

雌激素、低氧及其交互在新血管生成中的作用研究进展

刘 倩 杨 阳 于世宾

摘 要 组织内新血管生成与机体发育和多种疾病的发生关系密切,大量证据表明雌激素、低氧尤其是二者之间的交互都在组织内新血管的生成中发挥着重要作用。本文就雌激素、低氧及其交互在新血管生成中的作用研究进展做一综述,并对其在今后骨关节炎(osteoarthritis, OA)治疗中的意义进行了展望。

关键词 骨关节炎 雌激素 低氧 雌激素受体 低氧诱导因子

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

组织内新血管的生成是一个复杂的调控过程,是组织内促血管生成因子和抑血管生成因子相互对抗的结果。目前已经证实的促血管生成因子主要包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)、成纤维细胞生长因子-1(fibroblast growth factor-1, FGF1)、FGF2、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)等。抑血管生成因子主要包括软骨调节素1(chondromodulin 1, ChM1)、肌钙蛋白-1(troponin-1)等,其中 VEGF 的研究最为广泛^[1]。新血管的生成主要分3个步骤:①炎性介质等激活内皮细胞;②蛋白酶降解血管内皮基质;③内皮细胞趋化及新生血管发生。新血管生成的影响因素较多,本文重点回顾雌激素、低氧及其交互在其中的作用机制。

一、雌激素与新血管生成

在正常情况下,成年后各人体组织中血管内皮细胞和平滑肌细胞基本不进行有丝分裂,不会形成新血管,但女性生殖系统例外,多数学者认为这与女性激素尤其是雌激素有关^[2]。近年来,雌激素对血管生成的影响被越来越多的学者所证实。研究表明,心肌缺血后心功能的恢复在雌性中优于雄性,而心功能恢复与缺血部位新血管形成能力呈正比,且长期雌激素治疗可以改善血管的功能^[3]。大量研究表明,雌激素可以通过升高骨、子宫、脑等组织中的 VEGF 水平进而促进新血管的形成^[4-6]。雌激素还能上调血管

生成素的分泌水平,促进血管内皮细胞的增殖,以上效应可以被雌激素受体(estrogen receptor, ER)的拮抗剂他莫西芬所阻断^[7]。卵巢切除所引起的骨量减少与雌激素缺乏所引起的 VEGF 水平下调关系密切^[4]。此外,ER α 敲除小鼠表现出明显的新血管生成障碍,而且临床上给予他莫西芬等可以显著抑制乳腺癌等肿瘤组织中的新血管生成^[2]。以上结果均提示雌激素及其受体在新血管的生成中发挥着重要作用,但其具体作用机制尚不明了。

二、低氧与新血管生成

低氧也是新血管生成的重要诱发因素,当机体内出现如心肌缺血、脑缺血、肿瘤快速生长等所引发的低氧环境时,机体就会诱发新血管生成以改善组织缺氧状况。低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)是近年来发现的一类哺乳动物细胞内在基因转录水平调控低氧变化最主要的因子,在促进机体对低氧的适应过程中发挥着重要作用^[2]。目前 HIF 家族共有 HIF1、HIF2 和 HIF3 等3个成员,HIF 蛋白都是由 α 亚基和 β 亚基组成的异二聚体,其中 β 亚基是结构性亚基,表达于细胞核内且不受低氧的影响,主要负责保持 HIF 结构的稳定性和二聚化引起的活性构象转变; α 亚基是功能性亚基,对 HIF 的活性与功能起决定性作用,因此目前针对 HIF 功能的研究主要围绕其 α 亚基展开。HIF α 亚基的特性具有氧依赖性,其C末端含有1个富含脯氨酸/丝氨酸/苏氨酸的氧依赖降解结构域(oxygen dependent degradation domain, ODDD)。在常氧条件下, α 亚基 ODDD 中第402及564位脯氨酸残基被脯氨酸羟化酶(prolyl-hydroxylase, PHD)羟化,羟基化的脯氨酸残基与肿瘤抑制蛋白(Von Hippel Lindau protein, pVHL)结合,随后募集 elongin C、elongin B 等泛素蛋白,共同组成泛

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81371166)

作者单位:710032 西安,第四军医大学口腔医学院解剖生理学教研室

通讯作者:于世宾,电子信箱:yushibin@fmmu.edu.cn

素连接蛋白酶复合体,进而使 α 亚基被泛素连接蛋白酶降解。在低氧情况下($<5\%$)PHD 失活,不能使 HIF α 亚基羟基化,从而保证了 α 亚基的稳定, α 亚基转移进入细胞核,在核内与 β 亚基结合成二聚体,进而与靶基因上的低氧反应元件(hypoxia response element,HRE)结合激活靶基因的转录^[8]。

研究表明 VEGF 及其受体 VEGFR 等血管形成相关因子的启动子序列上均含有 HRE,HIF 可以直接与 VEGF 等因子 DNA 上的 HRE 启动相关转录^[9,10]。敲除小鼠成骨细胞中的 pVHL 使 HIF1 α 亚基持续活化,可以显著增加长骨发育过程中和牵张成骨后新血管的生成,进而产生大量的新骨,相反,如果敲除成骨细胞中的 HIF1 α 则会引起牵张成骨后的新血管生成及骨形成障碍,上述反应主要是通过 VEGF 介导的^[9,10]。给予小分子的脯氨酸羟化酶抑制剂(去铁胺等)可以稳定 HIF 的表达量,也促进新血管的生成和骨折愈合^[9]。敲除小鼠成骨细胞中的 HIF2 α 也可以引起与敲除 HIF1 α 类似程度的骨骼内新血管生成障碍,最终表现为肢体变短^[8]。

三、雌激素-低氧交互在新血管生成中的作用

HIF 在雌激素上调 VEGF 表达进而促进新血管生成中发挥着关键作用。研究表明外源性雌激素可以通过激活 PI₃K/Akt 通路上调子宫、卵巢癌细胞、乳腺癌细胞中 HIF1 α 的表达,进而使 ER α 和 HIF1 α 入核并与 VEGF 的启动子结合,最终上调 VEGF 的表达,这一(雌激素上调 VEGF 表达)效应可以被雌激素受体拮抗剂 Fulvestrant 和 HIF1 抑制剂 YC-1 阻断^[11]。另一项针对子宫内膜癌的研究显示,在常氧(20%)条件下(HIF1 α 因降解而无法存在),E₂ 无法上调 VEGF 的表达,而利用氯化钴(CoCl₂)阻断细胞内的 HIF1 α 降解后,E₂ 刺激可以引发 HIF1 α 核内转位,同时伴有 VEGF 水平的上调,该结果进一步提示 HIF1 α 在外源性雌激素所诱导的 VEGF 上调中发挥着关键作用^[12]。反之,低氧也可以直接调控 ER α 、ER β 的表达。在没有雌激素参与的情况下低氧能通过 HIF1 α 激活 ER α 、ER β ^[13]。另一项研究显示低氧可以轻度下调 ER α 水平,显著上调 ER β 水平,抑制 HIF1 α 的表达能消除低氧所诱导的 ER β 上调并上调 ER α 水平^[14]。研究显示 ER α 参与了低氧对乳腺癌干细胞的增殖效应,该效应可以被 ER α 拮抗剂阻断^[15]。特异性敲除成骨细胞中的 pVHL 使 HIF1 α 、HIF2 α 持续活化(类似于低氧效应)可以有效改善卵巢切除所引发的新血管生成障碍及骨量减少,同时卵

巢切除可以显著降低因 VHL 敲除所引起的 HIF1 α 、HIF2 α 和 VEGF 蛋白的上调,这进一步提示在新血管生成及后续的破骨-成骨偶合中雌激素-低氧效应之间存在明显的交互效应^[16]。

此外,ER 和 HIF 在细胞内的降解存在竞争性。最新研究显示 ER α 和 HIF1 α 、HIF2 α 都是细胞内 pVHL 靶向底物,都可以被泛素化进而降解,且它们之间存在竞争性,低氧条件下由于 HIF α 亚基不能被降解,ER α 就会被 pVHL 更多地结合,进而降解^[17]。由此不难看出,雌激素与低氧不但可以调控对方的下游受体,而且 ER、HIF 在细胞内的水平也存在密切的联系。可见雌激素与低氧、ER 与 HIF 在调节新血管生成中存在明显的交互作用。

四、展望

骨关节炎(osteoarthritis,OA)是一种发生率高、严重威胁人类运动功能的疾病,其主要病理表现为早期的关节软骨退化性变及软骨下骨吸收,晚期可出现软骨血管化、软骨剥脱、边缘性骨赘形成(新骨形成)等反应。关节软骨的血管化是 OA 晚期的重要病理学基础^[8,18]。研究表明,抑制新血管生成可以有效降低 OA 进程中的滑膜炎、减缓受累关节的结构改变,显著缓解疼痛,但具体机制有待阐明。大量证据显示体内雌激素水平降低与 OA 的发生关系密切,且多数研究显示雌激素替代疗法可以有效降低绝经后女性的 OA 发生率。低氧是与 OA 发生关系密切的又一重要因素,同时晚期 OA 软骨组织中 HIF1 α 和 HIF2 α 显著上调。可见雌激素、低氧都在 OA 的发生发展中发挥着重要作用,而雌激素-低氧交互可能在 OA 的发生发展尤其是 OA 新血管生成中发挥着关键作用,今后围绕雌激素-低氧交互在 OA 新血管生成中的具体作用机制展开系统的研究,有望阐明 OA 的发生机制,为 OA 的治疗提供新思路。

参考文献

- 1 Pesesse L, Sanchez C, Henrotin Y. Osteochondral plate angiogenesis: a new treatment target in osteoarthritis[J]. Joint Bone Spine, 2011,78(2):144-149
- 2 Losordo DW, Isner JM. Estrogen and angiogenesis: a review[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2001,21(1):6-12
- 3 闫文义,于东明,皇甫超申. 雌激素刺激脑血管内皮细胞分泌 VEGF 及新血管形成[J]. 河南大学学报:自然科学版,2012,42(1):78-82
- 4 Pufe T, Claassen H, Scholz-Ahrens K E, et al. Influence of estradiol on vascular endothelial growth factor expression in bone: a study in Göttingen miniature pigs and human osteoblasts[J]. Calcified Tissue International, 2007, 80(3): 184-191

(下转第 15 页)

- eNOS and SIRT1 [J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e29598
 - 9 张莉, 吴赛殊, 阮云军. 雄激素缺乏对雄性小鼠主动脉增龄性变化的影响 [J]. *热带医学杂志*, 2011, 11(2): 122 - 125
 - 10 Jones TH, Arver S, Behre HM, *et al.* Testosterone replacement in hypogonadal men with type 2 diabetes and/or metabolic syndrome (the TIMES2 study) [J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(4): 828 - 837
 - 11 Cau SB, Carneiro FS, Tostes RC. Differential modulation of nitric oxide synthases in aging: therapeutic opportunities [J]. *Front Physiol*, 2012, 3:218
 - 12 Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, *et al.* Endothelial cell senescence in human atherosclerosis role of telomere in endothelial dysfunction [J]. *Circulation*, 2002, 105(13): 1541 - 1544
 - 13 Erusalimsky JD, Fenton M. Further in vivo evidence that cellular senescence is implicated in vascular pathophysiology [J]. *Circulation*, 2002, 106(20): e144
 - 14 Campelo AE, Cutini PH, Massheimer VL. Testosterone modulates platelet aggregation and endothelial cell growth through nitric oxide pathway [J]. *J Endocrinol*, 2012, 213(1): 77 - 87
 - 15 Wu S, Ruan Y, Yin M, *et al.* Research on the age - related changes in the nitric oxide pathway in the arteries of rats and the intervention effect of dehydroepiandrosterone [J]. *Gerontology*, 2007, 53(4): 234 - 237
 - 16 Xu ZR, Hu L, Cheng LF, *et al.* Dihydrotestosterone protects human vascular endothelial cells from H₂O₂ - induced apoptosis through inhibition of caspase - 3, caspase - 9 and p38 MAPK [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 643(2 - 3): 254 - 259
 - 17 Nheu L, Nazareth L, Xu GY, *et al.* Physiological effects of androgens on human vascular endothelial and smooth muscle cells in culture [J]. *Steroids*, 2011, 76(14): 1590 - 1596
 - 18 Skogastierna C, Hotzen M, Rane A, *et al.* A supraphysiological dose of testosterone induces nitric oxide production and oxidative stress [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2014, 21(8): 1049 - 1054
 - 19 Toro L, Marijic J, Nishimaru K, *et al.* Aging, ion channel expression, and vascular function [J]. *Vascul Pharmacol*, 2002, 38(1): 73 - 80
 - 20 Ferrari AU, Radaelli A, Centola M. Invited review: aging and the cardiovascular system [J]. *J Appl Physiol*, 2003, 95(6): 2591 - 2597
 - 21 Chignalia AZ, Schuldt EZ, Camargo LL, *et al.* Testosterone induces vascular smooth muscle cell migration by NADPH oxidase and c - Src - dependent pathways [J]. *Hypertension*, 2012, 59(6): 1263 - 1271
- (收稿日期:2014 - 05 - 27)
- (修回日期:2014 - 06 - 14)

(上接第 5 页)

- 5 Fraser HM, Wilson H, Silvestri A, *et al.* The role of vascular endothelial growth factor and estradiol in the regulation of endometrial angiogenesis and cell proliferation in the marmoset [J]. *Endocrinology*, 2008, 149(9): 4413 - 4420
 - 6 Murata T, Dietrich HH, Xiang C, *et al.* G Protein - coupled estrogen receptor agonist improves cerebral microvascular function after hypoxia/reoxygenation injury in male and female rats [J]. *Stroke*, 2013, 44(3): 779 - 785
 - 7 Nilsson UW, Abrahamsson A, Dabrosin C. Angiogenin regulation by estradiol in breast tissue: tamoxifen inhibits angiogenin nuclear translocation and antiangiogenin therapy reduces breast cancer growth in vivo [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(14): 3659 - 3669
 - 8 Saito T, Fukai A, Mabuchi A, *et al.* Transcriptional regulation of endochondral ossification by HIF - 2 [alpha] during skeletal growth and osteoarthritis development [J]. *Nat Med*, 2010, 16(6): 678 - 686
 - 9 Wan C, Gilbert SR, Wang Y, *et al.* Activation of the hypoxia - inducible factor - 1alpha pathway accelerates bone regeneration [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105(2): 686 - 691
 - 10 Shomento SH, Wan C, Cao X, *et al.* Hypoxia - inducible factors 1alpha and 2alpha exert both distinct and overlapping functions in long bone development [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 109(1): 196 - 204
 - 11 George AL, Rajoria S, Suriano R, *et al.* Hypoxia and estrogen are functionally equivalent in breast cancer - endothelial cell interdependence [J]. *Mol Cancer*, 2012, 22: 11 - 80
 - 12 Molitoris KH, Kazi AA, Koos RD. Inhibition of oxygen - induced hypoxia - inducible factor - 1alpha degradation unmasks estradiol induction of vascular endothelial growth factor expression in ECC - 1 cancer cells in vitro [J]. *Endocrinology*, 2009, 150(12): 5405 - 5414
 - 13 Lim W, Cho J, Kwon H, *et al.* Hypoxia - inducible factor 1alpha activates and is inhibited by unoccupied estrogen receptor beta [J]. *FEBS Letters*, 2009, 583(8): 1314 - 1318
 - 14 Wu MH, Lu CW, Chang FM, *et al.* Estrogen receptor expression affected by hypoxia inducible factor - 1alpha in stromal cells from patients with endometriosis [J]. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2012, 51(1): 50 - 54
 - 15 Harrison H, Rogerson L, Gregson HJ, *et al.* Contrasting hypoxic effects on breast cancer stem cell hierarchy is dependent on ER - alpha status [J]. *Cancer Research*, 2013, 73(4): 1420 - 1433
 - 16 Zhao Q, Shen X, Zhang W, *et al.* Mice with increased angiogenesis and osteogenesis due to conditional activation of HIF pathway in osteoblasts are protected from ovariectomy induced bone loss [J]. *Bone*, 2012, 50(3): 763 - 770
 - 17 Jung YS, Lee SJ, Yoon MH, *et al.* Estrogen receptor alpha is a novel target of the Von Hippel - Lindau protein and is responsible for the proliferation of VHL - deficient cells under hypoxic conditions [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(23): 4462 - 4473
 - 18 李晗, 陈百成, 邵德成, 等. 血管病理与骨关节炎发病关系的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2010, 1: 46 - 48
- (收稿日期:2014 - 05 - 03)
- (修回日期:2014 - 05 - 26)