

# 从滋养血管成熟化探讨稳定动脉粥样硬化易损斑块的作用

漆仲文<sup>1</sup>, 李 萌<sup>1</sup>, 张军平<sup>2</sup>

(天津中医药大学 1. 研究生院, 2. 第一附属医院心血管科, 天津市 300193)

[关键词] 滋养血管; 动脉粥样硬化; 易损斑块

[摘要] 动脉粥样硬化(As)疾病在各种易损因素的影响下,最终导致斑块的形成、破裂。在这一过程中斑块内新生血管的数量、通透性成为关键因素,因此,对于新生血管的调节成为近几年 As 疾病的治疗策略。然而,仅仅通过抑制新生血管的进展具有一定局限性,怎样促进斑块内滋养血管成熟化将成为稳定 As 易损斑块新的治疗途径。本文综述了滋养血管成熟化相关生长因子及信号通路,以期 As 易损斑块新的治疗奠定理论基础。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Study on the role of vasa vasorum maturation in stabilizing vulnerable plaque of atherosclerosis

QI Zhong-Wen<sup>1</sup>, LI Meng<sup>1</sup>, ZHANG Jun-Ping<sup>2</sup>

(1. Graduate School, 2. Vasculocardiology Department, First Affiliated Hospital, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[KEY WORDS] Vasa vasorum; Atherosclerosis; Vulnerable plaque

[ABSTRACT] Atherosclerosis (As) disease, under the influence of various vulnerable factors, eventually leads to the formation and rupture of plaques. In this process, the quantity and permeability of plaque neovascularization are the key factors. Therefore, the regulation of angiogenesis has become a therapeutic strategy for As disease in recent years. However, there are some limitations only by inhibiting the development of new blood vessels, and how to promote the maturation of vasa vasorum in the plaque will become a new way to stabilize the vulnerable plaque of As. In this paper, we review the growth factors and signaling pathways related to the maturation of vasa vasorum, in order to lay a theoretical foundation for the new treatment of vulnerable plaque in As.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)疾病中不稳定斑块破裂从而引发血栓的形成逐渐成为急性心血管事件的首要病因<sup>[1]</sup>。近年研究发现,来自于冠状动脉外膜、中膜的滋养血管(vasa vasorum, VV)供应氧气和营养物质给动脉管壁,并带走血管壁的代谢废物,但是其缺乏周细胞和平滑肌细胞的包绕,结构脆弱,具有更高的通透性<sup>[2]</sup>。在缺氧、炎症、脂质浸润影响下,刺激冠状动脉内膜代偿性增厚,外膜滋养血管进一步增加,可向斑块内生长,为脂质和各种炎性细胞进入斑块提供通路,可出血导致斑块破裂<sup>[3]</sup>。早期的滋养血管新生可能是管壁缺血的代偿机制,可为斑块局部提供大量养分,这对避免动脉病变处缺氧是有益的,但随着斑块内新生血

管数量的增加,各种炎性细胞浸润,容易形成易损斑块<sup>[4]</sup>。滋养血管成熟是在血管形成后期,通过血管内皮细胞与血管周围细胞间的相互作用完成血管“重塑”的过程。因此,近年对于 As 易损斑块稳定性的研究转向滋养血管成熟化。

中医认为,As 在虚、瘀、痰、毒病理因素影响下,久病入络,正如王永炎院士所说“脉道亢变”。因此,对于脉道的通畅关注于外邪的祛除和正气的维护,包括清热解毒、活血通络、益肾养阴等法则。在整体辩证论治原则下,着眼于滋养血管成熟化这一微观,通过探究滋养血管成熟过程,更好的发挥中医“治未病”优势。将易损斑块稳定在滋养血管新生早期或促进后期滋养血管成熟,有助于遏制 As 的

[收稿日期] 2016-09-30

[修回日期] 2016-11-25

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81473634)

[作者简介] 漆仲文,硕士研究生,研究方向为心血管疾病,E-mail 为 13820596855@163.com。通讯作者张军平,教授,博士生导师,研究方向为中西医结合治疗心脑血管病基础及临床,E-mail 为 tjzhtcm@163.com。

发展。

## 1 调节滋养血管成熟的生长因子

### 1.1 血管生成素 1 及其受体

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 在促进血管新生中发挥着重要的作用,在 As 后期随着炎症的进展,滋养血管外膜逐渐进入冠状动脉管腔内,这样的滋养血管不益于斑块稳定。血管生成素 1 (angiopoietin 1, Ang1) 是被研究证实的具有内皮特异性的促血管生成因子。Ang1 是血管内皮特异受体 Tie2 的配体,研究表明 Ang1/Tie2 信号在成人血管中可以促进血管新生及维持血管稳态<sup>[5]</sup>。Ang1 在后期可对血管网进行重构,以形成大小不一的各级血管,最终形成完整成熟血管网。在胚胎期血管发生过程中,Ang1 基因敲除的胚胎小鼠心脏发育障碍,血管网结构简单,血管成熟和重构困难,最终因不能形成成熟的血管网而死亡<sup>[6]</sup>。Ang1 可增加内皮细胞间连接的紧密性,可以利用这一特性减少血管的渗漏,减轻炎症反应。受 Ang1 活化的 Tie2 在内皮细胞缺乏及存在情况下引导壁细胞的聚集,同时通过内皮细胞与周围微血管内皮细胞、细胞与细胞外基质之间相互作用加强滋养血管的稳态<sup>[7]</sup>。

### 1.2 血小板源生长因子 BB 及其受体

在血管生成的过程中,周细胞直接影响血管的渗透、成熟,其中血小板源生长因子 BB (platelet-derived growth factor BB, PDGF-BB) 是经典的促进周细胞迁移覆盖的细胞因子,其由内皮细胞分泌,作用于周细胞上的 PDGF 受体<sup>[8-9]</sup>。新生血管成熟的标志是基底膜的形成,表现为内皮细胞对周细胞的募集,从而形成有周细胞包绕的稳定的血管<sup>[10]</sup>。周细胞在调节血管的形态和功能方面发挥重要作用<sup>[11]</sup>。在血管形成过程中,PDGF-BB 是周细胞募集和分化所需的重要因子<sup>[12]</sup>。研究表明斑块内血管周围有异常形态和血管内皮细胞增殖的新生血管,但是这些血管有高的通透性,细胞内基质容易外漏<sup>[13]</sup>。新生血管显示周细胞密度下降,新生血管相关的周细胞常表达异常和出现形态异常<sup>[14]</sup>。利用小鼠模型研究表明,周细胞的存在可以保护内皮细胞免受 VEGF 的抑制。同时,抑制 PDGF 受体的周细胞,可以提高 VEGF 抑制剂对内皮细胞的影响,增强抗血管生成疗法的效果<sup>[15]</sup>。

### 1.3 转化生长因子 $\beta$

转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ,

TGF- $\beta$ ) 在血管内皮表达、成熟,在维持血管内稳态中发挥着重要的作用<sup>[16]</sup>。在 TGF- $\beta$  众多受体中, TGF- $\beta$ R III 能够促进其与 TGF- $\beta$  配体绑定及加速 TGF- $\beta$  信号通路<sup>[17]</sup>。TGF- $\beta$  与受体 II 结合后,诱导、激活受体 I,磷酸化后的受体 I 成为 TGF- $\beta$  信号通路的上游靶点,其下游信号通道蛋白 Smad2 分子和 Smad3 分子磷酸化,并且调节细胞核转录<sup>[18]</sup>。有研究表明,在内皮细胞受体 II 缺乏情况下,会导致受损的视网膜血管新生及血管网的形成。另外,发现缺乏下游 Smad1、5 会导致胚胎期血管的新生,同时观察到被新生滋养血管包围的广泛集落内皮细胞<sup>[19]</sup>。总之, TGF- $\beta$  信号相关蛋白在内皮细胞抑制了细胞行为,同时促进新生血管。下游的 Smad 蛋白家族是 TGF- $\beta$ 1 信号转导的主要线路,其介导跨膜信号传入细胞核内。Smad 蛋白根据其功能不同分为:受体激活型 (Smad1、Smad2、Smad3、Smad5、Smad8)、共同通路型 (Smad4) (所有 TGF- $\beta$ 1 家族信号转导入细胞核所必需的)、抑制型 (Smad6、Smad7) 3 类<sup>[20]</sup>。Smad7 过度表达还能抑制基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP),促进胶原蛋白形成,减少细胞外基质的降解<sup>[21]</sup>。研究发现 TGF- $\beta$ 1 能够影响血管的生成及维持血管壁的正常结构,并可逆转及改善 As。在内皮细胞中, TGF- $\beta$ 1 能通过一系列作用抑制斑块的生长,稳定斑块的结构,抑制巨噬细胞摄取脂肪颗粒,减少泡沫细胞的形成,稳定斑块<sup>[22]</sup>。总之, TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路影响 As 进程,维持斑块内新生血管壁正常结构,稳定易损斑块。

## 2 促滋养血管成熟的信号通路

### 2.1 调节斑块内新生血管的细胞外基质

既往研究发现,在脂多糖或游离脂肪酸刺激的小鼠巨细胞中,过表达持续激活性腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate active protein kinase, AMPK) 可明显抑制核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 的活性及促炎因子肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 的表达;而干扰 AMPK 表达或过表达显性失活突变型 AMPK 则可明显增强 TNF- $\alpha$  的表达<sup>[23]</sup>。而激活后的 AMPK 能够通过多途径抑制炎症信号通路的关键转录因子 NF- $\kappa$ B 的活化,进而抑制炎症因子基因的表达。研究发现 AMPK 主要通过下游沉默信息调节因子 1 (silent information regulator of transcription 1, SIRT1) 等蛋白间

接调节 NF- $\kappa$ B 活性,抑制炎症因子表达<sup>[24]</sup>。在 As 斑块区血管新生是不可避免的,但由于新生血管的通透性增高导致该区域斑块易破裂。研究表明,MMP-9 是 MMP 家族中的重要成员,相对于正常组织,As 斑块内 MMP-9 水平升高,增高新生血管通透性;MMP-9 是发生心血管事件的预测因子。过表达 SIRT1 可抑制 MMP-9 的表达,而干扰 SIRT1 表达则增强 MMP-9 表达<sup>[24]</sup>;另外有研究表明 SIRT1 可显著下调炎症基因的表达。总之,AMPK/SIRT1 信号通路调控炎症反应,改善斑块内新生血管通透性,稳定 As 易损斑块。

## 2.2 调节滋养血管细胞间作用

As 时,血管外膜免疫应激损伤,继发滋养血管功能失调<sup>[25]</sup>、滋养血管阻塞及密度降低,进而导致动脉缺氧,引起炎症级联反应,斑块内血管新生<sup>[26]</sup>,成为 As 易损斑块形成的始动因素。

As 发生早期,炎症因子、趋化因子等多种活性因子在血管外膜聚集,激活细胞内 PI3K/Akt-HIF-1 $\alpha$  信号通路,触发 VEGF 持续释放,启动动脉壁滋养血管的新生进程<sup>[27]</sup>。当 VEGF 与其受体结合时磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidyl inositol-3-kinase, PI3K) 活化,作用于下游靶蛋白,进而促进新生血管的形成<sup>[28]</sup>。在血管生成过程中,VEGF 与 Ang1/Tie2 作用于不同阶段,在血管生成的整个过程中 VEGF 只是促进血管数量的增加,但是在滋养血管稳定期 Ang1/Tie2 作用更大,可以维持内皮细胞迁移、存活,进而稳定血管内皮结构<sup>[29]</sup>。同时 Ang1 并不只与 Tie2 特异性结合,还可与 VEGF 联合,减缓内皮细胞凋亡进程,从而达到降低内皮细胞的通透性,减少相关炎症因子的释放及细胞基质的外渗,从而保护血管<sup>[30]</sup>。Ang1/Tie2 信号通路可在滋养血管形成后期对初级血管网进行重构,形成大小不一的二级血管网,最终形成成熟的血管网<sup>[31]</sup>,即最终从血管的新生、壁细胞聚集、血管网的重构、动静脉的分化完成滋养血管从初期的量变到质变的转变。故有效调控 Ang1/Tie2 信号通路及其相关调节蛋白,可以调节新生血管网运输功能,从而稳定易损斑块。总之,PI3K/Akt-HIF-1 $\alpha$  信号通路影响斑块内血管新生,进一步激活 Ang1/Tie2 信号通路,从而调节新生血管外膜及血管网重建,稳定易损斑块。

## 2.3 募集周细胞

bFGF/PDGF-BB/PDGFR-AB 信号通路是在生理性和病理性血管新生过程中对周细胞募集起关键作用的通路<sup>[32]</sup>。内皮细胞来源的 PDGF-BB 是经典的 PDGFR 配体,在胚胎期血管生成周细胞募集

的过程中起到至关重要的作用<sup>[33]</sup>。研究发现,碱性纤维母细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 在缺氧和酸化环境中可显著调节 PDGFR $\beta$  在人类培养的中枢神经系统周细胞中的表达。另一方面,酸化明显调节 bFGF 的表达,而缺氧则调节 FGFR1 的表达。bFGF 和 FGFR 可显著诱导脑缺血性中风大脑中动脉闭塞模型中的周细胞。另有研究显示,增加 bFGF 的表达可上调 PDGFR $\beta$  并可能提高 PDGFR $\beta$  介导的脑缺血后外膜细胞功能<sup>[34]</sup>。研究发现,敲除 PDGF-BB 或 PDGFR $\beta$  基因的小鼠显示严重周细胞募集受损和血管异常,持续的血管内皮细胞增殖,导致微动脉瘤形成和出血<sup>[35]</sup>;类似的影响在内皮细胞敲除 PDGF-BB 基因时最明显<sup>[36]</sup>。周细胞调节内皮形态和功能通过细胞间接触和涉及的旁分泌信号几个途径而实现,比如 TGF- $\beta$  及其受体以及 bFGF/PDGF-BB/PDGFR-AB 信号通路<sup>[37]</sup>。内皮细胞分泌的 PDGF-BB 通过与 PDGFR 阳性的周细胞结合最终实现募集周细胞、稳定血管的作用,PDGF-BB 表达减少导致周细胞密度的显著减少<sup>[38]</sup>。

目前认为 bFGF/PDGF-BB/PDGFR-AB 通路是募集周细胞、促新生血管成熟的最佳组合,激活上述通路可以达到重塑斑块内新生血管结构、稳定血管的目的。

## 3 结论与展望

早期对于 As 的研究着眼于微血管的血管新生及抑制斑块内新生血管,随着血管稳态这一理念的提出,滋养血管的地位被逐步提升。因此,促 As 斑块区滋养血管成熟成为稳定易损斑块的新途径。在血管成熟化过程中,通过改善斑块内新生血管通透性、募集周细胞、调节血管内皮细胞与血管周围细胞间的相互作用及促进新生血管网重建 4 个不同机制,稳定易损斑块,最终使新形成的血管系统能满足其氧和营养物质输送需求。但是,目前临床上通过滋养血管成熟化稳定 As 易损斑块的药物进展甚微,更多的只是在基础研究方面。随着人们对 As 疾病多靶点、多途径的不断研究,通过调节血管生长和滋养血管成熟来探索治疗 As 易损斑块将具有十分广阔的前景。

## [参考文献]

- [1] 陈润泰,傅玉才,王伟. 血管新生对动脉粥样硬化斑块稳定性影响的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2016, 24(3):



- 311-315.
- [2] Xu JY, Lu XT, Shi GP. Vasa vasorum in atherosclerosis and clinical significance[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 5(16): 11 574-608.
  - [3] 董震, 孙爱军, 施海明. 动脉粥样硬化斑块滋养血管研究[J]. *国际心血管病杂志*, 2014, 41(4): 233-242.
  - [4] 刘莹. 新生滋养血管在动脉粥样硬化斑块进展中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(11): 954-956.
  - [5] Mueller SB, Kontos CD. Tie1: an orphan receptor provides context for angiopoietin-2/Tie2 signaling[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(9): 3 188-191.
  - [6] 衣慧, 王宗仁. Angiopoietin/Tie2 系统在血管新生与成熟过程中的表达及意义[J]. *心脏杂志*, 2012, 24(4): 535-538.
  - [7] 张小芳, 刘丹, 姚宝珍. Ang-1/Ang-2/Tie2 信号通路在血管生成中的研究进展[J]. *微循环学杂志*, 2011, 21(3): 78-80.
  - [8] Kelly-Goss MR, Sweat RS, Stapor PC, et al. Targeting pericytes for angiogenic therapies[J]. *Microcirculation*, 2014, 21(4): 345-357.
  - [9] 闫锴, 吴剑波. 血管生成素-2(Angiopoietin-2)调节小鼠下肢缺血血管生成的研究[D]. 成都: 四川医科大学, 2015; 10-30.
  - [10] Amber NS, George ED. 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.
  - [11] Aguilera KY, Brekken RA. Recruitment and retention: factors that affect pericyte migration[J]. *Cell Mol*, 2014, 71(2): 299-309.
  - [12] 洪鹏, 李守春, 薛菁晖, 等. 血小板衍生因子 BB 与脑血管痉挛[J]. *临床神经外科杂志*, 2015, 12(3): 238-240.
  - [13] Padel T, Özen I, Boix J, et al. Platelet-derived growth factor receptor-beta is differentially regulated in primary mouse pericytes and brain slices[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2016, 13(2): 127-134.
  - [14] Funa K, Sasahara M. The roles of PDGF in development and during neurogenesis in the normal and diseased nervous system[J]. *J Neuroimmune Pharm*, 2014, 9(2): 168-181.
  - [15] Hellberg C, Östman A, Heldin CH. PDGF and vessel maturation[J]. *Springer Heidelberg*, 2010, 180(10): 103-114.
  - [16] Goumans MJ, Liu Z, Dijketen P. TGF-beta signaling in vascular biology and dysfunction[J]. *Cell Res*, 2009, 19(12): 116-127.
  - [17] Jakobsson L, van Meeteren LA. Transforming growth factor b family members in regulation of vascular function: in the light of vascular conditional knockouts[J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(10): 1 264-270.
  - [18] Lebrin F, Goumans MJ, Jonker L, et al. Endoglin promotes endothelial cell proliferation and TGF-beta/ALK1 signal transduction[J]. *EMBO J*, 2004, 23(8): 4 018-028.
  - [19] Moya IM, Umans L, Mas E, et al. Stalk cell phenotype depends on integration of Notch and Smad1/5 signaling cascades[J]. *Dev Cell*, 2012, 22(10): 501-514.
  - [20] Hata A, Chen YG. TGF-β signaling from receptors to smads[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8(7): 1-32.
  - [21] Mallawaarachchi CM, Weisberg PL, Siow RC. Smad7 gene transfer attenuates adventitial cell migration and vascular remodeling after balloon injury[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(7): 1 383-387.
  - [22] Frutkin AD, Otsuka GS, Stempien-Otero A, et al. TGF-beta 1 limits plaque growth, stabilizes plaque structure, and prevents aortic dilation in apolipoprotein E-null mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(9): 1 251-257.
  - [23] Yang Z, Kahn BB, Shi H, et al. Macrophage α1 AMP-activated protein kinase (αAMPK) antagonizes fatty acid-induced inflammation through SIRT1[J]. *Biol Chem*, 2010, 285(25): 19 051-059.
  - [24] 何菲, 刘娟, 张力. 乙酰化: 炎症调控新靶点[J]. *生命的化学*, 2011, 31(6): 814-817.
  - [25] Partovi S, Loebe M, Noon GP, et al. Detection of adventitial vasa vasorum and intraplaque neovascularization in carotid atherosclerotic lesions with contrast-enhanced ultrasound and their role in atherosclerosis[J]. *Methodist Debaque Cardiovasc J*, 2011, 7(4): 37-40.
  - [26] Zagorchev L, Mulligan-Kehoe MJ. Advances in imaging angiogenesis and inflammation in atherosclerosis[J]. *Thromb Haemost*, 2011, 105(5): 820-827.
  - [27] Rademakers T, Douma K, Hackeng TM, et al. Plaque-associated vasa vasorum in aged apolipoprotein E-deficient mice exhibit proatherogenic functional features in vivo[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(2): 249-256.
  - [28] Wang H, Yin YG, Li W, et al. Over-expression of PDGFR-β promotes PDGF-induced proliferation, migration, and angiogenesis of EPCs through PI3K/Akt signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): 303-320.
  - [29] 刘帅, 刘学政. Ang-1/Tie2 系统与病理性血管形成的关系[J]. *解剖科学进展*, 2010, 16(1): 85-88.
  - [30] Hilbert T, Klaschik S. The angiopoietin/Tie receptor system: Focusing its role for ischemia-reperfusion injury[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2015, 26(3): 281-291.
  - [31] Chen JX, Tuo Q, Liao DF, et al. Inhibition of protein tyrosine phosphatase improves angiogenesis via enhancing Ang-2/Tie-2 signaling in diabetes[J]. *Exp Diabetes Res*, 2012, 20(12): 1-10.
  - [32] Aguilera KY, Brekken RA. Recruitment and retention: factors that affect pericyte migration[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71(2): 299-309.
  - [33] Okamoto S, Nitta M, Maruyama T, et al. Bevacizumab changes vascular structure and modulates the expression of angiogenic factors in recurrent malignant gliomas[J]. *Brain Tumor Pathol*, 2016, 33(2): 129-136.
  - [34] Nakamura K, Arimura K, Nishimura A, et al. Possible involvement of basic FGF in the upregulation of PDGFRβ in pericytes after ischemic stroke[J]. *Brain Res*, 2016, 2(1): 98-108.
  - [35] Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine[J]. *Genes Dev*, 2008, 22(10): 1 276-312.
  - [36] Schmidt MH, Liebner S. Endothelial signaling in development and disease[J]. *Springer New York*, 2015, 13(Suppl 5): 15-24.
  - [37] Gianni-Barrera R, Bartolomeo M, Vollmar B, et al. Split for the cure: VEGF, PDGF-BB and intussusception in therapeutic angiogenesis[J]. *Biochem Soc Trans*, 2014, 42(6): 1 637-642.
  - [38] Tuuminen R, Dashkevich A, Keränen MA, et al. Platelet-derived growth factor-B protects rat cardiac allografts from ischemia reperfusion injury[J]. *Transplantation*, 2016, 100(2): 303-313.