

动脉粥样硬化斑块内血管新生的研究进展

王艳蕾, 颜旭, 刘春华, 杨军辉

(湖南中医药大学, 湖南省长沙市 410208)

[关键词] 动脉粥样硬化; 血管新生; 缺氧; 炎症; 信号通路

[摘要] 动脉粥样硬化是诱导心脑血管相关疾病发生的主要原因,在动脉粥样硬化的影响因素中,血管新生是导致斑块内破裂并引发各种并发症的主要原因之一。缺氧、炎症、生长因子相关因素可引发斑块内血管新生,导致动脉粥样硬化的发生。本文对影响血管新生的相关因素及其作用机制作一综述,为动脉粥样硬化的防治提供新的思路和干预靶点。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Research progress of angiogenesis in atherosclerotic plaque

WANG Yanlei, YAN Xu, LIU Chunhua, YANG Junhui

(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[KEY WORDS] atherosclerosis; angiogenesis; hypoxia; inflammation; signal pathway

[ABSTRACT] Atherosclerosis is the main cause of cardio-cerebrovascular related diseases. Among the influencing factors of atherosclerosis, angiogenesis is one of the main causes of plaque rupture and various complications. Hypoxia, inflammation and growth factor-related factors can cause angiogenesis in plaques and lead to atherosclerosis. This article reviews the related factors affecting angiogenesis and their mechanism, in order to provide new ideas and intervention targets for the prevention and treatment of atherosclerosis.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)在多种危险因素作用下,血管内皮细胞功能或结构受损,导致通透性发生改变,血脂异常沉积到内膜下层为主要特征的渐进性病理过程,伴随有炎症细胞浸润,中膜平滑肌细胞向内膜下迁移增殖,巨噬细胞源性和平滑肌细胞源性泡沫细胞形成和细胞外基质合成增加,最终形成凸向管腔的占位性病变,即As斑块^[1]。As斑块中的血管生成在As的病理生理机制中起着至关重要的作用。在缺氧、炎症、氧化应激情况下使得斑块内的动态失衡,可能导致血管生成,增加斑块的不稳定性,增加心血管事件的发生率,然而As斑块内血管新生的相关机制尚未完全明了,本文就影响As斑块内血管新生的相关因素和信号通路作一综述。

1 As 斑块内血管新生过程

血管生成的典型出芽式方式是在促进血管生成的信号分子刺激下,内皮细胞产生蛋白酶分解周围的基膜,并使内皮细胞摆脱细胞外基质的约束,内皮细胞以出芽生长的方式向外生长并连接邻近的血管。血管生成可划分为四个阶段:新生、修饰、重构、分化,均有相对应的促血管生成因子参与其中,促使从先前存在的微血管网络中形成新的血管。(1)新生阶段:内皮细胞在血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和血管生成素2作用下出芽^[2]。(2)修饰阶段:加快周细胞的分裂增殖并产生大量的细胞外基质。血小板源生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)可促进周细胞生长^[3]。血管生成素1/Tie2通过加强内皮细胞与周细胞的联系,增强新生血管的稳定性,

[收稿日期] 2020-05-29

[修回日期] 2021-04-12

[基金项目] 湖南省自然科学基金科卫联合项目(2019JJ80114);湖南省中医药管理局重点课题(2020023)

[作者简介] 王艳蕾,硕士研究生,主要研究方向为中医防治心血管疾病,E-mail 为 493704423@qq.com。通信作者杨军辉,硕士研究生导师,研究方向为中医药防治心血管疾病,E-mail 为 yjh516@126.com。

减弱血管的通透性^[4]。转化生长因子 $\beta 1$ 上调细胞外基质蛋白的表达,增强血管壁的完整性^[5]。(3) 重构阶段:调节细胞外基质和基膜,如基质金属蛋白酶 2,3,9(matrix metalloprotease 2,3,9,MMP-2,3,9)调控血管内皮细胞和血管壁细胞在周围间质中的移行^[6]。(4) 分化阶段:不同部位的新生血管按照预定方向进行分化,促进微血管的形成。

血管新生大体可分两个过程,从先前存在的血管中萌发新的毛细血管或通过血管重塑扩大现有的血管。As 斑块中的血管新生主要属于从先前的滋养血管中萌发新的血管^[7]。在 As 斑块内,大多数微血管(>96%)已被证明起源于外膜,通过中膜延伸至斑块,且微血管主要分布在斑块肩部^[8]。

2 与 As 斑块内血管新生相关的因素

2.1 缺氧

As 与缺氧密切相关,缺氧可直接刺激斑块内血管新生,也可间接刺激巨噬细胞分泌促血管生成的生长因子如 VEGF、PDGF 和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF),巨噬细胞还可产生不同类别的酶,例如 MMP 家族,对细胞外基质的降解和重构产生影响,从而影响斑块内血管新生^[9]。影响斑块内缺氧发生的主要因素为管腔内血流量减少、进行性内膜增厚和高氧耗^[10]。在 As 病变区,由于内膜增厚或者钙化导致氧扩散受到限制,又或者因斑块内炎症增加需氧量,例如代谢活跃的炎症细胞(巨噬细胞、泡沫细胞等)的高需氧量,二者都可启动缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor,HIF),引起 As 病变中血管新生^[11]。

HIF 是由两个亚基 HIF-1 α 和 HIF-2 α 组成的异二聚体。HIF-1 α 表达在所有细胞核中,然而 HIF-2 α 只在特定的细胞类型中进行表达,如血管内皮细胞。在 As 斑块中,坏死核心附近的平滑肌细胞、炎性巨噬细胞和血管周围组织均发现有 HIF-1 α 蛋白的表达增加^[12]。HIF-1 α 的增加可能通过改变平滑肌细胞的增殖和迁移、血管生成和脂质代谢而导致 As^[13]。

2.2 炎症

As 是一种慢性炎症性疾病,具有经典炎症增生、变性和渗出的特点,As 的每个阶段均存在炎症反应^[14]。体内外实验表明,炎症与血管新生相互关联。斑块内炎症细胞增加氧耗量,进而造成低氧,增加 HIF 基因的表达,促进斑块内血管新生^[15]。新生血管渗漏使血液成分聚集在斑块中,氧化和蛋白

水解、胆固醇滞留等过程会受影响,引发炎症反应^[16]。

在 As 病变区,超过 80% 的新生血管是弱整合的,斑块内微血管的内皮细胞形态和连接异常,可见膜泡、胞质内空泡、细胞间连接开放、基底膜脱落,因此经常发生斑块内渗漏^[17]。血管壁的完整性由内皮细胞连接负责,防止血管内成分渗漏到血管外间隙,血管生成过程当中,炎症会导致内皮细胞连接的通透性增加,故血清蛋白沉积形成临时基质,引发促血管生成的炎症细胞黏附和反式迁移^[18]。炎症细胞可以从未成熟的新生血管中渗出,但是这些细胞通过释放由炎症细胞、内皮细胞和周细胞释放的炎症介质如补体因子也会产生主动的吸引作用^[19]。斑块内渗漏的新生血管是炎性免疫细胞进入病变区的直接通道,单核细胞通过由促炎症细胞因子的趋化作用渗入内膜,进入内膜后,单核细胞分化为巨噬细胞,随后演变为泡沫细胞^[20]。炎性细胞对血管新生起到促进和加强的作用,反过来新生血管又能诱导炎症细胞的富集,增加了斑块的不稳定性,加剧了病情的发展。

2.3 生长因子

多种生长因子参与调节并诱导血管新生,如 VEGF 家族、FGF 家族和 PDGF 家族。血管生成的主要途径是 VEGF 及其酪氨酸激酶受体途径,通过加强血管通透性、促使内皮细胞的增殖和迁移,引发血管生成^[21]。

FGF 家族尤其是 FGF1 和 FGF2 这两种异构体具有促血管生成潜能,对于内皮细胞的增殖和组织成管状结构至关重要。FGF 通过与细胞表面受体如成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptors,FGFR)、整合素和硫酸肝素蛋白多糖结合促进血管生成^[22]。

PDGF 由内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞和血小板等多种细胞分泌,是由两条链 PDGFA 和 PDGFB 组成的二聚体。在这些细胞类型中,只有内皮细胞和巨噬细胞能够同时合成这两条链,并且诱导平滑肌细胞的迁移和增殖,参与调节血管重塑和血管新生^[23]。总之,缺氧、炎症、生长因子三者关系密切且相互作用,促进 As 斑块内血管新生(图 1)。

3 新生血管信号通路

斑块内大多数炎症细胞为高代谢的细胞,具有较高的耗氧量,易引起缺氧,导致 VEGF 相关因子及信号通路相互交织作用,引发血管新生。目前研究

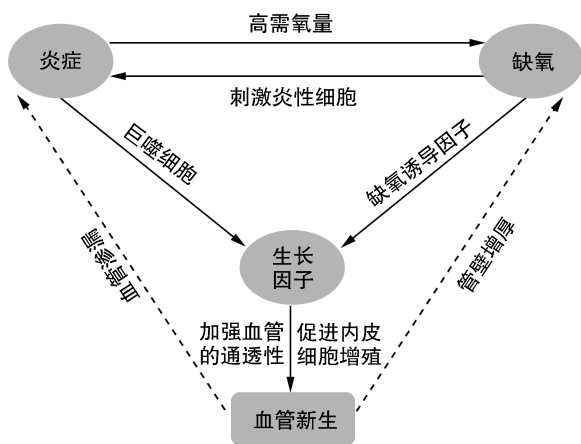


图 1. 缺氧、炎症和生长因子相互影响

Figure 1. Hypoxia, inflammation and growth factors influence each other

的主要信号通路包括 VEGF、酪氨酸激酶/信号转导子和转录激活子 (janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT) 以及 Notch 信号通路 (图 2)。

3.1 VEGF 信号通路

VEGF 家族异构体有 7 种, 分别为 5 个糖蛋白 VEGFA、B、C、D、E 和胎盘生长因子 1、2 (placental growth factor1, 2, PlGF1, 2)。受体为血管内皮生长因子受体 (VEGFR) 成员有 5 种, 其中属于酪氨酸蛋白激酶受体的有: VEGFR1、2、3; 属于非酪氨酸蛋白激酶的跨膜受体为神经肽 1、2 (neuropilin1, 2, NRP1, 2) [24]。

VEGFA 蛋白在介导血管生成中起主要作用, VEGFA 蛋白与 VEGFR1 和 VEGFR2 受体结合, 参与内皮细胞的增殖、迁移、血管通透性及分泌等功能 [25]。VEGFB 在心脏、骨骼肌含量最高, 与 VEGFR1 和 NRP1 结合调节血管促生存基因的表达, 引起心外膜和心内膜的冠状动脉血管增长, 并且没有增加炎症和血管通透性 [26]。VEGFC、VEGFD 与 VEGFR3 受体结合在 As 新生内膜炎症过程中通过介导巨噬细胞凋亡, 导致斑块不稳定 [27]。VEGFE 是家族中潜在的血管新生因子, 只与 VEGFR2 受体结合, 可促进血管内皮细胞分裂和增殖 [28]。

VEGFR2 可激活 PLC- γ -PKC-RAF1-MEK-ERK 信号通路, 参与调节内皮细胞相关的功能, VEGFR2 与相应配体结合后, 自身磷酸后活化磷脂酶 C- γ (phospholipase C- γ , PLC- γ), 在磷酸酰肌醇 4, 5 二磷酸的参与下转化为 1, 4, 5-三磷酸肌醇 (inositol1,

4, 5-trisphosphate, IP3) 和 1, 2-二酰甘油 (diacylglycerol, DAG), 随后 DAG 激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), 然后激活 RAF1-MEK-ERK 通路, 促使内皮细胞增殖; IP3 增加了细胞内 Ca^{2+} 浓度, 激活内皮型一氧化氮合酶, 随后生成 NO、促进前列腺素合成增加, 影响血管通透性 [29]。

3.2 JAK/STAT 信号通路

JAK/STAT 信号通路参与调控细胞迁移、增殖、凋亡, 以及机体免疫反应等多种生物学活动。JAK 属于非受体酪氨酸激酶, 分为四种亚型 JAK1, 2, 3, 4; STAT 共有 7 种亚型, 包括 STAT1, 2, 3, 4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6。当配体与受体结合后, JAK 在配体诱导的受体构象变化时被激活, 这些激活的 JAK 随后使受体尾部的酪氨酸残基得以激活, 为 STAT 创建对接位点。这些 STAT 通过 Src 同源结构域 (src homology 2 domain, SH2 结构域) 形成二聚体, 从受体上解离下来转位到细胞核内, 随后 STAT 二聚体识别并结合特定的启动子序列, 进而激活其目标基因的转录 [30]。

Hu 等 [31] 证实白细胞介素 17 (interleukin-17, IL-17) 通过 JAK/STAT 途径降低 VEGF 的表达, 说明此信号通路可调节 VEGF 启动子的活性, 在血管新生中发挥作用。Albasanz-Puig 等 [32] 通过细胞实验证实, STAT1 与 STAT3 作用相反, STAT1 抑制 HIF-1 α 生成, 减少 VEGF 表达; 而 STAT3 诱导 HIF-1 α 生成, 促进 VEGF 表达。

3.3 Notch 信号通路

Notch 信号通路通过调节新生血管中内皮细胞尖端和柄细胞的选择来控制血管生成。在哺乳动物中, Notch 配体有 5 种分别为: Dll1、3、4 和 Jagged1、2; 受体有 4 种亚型: Notch1、2、3、4, 5 个 Notch 配体中的 3 个 (Jagged1、Dll1 和 Dll4) 和 4 个 Notch 受体中的 2 个 (Notch1 和 Notch4) 主要在血管内皮细胞中表达 [33]。Notch 信号是由细胞表面表达的 Notch 配体与相邻细胞表面表达的 Notch 受体相互作用而启动的。当配体与受体结合时, Notch 被顺序切割, Notch 胞内域 (notch intracellular domain, NICD) 被释放到细胞质中, NICD 进入细胞核, 与转录因子相互作用, 形成转录激活复合物, 诱导碱性螺旋-环-螺旋域转录因子的表达 [34]。

新生血管的形成需要具有迁移能力的尖端细胞确定出芽的方向和路径, 还需要内皮细胞的增殖使其新生血管能够在长度和直径上生长。Gao 等 [35] 发现, Notch1 在缺氧介导的血管新生过程中起着潜在的重要作用, Notch1 抑制剂可显著抑制缺氧

诱导的血管新生,Notch1 信号的改变可导致血管结构和分支的异常。Phng 等^[36]发现细胞内 Dll4 的高表达抑制了尖端细胞的分化。Notch 信号还限制了内皮细胞的增殖,Notch 信号对内皮基底膜成分的正向调节对新生血管起到一定的稳定作用。Dll4 和

Jagged1 在调节新生血管中起着相反的作用。在 VEGF 刺激下,高水平的 Dll4 通过下调 VEGFR 来抑制过度的血管生成,相反,Jagged1 在新生血管形成过程中拮抗 Dll4 的作用,刺激新生血管的生长,所以 Notch 信号在血管生成中起着双重作用^[37]。

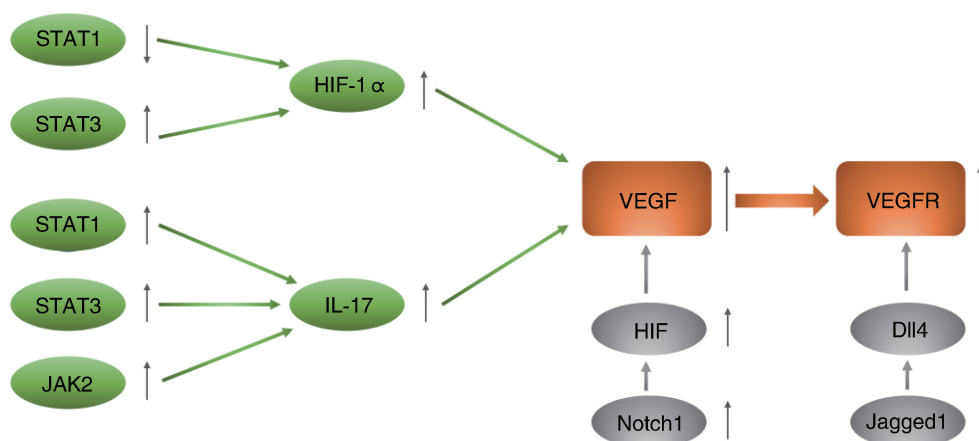


图 2. 与血管新生相关的分子之间的联系

Figure 2. The relationship between molecules related to angiogenesis

4 结 语

As 斑块内的血管新生相关的影响因素包括低氧、炎症及生长因子等,这三者之间相互作用、相互联系。同时,与血管新生相关联的信号通路是当前世界研究的热门。不断探究细胞与细胞之间的传导机制,解密血管新生的作用机制,从分子、细胞、生物不同层面了解 As 斑块内血管新生的发生机制,以便能够寻找到防止 As 斑块破裂的新途径和治疗 As 的新靶点。

[参考文献]

- [1] 范 旻, 陶 蓉, 张瑞岩, 等. 炎症反应在易损斑块中的作用及其机制研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(4): 301-306.
- [2] AKWII R G, SAJIB M S, ZAHRA F T, et al. Role of angiopoietin-2 in vascular physiology and pathophysiology[J]. Cells, 2019, 8(5): 471.
- [3] BAI Y, BAI L, ZHOU J, et al. Sequential delivery of VEGF, FGF-2 and PDGF from the polymeric system enhance HUVECs angiogenesis in vitro and CAM angiogenesis[J]. Cell Immunol, 2018, 323: 19-32.
- [4] DALTON A C, SHLAMKOVITCH T, PAPO N, et al. Constitutive association of tie1 and tie2 with endothelial integrins is functionally modulated by angiopoietin-1 and fibronectin[J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0163732.
- [5] MUPPALA S, XIAO R, KRUKOVETS I, et al. Thrombospondin-4 mediates TGF-β-induced angiogenesis[J]. Oncogene, 2017, 36(36): 5189-5198.
- [6] SUN C, FENG S B, CAO Z W, et al. Up-regulated expression of matrix metalloproteinases in endothelial cells mediates platelet microvesicle-induced angiogenesis[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(6): 2319-2332.
- [7] BLOOR C M. Angiogenesis during exercise and training[J]. Angiogenesis, 2005, 8(3): 263-271.
- [8] ZHANG Y, CLIFF W J, SCHOEFL G I, et al. Immunohistochemical study of intimal microvessels in coronary atherosclerosis[J]. Am J Pathol, 1993, 143(1): 164-172.
- [9] PRENEN H, MAZZONE M. Tumor-associated macrophages: a short compendium[J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(8): 1447-1458.
- [10] CHISTIakov D A, MELNICHENKO A A, MYASOEDOVA V A, et al. Role of lipids and intraplaque hypoxia in the formation of neovascularization in atherosclerosis[J]. Ann Med, 2017, 49(8): 661-677.
- [11] SLUIMER J C, DAEMEN M J. Novel concepts in atherosclerosis: angiogenesis and hypoxia in atherosclerosis[J]. J Pathol, 2009, 218(1): 7-29.
- [12] BITTO A, DE C G, POLITO F, et al. Evidence for markers of hypoxia and apoptosis in explanted human carotid atherosclerotic plaques[J]. J Vasc Surg, 2010, 52(4): 1015-1021.
- [13] SHAN F, HUANG Z, XIONG R, et al. HIF1α-induced

- upregulation of KLF4 promotes migration of human vascular smooth muscle cells under hypoxia[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(1): 141-150.
- [14] RUPARELIA N, CHOUDHURY R. Inflammation and atherosclerosis: what is on the horizon? [J]. *Heart*, 2020, 106(1): 80-85.
- [15] XU S, KAMATO D, LITTLE P J, et al. Targeting epigenetics and non-coding RNAs in atherosclerosis: from mechanisms to therapeutics[J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 196: 15-43.
- [16] PARMA L, BAGANHA F, QUAX P H, et al. Plaque angiogenesis and intraplaque hemorrhage in atherosclerosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 816: 107-115.
- [17] SLUIMER J C, KOLODIE F D, BIJNENS A P, et al. Thin-walled microvessels in human coronary atherosclerotic plaques show incomplete endothelial junctions relevance of compromised structural integrity for intraplaque microvascular leakage[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 53(17): 1517-1527.
- [18] SEDDING D G, BOYLE E C, DEMANDT J, et al. Vasa vasorum angiogenesis: key player in the initiation and progression of atherosclerosis and potential target for the treatment of cardiovascular disease[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 706.
- [19] DEVRIES M R, QUAX P H. Plaque angiogenesis and its relation to inflammation and atherosclerotic plaque destabilization[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2016, 27(5): 499-506.
- [20] GUO M, CAI Y, HE C, et al. Coupled modeling of lipid deposition, inflammatory response and intraplaque angiogenesis in atherosclerotic plaque[J]. *Ann Biomed Eng*, 2019, 47(2): 439-452.
- [21] LI X, SUN X, CARMELIET P. Hallmarks of endothelial cell metabolism in health and disease[J]. *Cell Metab*, 2019, 30(3): 414-433.
- [22] CRIVELLATO E. The role of angiogenic growth factors in organogenesis[J]. *Int J Dev Biol*, 2011, 55(4/5): 365-375.
- [23] KOYAMA N, HART C E, CLOWES A W. Different functions of the platelet-derived growth factor- α and - β receptors for the migration and proliferation of cultured baboon smooth muscle cells[J]. *Circ Res*, 1994, 75(4): 682-691.
- [24] LEE S H, JEONG D, HAN Y S, et al. Pivotal role of vascular endothelial growth factor pathway in tumor angiogenesis[J]. *Ann Surg Treat Res*, 2015, 89(1): 1-8.
- [25] SHIBUYA M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases[J]. *J Biochem*, 2013, 153(1): 13-19.
- [26] ZHU H, GAO M, GAO X, et al. Vascular endothelial growth factor-B: impact on physiology and pathology[J]. *Cell Adh Migr*, 2018, 12(3): 215-227.
- [27] ZHANG Y, BAI Y, JING Q, et al. Functions and regeneration of mature cardiac lymphatic vessels in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure[J]. *Lymphat Res Biol*, 2018, 16(6): 507-515.
- [28] SHIBUYA M. Vascular endothelial growth factor receptor-2: its unique signaling and specific ligand, VEGF-E[J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(9): 751-756.
- [29] KOCH S, TUGUES S, LI X, et al. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors[J]. *Biochem J*, 2011, 437(2): 169-183.
- [30] HIN T J, HAO T D, LIM J J, et al. JAK/STAT signaling in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepat Oncol*, 2020, 7(1): HEP18.
- [31] HU B, WANG J, WU X, et al. Interleukin-17 upregulates vascular endothelial growth factor by activating the JAK/STAT pathway in nucleus pulposus cells[J]. *Joint Bone Spine*, 2017, 84(3): 327-334.
- [32] ALBASANZ-PUIG A, MURRAY J, NAMEKATA M, et al. Opposing roles of STAT-1 and STAT-3 in regulating vascular endothelial growth factor expression in vascular smooth muscle cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 428(1): 179-184.
- [33] THURSTON G, KITAJEWSKI J. VEGF and Delta-Notch: interacting signalling pathways in tumour angiogenesis[J]. *Br J Cancer*, 2008, 99(8): 1204-1209.
- [34] FOURNIER P, VIALARD C, DEJDA A, et al. The protein tyrosine phosphatase PTPRJ/DEP-1 contributes to the regulation of the Notch-signaling pathway and sprouting angiogenesis[J]. *Angiogenesis*, 2020, 23(2): 145-157.
- [35] GAO W, SWEENEY C, CONNOLLY M, et al. Notch-1 mediates hypoxia-induced angiogenesis in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(7): 2104-2113.
- [36] PHNG L K, GERHARDT H. Angiogenesis: a team effort coordinated by notch[J]. *Dev Cell*, 2009, 16(2): 196-208.
- [37] ZHOU X L, LIU J C. Role of notch signaling in the mammalian heart[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2014, 47(1): 1-10.

(此文编辑 秦旭平)