

心外膜脂肪因子促进血管新生的分子机制

陈 栋, 王 璟

(南京大学医学院临床学院 南京军区南京总医院心脏内科, 江苏省南京市 210000)

[关键词] 心外膜脂肪组织; 脂肪因子; 血管新生

[摘 要] 心外膜脂肪组织是沉积在心脏尤其是冠状动脉周围的脂肪组织, 可以表达多种脂肪因子参与动脉粥样硬化的发生与发展, 最近这些脂肪因子已经被证实还可以引起冠状动脉粥样硬化斑块内的血管新生。这些新生血管在斑块内可能具有双重效应: 一方面, 新生血管具有很强的通透性, 可以改善斑块局部缺氧状况; 另一方面, 新生血管可能促进斑块进展并导致其不稳定性增加。因此, 通过研究脂肪因子致血管新生作用的机制, 抑制斑块内的血管新生增强其稳定性可能成为未来治疗冠心病新的靶点。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Molecular Mechanism of Epicardial Adipokines Promoting Angiogenesis

CHEN Dong, and WANG Jing

(Department of Cardiology, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing, Jiangsu 210000, China)

[KEY WORDS] Epicardial Adipose Tissue; Adipokine; Angiogenesis

[ABSTRACT] Epicardial adipose tissue is a part of visceral tissue deposited around the heart, especially around coronary arteries, which can express many kinds of adipokines participating in the occurrence and development of atherosclerosis. Recently it has been confirmed these adipokine can also cause angiogenesis within the coronary atherosclerotic plaque. These neovessels have very strong permeability, which can improve the condition of local hypoxia; new blood vessels, on the other hand, may promote the plaque's progression and lead to its probability of instability increase. Thus, by studying the molecular mechanism of adipokines promoting angiogenesis, the inhibition of angiogenesis in the plaque to enhance the stability of the plaque can become a new target for therapy of coronary heart disease in the future.

心外膜脂肪组织是沉积在心脏周围的内脏脂肪组织, 研究证实其表达和分泌多种脂肪因子, 如脂联素、瘦素、抵抗素、内脂素、网膜素、趋化素等, 参与动脉粥样硬化的发展^[1]。最近越来越多的研究证实, 这些脂肪因子同样可以引起血管新生, 并与动脉粥样硬化斑块的稳定性甚至冠心病的预后密切相关^[2]。

1 血管新生

血管新生是由现有血管生成新血管的过程, 在胚胎发育和人体许多生理、病理进程中发挥着关键

作用^[3]。血管新生以内皮细胞出芽形式最常见^[4]。出芽式血管新生是一个多步骤、高度协调的进程, 不仅包括血管萌芽, 还包括内皮细胞的增殖、迁移、管腔形成和成熟。具体表现为五步: ①基底膜降解; ②尖端细胞形成; ③杆细胞延长; ④管腔形成; ⑤基底膜再合成。血管新生被许多经典的细胞因子和信号分子调控, 如血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶 (matrix metallo proteinases, MMP) 和一氧化氮 (NO), 其中最重要的当属 VEGF。VEGF 是内皮细胞的促细胞分裂剂, 并能增加血管通透性。VEGF 及其受体 VEGFR 是血管新生进程中始动信号传导通路和

[收稿日期] 2013-03-27

[基金项目] 南京军区医学科技创新重点课题 (09Z026); 江苏省“六大人才高峰”资助项目 (WS-078); 南京军区南京总医院青年基金课题 (2009Q003)

[作者简介] 陈栋, 硕士研究生, 研究方向为冠心病和高血压的临床及基础研究, E-mail 为 xmlxns@yahoo.com.cn。通讯作者王璟, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为冠心病和高血压的临床及基础研究, E-mail 为 wangjing197211@ sina.com。

决定性分子^[5]。但近年来,越来越多的证据表明,除了经典的促血管新生因子外,尤其在病理状况下,许多其他的内生多肽在血管新生的调节中也发挥着重要作用,其中就包括了脂肪因子^[3]。

2 与脂肪因子相关的经典促血管新生物质

2.1 VEGF

正常生理性血管生长过程中,VEGF 信号具有重要的促进作用,病理情况下可出现 VEGF 的异常表达^[6],在缺血性疾病中,缺氧可以刺激 VEGF 表达上调,通过对内皮细胞强烈的促有丝分裂作用,促进新生血管的形成,改善组织供血。VEGF 的受体 VEGFR 有三种亚型,VEGFR-1、VEGFR-2 和 VEGFR-3,VEGF 刺激内皮细胞增殖、增加血管通透性和新血管生成的作用主要通过结合和激活 VEGFR-2 来实现:①调控增殖:VEGF-A 是内皮细胞的促细胞分裂原,可以通过细胞膜上的 VEGFR-2 将细胞外的信号传递到细胞内,激活一系列的下游通路,调控内皮细胞增殖^[7]。②调控迁移:内皮细胞可以通过蛋白酶水解的基底膜,顺着 VEGF 和其他生长因子的浓度梯度迁移。③调控通透性:VEGF 信号可以活化内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)生成 NO,VEGFR-2 刺激血管内皮细胞释放 NO,引起血管通透性的变化^[8]。此外,VEGFR-2 也可以介导生成 NO 和前列腺素(prostacyclin, PGI₂)松弛血管平滑肌,引起血管舒张^[9]。

2.2 MMP

MMP 是一组同源且以无活性酶原形式存在的锌、钙依赖性中性蛋白酶,须经酶切 N₂ 末端激活,可分为分泌型和膜型 MMP,膜型 MMP 与细胞膜结合,分解纤维蛋白和胶原蛋白等基质蛋白,在基底膜破坏、细胞浸润及管腔形成等血管新生过程中起着非常重要的作用^[10]。此外,MMP 通过血管生长因子和炎性介子的活性化、修饰及释放来启动血管新生:例如膜型 MMP 通过分解结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)从 VEGF-CTGF 复合体释放 VEGF,从而使其发挥促进血管新生的作用^[11];MMP-9 可以通过释放基质中蓄积的 VEGF,从而在血管新生中起着非常重要的作用。MMP 还可以通过血管周细胞的补充,促进新生血管的稳定性^[12]。

2.3 NO

NO 是体内由 L-精氨酸在一氧化氮合酶(NOS)作用下产生的一种小分子气体化合物,NOS 有三种亚型,其中内皮型一氧化氮合酶(eNOS)主要存在于血

管内皮细胞,与血管新生有关。血管新生要以原有血管处于扩张、高通透性状态为基础,而血管内皮细胞内 eNOS 产生的 NO 可松弛血管平滑肌,从而降低血管张力,增加微循环通透性,有利于基质成分的改变和内皮细胞迁移。此外,NO 在血管新生整个过程中均起到重要作用^[13]:①促进内皮细胞增殖:NO 可作用于相关基因使 VEGF 等血管生长因子表达增加,NO 也可直接通过丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)促进有丝分裂,从而促进内皮细胞增殖;②细胞外基质重构:NO 能打破 MMP 及其抑制物(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)的平衡,激活 MMP 而抑制 TIMP,导致基质降解,有利于内皮细胞迁移;③内皮细胞迁移及细胞索形成:VEGF 即通过 NO 促使内皮细胞增殖、迁移,最终形成细胞索,NO 能明显增强整合素 $\alpha v \beta_3$ 的作用,而整合素 $\alpha v \beta_3$ 对血管内皮细胞的生存、管腔形成,尤其是内皮细胞迁移意义重大。NO 尚能通过调节 p38-MAPK 激酶促进热休克蛋白 27 生成,进而影响内皮细胞的趋化性,促进迁移;④管腔形成:NO 通过介导细胞凋亡使条索状新生血管芽形成血管管腔。

3 心外膜脂肪因子参与血管新生的信号通路

心外膜脂肪组织分泌的脂肪因子通过旁分泌或内分泌的形式作用于血管内皮细胞,通过一系列信号转导通路,与经典促血管新生因子相互作用,促进血管新生(图 1)。

3.1 细胞外调节蛋白激酶 1/2 通路

①脂联素通过其受体 AdipoR1 和 AdipoR2 诱导细胞外调节蛋白激酶 1/2(extracellular signal-regulated kinase1/2, ERK1/2)磷酸化介导血管内皮细胞的增殖^[14]。②瘦素可以促进内皮细胞 ERK1/2 的激活,进而诱导内皮细胞的迁移^[15]。③抵抗素可以增加冠状动脉内皮细胞中 ERK1/2 的磷酸化,而应用 ERK1/2 的特异性阻滞剂时,抵抗素诱导的内皮细胞增殖和迁移被完全阻断^[16]。④内脂素首先激活 ERK1/2 信号级联通路,诱导 VEGF 和 VEGFR2 表达,进而导致 MMP-2、MMP-9 表达增加及其抑制剂 TIMP1、TIMP2 表达减少,增强内皮细胞增殖和管腔形成^[17]。此外,内脂素也可以通过激活 ERK1/2 信号通路上调纤维母细胞生长因子 2(fibroblast growth factor 2, FGF2)来引起血管新生^[18]。内脂素引发血管新生的另一种机制是通过激活 ERK1/2 通路增强 NOS3 表达,使内皮细胞中 NO 生成增加^[19]。⑤趋

化素通过内皮细胞表面受体 CMKLR1, 促进 ERK1/2 的磷酸化, 调控血管新生^[20]。

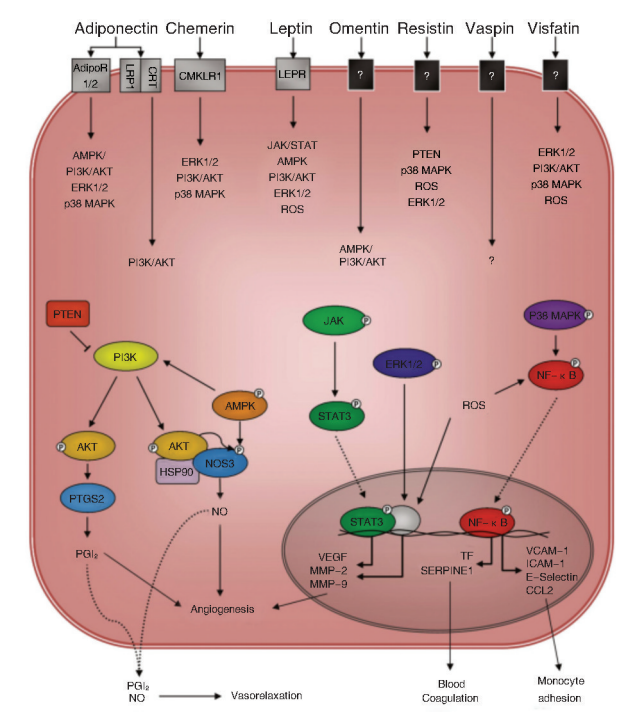


图 1. 机制图
Figure 1. Mechanism map

3.2 腺苷酸活化蛋白激酶-内皮细胞一氧化氮合酶途径

脂联素通过其受体 AdipoR1 和 AdipoR2 激活腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK), 激活的 AMPK 促进 eNOS 磷酸化, 使 NO 生成增多^[21]。除这种直接作用外, AMPK 也可以间接通过磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K)-丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT) 通路使 NOS3 磷酸化从而使 NO 生成增加^[22]。网膜素可以通过激活 AMPK 信号通路促进 AKT 通路及随后的内皮细胞分化和增殖^[23]。

3.3 PI3K-AKT 通路

①脂联素通过其受体 AdipoR1 和 AdipoR2 激活 AMPK, AMPK 间接通过 PI3K-AKT 通路使 NOS3 磷酸化从而使 NO 生成增加。脂联素也可以通过一种由钙网蛋白 (CRT) 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (LRP1) 组成的受体复合物激活 PI3K-AKT 通路, 导致前列腺素内过氧化酶 2 (prostaglandin-endoperoxide-synthase2, PTGS2) 表达增加和 PGI₂ 生成增多, 不仅增强了血管内皮细胞的生存发育能力、迁移和血管管腔的形成, 而且抑制了血管细胞黏附分子的表达和单核细胞对内皮细胞的黏附^[24]。②Garonna 等^[25]研究表

明瘦素-瘦素受体信号通路也依赖于血管内皮生长因子受体 (VEGFR-2) 的激活以及随后的 p38MAPK-PI3K-AKT 通路诱导的 PTGS2 表达。③内脂素首先激活 PI3K/AKT 信号级联通路, 诱导 VEGF 和 VEGFR2 表达, 进而导致 MMP-2、MMP-9 表达增加及其抑制剂 TIMP1、TIMP2 表达减少, 增强内皮细胞增殖和管腔形成^[17]。内脂素引发血管新生的另一种机制是通过激活 PI3K-AKT 通路增强 NOS3 表达, 使内皮细胞中 NO 生成增加^[19]。④近来, 促炎因子也被证实介导内脂素诱导的血管新生: 内脂素通过激活 PI3K 通路上调单核细胞趋化蛋白 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 和趋化因子受体 2 (chemokine receptor2, CCR2), MCP-1-CCR2 轴可以募集单核细胞以及增加 VEGF 的表达来诱导血管新生^[26]。⑤网膜素通过刺激内皮细胞中 AKT 的磷酸化激活 eNOS 进而促进内皮细胞的分化和活性, 而 AKT 及其下游靶点 eNOS 是血管新生的关键调控者^[27]。另外, 网膜素还可以通过激活 AMPK 信号通路促进 AKT 通路及随后的内皮细胞分化和增殖。除了直接作用于内皮细胞外, 网膜素还能促进 VEGF 产生增多, 激活 AKT-eNOS 通路来促进血管新生^[13]。⑥趋化素通过内皮细胞表面受体 CMKLR1, 促进 AKT 的磷酸化, 调控血管新生^[20]。

3.4 两面神激酶 2-信号传导及转录激活因子 3 通路

Ferla 等^[28,29]人研究证实, 可以通过阻断两面神激酶 2 (Janus kinase-2, JAK2) 或表皮生长因子受体 (EGFR) 信号通路来抑制瘦素诱导的内皮细胞血管新生。此外, 瘦素通过瘦素受体 (LEPR) 增强 JAK 激活转录因子信号传导及转录激活因子 3 (signal transducers and activators of transcription3, STAT3), 进而增强内皮细胞增殖和血管管腔形成。相应的, 瘦素诱导的 STAT3 活化可以增强血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达^[30]。

4 展 望

综上所述, 心外膜脂肪组织可以通过分泌各种脂肪因子促进血管新生。新生血管在动脉粥样硬化斑块的发生和发展中可能是核心事件, 理论上抑制血管新生来治疗动脉粥样硬化是可行的。但是这些机制大都来自细胞实验和动物实验, 人体中的证据依旧较少, 而且仍有许多机制尚未阐明, 还有赖于今后更加全面深入的研究。相信利用这些机制可以成为未来治疗冠心病新的靶点。

[参考文献]

- [1] Hassan M, Latif N, Yacoub M. Adipose tissue: friend or foe [J]. *Nature Reviews Cardiol*, 2012, 9: 689-702.
- [2] 王璟, 吴宗贵, 江时森. 新的冠心病预测标记—心外膜脂肪[J]. *医学研究生学报*, 2008, 21: 1 002-005.
- [3] Ribatti D, Conconi MT, Nussdorfer GG. Nonclassic endogenous novel [corrected] regulators of angiogenesis [J]. *Pharmacol Rev*, 2007, 59: 185-205.
- [4] Mitsos S, Katsanos K, Koletsis E, et al. Therapeutic angiogenesis for myocardial ischemia revisited: basic biological concepts and focus on latest clinical trials [J]. *Angiogenesis*, 2012, 15 (1): 1-22.
- [5] Woolard J, Harper SJ, Bates DO. Molecular diversity of VEGF-A as a regulator of its biological activity [J]. *Microcirculation*, 2009, 16: 572-592.
- [6] Shibuya M. Vascular endothelial growth factor-dependent and-independent regulation of angiogenesis [J]. *Angiogenesis*, 2008, 12: 15.
- [7] Hong CC, Kume T, Peterson RT. Role of crosstalk between phosphatidylinositol 3-kinase and extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase pathways in artery-vein specification [J]. *Circ Res*, 2008, 103(6): 573-579.
- [8] Blanes MG, Oubaha M, Rautureau Y, et al. Phosphorylation of tyrosine 801 of vascular endothelial growth factor receptor-2 is necessary for Akt-dependent endothelial nitric-oxide synthase activation and nitric oxide release from endothelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 10 660-669.
- [9] Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition [J]. *Cell Signal*, 2007, 19(10): 2 003-012.
- [10] Sacharidou A, Stratman AN, Davis GE. Molecular mechanisms controlling vascular lumen formation in three-dimensional extracellular matrices [J]. *Cells Tissues Organs*, 2012, 195(1-2): 122-143.
- [11] Van Hinsbergh VW, Koolwijk P. Endothelial sprouting and angiogenesis: matrix metalloproteinases in the lead [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 78: 203-212.
- [12] Stratman AN, Davis GE. Endothelial cell-pericyte interactions stimulate basement membrane matrix assembly: influence on vascular tube remodeling, maturation, and stabilization [J]. *Microsc Microanal*, 2012, 18(1): 68-80.
- [13] Bir SC, Xiong Y, Kevil CG, et al. Emerging role of PKA/eNOS pathway in therapeutic angiogenesis for ischemic tissue diseases [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 95: 7-18.
- [14] Lee MH, Klein RL, El-Shewy HM, et al. The adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 activate ERK1/2 through a Src/Ras-dependent pathway and stimulate cell growth [J]. *Biochemistry*, 2008, 47: 11 682-692.
- [15] Singh P, Peterson TE, Sert-Kunoyoshi FH, et al. Leptin upregulates caveolin-1 expression: implications for development of atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 217: 499-502.
- [16] Mattu HS, Randeva HS. Role of adipokines in cardiovascular disease [J]. *J Endocrinol*, 2013, 216: T17-T36.
- [17] Adya R, Tan BK, Punn A, et al. Visfatin induces human endothelial VEGF and MMP-2/9 production via MAPK and PI3K/Akt signalling pathways: novel insights into visfatin-induced angiogenesis [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 78: 356-365.
- [18] Bae YH, Bae MK, Kim SR, et al. Upregulation of fibroblast growth factor-2 by visfatin that promotes endothelial angiogenesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379: 206-211.
- [19] Lovren F, Pan Y, Shukla PC, et al. Visfatin activates eNOS via Akt and MAP kinases and improves endothelial cell function and angiogenesis in vitro and in vivo: translational implications for atherosclerosis [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 296: E1 440-449.
- [20] Kaur J, Adya R, Tan BK, et al. Identification of chemerin receptor (ChemR23) in human endothelial cells: Chemerin-induced endothelial angiogenesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(4): 1 762-768.
- [21] DeClercq V, Taylor CG, Wigle J, et al. Conjugated linoleic acid improves blood pressure by increasing adiponectin and endothelial nitric oxide synthase activity [J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23: 487-493.
- [22] Vaiopoulos AG, Marinou K, Christodoulides C, et al. The role of adiponectin in human vascular physiology [J]. *Intern J Cardiol*, 2012, 155: 188-193.
- [23] Kimura T, Tomura H, Sato K, et al. Mechanism and role of high density lipoprotein-induced activation of AMP-activated protein kinase in endothelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285: 4 387-397.
- [24] Ohashi K, Ouchi N, Sato K, et al. Adiponectin promotes revascularization of ischemic muscle through a cyclooxygenase 2-dependent mechanism [J]. *Mol Cellular Biol*, 2009, 29: 3 487-499.
- [25] Garonna E, Botham KM, Birdsey GM, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2 couples cyclo-oxygenase-2 with pro-angiogenic actions of leptin on human endothelial cells [J]. *Plos One*, 2011, 6: e18823.
- [26] Adya R, Tan BK, Chen J, et al. Pre-B cell colony enhancing factor (PBEF)/visfatin induces secretion of MCP-1 in human endothelial cells: role in visfatin-induced angiogenesis [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 205: 113-119.
- [27] Morello F, Perino A, Hirsch E. Phosphoinositide 3-kinase signalling in the vascular system [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 82: 261-271.
- [28] Ferla R, Bonomi M, Otvos L, et al. Glioblastoma-derived leptin induces tube formation and growth of endothelial cells: comparison with VEGF effects [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 303.
- [29] Northcott JM, Yeganeh A, Taylor CG, et al. Adipokines and the cardiovascular system: mechanisms mediating health and disease [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2012, 90(8): 1 029-059.
- [30] Cascio S, Ferla R, D'Andrea A, et al. Expression of angiogenic regulators, VEGF and leptin, is regulated by the EGF/PI3K/STAT3 pathway in colorectal cancer cells [J]. *J Cellular Physiol*, 2009, 221: 189-194.