

网络出版时间: 2018-4-23 10:00 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180420.1545.034.html>

◇ 综 述 ◇

类风湿性关节炎血管增生的机制研究进展

章 敏^{1,2} 高 梅¹ 陈镜宇¹ 综述 宋礼华¹ 魏 伟¹ 审校

摘要 血管增生是指在原先已有的血管基础上形成新的微血管,广泛存在于一些肿瘤及自身免疫性疾病中。在类风湿性关节炎中,滑膜组织新生血管致血管翳的形成是其重要表现,关节内巨噬细胞、滑膜成纤维细胞及内皮细胞分泌血管内皮生长因子、缺氧诱导因子、趋化因子、促炎细胞因子等多种促血管生成因子,这些促血管生成因子主要通过促进新生血管形成维持滑膜及关节的炎症免疫反应,现就类风湿性关节炎血管增生的相关机制研究进展作一综述。

关键词 类风湿性关节炎; 血管增生; 促血管生长因子

中图分类号 R 593.22

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)04-0649-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.04.033

血管增生是一种程序化的级联反应,通常是各种原因引起的促血管生成因子增加,激活血管内皮细胞进而产生一些蛋白水解酶包括基质金属蛋白酶及纤溶酶原激活物等,其降解血管基底膜及血管周围的细胞外基质,同时血管内皮细胞通过增殖和迁移至血管周围区域形成毛细血管网进而形成新生血管。血管的过度增生广泛存在于类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)等自身免疫病中^[1]。RA是一种慢性进行性多系统受累的自身免疫病,其关节局部基本病理变化是滑膜细胞进行性增生肥大、滑膜组织新生血管致血管翳的形成。滑膜血管的增生可能是RA难以得到根治的原因之一,此特点与恶性肿瘤中血管增生类似,RA患者血中一些促血管生成因子常常升高,其关节微环境常常表现为关

节腔内的低氧、大量致炎因子及血管活性分子浸润等^[2]。因此,如何抑制RA患者滑膜血管增生是RA研究的热点与难点,本文就目前RA中滑膜血管增生的分子机制及其作为治疗靶点的研究进展作一综述。

1 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和缺氧诱导因子1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)

在一些恶性肿瘤及炎症性疾病中VEGF可能是影响血管增生独立的重要因素。在体外实验中,VEGF可以促进血管内皮细胞的增殖、迁移及成管^[3]。VEGF与血管内皮细胞的相应受体结合产生的信号过程参与血管增生的全过程,包括血管内皮细胞的增殖、分化迁移等。VEGF蛋白家族主要包括有VEGF-A、B、C、D、E五种,其与血管内皮细胞膜上相应受体结合产生不同的作用,如:VEGF-A选择性的与VEGFR1和VEGFR2结合促进内皮细胞的再生,VEGF-C特异性的与VEGFR3结合参与调解淋巴管的再生,VEGFR2磷酸化后激活下游的MAPK与ERK1/2则参与内皮细胞的增殖与成管^[4]。VEGF在血管增生中扮演着极为重要的角色,与血管内皮细胞增殖、迁移、成管及凋亡均密切相关^[5]。一些促炎细胞因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-17、IL-18、NO、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、巨噬细胞迁移抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)、内皮素-1(endothelin-1, ET-1)及前列腺素均可促进滑膜成纤维细胞释放VEGF,进而促进血管的再生^[6]。在动物实验中,针对VEGF及其受体治疗的研究显示,在胶原诱导性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)的动物模型中应用VEGFR蛋白激酶抑制剂PTK787、VEGFR1单克隆抗体均可延缓CIA滑膜炎的发病时间、减少炎性细胞的浸润及血管内皮细胞的活化^[7]。

关节炎关节内常常由于代谢活跃使局部处于缺

2017-12-22 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81330081、81673444)

作者单位: ¹ 安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 安徽省抗炎免疫药物协同创新中心, 合肥 230032

² 安徽医科大学附属省立医院麻醉科, 合肥 230001

作者简介: 章 敏, 男, 主治医师, 博士研究生;

魏 伟, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn;

宋礼华, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: Songlh@ankebio.com

氧状态,局部缺氧的微环境致内皮细胞质内的 HIF-1 α 转到细胞核内与 HIF-1 β 相结合,促进巨噬细胞及滑膜成纤维细胞分泌 VEGF。体外细胞实验表明 HIF-1 α 促进血管增生的机制主要依赖于 VEGF 作用,另外, HIF 不仅参与 RA 中的血管增生,同时也参与了滑膜炎性反应及软骨的破坏^[8]。

2 血管生成素

在 RA 患者的滑膜组织、巨噬细胞及血管内皮细胞中,血管生成素 1 (Ang1) 及其酪氨酸激酶受体 2 (Tie2) 明显升高。采用肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 刺激 RA 滑膜成纤维细胞, Ang1 表达明显升高,但采用 TNF 刺激血管内皮细胞, Ang1 的表达并无明显变化。Ang1 在血管形成中的作用不同于 VEGF,其主要作用是维持血管形成的稳定性,而且,阻断 Ang1 的受体 Tie2 能抑制 VEGF 的促血管生成作用,说明 Ang 与 VEGF 信号通路存在着交集^[9]。采用腺病毒表达的可溶性 Tie2 受体能明显减轻胶原诱导大鼠关节炎模型中的关节滑膜组织血管增生、肿胀及骨质破坏。抗血管生成蛋白 DAAP 可与 Ang1、Ang2 及 VEGF 特定的结构域相结合,能显著降低胶原诱导大鼠关节炎模型中的关节滑膜组织血管增生^[10]。AMG386 是一种抑制血管新生的药物,通过抑制 Ang1/2 与 Tie2 受体的结合从而抑制新生血管的生成,广泛用于恶性肿瘤的治疗中,但目前其在 RA 中的作用尚不明确。

3 趋化因子及其受体

趋化因子是指一类具有趋化细胞定向移动的小分子化学诱导物,分子量在 8 ~ 14 ku。人类的趋化因子约 50 余种,根据其结构和功能的不同分为 4 个亚类: CXC 类、CC 类、CX3C 类及 C 类,其与细胞表面的趋化因子受体结合后发挥生物学功能。

3.1 CXC 类的趋化因子 CXC 类的趋化因子促进血管生成的特性取决于其氨基端 CXC 结构域之前的谷氨酸-亮氨酸-精氨酸 (ELR) 结构域,根据是否含 ELR 结构域分为 CXC-ELR(+) 和 CXC-ELR(-)。前者主要有 IL-8/CXCL8、上皮中性粒细胞活化肽-78 (ENA-78) /CXCL5、生长调节致癌基因 α (gro α) /CXCL1、结缔组织活化肽-III (CTAP-III) /CXCL7 等。抑制血管增生的趋化因子多为 CXC-ELR(-),如:血小板因子 4 (PF4) /CXCL4、 γ -干扰素诱导单核细胞因子 (MIG) /CXCL9、 γ -干扰素诱导蛋白 10 (IP-10) /CXCL10,这些趋化因子主要通过负

反馈抑制 VEGF 诱导的血管增生。

但基质细胞衍生因子-1 (SDF-1) /CXCL12 例外,其不具有 ELR 结构域,却在 RA 滑膜血管增生中起促进作用,RA 时关节的局部缺氧微环境中滑膜纤维细胞大量分泌 CXCL12, CXCL12 与其受体 CXCR4 结合参与血管重塑和生成,并能促进各种内皮细胞的迁移,从而促进毛细血管形成。用 AMD3100 阻断 CXCL12/CXCR4 轴后发现,血管重塑障碍,新生的内皮细胞形态异常,毛细血管的生长亦受到抑制^[11]。在胶原诱导大鼠关节炎模型中,应用 CXCL12 的拮抗剂普乐沙福 (plerixafor, AMD3100) 可明显缓解大鼠关节的肿胀,但其在减少关节滑膜血管增生方面并未发现有明显作用。现 AMD3100 已用于治疗非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤等^[12]; CXCR4 的拮抗剂 BMS-936564 可特异性的与 CXCR4 相结合从而抑制 CXCL12 诱导的细胞迁移,目前用于多发性骨髓瘤的一期临床试验中^[13]。但这两种药物对 RA 关节滑膜血管增生的影响尚未明确。

CXCL16 作为促进血管增生的趋化因子,可促进人脐血管内皮细胞的血管形成,其主要是通过自分泌的形式激活 ERK1/2、AKt 及 p38 信号来升高 HIF- α ,促进 VEGF 的分泌致血管增生^[14]。

3.2 CC 类趋化因子 CC 类趋化因子绝大部分也是由 RA 关节组织中的巨噬细胞和滑膜成纤维细胞在受一些促炎细胞因子如 TNF、IL-6、IL-8、IL-17 等刺激后分泌,在 CIA 动物模型中,滑膜组织中高表达 CCL2、CCL3 及 CCL5,而采用其阻断剂可减轻动物模型中关节炎的症状,其主要治病机制可能是趋化单核细胞在关节组织中聚集及浸润。CCL21、CCL28 也参与了 RA 中的血管增生,其促进血管增生主要是间接通过增加滑膜组织中的巨噬细胞和成纤维细胞分泌一些促血管形成因子,如: VEGF、IL-8 及血管紧张素 1 等^[15]。

3.3 CX3C 类趋化因子 CX3CL1 是目前发现的唯一的 CX3C 类趋化因子,在 RA 患者外周血的单核细胞、滑膜组织中的巨噬细胞、成纤维细胞及内皮细胞均有表达,一些促炎细胞因子如 TNF、IL-1 β 、IFN- γ 均可增加其在内皮细胞上的表达,采用其阻断剂可降低单核细胞和内皮细胞的迁移能力。

4 促炎性细胞因子

在 RA 血管增生中, TNF、IL-1、IL-6、IL-8、IL-17、IL-18、MIF 等促炎性因子均扮演着重要角色,既可

通过直接途径作用于血管内皮细胞,也可间接作用于滑膜中的其他细胞产生一些促血管增生因子,如: VEGF、HIF 等,从而促进血管再生。

4.1 TNF TNF 与其受体 TNFR_{II} 结合后明显促进血管内皮细胞的增殖与迁移,同时其自身及与 IL-1、IL-17 协同作用促进滑膜细胞分泌 VEGF 间接促进血管增生,其主要通过血管生成素 1-酪氨酸激酶 2-VEGF(Ang1-Tie2-VEGF) 系统促进 VEGF 增加^[16]。在 RA 患者中应用 TNF 阻滞剂后,患者血浆中的 VEGF 水平明显下降,同时发现其 Ang1/Tie2 表达也明显降低,提示 TNF 一定程度上通过 VEGF 和 Ang1/Tie2 通路调节 RA 患者的血管增生。另外, TNF 与 IL-1、IL-6 及 IL-23 一起促进 Th-17 细胞的分化,促进 IL-17 的分泌,而 IL-17 在 RA 的血管增生中起着重要的作用^[17]。同时, RA 患者应用 TNF 阻滞剂后, Th-17 细胞数量明显减少,血浆中的 IL-17、IL-6、IL-21 及 IL-23 亦明显降低。TNF 还可以通过调节血管内皮细胞分泌一些促血管再生的细胞黏附分子和趋化因子,如 ICAM1、VCAM1、CXCL1、CXCL5、CXCL8、CCL2 及 CCL5 进而影响 RA 患者的血管增生^[18]。

4.2 白细胞介素(interleukin, IL) IL-1 本身并不直接促进 RA 血管增生,其促进血管增生主要是通过 IL-17 协同作用增加 Ang1-Tie2-VEGF 信号中分子的表达,同时增加关节滑膜成纤维细胞分泌一些趋化因子如 CCL21,还可促进 CXCL16 与其受体 CXCR6 结合从而间接促进血管增生^[19]。IL-6 同 IL-1 类似,其促进 RA 血管增生主要是通过 TNF、IL-1 及 IL-17 的协同作用而增加 VEGF 及 CCL28 的表达,同时其与 IL-1 一起在 Th17 细胞的分化中起着重要作用^[20]。IL-8 是 ELR(+) CXC 类趋化因子,其促进血管增生主要通过血管内皮细胞上对应的 CXCR1 及 CXCR2 受体相结合发挥生物学作用,同时 TNF、IL-1 及 IL-17 均可促进滑膜成纤维细胞分泌 IL-8。IL-17 亦通过血管内皮细胞上 CXCR2 受体发挥血管增殖的作用,同时其在破骨细胞生成中发挥重要作用,可诱导骨母细胞表面的核因子 κ -B 配体(RANKL) 的表达,促进破骨细胞生成^[21]。RA 滑膜液内的中性粒细胞、巨噬细胞、成纤维细胞及血管内皮细胞均可分泌 IL-18, IL-18 刺激滑膜成纤维细胞可释放很多炎症因子,如血管黏附分子、细胞间黏附分子 1、趋化因子(CXCL1、CXCL5、CXCL12、CXCL20)、VEGF、IL-8 等,在 RA 早期可以促进中性粒细胞迁移,在 RA 活动期时在关节内招募骨

髓细胞促进炎症的发展及触发血管的增生。

IL-35 是 IL-12 细胞因子家族中的一种抗炎因子,包括有 IL-12、IL-23 及 IL-27 等。在体外实验中, IL-35 能抑制 VEGF 诱导的人脐静脉血管内皮细胞迁移、成管及 Ang2 的分泌, IL-35 亦能明显抑制 Ang2 的促人脐静脉血管内皮细胞新生作用。另外, IL-35 抑制 VEGF 或 Ang2 诱导的人脐静脉血管内皮细胞分泌基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、MMP-9、IL-6、IL-8^[22]。

5 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)与黏附分子

5.1 MMP MMP 是一类需要锌离子、钙离子等金属离子作为辅助因子的家族蛋白酶类,正常关节组织即有表达,但在 RA 患者中其表达明显升高。RA 滑膜组织中巨噬细胞、成纤维细胞及内皮细胞均可表达 MMP-2、MMP-9,其与 MMP-1、MMP-13 一起参与 RA 中的血管内皮的增生。不同种类的 MMP 在 RA 的发生发展起着不同的作用,在动物模型中,研究^[23]显示缺少 MMP-2、MMP-9、MMP-13 的大鼠的关节血管增生及骨生长明显受到抑制,缺少 MMP-3、MMP-7 并无此现象,而 MMP-3 与 RA 的活动情况有一定的相关性。但以 MMP 作为作用靶点的药物却不能取得满意的效果,阿雷司他(aprastat)和西马司他托卡特(cipemastat trocade)均为 MMP 抑制剂,其对 RA 的治疗作用也未能通过临床试验^[24]。

5.2 连接黏附分子(junctional adhesion molecule, JAM) 连接黏附分子广泛分布于细胞表面或细胞外基质中, RA 的滑膜成纤维细胞、巨噬细胞高表达连接黏附分子-C(junctional adhesion molecule C, JAM-C),使用 IL-1、IL-17、TNF 刺激内皮细胞、滑膜成纤维细胞时其明显升高^[25]。动物关节炎模型研究^[26]显示,应用单克隆抗 JAM-C 抗体能明显降低模型组的关节炎症,减轻滑膜的炎性反应,但并不能明显影响内皮细胞的迁移能力,而在 JAM-C 缺陷小鼠卵巢肿瘤模型中,其血管增生作用明显弱于野生型小鼠和关节滑膜液,中和可溶性黏附分子 1(soluble intracellular adhesion molecule, sICAM-1)亦能明显降低滑膜中的血管增生。

sICAM-1 和 sICAM-3 在 RA 的滑膜成纤维细胞、巨噬细胞中均高表达,同时 TNF 的刺激可以促进其表达。RA 患者关节滑液中发现 sICAM1、sICAM3 及可溶性血管细胞黏附分子 1(soluble vascular cell adhesion molecule, sVCAM1)明显升高,血浆

中的 sICAM1、sVCAM1 浓度与血浆中的 VEGF、红细胞沉降率、C-反应蛋白呈正相关。那他珠单抗是一种作用于 VCAM1 受体 $\alpha 4$ 整合素的单克隆抗体,在体外实验及动物肿瘤模型中,能明显降低 VEGF 的表达及抑制关节滑膜血管的增生^[27]。

参考文献

- [1] Tas S W, Maracle C X, Balogh E, et al. Targeting of proangiogenic signalling pathways in chronic inflammation [J]. *Nat Rev Rheumatol* ,2016 ,12(2) : 111 – 22.
- [2] Semerano L, Clavel G, Assier E, et al. Blood vessels , a potential therapeutic target in rheumatoid arthritis [J]. *Joint Bone Spine* , 2011 , 78(2) : 118 – 23.
- [3] Umaru B, Pyriochou A, Kotsikoris V, et al. ATP-sensitive potassium channel activation induces angiogenesis *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Pharmacol EXP THER* ,2015 ,354(1) : 79 – 87.
- [4] Su C M, Huang C Y, Tang C H. Characteristics of resistin in rheumatoid arthritis angiogenesis [J]. *Biomark Med* , 2016 ,10(6) : 651 – 60.
- [5] Marrelli A, Cipriani P, Liakouli V, et al. Angiogenesis in rheumatoid arthritis: a disease specific process or a common response to chronic inflammation [J]. *Autoimmun Rev* ,2011 ,10(10) : 595 – 8.
- [6] Szekeanez Z, Koch A E. Macrophages and their products in rheumatoid arthritis [J]. *Curr Opin Rheumatol* ,2007 ,19(3) : 289 – 95
- [7] Grosios K, Wood J, Esser R, et al. Angiogenesis inhibition by the novel VEGF tyrosine kinase inhibitor ,PTK787/ZK222584 ,causes significant anti-arthritis effects in models of rheumatoid arthritis [J]. *Inflamm Res* ,2004 ,53(4) : 133 – 42.
- [8] Hua S, Dias T H. Hypoxia-inducible factor (HIF) as a target for novel therapies in rheumatoid arthritis [J]. *Front Pharmacol* , 2016 ,7(286) : 184 – 92.
- [9] Daly C, Eichten A, Castanaro C, et al. Angiopoietin-2 functions as a Tie2 agonist in tumor models , where it limits the effects of VEGF inhibition [J]. *Cancer Res* ,2013 ,73(1) : 108 – 18.
- [10] Hah Y S, Koh Y J, Lim H S, et al. Double-antiangiogenic protein DAAP targeting vascular endothelial growth factor A and angiopoietins attenuates collagen-induced arthritis [J]. *Arthritis Res Ther* , 2013 ,15(4) : 1 – 10.
- [11] Kanbe K, Chiba J, Inoue Y, et al. SDF-1 and CXCR4 in synovium are associated with disease activity and bone and joint destruction in patients with rheumatoid arthritis treated with golimumab [J]. *Mod Rheumatology* ,2016 ,26(1) : 46 – 50.
- [12] Fruehauf S. Current clinical indications for plerixafor [J]. *Transfu Med Hemoth* ,2013 ,40(4) : 246 – 50.
- [13] Kuhne M R, Mulvey T, Belanger B, et al. BMS-936564/MDX-1338: a fully human anti-CXCR4 antibody induces apoptosis *in vitro* and shows antitumor activity *in vivo* in hematologic malignancies [J]. *Clin Cancer Res* ,2013 ,19(2) : 357 – 66.
- [14] Yu X, Zhao R, Lin S, et al. CXCL16 induces angiogenesis in autocrine signaling pathway involving hypoxia-inducible factor 1 α in human umbilical vein endothelial cells [J]. *Oncology Reports* , 2015 ,35(3) : 1 – 9.
- [15] Chen Z, Kim S J, Essani A B, et al. Characterising the expression and function of CCL28 and its corresponding receptor , CCR10 , in RA pathogenesis [J]. *Ann Rheum Dis* , 2015 ,74(10) : 1898 – 906.
- [16] Honorati M C, Neri S, Cattini L, et al. Interleukin-17 , a regulator of angiogenic factor release by synovial fibroblasts [J]. *Osteoarthritis Cartilage* ,2006 ,14(4) : 345 – 52.
- [17] Pickens S R, Chamberlain N D, Volin M V, et al. Anti-CXCL5 therapy ameliorates IL-17-induced arthritis by decreasing joint vascularization [J]. *Angiogen* ,2011 ,14(4) : 443 – 55.
- [18] Shu Q, Amin M A, Ruth J H, et al. Suppression of endothelial cell activity by inhibition of TNF α [J]. *Arthritis Res Ther* ,2012 ,14(2) : 1 – 15.
- [19] Isozaki T, Arbab A S, Haas C S, et al. Evidence that CXCL16 is a potent mediator of angiogenesis and is involved in endothelial progenitor cell chemotaxis: studies in mice with K/BxN serum-induced arthritis [J]. *Arthritis Rheum* ,2013 ,65(7) : 1736 – 46.
- [20] Schinnerling K, Aguillón J C, Catalán D, et al. The role of interleukin-6 signaling and its therapeutic blockage in skewing the T cell balance in rheumatoid arthritis [J]. *Clin Exp Immunol* ,2017 ,189(1) : 12 – 20.
- [21] Kuwabara T, Ishikawa F, Kondo M, et al. The role of IL-17 and related cytokines in inflammatory autoimmune diseases [J]. *Mediat Inflamm* ,2017 ,2017(12) : 1 – 11.
- [22] Jiang S, Li Y, Lin T, et al. IL-35 inhibits angiogenesis through VEGF/Ang2/Tie2 pathway in rheumatoid arthritis [J]. *Cell Physiol Biochem* ,2016 ,40(5) : 1105 – 16.
- [23] Skacelova M, Hermanova Z, Horak P, et al. Higher levels of matrix metalloproteinase-3 in patients with RA reflect disease activity and structural damage [J]. *Biomed Pap* ,2017 ,161(1) : 1 – 10.
- [24] Dorman G, Cseh S, Hajdu I, et al. Matrix metalloproteinase inhibitors: a critical appraisal of design principles and proposed therapeutic utility [J]. *Drugs* ,2010 ,70(8) : 949 – 64.
- [25] Umar S, Hedaya O, Singh A K, et al. Thymoquinone inhibits TNF- α induced inflammation and cell adhesion in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by ASK1 regulation [J]. *Toxicol Appl Pharmacol* ,2015 ,287(3) : 299 – 305.
- [26] Koch A E, Halloran M M, Haskell C J, et al. Angiogenesis mediated by soluble forms of E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 [J]. *Nature* ,1995 ,376(6540) : 517 – 9.
- [27] Podar K, Zimmerhackl A, Fulciniti M, et al. The selective adhesion molecule inhibitor Natalizumab decreases multiple myeloma cell growth in the bone marrow microenvironment: therapeutic implications [J]. *Br J Haematol* ,2011 ,155(4) : 438 – 48.