿瘤中, Cyr61 却能抑制肿瘤生长和促进细胞凋亡, 作为肿瘤抑制因子发挥着重要作用。目前对其功能和机制的研究已经成为热点, 但由于 Cyr61 蛋白的生物学特性和功能比较复杂, 对于 Cyr61 的研究还十分有限, 并且在许多功能方面还存在着争议(如在血管的修复和再狭窄等方面), 相信随着人们研究的深入, 必能更加深刻的发现 Cyr61 的表达调控、信号传导通路及其功能和作用机制。

[参考文献]

- [1] Jay P, Berger-LeFranc JL, Marsollier C. The human growth factor-inducible immediate early gene, CYR61, maps to chromosome 1p [J]. *Oncogene*, 1997, 14 (14): 1 753-757.
- [2] 李东, 周新, 郑方, 等. Cyr61 的研究进展[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2005, 26 (7): 424-426.

- [3] BV Latinkic, S Mercurio, B Bennett, et al. Xenopus Cyr61 regulates gastrulation movements and modulates Wnt signaling [J]. *Development*, 2003, **130** (11): 2 429-441.
- [4] JA Mene'ndez, I Mehmi, DW Griggs, et al. The angiogenic factor CYR61 in breast cancer: molecular pathology and therapeutic perspectives [J]. *Endo Rel Cancer*, 2003, **10** (2): 141-152.
- [5] Javier A Menendez, Luciano Vellon, Inderjit Mehmi, et al. A novel CYR61-triggered 'CYR61-avb3 integrin loop regulates breast cancer cell survival and chemosensitivity through activation of ERK1/ERK2 MAPK signaling pathway [J]. *Oncogene*, 2005, **24** (5): 761-779.
- [6] Shane E Holloway, AdamW Beck, Luc Girard, et al. Increased Expression of Cyr61 (CCN1) Identified in Peritoneal Metastases from Human Pancreatic Cancer [J]. *Am Coll Surg*, 2005, **200** (3): 371-377.
- [7] Ming-Tsai Lin, Chung-Yau Zuo, Cheng-Chi Chang, et al. Cyr61 Induces Gastric Cancer Cell Motility/Invasion via Activation of the Integrin/Nuclear Factor-KB/Cyclooxygenase-2 Signaling Pathway [J]. *Hum Cancer Biol*, 2005, **11** (16): 5 809-820.
- [8] Isabella Gashaw, Julie M Hastings, Kevin S Jackson, et al. Induced Endometriosis in the Baboon (*Papio anubis*) Increases the Expression of the Proangiogenic Factor CYR61 (CCN1) in Eutopic and Ectopic Endometria [J]. *Soc Study Repro*, 2006, **74** (6): 1060-066.
- [9] Wenwen Chien, Takashi Kumagai, Carl W. Miller, et al. Cyr61 Suppresses Growth of Human Endometrial Cancer Cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (51): 53 087-096.
- [10] Kmandal S, Mrao V, Tiran TT, et al. A novel mechanism of plasmin-induced mitogenesis in fibroblasts [J]. *J Thromb Haemos*, 2005, **3** (1): 163-169.
- [11] Shu-Jeng Leu, Ning-yu Chen, Chih-Chiun Chen, et al. Targeted Mutagenesis of the Angiogenic Protein CCN1 (CYR61) [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (42): 44 177-187.
- [12] Ning-yu Chen, Shu-Jeng Leu, Viktor Todorovic, et al. Identification of a Novel Integrin $\alpha\beta 3$ Binding Site in CCN1 (CYR61) Critical for Proangiogenic Activities in Vascular Endothelial Cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (42): 44 166-176.
- [13] Mo FE, Muntean AG, Chen CC. CYR61 (CCN1) is essential for placental development and vascular integrity [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, **22** (24): 8 709-720.
- [14] Alexandra Gellhaus, Markus Schmidt, Caroline Dunk, et al. Decreased expression of the angiogenic regulators CYR61 (CCN1) and NOV (CCN3) in human placenta is associated with pre-eclampsia [J]. *Mol Hum Repro*, 2006, **12** (6): 389-399.
- [15] Dimitrios Panoutsopoulos, Dimitrios L. Arvanitis, Christos Tsatsanis, et al. Expression of heregulin in human coronary atherosclerotic lesions [J]. *Vasc Res*, 2005, **42** (6): 463-474.
- [16] Andres Hilfiker, Denise Hilfiker-Kleiner, Martin Fuchs, et al. Expression of CYR61, an angiogenic immediate early gene, in arteriosclerosis and its regulation by angiotensin II [J]. *Circulation*, 2002, **106** (2): 254-260.
- [17] Hiroyuki Unoki, Kenji Furukawa, Hideto Yonekura, et al. Up Regulation of cyr61 in Vascular Smooth Muscle Cells of Spontaneously Hypertensive Rats [J]. *Lab Invest*, 2003, **83** (7): 973-982.
- [18] Svenja Debey, Lutz Kirchath, Karsten Schror, et al. Iloprost downregulates the expression of the growth regulatory gene Cyr61 in human vascular smooth muscle cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, **474** (2-3): 161-164.
- [19] 付鹏, 孙英贤, 牛铁生, 等. 富含半胱氨酸蛋白 61 在球囊损伤大鼠腹主动脉中的表达变化 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (11): 971-974.
- [20] Tatiana M. Grzeszkiewicz, Volkhard Lindner, et al. The angiogenic factor cysteine-rich 61 (CYR61, CCN1) supports vascular smooth muscle cell adhesion and stimulates chemotaxis through integrin $\alpha 6 \beta 1$ and cell surface heparan sulfate proteoglycans [J]. *Endocrinology*, 2002, **143** (4): 1 441-450.
- [21] Hae-Young Lee, Jae-Woong Chung, Seock-Won Youn, et al. Forkhead transcription factor FOXO3a is a negative regulator of angiogenic immediate early gene CYR61, leading to inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia [J]. *Circ Res*, 2007, **100** (3): 372-380.
- [22] Denise Hilfiker-Kleiner, Karol Kaminski, Agnieszka Kaminska, et al. Regulation of proangiogenic factor CCN1 in cardiac muscle: impact of ischemia, pressure overload, and neurohumoral activation [J]. *Circulation*, 2004, **109** (18): 2 227-233.

(此文编辑 李玲玲)

•读者•作者•编者•

我刊报道的疾病和诊治方法

- | | | |
|----------------|-----------------|-----------------|
| 1 肥胖症 | 9.4 动脉硬化性闭塞症 | 16 动脉硬化性精神病 |
| 2 小儿肥胖病 | 9.5 动脉硬化性周围动脉缺血 | 17 其他缺血性脑血管疾病 |
| 3 原发性高脂蛋白血症 | 10 高血压病 | 18 粥样样性肾病 |
| 4 高脂血症 | 11 周围血管疾病 | 19 肾动脉血栓形成或栓塞 |
| 5 原发性肺动脉高压症 | 11.1 血栓闭塞性脉管炎 | 20 糖尿病合并心血管疾病 |
| 6 早老症 | 11.2 雷诺综合征 | 20.1 糖尿病并发冠心病 |
| 6.1 弥散性动脉粥样硬化 | 11.3 手足紫绀症 | 20.2 糖尿病性心肌梗死 |
| 6.2 冠状动脉栓塞 | 11.4 急性动脉栓塞 | 20.3 糖尿病并发血管病变 |
| 7 冠状动脉粥样硬化性心脏病 | 11.5 肢端动脉痉挛病 | 21 代谢综合征 |
| 7.1 原发性心跳骤停 | 12 伯格氏病 | 22 血管疾病的影像学诊断 |
| 7.2 心绞痛 | 13 短暂性脑缺血发作 | 23 血管疾病的手术疗法 |
| 7.3 心肌梗死 | 13.1 黑矇 | 23.1 动脉旁路移植术 |
| 7.4 冠状动脉性心力衰竭 | 13.2 视野异常 | 23.2 动脉内膜切除术 |
| 7.5 缺血性心律失常 | 14 脑梗死 | 23.3 激光心肌内血管重建术 |
| 8 急性冠状动脉综合征 | 14.1 脑血栓形成 | 23.4 经皮腔内血管成形术 |
| 9 动脉硬化症 | 14.2 脑血管栓塞 | 23.5 其它血管手术 |
| 9.1 颈动脉硬化症 | 14.3 腔隙性脑梗死 | 24 血管疾病的基因疗法 |
| 9.2 肾动脉硬化 | 14.4 多发梗死性痴呆 | |
| 9.3 动脉硬化性主动脉瘤 | 15 脑动脉硬化症 | |

(胡必利编写)