

斑块内新生血管的作用及应对

郝 扬

【摘要】 斑块内新生血管是由内皮细胞芽生形成。动脉粥样硬化相关的生理性新生血管能改善动脉壁供氧状态,减轻炎症反应,逆转动脉粥样硬化的进展。病理性新生血管则会加速疾病的进程,增加巨噬细胞浸润和血管壁的厚度,导致持续的缺氧状态,甚至坏死。此外,新生血管壁的破裂可以导致斑块内出血、增强炎症反应、扩大脂质核心、激发氧化应激反应和斑块破裂。

【关键词】 新生血管;动脉粥样硬化;缺氧诱导因子;缺氧;血管内皮生长因子

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2014.01.005

斑块内新生血管很可能是冠心病逆转的核心机制之一,深入讨论动脉粥样硬化斑块内新生血管的机制及应对策略可能为研究冠心病治疗提供新的思路。

1 生理性新生血管

正常生理情况下,血管管腔中的氧气通过弥散作用到达血管壁。当内膜中细胞外基质聚集增多时,氧气的弥散作用不足以营养血管壁。当血管壁氧浓度持续下降时,细胞表达缺氧诱导因子(hypoxic inducible factor, HIF),促进新生血管产生,从而抵消氧气供需间的逆差。这种生物学防御机制被称为生理性血管生成,其目的在于防止低氧导致的坏死,维持组织的完整性。

1.1 生理性新生血管的特点

新生血管生成是组织发展、再生和修复的基础。伤口的愈合、月经周期中子宫内膜的生长、组织移植、炎症和低氧状态下都有血管生成的过程。在一定条件下,促血管生成物质的作用超过了抗血管生成物质的作用,生理性新生血管启动。内皮细胞在血管生成中起到至关重要的作用。生理性新生血管由多种分子机制调节,有以下几个环节:起始、激活、内皮细胞迁移、官腔形成和最后的微血管稳定。内皮细胞的芽生是血管形成过程中的主导环节^[1]:在基质金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)的作用下,内皮细胞从壁细胞上脱离,离开基底膜;在蛋白水解酶作用下释放出的促血管生成因子^[1-2],促进柄细胞和尖细胞的形成,使内皮细胞变得富有活动性和侵蚀性:伪足指引尖细胞芽生形成管状并最终成为稳定的内皮细

胞层。新生血管能给原本缺氧的区域运输氧气,协助细胞的修复功能。

生理性新生血管通常是局限且自限的。动脉粥样硬化和缺氧状态能诱发新生血管形成,当去除缺氧条件、恢复内稳态后新生血管便退化。这种生理性血管生成在趋于稳定的动脉硬化斑块中可以观察到。

1.2 缺氧对生理性新生血管的作用

动脉硬化斑块进展的特点是炎症反应和内膜增厚,导致缺氧,诱发血管生成^[3]。炎症反应造成斑块内的氧需增大。使用微电极分析主动脉弓中部和股动脉的斑块可以发现,斑块处与动脉外膜相比有明显氧梯度差。斑块处氧压力为 0~15 mmHg,明显低于外膜或管腔的 50 mmHg^[4]。炎症反应区域的缺氧是由于其代谢旺盛导致的,脂质沉积趋化激活的巨噬细胞沉积引发了炎症反应、缺氧和新生血管生成等一系列生理变化。

HIF 转录因子由 2 个亚基组成:普遍存在的 HIF-1 β 和缺氧诱导产生的 HIF-1 α ^[5]。当氧压力从正常范围的 20~100 mmHg 下降至 <10 mmHg 时, HIF-1 进入到细胞核内,启动多种血管生成因子的上调,包括血管内皮生长因子(vascularendothelial growth factor, VEGF)。当氧含量正常时,氧敏感的脯氨酰羟化酶蛋白使 HIF-1 α 和 HIF-2 α 羟化^[6],羟化后的 HIF 作用于蛋白酶体的降解^[7],失去诱导血管生成的作用。

缺氧可以抑制脯氨酰羟化酶的活性,稳定缺氧诱导因子。炎症和缺氧是紧密联系的,在动脉粥样硬化斑块中,缺氧和炎症反应诱发的 HIF 表达增加可能有两种不同的作用:

(1)在巨噬细胞内, HIF-1 α 活性的增加使促血

管生成因子和炎症因子增加,不成熟的新生血管生长,斑块内出血的风险和斑块不稳定性增大。

(2)在内皮细胞内,HIF-1 α 被脯氨酰羟化酶羟化后抑制血管生成过程,减少斑块内出血并稳定斑块。大量研究表明,脯氨酰羟化酶 2 缺乏可以恢复肿瘤的氧化处理,抑制其转移^[8]。

尽管缺氧是新生血管形成的重要诱导条件,但是也有一些研究表明氧化的低密度脂蛋白(oxLDL)在氧供正常情况下可以增加 HIF-1 和 VEGF 的表达,oxLDL 在活体人工基底膜血管生成模型中可以促进内皮增殖^[9]。这提示斑块中的 oxLDL 也可能与新生血管相关,但还需要进一步的研究证实。

1.3 生理性血管生成有助于斑块逆转

作为一种防御机制,生理性血管生成与巨噬细胞清除斑块内胆固醇的过程密切相关^[10]。大量研究证明,在人动脉粥样硬化斑块的微血管中存在巨噬细胞和 T 细胞,而纤维钙化斑块中的微血管非常少,其脂质含量也明显较低,这提示在巨噬细胞清除脂质后,斑块内新生血管发生了退化。作为一种防御机制,在增加动脉壁氧供、促进巨噬细胞清除斑块后,生理性新生血管退化消失。

2 病理性新生血管

2.1 病理性新生血管的特点

病理性新生血管是由不受控制的内皮细胞刺激产生的急性、持续存在的血管生长反应^[11],它是由生理性新生血管在起始期或消退期的异常导致。生理性新生血管的起始阶段分为芽生和管腔形成(即周围细胞介导的血管稳定化),随后 VEGF 表达的下调和内皮中血管生成素-1(angiotensin-1, Ang-1)、血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)、转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)等的升高介导消退期过程,包含一系列的分子级联反应^[1]。在病理性新生血管过程中,由于持续存在的免疫细胞介导的细胞因子使内皮细胞持续合成 VEGF,持续刺激血管增生而失去了消退期的过程,使病理性新生血管持续存在,导致血管内皮细胞的稳定性差,大大增加了斑块的风险,特别是斑块内出血的发生。

2.2 斑块内出血

新生血管较脆弱,易发生斑块内出血。斑块内出血定义为斑块内红细胞、纤维蛋白和血小板的混合物的溢出,Purushothaman 等^[12]按斑块内出血占斑块面积的百分比将其分为 1~4 级。Kockx 等^[13]的研究显

示,斑块内出血能增加斑块负荷,这可以解释为什么 40% 的快速进展型斑块和高危斑块有斑块内出血。Takaya 等^[14]的研究表明,斑块内出血会使较稳定的斑块患者发生卒中的风险提高 5 倍。

斑块内出血的机制主要有以下 3 个方面:(1)微内皮间的缝隙连接不够发达,新生血管基底膜的结构完整性较差。(2)巨噬细胞释放 VEGF 增多,会增加新生血管的渗透性,促进斑块内出血。(3)由于红细胞比其他细胞的胆固醇含量多 40%,斑块内出血会导致斑块的脂核扩大。溢出的红细胞发生膜溶解,释放出游离血红蛋白,诱发芬顿反应,产生氧自由基,清除一氧化氮并产生氧化的三价铁,对人体有一定的毒性。

结合珠蛋白(Hp)可以结合血红蛋白,中和游离亚铁血红素的毒性作用。几乎所有哺乳动物的珠蛋白基因上只有 1 个等位基因,这使其能预防动脉粥样硬化。人类是唯一发生动脉粥样硬化的哺乳动物,在人染色体 16q22 上有 2 个结合珠蛋白等位基因(1 和 2)^[15]。Hp2-2 蛋白基因型能增加氧自由基的聚集,有促炎症和促氧化的作用^[16]。有研究表明,我国 Hp2-2 基因型者的冠脉狭窄率更高^[17]。

在珠蛋白结合游离血红蛋白后,由清道夫受体 CD163 介导的巨噬细胞通过胞吞清除血红蛋白-珠蛋白(Hb-Hp)结合物,中和血红蛋白引起的组织氧化损伤^[18]。在抗炎介质如 IL-10 等作用下,巨噬细胞和炎症反应消退期的单核细胞表面表达 CD163。Hb-Hp 结合物与 CD163 结合后刺激细胞保护酶——血红素加氧酶-1(hemeoxygenase-1, HO-1)产生。亚铁血红素在 HO-1 的作用下降解为一氧化碳、胆绿素和 Fe²⁺^[19],这 3 种物质均有抗炎和抗动脉粥样硬化的作用。

2.3 糖尿病与新生血管

糖尿病患者斑块内炎症反应、新生血管形成和斑块内出血的发生率均增加。内皮细胞黏附因子和细胞因子上调,导致白细胞迁徙和巨噬细胞的内膜下浸润,有利于新生血管的增生。斑块内出血加上血红蛋白清除功能下降,使糖尿病患者易发生铁沉积,这已经在实验中被证实^[20-21]。有研究显示, Hp2-2 基因型糖尿病患者的 CD163 蛋白和 mRNA 表达均比 Hp1-1 基因型明显下降。此外, Hp2-2 基因型糖尿病患者的 HO-1 mRNA 的表达下降,冠心病的发生率更高。

3 新生血管的应对策略

抗血管生成药物在实验室研究中可以明显减

少斑块体积和巨噬细胞浸润,且在年龄相关性黄斑变性和肿瘤治疗中有重大突破^[22]。贝伐单抗作为一种可以特异性中和 VEGF 的单克隆抗体被美国食品药品监督管理局(FDA)推荐用于治疗肿瘤,类似的药物还有舒尼替尼等^[23]。有研究显示,含抗血管生成药物如烟曲霉素的 $\alpha\beta$ 整合素靶向顺磁纳米颗粒可以特异性地到达斑块内新生血管处,这不仅可以减少全身用药的剂量,还能作为一项微创手段评价斑块内微血管的密度^[24]。

3.1 抗 VEGF 治疗

贝伐单抗已经广泛应用于临床,可以提高结肠癌转移患者、肺癌和乳腺癌患者的生存质量^[25]。Ⅲ期临床试验显示,抗 VEGF 制剂哌加他尼钠、兰尼单抗和抗 VEGF 抗体片段等可以改善年龄相关性黄斑变性患者的视力^[26-28],这说明抗 VEGF 治疗可以使眼内不成熟的血管生成稳定化、正常化。选择性阻断 VEGF 受体 1 也可以稳定新生血管且不产生系统性的毒性作用^[28]。由于抗血管生成药物的不良反应可能增加心血管事件的发生,这些药物之所以未应用于冠心病的治疗^[29]。

抗 VEGF 治疗的主要心血管不良反应包括蛋白尿、高血压、左心收缩功能障碍和血栓形成。有 5 项临床随机试验表明,转移性结肠癌患者接受常规疗法加贝伐单抗联合治疗后,动脉血栓形成的发生率明显高于单纯常规疗法的患者。由于动脉粥样硬化本身就是动脉血栓形成的危险因素,这些研究更加强调了动脉粥样硬化患者全身使用大剂量抗新生血管形成药物的风险^[30]。

生理情况下,VEGF 促进血管生成是对氧化应激损伤的一个重要代偿反应^[25]。抗 VEGF 治疗可以导致内皮功能损伤,消除小血管并对抗正常微循环的生理调节作用。抗 VEGF 治疗的一个重要的并发症是微血管稀疏,这使高血压、心肌病和血栓性微血管病更易发生。

3.2 他汀类药物

他汀类药物可以明显降低心血管事件的发生率^[31]。SATURN 研究表明,接受强化他汀类药物治疗的患者中斑块逆转达 68%^[32]。他汀类药物具有多效性,在血管炎性反应和血管生成过程中均有作用^[33-34]。有研究表明,他汀类药物可以降低兔动脉粥样硬化易损斑块中新生血管的密度,这可能与影响 HIF 的表达相关^[35]。还有研究显示,在缺乏 ApoE 的大鼠模型中,他汀类药物治疗可以通过减少动脉外膜新生血管的形成,抑制斑块进展^[36]。

4 总结

动脉粥样硬化的特征主要有炎症反应、内膜增厚,氧需增加及氧供减少。低氧诱发 HIF-1 α 介导的一系列基因转录增加,导致多种血管因子包括 VEGF 的上调。生理性的血管生成过程能恢复氧稳态,促进组织修复,有助于斑块逆转。病理性的血管生成导致持续的 VEGF 上调和持续的血管生成反应。不成熟的新生血管导致斑块内出血,这可以进一步造成斑块内坏死核心的扩大、加强氧化反应和炎症反应。对抗斑块内出血的机制包括 Hp 蛋白、CD163 清道夫受体和 HO-1 蛋白。Hp2-2 基因型与糖尿病合并动脉粥样硬化患者的心血管事件风险增加相关。

特异的抗血管生成治疗可以显著减少斑块形成和巨噬细胞浸润,但可能导致微血管稀薄化。目前对于动脉粥样硬化斑块内新生血管的治疗依然局限于他汀类药物。未来对于研究斑块逆转的药物,抗新生血管可能是一个突破口。

参 考 文 献

- [1] Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis[J]. *Cell*, 2011, 146(6):873-887.
- [2] Arroyo AG, Iruela-Arispe ML. Extracellular matrix, inflammation, and the angiogenic response[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 86(2):226-235.
- [3] Sluimer JC, Daemen MJ. Novel concepts in atherogenesis: angiogenesis and hypoxia in atherosclerosis[J]. *J Pathol*, 2009, 218(1):7-29.
- [4] Zemlenyi T, Crawford DW, Cole MA. Adaptation to arterial wall hypoxia demonstrated in vivo with oxygen microcathodes[J]. *Atherosclerosis*, 1989, 76(2-3):173-179.
- [5] Bahadori B, Uitz E, Mayer A, et al. Polymorphisms of the hypoxia-inducible factor 1 gene and peripheral artery disease[J]. *Vasc Med*, 2010, 15(5):371-374.
- [6] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis[J]. *Nature*, 2011, 473(7347):298-307.
- [7] Majmundar AJ, Wong WJ, Simon MC. Hypoxia-inducible factors and the response to hypoxic stress[J]. *Mol Cell*, 2010, 40(2):294-309.
- [8] Mazzone M, Dettori D, Leite de Oliveira R, et al. Heterozygous deficiency of PHD2 restores tumor oxygenation and inhibits metastasis via endothelial normalization[J]. *Cell*, 2009, 136(5):839-851.
- [9] Hutter R, Speidl WS, Valdiviezo C, et al. Macrophages transmit potent proangiogenic effects of oxLDL in vitro and in vivo involving HIF-1 α activation: a novel aspect of angiogenesis in atherosclerosis[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, 6(4):558-569.
- [10] Moreno PR, Sanz J, Fuster V. Promoting mechanisms of

- vascular health; circulating progenitor cells, angiogenesis, and reverse cholesterol transport [J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 53(25):2315-2323.
- [11] Chung AS, Lee J, Ferrara N. Targeting the tumour vasculature: insights from physiological angiogenesis[J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10(7):505-514.
- [12] Purushothaman KR, Purushothaman M, Muntner P, et al. Inflammation, neovascularization and intra-plaque hemorrhage are associated with increased reparative collagen content; implication for plaque progression in diabetic atherosclerosis[J]. Vasc Med, 2011, 16(2):103-108.
- [13] Kockx MM, Cromheeke KM, Knaapen MW, et al. Phagocytosis and macrophage activation associated with hemorrhagic microvessels in human atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(3):440-446.
- [14] Takaya N, Yuan C, Chu B, et al. Association between carotid plaque characteristics and subsequent ischemic cerebrovascular events: a prospective assessment with MRI-initial results[J]. Stroke, 2006, 37(3):818-823.
- [15] Guetta J, Strauss M, Levy NS, et al. Haptoglobin genotype modulates the balance of Th1/Th2 cytokines produced by macrophages exposed to free hemoglobin [J]. Atherosclerosis, 2007, 191(1):48-53.
- [16] 孟树优,陈松,李代清,等. 结合珠蛋白基因多态性与糖尿病视网膜病变(一)[J]. 中国糖尿病杂志, 2011, 19(5): 325-328.
- [17] 刘海波,施育平,郭小芳,等. 结合珠蛋白基因多态性与急性冠脉综合征的相关性研究[J]. 中华急诊医学杂志, 2011, 20(4): 409-412.
- [18] 付鑫,吴桂平,张彦红,等. 血红蛋白清道夫受体与冠状动脉斑块形态关系的临床研究[J]. 中国临床医学, 2011, 18(4): 453-455.
- [19] 马小华,游晓星,吴移谋,等. HO-1 在免疫调节中的作用及其相关信号转导通路研究进展[J]. 中南医学科学杂志, 2011, 39(6): 705-709.
- [20] Asleh R, Nakhoul FM, Miller-Lotan R, et al. Poor lysosomal membrane integrity in proximal tubule cells of haptoglobin 2-2 genotype mice with diabetes mellitus[J]. Free Radic Biol Med, 2012, 53(4):779-786.
- [21] Moreno PR, Purushothaman KR, Meerarani P, et al. Haptoglobin genotype is a major determinant of the amount of iron in the human atherosclerotic plaque[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 52(13):1049-1051.
- [22] Crawford Y, Ferrara N. VEGF inhibition: insights from preclinical and clinical studies[J]. Cell Tissue Res, 2009, 335(1): 261-269.
- [23] 王琪,李嘉姝,程莉莉,等. 抗血管生成与肿瘤治疗[J]. 检验医学与临床, 2012, 09(1):56-58.
- [24] Winter PM, Neubauer AM, Caruthers SD, et al. Endothelial alpha (v) beta3 integrin-targeted fumagillin nanoparticles inhibit angiogenesis in atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(9):2103-2109.
- [25] Vaklavas C, Lenihan D, Kurzrock R, et al. Antivascular endothelial growth factor therapies and cardiovascular toxicity: what are the important clinical markers to target? [J]. Oncologist, 2010, 15(2):130-141.
- [26] Gerber HP, Malik AK, Solar GP, et al. VEGF regulates haematopoietic stem cell survival by an internal autocrine loop mechanism[J]. Nature, 2002, 417(6892):954-958.
- [27] 李夏,王雨生. Pegaptanib 治疗湿性年龄相关性黄斑变性的临床研究[J]. 国际眼科杂志, 2006, 6(4):829-832.
- [28] Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. Science, 2005, 307(5706): 58-62.
- [29] 赵静,张文,李文桦,等. 贝伐单抗联合化疗治疗晚期结直肠癌的临床观察[J]. 中国癌症杂志, 2011, 21(10): 799-802.
- [30] Jain RK, Finn AV, Kolodgie FD, et al. Antiangiogenic therapy for normalization of atherosclerotic plaque vasculature: a potential strategy for plaque stabilization[J]. Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2007, 4(9):491-502.
- [31] 许海燕. 他汀药对冠心病一级预防作用的性别差异——一项荟萃分析[J]. 中华医学杂志, 2010, 90(18):1254.
- [32] Nicholls SJ, Borgman JM, Nissen SE, et al. Impact of statins on progression of atherosclerosis: rationale and design of SATURN (study of coronary atheroma by intravascular ultrasound; effect of rosuvastatin versus atorvastatin) [J]. Curr Med Res Opin, 2011, 27(6):1119-1129.
- [33] 黄贤圣,赵水平,柏林,等. 他汀类药物通过激活 PPAR α 和升高大鼠载脂蛋白 A5 降低甘油三酯[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2010, 26(11):981-985.
- [34] Yang J, Huang C, Yang J, et al. Statins attenuate high mobility group box-1 protein induced vascular endothelial activation; a key role for TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2010, 345(1-2):189-195.
- [35] 郑雪,白万军,周聊生,等. 前列腺素 E1 对兔动脉粥样硬化易损斑块内新生血管的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(8): 691-697.
- [36] Bot I, Jukema JW, Lankhuizen IM, et al. Atorvastatin inhibits plaque development and adventitial neovascularization in ApoE deficient mice independent of plasma cholesterol levels [J]. Atherosclerosis, 2011, 214(2):295-300.

(收稿:2013-06-24 修回:2013-11-25)

(本文编辑:丁媛媛)