

血管生成素 2 在炎症免疫疾病中的作用及机制的研究进展

刘 瑶 卢中秋

血管生成素(angiotensin, Ang)家族是近年来新发现的一组分泌型内皮细胞特异性生长因子,不仅参与了胚胎血管发育、血管重构等正常生理过程,而且在肿瘤、创伤、炎症等多种病理过程中发挥了重要作用。迄今为止,研究较为明确的该家族成员有 4 个:Ang-1、Ang-2、Ang-3 和 Ang-4,其中 Ang-2 与机体炎症免疫应答关系密切,新近有关 Ang-2 的研究尤其受到重视。本文综述了 Ang-2 及其在炎症免疫反应中的研究进展,旨在拓宽对炎症免疫疾病的治疗思路。

一、Ang-2 概述

早在 20 世纪的 80 年代,Fett 等就在人类结肠癌细胞系 HT-29 细胞培养上清中发现并定义了首个血管生成素。血管生成素作为一种分泌性糖蛋白,研究至今,该家族已有 4 位成员,分别是:Ang-1、Ang-2、Ang-3 和 Ang-4。人类 Ang-2 基因定位于第 8 号染色体短臂(8p23)上,开放阅读框为 1491bp,编码 496 个氨基酸,分子质量 75kDa。结构上,Ang-2 蛋白由两个区域组成,N 末端为由 180 个左右的氨基酸形成的卷曲螺旋结构,C 末端为类纤维蛋白结构域,该结构域大约有 200 个氨基酸,包含了 Ang 受体的结合区域。Ang-2 与其所属家族的另一成员 Ang-1 有高度的相似性,它们有 60% 左右的氨基酸同源,而二者的主要区别在于 Ang-2 卷曲结构域与纤维蛋白原样结构域的交界处比 Ang-1 少一个半胱氨酸。Ang-2 主要表达于血管内皮细胞,储存在内皮细胞特有的怀布尔-帕拉德小体(Weibel-Palade bodies,WPBs)中^[1]。静息状态下的血管内皮细胞很少表达 Ang-2,当受到外来刺激以后,内皮细胞被激

活,Ang-2 合成明显增加,其过度表达可阻碍血管形成。与 Ang2 关系密切的另一家族成员,Ang-1 表达于血管周细胞、血管平滑肌细胞、成纤维细胞、巨核细胞和血小板等各种不同细胞。Ang-1 与特异性表达于血管内皮细胞(endothelial cells,ECs)的具有免疫球蛋白和表皮生长因子同源结构域的酪氨酸蛋白激酶-2(tyrosine kinase with immunoglobulin and epidermal growth factor homology domain2, Tie-2)结合后,使 Tie-2 的酪氨酸基团发生磷酸化促进内皮细胞的移行与存活,抑制血管内皮细胞活化及其相关黏附分子表达,降低肺血管通透性,抑制炎症细胞浸润。Ang-2 是 Ang-1 的天然拮抗剂,可与 Ang-1 竞争两者的共同受体 Tie-2,从而抑制 Tie-2 酪氨酸残基的磷酸化,阻断 Ang-1 的效应,诱导炎症因子的表达以及白细胞的聚集^[2]。这一过程可能是通过抑制磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B(Pi3K/AKT)引发的下游转导信号,从而促进内皮细胞的凋亡,抑制血管生成,此外 Ang-2 还具有促炎、促血管渗漏作用^[2]。

二、Ang-2 与炎症的关系

众所周知,血管生成素家族是目前已知的调节血管形成、血管重塑和局部循环的重要分子。在脉管系统中,内皮细胞通过自分泌 Ang-2 和自身细胞膜上的 Tie-2 受体特异性结合,抑制其受体磷酸化及随后的信号转导,使成熟血管紊乱和血管退化;而血管周细胞等则通过旁分泌的 Ang-1,与周旁内皮细胞膜上的 Tie-2 受体特异性结合,引起其磷酸化和随后的信号转导,稳固新生的血管,降低血管渗透性抑制炎症反应^[3]。Hellmut 领导的研究小组最近发现,Ang-2 还可以通过促进感染部位白细胞的募集来拮抗 Ang-1 的抗炎效应。Fiedler 等^[4]观察了 Ang-2 在硫乙醇酸盐以及金黄色葡萄球菌诱导的腹膜炎的炎症反应中的变化。研究发现,在以上两种小鼠的腹膜炎模型中,与野生型小鼠相比,Ang-2(-)的小鼠腹腔募集的中性粒细胞大量减少,提示 Ang-2 缺陷

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LZ12H26001);浙江省医学创新学科建设计划基金资助项目(11-CX26);浙江省“十二五”重点学科建设计划基金资助项目

作者单位:325000 温州医学院附属第一医院急诊医学中心

通讯作者:卢中秋,教授,博士生导师,电子信箱:lzq640815@163.com

com

的小鼠存在免疫应答功能的损伤。不仅如此,上述 Ang-2 缺失的效应可通过注射(体外合成的)Ang-2 逆转,说明 Ang-2 与炎症、免疫之间存在千丝万缕的联系。

Ang-2 作为血管床对内源性刺激反应的调控者,对炎症因子的激活起协同作用。肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)是炎症反应过程中出现最早、也是最重要的介质之一,它不仅可以激活中性粒细胞和淋巴细胞,还能够使血管内皮细胞通透性增加,并且参与调节其他组织代谢活性并促使其他细胞因子的合成和释放。一般而言, TNF- α 的上调可引起内皮细胞 Ang-2 的表达增高。Imhof 等^[5]发现, TNF- α 能促进 ICAM-1 和 VCAM-1 的上调,这些黏附分子与白细胞整合蛋白一同促进白细胞的黏附和渗出。也就是说, Ang-2 可以通过上调内皮细胞的 TNF- α 水平作用于白细胞的黏附,间接参与炎症反应细胞的调节过程。活体的皮肤微脉管系统成像也显示, Ang-2(-) 的小鼠白细胞黏附能力及 TNF- α 活化内皮细胞能力是降低的。单核细胞通过 TNF- α 和接触 Ang-2 黏附于人脐静脉活化的内皮细胞,显示 Ang-2 是通过加强 TNF- α 介导的黏附蛋白 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达,从而促进黏附。此外,通过 siRNA 间接敲低 Ang-2 的表达,可减少了 TNF- α 诱导的两种蛋白质的表达,说明内皮细胞产生的 Ang-2 可以调节 TNF- α 的反应性。与此同时,过量的 Ang-1 能抑制 Ang-2 的黏附-促进效应,证明 Ang-1 能平衡 Ang-2 的作用。Scholz 等^[6]运用双重转基因小鼠,旨在药物诱导的内皮细胞中过量表达特异性 Ang-2。这些小鼠表现出全身炎症反应的症状,并且有多个器官骨髓细胞出现髓系细胞浸润,此时再加以受二硝基氯苯和硫酸乙醇胺刺激,小鼠的全身炎症反应显著加剧,提示 Ang-2 过表达的小鼠与野生型小鼠相比,对炎症反应更敏感。以上研究提供的证据均显示 Ang-2 的上调在炎症反应中有重要作用,甚至在一些缺乏促炎刺激的情况下,单独的过表达 Ang-2 也足以诱导炎症的发生。Ang-2 作为一个关键分子有独立启动和诱导炎症过程中髓系细胞募集的能力,说明 Ang-2 的表达量增加可以作为募集髓系细胞促进炎症反应的主要因素。不难看出 Ang-2 除了调节血管的形态发生外,在控制内皮组织对于炎症信号的反应方面起着重要作用, Ang-1 和 Ang-2 在静止和活化的血管内皮中保持着动态平衡,扰乱该平衡会导致慢性炎症性

疾病的发生,常见的有牛皮癣,克罗恩病等。

三、Ang-2 与炎症性疾病

1. Ang-2 与支原体肺炎:血管重塑是慢性炎症的典型特征之一,血管重塑的过程就是毛细血管向小静脉转变的过程。肺炎支原体肺炎(mycoplasma pneumoniae)是由肺炎支原体(mycoplasma pneumoniae)引起的呼吸道和肺部的急性炎症改变。由支原体诱发的小鼠气道感染,早期持续的炎症反应会引起毛细血管向小静脉转变,而 Ang-2/Tie-2 系统参与调控该过程。Ang-2 mRNA 表达水平上调,使血管黏膜的 Tie-2 磷酸化水平降低,致使 Tie-2 免疫反应性下降,表明感染会导致受体信号减弱。通过给与两种不同的功能阻滞抗体减少对 Tie-2 磷酸化的抑制,可降低黏膜毛细血管重塑成小静脉,同时减少白细胞的渗漏,减轻疾病的严重程度。Ang-2 可以降低 Tie-2 在内皮细胞中的磷酸化,使其对细胞因子的敏感性明显增加,促进了支原体肺炎所引起的血管重塑和炎症反应。持续的炎症反应伴随的血管重塑、白细胞渗漏是气道炎症的病理生理基础, Ang-2 抑制剂能够逆转上述过程,为支原体肺炎治疗研究提供一种新的思路^[7]。

2. Ang-2 与脓毒症:脓毒症(sepsis)是指由感染引起的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),发生率和病死率居高不下,临床治疗面临极大困难^[8]。在脓毒症的发病过程中,机体处于一种免疫系统功能紊乱状态:疾病初期机体分泌大量炎症介质,随着病情的进展,由于机体自身调控力度的增大以及各种内、外源性因素的影响,机体可能经历了一个免疫抑制阶段,从而导致机体对病原体的易感性明显增加。脓毒症患者病情进展过程中有多种免疫细胞参与,整体来说,脓毒症是机体天然免疫系统-获得性免疫系统、促炎反应-抗炎反应的失平衡。内皮组织在脓毒症中的职能就是作为炎症、凝固、血流动力学、液体及电解质平衡和细胞迁移的交汇点,在这个体系中, Ang-Tie-2 信号通路是最重要的调节器^[9]。Giuliano 等^[10]发现,与健康儿童相比,脓毒症休克的儿童血浆 Ang-2 水平明显升高,血浆 Ang-1 水平明显降低。说明 Ang-2 在脓毒症的病理生理过程中起了重要作用。脓毒症发病机制中的关键环节之一是细胞凋亡。血管内皮连续性受损,促进炎症细胞迁移、血管渗漏。脓毒症的病人内皮细胞凋亡率与病死率呈正相关^[8]。Ang-2 可以通过 PI₃K/Akt 通路通过以下几方面促进细

胞凋亡;抑制 ABIN-2 蛋白激活 NF- κ B 活性、激活 FOXO1 基因表达、促进凋亡蛋白 Smac 从线粒体释放、下调细胞生存素的表达^[11~13]。Ang-Tie-2 受体系统控制着内皮细胞对炎症、高渗透性、凋亡和各种转导信号通路对血管刺激的反应性。有研究发现,血浆中 Ang-1 与 IL-1Ra 及 IL-6 呈负相关;血浆中 Ang-2 与 IL-1Ra、IL-6、IL-8、IL-10 呈正相关^[14]。Kümpers 等^[15]已证实脓毒症患者循环中的 Ang-2 不仅是一个非常具有潜能的与疾病严重程度相关的生物标志物,也是病死率的预言者。David 等^[9]的实验小组的最新研究发现,患者入住急诊科第 1h 的 Ang-2 浓度与疾病的严重程度呈正相关,而且其浓度可以预测脓毒症在 72h 内的转归[比如疾病进展成休克和(或)死亡],对于病程较长的脓毒症患者意义和价值不大。Heijden 等通过实验证明,循环中 Ang-2 水平与脓毒症患者的液体平衡、肺功能障碍和病死率呈正相关。通过测量脓毒症患者 NO 依赖的毛细血管充血反应与 Ang-2 水平和受损的血管反应性的关系,发现 NO 与 Ang2 呈负相关。另一项类似的研究也表明,脓毒症患者血浆 Ang-2 水平与 NO 依赖的毛细血管反应相关,增强内皮细胞 NO 生物利用度可能成为脓毒症治疗的新靶点。该研究小组相信对直接影响内皮功能的宿主介质的探究将成为对提高脓毒症病理生理认识最有价值的研究方向。特异的 RNA 适配体或者抗体是潜在的抗炎和抗血管渗漏策略,已成功运用到动物模型肿瘤和血管生成领域,有望成为脓毒症治疗的新途径。

四、Ang-2 与急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是 ICU 中一种常见的急危重症,既是许多呼吸道疾病的病理基础,也是 SIRS 最易累及的器官。ALI 进一步发展既成为急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS),随后发生多器官功能障碍综合征(multiple organs dysfunction syndrome, MODS)。ALI/ARDS 的发病机制错综复杂,随着 MODS 学说的提出,人们对其认识转向对炎症的调控。临床上,ALI/ARDS 发生迅猛难以控制的关键在于致病因子激活多种炎症细胞,炎症细胞通过“旁分泌”或“自分泌”的方式释放更多的炎症介质和细胞因子,这些细胞、炎症介质和细胞因子构成了 ALI/ARDS 炎症反应和免疫调节的网络,循不同的信号转导途径参与调控机体的炎症免疫,导致了瀑布式的炎症反应,造成肺的过度损伤。Heijden 等研究发现,在 ALI/ARDS 患者

循环中的 Ang-2 表达水平和 Ang-2/Ang-1 的比值明显增高,且和肺水肿及 ALI/ARDS 的严重程度平行,提示 Ang-2 参与了肺损伤的发病过程。Ang-2 基因缺失的小鼠在高氧诱导的 ALI 模型中肺中性粒细胞浸润和血管渗漏减轻。未转染 Ang-1 的小鼠经 LPS 刺激后 eNOS 表达量及活性下降,而转染 Ang1 的小鼠肺组织内 eNOS 表达量及活性未见明显变化,提示 Ang1 对内毒素性肺损伤的保护作用可能由 eNOS 源性 NO 所介导。Ang-2 能使外周血单核细胞 Tie-2 表达上调并使得 Tie-2 阳性的单核细胞富集于炎症部位。不仅如此,近日美国国立卫生院 ARDS 工作小组入选了 ICU 收治的 931 例 ALI/ARDS 患者进行了一项随机对照实验,该研究发现血浆中 Ang-2 水平与代表血管渗透性和肺损伤的指标如血清白蛋白、肺损伤评分、氧合指数、机械通气天数、肺顺应性等密切相关,并且与非感染相关的 ALI 相比,血浆 Ang-2 水平对于感染相关的 ALI 的预测价值更高。由此推断,在入住 ICU 的患者循环中 Ang-2 水平可以作为一个生物标志物预测 ALI/ARDS 的发展和预后。

五、Ang-2 与免疫性疾病

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种以免疫系统紊乱导致自身抗体产生、免疫复合物(IC)形成和补体活化为特征的慢性自身免疫性疾病。在该疾病的发病过程中,内皮细胞层的活化是炎症损伤启动、局限、扩散、蔓延的始作俑者。内皮细胞的活化是表型从静止无反应性到有反应性的改变。该过程与细胞间黏附分子(如 VCAM-1)的表达上调、白细胞募集、细胞接头分解有关,最终导致可屏障功能受损,组织水肿。Kümpers 等选取了 43 例 SLE 患者研究 Ang-2 与内皮活化及炎症的关系。与对照组相比,患者血浆中 Ang-2 的浓度显著增高,Ang-1 的浓度显著下降,Ang-2/Ang-1 的比率也显著升高。按疾病活动程度(SLEDAI)进一步将 43 例 SLE 患者分为 SLEDAI<7 组和 SLEDAI $\geq$ 7 组,令人意外的是,高浓度的 Ang-2 及 Ang-2/Ang-1 高比率仍然持续存在于低疾病活动性(SLEDAI<7)患者中。该发现意味着内皮的活化并不局限于活动性疾病。机体 Ang-2 浓度与临床和实验测量的系统性红斑狼疮活动指数(SLE disease activity index, SLEDAI)评分,尿蛋白,双链 DNA(dsDNA)和可溶性血管黏附分子-1(sVCAM-1)密切相关;上调的 Ang-2 蛋白表达还存在于活动性的狼疮性肾炎患者肾

小球内。将 Ang - 2 作为因变量进行多元回归分析显示 Ang - 2 水平是判断肾脏是否受累的独立因素。该实验发现 Ang - 2 可以通过活化内皮和引发渗漏而触发炎症反应。但 Ang - 2 不是影响内皮细胞的炎症反应本身,而是在 TNF - α 和各种炎症刺激存在的情况下,促进内皮细胞活化及随后的白细胞迁移。此外,与对照组相比,肾小球中 Ang - 2 表达以内皮的免疫复合沉积物的方式显著上调。新近,有研究也证实了小鼠体内可诱导的足细胞过表达 Ang - 2 导致蛋白尿和肾小球内皮细胞凋亡。

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是以滑膜炎症和新血管形成为特征的慢性系统性自身免疫性疾病,可导致关节软骨和软骨下骨质的退化。Takahara 等运用免疫组化和原位杂交检测发现了 Ang - 1、Ang - 2、Tie - 2 在 RA 的滑膜中均有表达;免疫组化双染显示 Ang - 1、Ang - 2、Tie - 2 的共表达能增加增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 的免疫反应性;并且各种浓度的 Ang - 1 或 Ang - 2 重组体均不能改变滑膜细胞 DNA 的合成,但能提高滑膜细胞的成纤维化及趋化迁移能力。表明 Ang/Tie - 2 信号系统对于上调 RA 滑膜的血管生成具有重要作用。Ang/Tie - 2 是血管生长,成熟和发挥功能的重要调节者。在 RA 早期,血管生成是血管翳形成的一个早期事件,血管不断重塑导致了白细胞的浸润和细胞因子的产生,通过主动募集,使激活的单核细胞通过内皮细胞进入滑膜,导致骨和关节软骨的破坏。Ang - 2 可能介导 TLR2 活化后引起的血管生成、黏附、浸润,从而参与到 RA 的发病过程中。

六、展 望

大量的研究资料证实,Ang - 2 在炎症免疫性疾病中起着关键作用。Ang - 2 与 Tie - 2 受体相互作用的发现更进一步加深了人们对 Ang - 2 与炎症免疫性疾病之间重要联系的认识。Ang - 2 为 Ang - 1 的天然拮抗剂,作用于 Tie - 2 受体发挥生物效应,具有促炎、促血管渗漏、促进细胞凋亡等作用。Ang - 2/Tie - 2 系统在炎症免疫性疾病的病理生理过程中起重要的调节作用,例如血清中 Ang - 2 水平的升高,作为疾病早期的一个生物标志物,可以早期预测疾病的发生及严重程度。运用 Ang - 2 拮抗剂则能减轻炎症、血管渗漏、减轻蛋白尿,这为炎症免疫性疾病的治疗开辟了新途径,也为疾病的发病机制和调节机制提供了广阔的前景。但是随着研究的深入,新的问题也随之而来,Ang/Tie - 2 系统的各成分的组成

远比其绝对水平重要,产生血管生成素的内皮组织对于疾病相关刺激的改变在不同的环境和不同器官中是否一样? Ang - 2 调控炎症反应的具体详细分子机制如何? 这些问题的解决对于深入理解炎症免疫反应中 Ang - 2 的变化规律和调控过程极为重要,为相关疾病的治疗提供了新的思路和策略。

参考文献

- David S, van Meurs M, Kumpers P. Does low angiotensin - 1 predict adverse outcome in sepsis? [J]. Crit Care,2010,14(4):180
- Eklund L,Olsen BR. Tie receptors and their angiotensin ligands are context - dependent regulators of vascular remodeling[J]. Exp Cell Res, 2006,312(5):630 - 641
- Thurston G, Daly C. The complex role of angiotensin - 2 in the angiotensin - tie signaling pathway [J]. Cold Spring Harb Perspect Med,2012,2(9):a006550
- Fiedler U, Reiss Y, Scharpfenecker M, et al. Angiotensin - 2 sensitizes endothelial cells to TNF - α and has a crucial role in the induction of inflammation[J]. Nat Med,2006,12(2):235 - 239
- Imhof BA, Aurand - Lions M. Angiogenesis and inflammation face off[J]. Nat Med,2006,12(2):171 - 172
- Scholz A, Lang V, Henschler R, et al. Angiotensin - 2 promotes myeloid cell infiltration in β - integrin - dependent manner[J]. Blood, 2011,118(18):5050 - 5059
- Tabruyn SP, Colton K, Morisada T, et al. Angiotensin - 2 - driven vascular remodeling in airway inflammation[J]. Am J Pathol,2010, 177(6):3233 - 3243
- Liu KD, Levitt J, Zhuo H, et al. Randomized clinical trial of activated protein C for the treatment of acute lung injury[J]. Am J Respir Crit Care Med,2008,178:618 - 623
- David S, Mukherjee A, Ghosh CC. Angiotensin - 2 may contribute to multiple organ dysfunction and death in sepsis[J]. Crit Care Med, 2012,40(11):3034 - 3041
- Giuliano JS Jr, Lahni PM, Harmon K, et al. Admission angiotensin levels in children with septic shock[J]. Shock,2007,28(6):650 - 654
- Tadros A, Hughes DP, Dunmore BJ, et al. ABIN - 2 protects endothelial cells from death and has a role in the antiapoptotic effect of angiotensin - 1 [J]. Blood,2003,102(13):4407 - 4409
- Daly C, Wong V, Burova E, et al. Angiotensin - 1 modulates endothelial cell function and gene expression via the transcription factor FKHR (FOXO1) [J]. Genes Dev,2004,18(9):1060 - 1071
- Harfouche R, Hassessian HM, Guo Y, et al. Mechanisms which mediate the antiapoptotic effects of angiotensin - 1 on endothelial cells [J]. Microvasc Res,2002,64(1):135 - 147
- Carroll ED. Angiotensins as prognostic biomarkers and effector molecules in severe sepsis[J]. Crit Care Med,2011,39(9):2203 - 2204
- Kumpers P, David S. Angiotensin - 2 in sepsis: lost in translation? [J]. Nephrol Dial Transplant,2013,28(3):487 - 489

(收稿日期:2012 - 11 - 14)

(修回日期:2012 - 11 - 29)