

# 血管形成素 - 1 与微血管通透性

郑阳春, 唐昱英, 周总光

中图分类号: R331.3<sup>+</sup>5 文献标识码: A

血管形成素 (Angiopoietin, Ang) 为血管内皮细胞 (endothelial cells, ECs) 特异性受体酪氨酸激酶 Tie-2 的配体, 是一类新发现的血管生成因子, 它与血管内皮生长因子 (vascularendothelial growth factor, VEGF) 共同作用, 协同调节血管的发生、形成过程<sup>[1]</sup>。Ang-1 是 Tie-2 的主要生理配体, 其功能涉及: 募集与支持血管内皮周围细胞、诱导毛细血管发芽、ECs 趋化反应和 ECs 网络形成<sup>[2]</sup>、与抗 ECs 凋亡有关<sup>[3, 4]</sup>。Ang-1 或 Tie-2 基因敲除的小鼠心脏、脑及卵黄囊血管系统的发育出现致命缺陷, 胚胎无法正常存活<sup>[5]</sup>。最近的研究表明 Ang-1 还参与维持成熟血管的完整性, Ang-1 的表达可抑制 ECs 单层通透性, 防止微血管渗漏, 是迄今为止发现的第一个作用于 ECs 的抗血管通透性因子, 这提示 Ang-1 在调节微血管通透性方面扮演重要角色<sup>[6, 7]</sup>。本文就 Ang 分子生物学特征、Ang-1 抑制 ECs 通透性的作用予以综述。

## 1 Ang 分子生物学特征

### 1.1 Ang 蛋白结构与分类

Ang 是一类主要由血管内皮周围组织分泌的糖蛋白, 1996 年由 Davis 等<sup>[1]</sup>于 COS 细胞中首先分离出 Ang 的第一个亚型即 Ang-1, 迄今已发现四种 Ang 的存在形式: Ang-1、Ang-2、Ang-3 和 Ang-4, 其中人 Ang-1、Ang-2、Ang-4 编码基因分别定位于染色体 8p23.1、8q22.3-q23、20p13 上<sup>[8]</sup>。Ang 蛋白结构由信号肽、氨基端卷曲螺旋 (coiled-coil) 结构、一段短的连接肽和羧基端纤维蛋白原样结构域 (fibrinogen-like domain, FD) 四个部分组成。FD 是 Ang 家族中最保守的序列, 该结构中包含 Ang 受体的结合区域, 此外决定一种 Ang 亚型是激动剂抑或拮抗剂也与 FD 有关; 而 N-末端和卷曲螺旋结构似乎和 FD 多聚化有关<sup>[9]</sup>; 新近研究发现, 卷曲螺旋结构和 FD 之间的连接肽是 Ang-1 与细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 连接的结构域<sup>[10]</sup>。氨基酸序列分析表明, 人 Ang-1、Ang-2、Ang-3、Ang-4

亚型分别由 498、496、503、503 个氨基酸残基组成<sup>[11, 11]</sup>, 各亚型之间具有一定的同源性, 其中 Ang-1 和 Ang-2 有 60% 的氨基酸序列相同<sup>[5]</sup>, Ang-3 与 Ang-1、Ang-2 分别具有 45.1%、44.7% 的同源性<sup>[12]</sup>。分布上, Ang-1、Ang-3 在胚胎和成熟组织中都有较广泛的表达<sup>[12]</sup>, Ang-2 在胚胎中分布较广, 在成熟组织中主要限于血管重塑明显的器官如胎盘、子宫、卵巢<sup>[5]</sup>, 而 Ang-4 则主要分布于人的肺脏<sup>[11]</sup>。

### 1.2 Ang 受体与信号转导

Tie 属于受体酪氨酸激酶 (Receptor Tyrosine Kinase, RTK) 家族成员, 特异性的表达于血管 ECs 和早期造血细胞。Tie 可分为两个亚型: Tie-1 和 Tie-2。Tie-1 首先于人慢性髓细胞白血病 K562 细胞株中分离出, 它主要与毛细血管的液体交换和血管对血流动力学作用的应答有关, 目前尚未发现 Tie-1 的配体。Tie-2 是 Ang 的受体, 参与调节 ECs 募集周围基质细胞的能力以及维持血管完整性。Ang-1 能以高亲和力 ( $K_D = 3.7 \text{ nM}$ ) 和 Tie-2 结合, Ang-1 与 Tie-2 结合后, 诱发 Tie-2 上的酪氨酸残基发生自身磷酸化, 激活的 Tie-2 可能通过作用于 Dok-R、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3'-Kinase, PI 3'-Kinase), 激活转录因子 STAT, 促进 P21 转录等参与血管生成的调节<sup>[13]</sup>。Ang-2 是 Ang-1 的天然拮抗剂, 它也能与 Tie-2 以高亲和力结合, 但不引起 ECs 上 Tie-2 的磷酸化, 从而竞争性阻断 Ang-1 的生物效应。然而在成纤维细胞等非 ECs 中, Ang-2 同样能诱发 Tie-2 磷酸化激活, 以 Tie-2 的激动剂形式存在<sup>[5]</sup>。新近研究表明, 除了通过 Tie-2 受体, Ang 家族还能通过整合素 (integrin) 途径, 介导胞内的信号转导<sup>[14]</sup>。

## 2 Ang-1 与 ECs 通透性

### 2.1 Ang-1 抑制 ECs 通透性

Gamble 等<sup>[6]</sup>研究发现, Ang-1 可剂量依赖性地抑制 ECs 单层的基础通透性, 而且 Ang-1 还可分别抑制 70% 和 100% 由两种经典的通透性诱导物质凝血酶 (thrombin) 和 VEGF 刺激的 ECs 单层通透性增加, 提示 Ang-1 是个强大的抗微血管通透性因子。Thurston 等<sup>[15]</sup>

基金项目: 国家杰出青年基金项目资助 (39925032)

作者单位: 610041 四川成都, 四川大学华西医院肝胆胰外科/微循环研究室 (郑阳春, 周总光); 四川大学华西医院麻醉科 (唐昱英)

第一作者简介: 郑阳春 (1975-), 男, 汉族, 浙江省江山县人, 住院医师, 硕士。主要从事肝胆胰和胰腺微循环等方面的研究。

在比较分别过量表达 VEGF 和 Ang-1 的转基因小鼠 K14-VEGF、K14-Ang 通透性时也发现, 基线情况下, K14-VEGF 小鼠耳朵皮肤血管出现病理性血浆渗漏, 但是 K14-Ang1 小鼠无渗漏发生, 并且共表达 Ang-1 和 VEGF 的转基因小鼠血浆渗漏也比 K14-VEGF 小鼠显著减少, 证实 Ang-1 的表达可减轻由于 VEGF 所致的血管渗漏。

芥子油 (mustard oil) 是种致炎因子, 可诱导皮肤微血管出现血浆渗漏和炎症。先用芥子油处理小鼠, 再从静脉注入 Evans 蓝显色后发现, 野生型小鼠耳朵特别是周边皮肤中度变蓝, K14-VEGF 小鼠耳朵皮肤均一染蓝, 而 K14-Ang1 小鼠耳朵仍然保持苍白。分光光度计测定表明, 用芥子油处理 30 min 后, 野生型小鼠微血管血浆渗漏增加 6 倍, K14-VEGF 小鼠增加更多, 而 K14-Ang1 小鼠微血管通透性并无显著性变化, 表明 Ang-1 的表达可减轻芥子油所致的血管渗漏<sup>[15, 16]</sup>。用炎症介质 5-羟色胺 (serotonin, 5-HT) 和血小板活化因子 (platelet active factor, PAF) 刺激小鼠时也发现, Ang-1 的表达同样能抑制它们引起的血管渗漏。进一步超微结构的研究表明, 血管渗漏主要发生在微静脉, 而非小动脉和毛细血管。K14-Ang1 小鼠血管通透性受抑制是因为减少了微静脉血浆渗漏位点, 而非由于血液动力学改变所致<sup>[7, 15, 16]</sup>。

## 2.2 Ang-1 抑制 ECs 通透性的分子机制

血管 ECs 间的连接是维持血管壁完整性的结构基础。ECs 间连接有 4 种类型: 粘附连接 (adherens junctions, AJ)、紧密连接 (tight junctions, TJ)、缝隙连接和粘合体 (complexus adherentes), 其中 AJ 是血管 ECs 间连接的主要形式, TJ 和缝隙连接穿插于 AJ 之间<sup>[17]</sup>。研究表明, Ang-1 通过作用于血管内皮-钙粘附素/连环蛋白复合体 (VE-cadherin/catenins complex) 和血小板内皮细胞粘附分子-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1), 加强 AJ 和 TJ 的功能, 从而抑制微血管 ECs 的通透性<sup>[6]</sup>。

低密度平台孵育的 ECs 接触基质后逐渐展平, 与相邻细胞发生接触。用 Ang-1 预处理的 ECs 并不改变与基质粘附细胞的数目和单个细胞的形状, 但可促进 PECAM-1 在 ECs 间连接处的定位, 提示这些连接形成更快。ECs 孵育 45 min 后, 与对照组相比, Ang-1 组细胞表面血管内皮-钙粘附素和 PECAM-1 的表达并无显著性差异, 但有 PECAM-1 定位的细胞连接数目却从对照组的 (55 ± 5)% 上升到 (75 ± 5)%, 而且, PECAM-1 强染色的细胞比例也由 10% 增加到 27%。相反, 其他血管生成因子如 VEGF、碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 并无此作用,

表明该作用是 Ang 特异的。在用组胺、凝血酶和 VEGF 诱导的微血管通透性增加和白细胞跨壁移行过程中均可观察到 PECAM-1 的磷酸化改变以及血管内皮-钙粘附素/连环蛋白复合体的变化。研究表明, 用 Ang-1 处理的 ECs 其血管内皮钙粘附素、PECAM-1 的磷酸化明显减少, 尽管 β-连环蛋白的磷酸化并无显著变化, 但 β-连环蛋白与血管内皮-钙粘附素连接的数量却明显增加, 这些改变与观察到的细胞间连接数目增多相一致<sup>[6]</sup>。

Carlson 等<sup>[14]</sup> 还指出血管渗漏可以发生在血管 EC-EC、EC-ECM 连接的薄弱位点, 由于 Ang-1 可以在整合素介导下与 ECs 发生粘附, 因此还有可能 Ang-1 通过与 ECs 表面的粘附分子结合, 增强血管壁的完整性, 从而抑制血管渗漏。

## 3 结语

血管通透性异常是炎症、退行性疾病、肿瘤等多种临床常见疾病的普遍特征。血管通透性增高导致血浆渗出、组织水肿, 进而引起一系列并发症。许多细胞因子、炎症介质都可引起血管通透性改变, 但能特异性抑制血管渗漏, 降低血管通透性的因子却鲜见报道。Ang-1 可直接抑制 ECs 单层通透性, 防止微血管渗漏, 提示 Ang-1 的临床应用可望改善病理情况下微血管的通透性。目前, 关于组织中 Ang-1 表达调节的机理还不清楚, Ang-1 激活 Tie-2 后胞内的信号转导通路仍未完全明确, Ang-1 抑制 ECs 通透性的分子机制也需进一步探讨。可以设想, 随着对 Ang-1 研究的逐步深入, 将会为临床抗血管通透性治疗开辟新的途径。

## 参 考 文 献

- 1 Davis S, Aldrich 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 ~ 1169
- 2 Papapetropoulos A, Garcia-Cardena G, Dengler TJ, et al. Direct actions of angiopoietin-1 on human endothelium: evidence for network stabilization, cell survival, and interaction with other angiogenic growth factors [J]. Lab Invest. 1999, 79(2): 213 ~ 223
- 3 Kwak HJ, So JN, Lee SJ, et al. Angiopoietin-1 is an apoptosis survival factor for endothelial cells [J]. FEBS Lett. 1999, 448(2~3): 249 ~ 253
- 4 Kwak HJ, Lee SJ, Lee YH, et al. Angiopoietin-1 inhibits irradiation-and mannitol-induced apoptosis in endothelial cells [J]. Circulation. 2000, 101 (19): 2317 ~ 2324
- 5 Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis [J]. Science. 1997, 277 (5322): 55 ~ 60
- 6 Gamble JR, Drew J, Trezise L, et al. Angiopoietin-1 is an antipermeability and anti-inflammatory agent in vitro and targets cell junctions [J]. Circ Res. 2000, 87(7): 603 ~ 607
- 7 Jain RK, Munn LL. Leaky vessels? Call Ang1 [J]! Nat Med. 2000, 6(2):

- 131 ~ 132
- 8 Grosios K, Leek JP, Markham AF, et al. Assignment of ANGPT4, ANGPT1, and ANGPT2 encoding angiopoietins 4, 1 and 2 to human chromosome bands 20p13, 8q22.3 ~ > q23 and, 8p23.1, respectively, by in situ hybridization and radiation hybrid mapping[J]. Cytogenet Cell Genet. 1999, 84(1 ~ 2): 118 ~ 120
- 9 Procopio WN, Pelavin PI, Lee WM, et al. Angiopoietin-1 and -2 coiled coil domains mediate distinct homo-oligomerization patterns, but fibrinogen-like domains mediate ligand activity[J]. J Biol Chem. 1999, 274(42): 30196 ~ 30201
- 10 Xu Y, Yu Q. Angiopoietin-1, unlike angiopoietin-2, is incorporated into the extracellular matrix via its linker peptide region[J]. J Biol Chem. 2001, 276(37): 34990 ~ 34998
- 11 Valenzuela DM, Griffiths JA, Rojas J, et al. Angiopoietins 3 and 4: diverging gene counterparts in mice and humans[J]. Proc Natl Acad Sci. 1999, 96(5): 1904 ~ 1909
- 12 Nishimura M, Miki T, Yashima R, et al. Angiopoietin-3, a novel member of the angiopoietin family [J]. FEBS Lett. 1999, 448(2 ~ 3): 254 ~ 256
- 13 Korpelainen EI. Endothelial receptor tyrosine kinases activate the STAT signaling pathway: mutant Tie-2 causing venous malformations signals a distinct STAT activation response [J]. Oncogene. 1999, 18(1): 1 ~ 8
- 14 Carlson TR, Feng Y, Maisonpierre PC, et al. Direct cell adhesion to the angiopoietins mediated by integrins[J]. J Bio Chem. 2001, 276(28): 26516 ~ 26525
- 15 Thurston G, Suri C, Smith K, et al. Leakage-resistant blood vessels in mice transgenically overexpressing angiopoietin-1[J]. Science. 1999, 286(5449): 2511 ~ 2514
- 16 Thurston G, Rudge JS, Ioffe E, et al. Angiopoietin-1 protects the adult vasculature against plasma leakage [J]. Nat Med. 2000, 6(4): 460 ~ 463
- 17 Corada M, Mariotti M, Thurston G, et al. Vascular endothelial-cadherin is an important determinant of microvascular integrity in vivo [J]. Proc Natl Acad Sci. 1999, 96(17): 9815 ~ 9820

(收稿 2001 - 09 - 16 修回 2002 - 03 - 12)

文章编号: 1007 - 8568(2002)06 - 0373 - 03

· 综述 ·

## 一氧化氮参与心肌预处理第二保护窗的研究进展

朱水波, 高尚志

中图分类号: R654 文献标识码: A

缺血预处理保护存在双时相效应, 即经典预处理和第二保护窗<sup>[1]</sup>。经典预处理(即早发效应)在缺血预刺激后即刻生效, 持续近 2 h; 第二保护窗, 也称延迟效应, 出现在缺血预刺激 12 ~ 24 h 之后, 持续 3 d<sup>[2]</sup>。除缺血外, 一氧化氮(NO)类药物也能诱导预处理第二保护窗。本文总结有关 NO 参与预处理第二保护窗的研究进展。

### 1 NO 在触发阶段的作用

#### 1.1 NO 触发缺血预处理第二保护窗的信号传递

心脏在短暂缺血 - 再灌注过程(缺血预处理)中发生代谢变化。一氧化氮等代谢中产物充当化学信号分子, 触发延迟保护机制。这一触发过程如同拉响警报系统, 提醒心肌细胞“危害”即将来临, 促其采取措施及进入防御应激状态。采用阻断 - 开放兔心冠状动脉左前降支的模型, 在缺血预处理前使用 NO 合酶(NOS)非选择性抑制剂 N<sup>ω</sup> - 硝基 - L - 精氨酸(L - NA), 可阻断

预处理第二保护窗 - 缩小心肌梗死面积。这说明缺血预处理所产生的 NO 是触发心肌保护效应所必需的始动因素<sup>[3]</sup>。

1.2 NO 供体类化学药物预处理 NO 供体预处理也能复制出与缺血预处理相同的第二保护窗 - 缩小心梗面积和减轻心肌顿抑<sup>[4-6]</sup>。例如常用的药物硝酸甘油是 NO 供体, 可释出 NO, 触发与缺血预处理相同的延迟心肌保护作用。Banerjee 等<sup>[6]</sup>报道, 静脉输入硝酸甘油 1 h(2 μg/kg/min)能诱发清醒兔产生延迟抗顿抑效应。Hill 等<sup>[6]</sup>报道连续 3 d 使用硝酸甘油贴能缩小梗死面积。虽然硝酸甘油扩管治疗容易出现耐药现象, 但其诱发延迟心肌保护效应方面并未发生类似情况。可见, 硝酸甘油扩张血管与触发预处理延迟保护的药理机制不同<sup>[6]</sup>。因此, 硝酸甘油这类常用药物预处理的第二保护窗极有开发研究价值。

1.3 内皮细胞合成 NO 触发信号传递 目前对心脏内是哪种细胞产生 NO 负责触发预处理第二保护窗的信号传递已有了较清楚的认识<sup>[7]</sup>。非选择性 NO 合酶抑制剂 L - NA 对内皮细胞 NO 合酶(eNOS)和诱生

作者单位: 430070 湖北武汉, 广州军区武汉总医院心胸外科(朱水波); 武汉大学人民医院心胸外科(高尚志)

第一作者简介: 朱水波(1930 - ), 男, 汉族, 湖北籍, 副主任医师, 博士, 心胸外科, 研究方向: 心肌保护。