

# 促血管生成素 1/促血管生成素 2 的比值与血管病变的关系

庾勤慧 综述, 廖端芳 审校

(药物蛋白质组学湖南省普通高等学校重点实验室, 动脉硬化化学湖南省重点实验室,  
南华大学生命科学研究中心药物药理研究所, 湖南省衡阳市, 421001)

[关键词] 促血管生成素; 促血管生成素 1与促血管生成素 2的比值; 血管病变; 动脉粥样硬化; 内皮细胞; 炎症

[摘要] 促血管生成素家族中促血管生成素 1和促血管生成素 2分别都能促进血管内皮细胞存活,但同时出现时,促血管生成素 2拮抗促血管生成素 1的内皮保护作用。促血管生成素 1与促血管生成素 2的比值与动脉粥样硬化病变、循环系统胚胎发育疾病、血管炎症病变以及糖尿病的血管并发症都密切相关。维持促血管生成素 1与促血管生成素 2的稳态平衡,或者使其比值向有利方向倾斜,才能发挥促血管生成素家族最有力的血管维护功能。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

促血管生成素(angiotensin Ang)是近年来发现的一个与血管新生密切相关的家族,包括四个成员,即 Ang-1、Ang-2、Ang-3和 Ang-4。由于相对于 Ang-3和 Ang-4, Ang-1和 Ang-2的功能研究比较深入,与内皮细胞功能维护、血管动脉硬化病变等都密切相关;因此本文主要就 Ang-1和 Ang-2之间的平衡在血管病变中的作用作一综述。

## 1 促血管生成素 1和促血管生成素 2的结构

Ang-1是 1996年 Davis<sup>[1]</sup>寻找内皮细胞酪氨酸酶受体(tyrosine kinase receptor) Tie-2配体时在 cos细胞中获取,分子量为 70 kDa,由 498个氨基酸组成的同源六聚体。基因定位于染色体 8q22.3-23,蛋白结构主要由 3部分组成,包括 N-端疏水性分泌信号肽、 $\alpha$ -螺旋的卷曲结构域及 C-羧基末端纤维蛋白原样结构域。其卷曲结构域大约 180个氨基酸,呈四面体结构,与肌球蛋白有弱的同源性;其 C-纤维蛋白原样结构域大约有 200个氨基酸,与纤维蛋白原、tenascin、hfnep、ficolin 及果蝇的 SCABROUS 有相似性,与受体的结合及磷酸化有关;主要由血管旁细胞包括周细胞(pericyte)、血管平滑肌细胞表达。Ang-2基因位于 8p23.1,蛋白由 496个氨基酸组成,与 Ang-1有 60%的同源性;主要区别在于曲卷结构域与纤维蛋白原样结构域的交界处比 Ang-1少一个半胱氨酸<sup>[2]</sup>。Ang-2蛋白在胚胎组织中广泛分布,在成熟组织中局限于血管重塑活跃的器官如子宫、卵巢等。

## 2 促血管生成素 1和促血管生成素 2对血管内皮细胞的作用

促血管生成素家族主要通过 Tie-2作用而调节血管的发展、稳定、炎症等过程。Tie-2受体是特异性表达于内皮细胞和某些激酶型造血祖细胞的酪氨酸激酶型受体,在胚胎时期的血管内皮呈均匀表达<sup>[3]</sup>,在成年动物主要表达于肺血管内皮以及卵泡、创口肉芽组织等进行活跃血管生成的血管内皮。血管旁细胞分泌的 Ang-1能与血管内皮细胞的 Tie-2受体特异性结合,增进 Tie-2磷酸化,具有活化 Tie-2的内皮细胞能吸引大量的血管周围细胞,从而包围、支持内皮细胞形成完整的血管壁,促进血管成熟与稳定。同时,Ang-1也是内皮生存因子,可以抑制在体血管的血浆渗漏和下调离体内皮细胞渗透性,从而保护血管<sup>[4]</sup>。在内皮细胞上的 Ang-2一直被认为是 Ang-1/Tie-2信号通路的拮抗剂,阻断 Ang-1介导的血管成熟过程,促进血管结构松解,消除血管基底膜和周围细胞对内皮的支撑作用。失去正常微环境的内皮非常容易浸润、迁移,形成新生血管。Ang-2触发血管新生的发生,但新生的血管结构不完整,需要 Ang-1去加固、稳定,才能形成正常的血管形态。所以 Ang-2主要在血管新生的早期起作用,Ang-1在血管新生中后阶段起效。在生理性血管新生过程中,Ang-1/Ang-2的比值是在有机的微环境调节下逐渐升高。但是什么调控 Ang-1与 Ang-2两者之间的平衡变化并不清楚。最近的研究<sup>[5]</sup>显示外源性 Ang-2同样可以激活 Tie-2受体,促进内皮细胞迁移和存活;与外源性 Ang-1比较,Ang-2与 Tie-2受体的亲和力和内在活性都稍低于 Ang-1,所以 Ang-1和 Ang-2同时刺激内皮细胞时,Ang-2削弱 Ang-1的内皮保护,起到拮抗作用。推测 Ang-1和 Ang-2分别是 Tie-2受体的完全激动剂和部分激动剂。

[收稿日期] 2009-02-12 [修回日期] 2009-04-10

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30770868, 30600249)

[作者简介] 庾勤慧,博士,副教授,主要研究方向为心血管药理学,联系电话为 0734-8282614, E-mail为 qhtud@yahoo.com.cn。通讯作者廖端芳,博士,教授,博士研究生导师,主要从事动脉硬化药物蛋白质组学研究,联系电话为 0734-8281308, E-mail为 dfliao66@yahoo.com.cn。

### 3 促血管生成素 1/促血管生成素 2的比值与动脉粥样硬化斑块

动脉粥样硬化 (atherosclerosis As) 是许多心血管疾病常见的共同病理改变。动脉粥样硬化斑块分为稳定斑块和易损斑块。易损斑块破裂继发血栓形成是导致急性冠状动脉综合征的主要病理基础<sup>[6]</sup>。Moreno等<sup>[7]</sup>通过观察 269 例中晚期斑块病理切片,发现易损斑块内新生血管密度是稳定斑块的 2 倍,并且新生血管集中分布于斑块的易损部位如纤维帽、炎症活跃区、粥样斑块肩部等;提示新生血管密度与斑块易损性呈正比。最近的文献指出 Ang-1/Ang-2 的平衡与动脉粥样硬化斑块的发展密切相关。Post等<sup>[8]</sup>通过免疫组织化学染色观察到人颈动脉内膜切除术标本上 Ang-1 主要分布于斑块部位的平滑肌细胞,Ang-2 在斑块的内皮细胞、平滑肌、巨噬细胞都有表达;Ang-1 的浓度与微血管密度呈反比,而 Ang-2/Ang-1 的比值与微血管密度呈现正相关;并且分泌的 Ang-2 继之激活大量的基质金属蛋白酶 2。有研究报道在早期斑块的新生血管主要表达血管内皮生长因子和 Ang-1,而进展型病变部位的新生血管在表达血管内皮生长因子的同时,伴随 Ang-2 的分泌显著增加。这就充分说明当动脉粥样硬化斑块部位 Ang-2 增加时,一方面可以生成大量不成熟,发育不完全(缺乏血管旁细胞和平滑肌细胞)的血管,促进血源性炎症发生;另一方面通过激活基质金属蛋白酶加强基质降解,使粥样病变向易损斑块发展。故 Ang-1/Ang-2 的比值向 Ang-2 倾斜,不利于粥样硬化病变的逆转。

### 4 促血管生成素 1/促血管生成素 2的比值与循环系统胚胎发育疾病

Suri等<sup>[9]</sup>发现缺乏 Ang-1 基因的小鼠胚胎模型血管网生成简单,血管重塑缺陷,这种血管形成缺陷导致胚胎鼠在 12.5 d 死亡,与缺乏 Tie-2 表达的小鼠胚胎模型相似。Ang-2 转基因小鼠血管出现严重缺陷,以血管壁的不完整性和不连续性为著,血管网呈广泛不连续性改变,正常血管结构变为虫蛀状,大血管发育障碍,并伴有内皮细胞堆积,类似 Ang-1 缺陷小鼠,常常在胚胎的 10 d 左右死亡。Ang-2 基因敲除鼠的胚胎能够顺利生长,但出生后 14 d 就死于严重的乳糜腹和水肿,解剖发现这种小鼠有大量结构异常的淋巴管,肠系膜淋巴结缺乏,并且视网膜血管发育缺陷。为了确定 Ang-2 对循环系统发育的作用,进一步在基因调控方式建立的 Ang-1 过表达且 Ang-2 正常水平的小鼠模型上观察,发现这种小鼠出生后没有任何淋巴系统缺陷,淋巴管循环完全正常,但仍然存在视网膜血管重塑缺陷,提示 Ang-1 可以完全修复 Ang-2 造成的淋巴循环缺陷<sup>[10]</sup>。分析原因可能是在淋巴血管形成过程中 Ang-2 是 Tie-2 激动剂,而视网膜血管形成过程中 Ang-2 是 Tie-2 拮抗剂,所以 Ang-1 可以替代 Ang-2 的激动功能,但无法恢复 Ang-2 的拮抗作用。由此可见,胚胎时期 Ang-1/Ang-2 之间维持一定稳态才有利于循环系统发育,如果稳态破坏,朝 Ang-2 倾斜比向 Ang-1 倾斜的危害要大。

### 5 促血管生成素 1/促血管生成素 2的比值与血管炎症

血管炎是指在血管壁的一层或多层内可见程度各异的炎性细胞浸润,坏死或瘢痕形成,多呈节段性、散在性分布。血管壁任何一个部位的炎症结局往往是纤维变性和内膜肥厚。血管炎的最初病变都是源于血管内皮功能紊乱,故保护内皮,稳定血管是拮抗血管炎症的主要靶点。

正常的血管组织必然表达 Ang-1 蛋白和较低水平的磷酸化的 Tie-2,但很难检测到 Ang-2 的 mRNA,唯有增殖活跃的血管高表达 Ang-2 的 mRNA。文献报道 Ang-1 可以执行血管内皮保护功能,阻止外源性细胞因子来激活内皮,拮抗脂多糖诱导的炎症反应<sup>[11]</sup>。血管稳定依赖于 Ang-1/Tie-2 信号通路,并且生理条件下,正常人循环系统中 Ang-1 的浓度普遍高于 Ang-2 可以抵消系统性释放的 Ang-2 的毒性<sup>[12]</sup>。可见正常情况下 Ang-1/Ang-2 的比值倾向于 Ang-1 时,利于血管稳态的维持。

Ang-2 主要存在于内皮细胞的 Weibel-Palade 小体 (WP 小体) 中<sup>[13]</sup>,在 VEGF、TNF- $\alpha$ 、高糖以及缺氧等刺激下都可以迅速从 WP 小体释放,并且立刻增加转录水平,上调的 Ang-2 打破 Ang-1/Tie-2 信号通路,增加血管渗出<sup>[14-16]</sup>。高表达 Ang-2 可以增加内皮细胞的血管细胞粘附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) 和细胞间粘附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达,加重 TNF- $\alpha$  诱导的炎症反应,如果用 RNA 干扰技术下调内皮细胞的 Ang-2 就可以抑制 TNF- $\alpha$  诱导的粘附分子释放和炎症反应。并且 Ang-2 基因缺陷的成年鼠对外界炎症刺激反应迟钝,表现为中性粒细胞的聚集能力低下、细胞粘附分子分泌不足等<sup>[17]</sup>。

与器官移植患者排斥反应密切相关的自身免疫炎症也与 Ang-1/Ang-2 的比值有联系。Ma等<sup>[18]</sup>在移植肾慢性排斥反应实验中观察到,大鼠异体肾移植与自体移植大鼠比较,移植第 8 或 12 周时 Ang-1 的 mRNA 表达显著减少,Ang-2 和 Tie-2 的 mRNA 明显增加。如果用雷帕霉素干预缓解排斥反应,会增加移植后第 8 或 12 周时 Ang-1 的 mRNA 表达,而显著减少 Ang-2 和 Tie-2 的 mRNA 数量<sup>[19]</sup>。可见炎症时 Ang-1/Ang-2 的比值倾向于 Ang-2。

### 6 促血管生成素 1/促血管生成素 2的比值与糖尿病的血管并发症

有研究<sup>[20]</sup>表明高糖可以促进肾小球系膜细胞 Ang-2 mRNA 升高 523%, Ang-1 下降 63%。如果用培育系膜细胞的高糖培养基再去孵育肾血管内皮细胞,内皮细胞 Ang-2 的 mRNA 会升高 318%, Ang-1 下降 51%;同时,伴有内皮生长抑制,内皮外基质病理性增生,内皮形成毛细血管的能力低下等功能紊乱现象。这提示 Ang-1 与 Ang-2 之间失衡可以加重高糖血管内皮损伤。

Hammes等<sup>[21]</sup>发现 STZ 诱导大鼠高血糖 3 个月后,视网膜神经节细胞层和内核层细胞 Ang-2 表达增加近 30 倍,

与视网膜血管周细胞丢失引发的糖尿病眼病密切相关; Ang-1在糖尿病视网膜仅增加 2 5倍。Davis等<sup>[22]</sup>也发现在糖尿病肾病模型上,肾小球内皮 Ang-2表达上调,同时伴有细胞凋亡增加,蛋白尿明显;如果用 Ang-2转基因模型动物也观察到明显的蛋白尿和肾小球细胞凋亡。也有实验室在研究糖尿病患者伤口愈合迟缓的原因问题时发现:糖尿病小鼠伤口愈合过程中, Tie-2 蛋白近乎缺失, Ang-2持续上调;然而 Tie-2是正常组织受损后修复所必需的蛋白,并且正常小鼠 Ang-2的表达从受伤后第 7天起开始下降, Ang-1蛋白变化比明显<sup>[23]</sup>。可见,在糖尿病性肾病、糖尿病性视网膜病以及糖尿病性伤口愈合迟缓的动物模型上,都存在 Ang-1/Ang-2的比值下调的现象。上调 Ang-1/Ang-2比值是否可以作为糖尿病患者新的治疗靶点,还有待进一步深入。

综上所述, Ang-1与 Ang-2是协同调节血管稳态平衡, Ang-1/Ang-2的比值可能需要维持在一定范围才最有利于血管功能维护,但这一具体的比值范围还需要更深入的研究。

#### [参考文献]

- [1] Davis S, Alkhrich TH, Jones PF, et al Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor by secretion-trap expression cloning [J]. *Cell* 1996 **87** (7): 1161-169
- [2] 周磊磊,徐东刚. 促血管生成素的生物学特点和应用前景 [J]. *生物技术通讯*, 2008 **19** (6): 925-927.
- [3] Macdonald PR, Progas P, Ciani B, et al Structure of the extracellular domain of Tie receptor tyrosine kinases and localization of the angiopoietin-binding epitope [J]. *J Biol Chem*, 2006 **281** (38): 28408-414
- [4] Pizurki L, Zhou Z, Glynn K, et al Angiopoietin-1 inhibits endothelial permeability, neutrophil adherence and IL-8 production [J]. *Br J Pharmacol* 2003 **139** (2): 329-336
- [5] Yuan HT, Khankin EV, Kanamanchi SA, et al Angiopoietin 2 is a partial agonist/antagonist of tie2 signaling in endothelium [J]. *Mol Cell Biol* 2009 **29** (8): 2011-022
- [6] 胡琴,张运. 易损斑块动物模型的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006 **14** (9): 820-822
- [7] Moreno PR, Purushothaman KR, Fuster V, et al Plaque neovascularization is increased in ruptured atherosclerotic lesions of human aorta: implications for plaque vulnerability [J]. *Circulation*, 2004 **110** (14): 2032-038
- [8] Post S, Peeters W, Busser E, et al Balance between angiopoietin-1 and angiopoietin-2 is in favor of angiopoietin-2 in atherosclerotic plaques with high microvessel density [J]. *J Vasc Res* 2008 **45** (3): 244-250
- [9] Suri C, Jones PF, Patan S, et al Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the Tie-2 receptor during embryonic angiogenesis [J]. *Cell* 1996 **87** (7): 1171-180
- [10] Gale NW, Thurston G, Hackett SE, et al Angiopoietin-2 is required for postnatal angiogenesis and lymphatic patterning, and only the latter role is rescued by Angiopoietin-1 [J]. *Dev Cell* 2002 **3** (3): 411-423
- [11] McCarter SD, Lai PF, Suen RS, et al Regulation of endothelin-1 by angiopoietin-1: implications for inflammation [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2006 **231** (6): 985-991
- [12] Fiedler U, Augustin HG. Angiopoietins: a link between angiogenesis and inflammation [J]. *Trends Immunol* 2006 **27** (12): 552-558
- [13] Fiedler U, Scharpfenecker M, Koidl S, et al The Tie-2 ligand angiopoietin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-Palade bodies [J]. *Blood*, 2004 **103** (11): 4150-156
- [14] Yao D, Taguchi T, Matsumura T, et al Methylglyoxal modification of mSin3A links glycolysis to angiopoietin-2 transcription [J]. *Cell* 2006 **124** (2): 275-286
- [15] 郭艳红,祖凌云,高炜,等. 促血管生成素 1和血管内皮生长因子基因合适剂量配比有效促进血管生成 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007 **15** (4): 248-252
- [16] Wada H, Nagano H, Yanamoto H, et al Expression pattern of angiogenic factors and prognosis after hepatic resection in hepatocellular carcinoma: importance of angiopoietin-2 and hypoxia-induced factor-1 alpha [J]. *Liver Int* 2006 **26** (4): 414-423
- [17] Fiedler U, Reiss Y, Scharpfenecker M, et al Angiopoietin-2 sensitizes endothelial cells to TNF-alpha and has a crucial role in the induction of inflammation [J]. *Nat Med*, 2006 **12** (2): 235-239
- [18] Ma X, Lu YP, Yang L, et al Expressions of Angiopoietin-1, Angiopoietin-2, and Tie2 and their roles in rat renal allografts with chronic allograft nephropathy [J]. *Transplant Proc* 2008 **40** (8): 2795-799
- [19] Ma X, Lu YP, Yang L, et al Rapamycin and cyclosporine have different effects on expression of Ang-1 and Ang-2 and Tie2 in rat renal allograft with chronic allograft nephropathy [J]. *Transplant Proc* 2008 **40** (8): 2804-807
- [20] Yao D, Taguchi T, Matsumura T, et al High glucose increases angiopoietin-2 transcription in microvascular endothelial cells through methylglyoxal modification of mSin3A [J]. *J Biol Chem*, 2007 **282** (42): 31038-045
- [21] Hammes HP, Lin J, Wagner P, et al Angiopoietin-2 causes pericyte dropout in the normal retina: evidence for involvement in diabetic retinopathy [J]. *Diabetes* 2004 **53** (4): 1104-110
- [22] Davis B, DeCas A, Long DA, et al Podocyte-specific expression of angiopoietin-2 causes proteinuria and apoptosis of glomerular endothelia [J]. *J Am Soc Nephrol* 2007 **18** (8): 2320-329
- [23] Kimpfer H, Pfeilschifter J, Frank S. Expressional regulation of angiopoietin-1 and -2 and the tie-1 and -2 receptor tyrosine kinases during cutaneous wound healing: a comparative study of normal and impaired repair [J]. *Lab Invest* 2001 **81** (3): 361-373

(此文编辑 李玲玲)