

- Oncogene, 1998, 16(17): 2 265 - 2 282
- [19] Okada H, Mak TW. Pathways of apoptotic and non-apoptotic death in tumour cells[J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(8): 592 - 603.
- [20] 张林, 吴亚群. 分化型甲状腺癌的预后评估和监测[J]. 实用临床医药杂志, 2004, 8(3): 3 - 5.
- [21] 陈福进, 李秋梨, 曾宗渊, 等. 分化型甲状腺癌的治疗及影响复发的因素分析[J]. 癌症, 2004, 23(11): 1311 - 1316.
- [22] Siironen P, Nordling S, Louhimo J, et al. Immunohistochemical expression of Bcl-2, Ki-67, and p21 in patients with papillary thyroid cancer[J]. Tumour Biol, 2005, 26(1): 50 - 56.
- [23] 赖非云, 张 诤, 杨传盛, 等. Bcl-2 在甲状腺癌组织中的表达及意义[J]. 实用癌症杂志, 2007, 22(6): 600 - 602.
- [24] Aksoy M, Giles Y, Kapran Y, et al. Expression of bcl-2 in papillary thyroid cancers and its prognostic value[J]. Acta Chir Belg, 2005, 105(6): 644 - 648.
- [25] 许力, 芮景, 李仁志, 等. Bcl-2 和 ER 在甲状腺乳头状癌中的表达及意义[J]. 解剖与临床, 2008, 13(2): 96 - 99.
- [26] 李寒, 郑笑娟, 陈永兴, 等. bcl-2 和 bax 蛋白在甲状腺腺瘤中的表达及意义[J]. 黑龙江医药科学, 2007, 30(5): 3 - 4.

[文章编号] 1000-2200(2009)03-0269-03

· 综 述 ·

血管抑素对糖尿病肾病作用和治疗的研究进展

王国强 综述, 陈卫东 审校

[关键词] 糖尿病肾病; 血管抑素; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 692.39 [文献标识码] A

1994 年, O'Reilly 等^[1]在荷瘤小鼠血清中, 发现了一种能特异性抑制肿瘤血管内皮细胞增殖的因子, 称为血管抑素(angiotatin, AG)。它能强烈抑制肿瘤血管内皮细胞的增殖、迁移并促其凋亡, 从而抑制肿瘤细胞的生长和转移^[2,3]。此外, 已有研究发现, 血管抑素对糖尿病视网膜新生血管有抑制作用^[4]。近来研究发现, 血管抑素对糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的病理也有改善作用, 本文就这一研究进展作一综述。

1 血管抑素的结构与来源

序列分析表明, AG 是纤溶酶原水解后的产物, 属于内生性糖蛋白, 它包含人纤溶酶原的前 4 个 Kringle 结构, 此结构具有高度的同源性。而纤溶酶原是由 791 个氨基酸和一些糖链组成的糖蛋白, 具有 5 个 Kringle 环结构^[5]。纤溶酶原因其激活物作用位点的不同而产生 AG 的结构也各异, 这些 AG 对内皮细胞生长活性的抑制也各不相同, Kringle 1~5 各个组合后也具有不同的抑制内皮细胞生长的活性作用, 同时各个 Kringle 结构域的作用具有协同性^[6]。

2 血管抑素的产生途径

AG 可以通过多种方式产生。在体外, AG 可由 2 条途径产生: (1) 由基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)、弹性蛋白酶对人纤溶酶原的限制性酶解产生^[7]; (2) 是由人前列腺癌细胞系产生的丝氨酸蛋白酶的酶解作用产生。在体内其产生机制比较复杂, 目前研究的主要有 4 条途径: (1) 生理条件下各种纤溶酶原激活物作用于纤溶酶原而产生不同结构的 AG; (2) 某些肿瘤细胞能分泌尿激酶型纤溶酶原激活物, 直接裂解纤溶酶原转变为纤溶酶, 再在自由巯基供体的作用下, 纤溶酶分子同时作为底物和酶将自身转变成 AG; (3) 肿瘤细胞本身能直接产生 MMPs, 使纤溶酶原裂解生成 AG; (4) 肿瘤细胞产生的粒-巨细胞集落刺激因子

(GM-CSF) 刺激肿瘤浸润巨噬细胞产生金属弹性蛋白酶(MME), 使纤溶酶原降解为 AG。AG 也可以通过人工方法合成, 合成途径主要有重组法、转基因法和体内降解法。(1) 重组法: 将某种 AG 的编码基因转入毕赤酵母菌属表达系统或哺乳类表达系统进行表达提纯, 便可获得该种 AG 的纯化制剂^[8]。(2) 转基因法: 应用基因工程方法, 以逆转录病毒和腺病毒等为载体构建带有 AG 基因的重组体, 经不同方法感染肿瘤细胞后表达产生 AG^[9]。(3) 体内降解法: 给患者注射纤溶酶原激活物(如尿激酶)或组织纤溶酶原激活物和自由巯基供体(如 N-乙酰胱氨酸), 使患者体内纤溶酶原转化为 AG, 这种方法与 AG 生成的自然途径极为相似, 是一种值得探索的途径。

3 血管抑素的生物学效应

Moser 等^[10]认为, AG 与细胞表面 ATP 酶的 α 、 β 亚单位结合后, 通过抑制内皮细胞表面 ATP 的代谢, 并下调内皮细胞的增殖和迁移而产生抗血管生成效应。此外, AG 还对血管生成具有间接抑制作用, 表现在 AG 可有效抑制血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)诱导的 caveolin-1 下调, 从而抑制内皮细胞增殖^[11]; AG 可抑制中性粒细胞 ATP 合酶和 angiotatin 的 mRNA 表达, 通过中性粒细胞间接地对血管生成起到抑制作用^[12]。通过以上作用机制, AG 可以产生以下生物学功能: 通过抑制血管内皮细胞的增生、抑制内皮细胞的迁移、促进内皮细胞的凋亡等达到特异性地抑制肿瘤部位毛细血管芽生的目的, 进而阻断肿瘤的血供, 使肿瘤细胞大量凋亡^[13], 并使肿瘤的增殖与凋亡处于平衡, 即肿瘤休眠状态, 而对正常细胞和肿瘤细胞的增殖无抑制作用。

4 血管抑素对 DN 发生发展的影响

Osterby 等^[14]认为, 虽然肾小球系膜细胞和足细胞是糖尿病肾脏病变的主要介体, 但糖尿病导致的肾脏微血管增生在 DN 发病机制中也扮演了重要角色。和糖尿病视网膜病变变相类似, 1 型糖尿病患者肾组织活检发现, 血管再生导致肾

[收稿日期] 2008-03-28

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 肾内科, 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 王国强(1980-), 男, 硕士研究生, 住院医师。

小球毛细血管和微动脉密度增加^[15]。血管抑素可以特异性作用于血管内皮细胞并抑制其增殖、迁移,阻止微血管芽生,而对正常组织细胞的增殖无抑制作用。在 DN 早期,当血管抑素的前体物质(纤溶酶原和胶原 IV)减少时,内源性血管抑素水平即降低,随之新血管生成增加;当肾脏局部血管抑素浓度增高时,新生血管浓度即减少^[16]。

4.1 细胞因子和生长因子与糖尿病肾病的关系 DN 是糖尿病(diabetes mellitus, DM)主要的微血管并发症之一,是导致终末期肾病(ESRD)的主要原因^[17]。目前认为,有多种因素参与 DN 的发生、发展,如代谢紊乱、血流动力学异常、细胞因子和生长因子合成增加、胞内信号分子的激活、基因多态性等。其中,单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、VEGF、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和血管紧张素(angiotensin, ANG 或 AT)II 与 DN 的发生发展有着密切的联系。

4.2 MCP-1 和 DN 关系 Rovin 等^[18]研究表明, DN 时肾脏局部能合成 MCP-1,且与肾小球损伤有关。MCP-1 使肾小球中单核-巨噬细胞浸润,导致细胞外基质(extrocellular matrix, ECM)在肾小球和肾小管中堆积,促进肾小球硬化症的发展。在链脲佐菌素(STZ)诱导的 DM 动物模型中,系膜区 MCP-1 表达增强,单核细胞浸润增加,使 ECM 堆积,导致 DN 的发生^[19]。MCP-1 还可以引起溶酶体释放、过氧化阴离子产生,直接参与肾脏损伤^[20]。

4.3 ICAM-1 和 DN 关系 正常情况下, ICAM-1 仅在肾小球和肾小球外的内皮细胞有较强表达,而在肾小管和间质部位无表达。Ina 等^[21]发现在遗传性 2 型糖尿病的 KKAY 鼠的肾间质中有单核细胞、淋巴细胞和浆细胞浸润,与其它部位相比,在浸润细胞附近静脉壁上可溶性 ICAM-1 染色增强。在浸润细胞和血管内皮细胞的表面及胞质中,电镜检测有可溶性 ICAM-1 的免疫标志物。提示可溶性 ICAM-1 表达增强参与 DN 肾间质炎症的产生。高糖、糖基化终产物(AGEs)可刺激 ICAM-1 表达,促进多种细胞因子如 IL-1、TNF- α 、TGF- β 高表达,进而促使肾组织细胞增殖或肥大,细胞合成胶原蛋白增加,降解减少,ECM 堆积及肾小球基膜增厚,启动 DN 的发生和发展。

4.4 VEGF 和 DN 的关系 有学者认为,高糖环境下,足细胞 AGE 受体上调,足细胞 VEGF 表达/活性增加,一方面导致血管通透性增加,产生蛋白尿,肾功能紊乱;另一方面,导致肾小球内的单核-巨噬细胞迁移/活性增加,系膜活化, TGF- β 产生增加,促进肾小球硬化^[22]。体内和体外实验均表明, VEGF 通过激活 PI-3K-AKT 轴刺激蛋白质合成,引起肾脏肥大,肾脏肥大主要涉及肾皮质细胞,这一过程需要真核启动因子 4E-结合蛋白(4E-BP1)上的苏氨酸磷酸化^[23]。Kanesaki 等^[15]选取了 18 例 2 型 DN 患者的肾穿刺标本,在光镜下发现患者的肾小球中的新生血管数较对照组明显增多,而且新生血管的数量程度跟肾小球内 VEGF mRNA 及系膜基质指数(MMI)呈正相关。可见, VEGF 通过改变内皮细胞的结构和功能、增加肾小球毛细血管通透性、促进 ECM 合成、肾脏肥大等机制参与 DN 的发生与发展。

4.5 TGF- β 和 DN 关系 DM 时肾小球高滤过使包括 TGF- β

在内的一些细胞因子和生物活性物质进入肾小管,上调小管细胞顶端膜上的 TGF- β II 型受体的表达,再通过细胞内的信号转导系统,将信息传至基膜侧分泌的 MCP-1 等化学因子,使间质的肌成纤维细胞活化,表达和分泌 I、III 型胶原增加,促使间质纤维化^[24]。此外, DM 时糖基化的白蛋白,能直接刺激肾小球系膜细胞纤维连接蛋白(fibronectin, FN)和 IV 型胶原 mRNA 表达上调,而这一过程正是通过 TGF- β 系统 II 型受体的上调来实现的,从而导致肾皮质 ECM 蓄积^[25]。有学者^[24]甚至提出,高糖环境中 TGF- β II 型受体的表达上调可能使系膜细胞对 TGF- β 促胶原生成的敏感性增加,进而促使 ECM 合成增加。

4.6 ANG II 和 DN 关系 DM 时,由于慢性高血糖症、血流动力学改变等原因使肾脏局部 ANG II 活性增高。活性增高的 ANG II 通过直接或间接诱导 TGF- β 表达,刺激肾脏局部纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)、MCP-1 的表达,促进肾小管间质成纤维细胞的增殖、分化,导致大量单核-巨噬细胞浸润肾小球,ECM 成分合成增多,降解减少。这些病理过程在肾小球、肾小管间质硬化中起重要作用。

5 血管抑素对 DN 的作用机制

DN 的确切发病机制不明,目前认为受多方面因素的影响,包括代谢因素、血流动力学因素、氧化应激和遗传因素等,近年来慢性炎症作为可能导致 DN 的主要因素在 DN 的发病中受到越来越多的重视。肾脏固有细胞在病理状态下可以产生 MCP-1、ICAM-1、IL-1 等多种炎症因子,这些因子又通过自分泌和旁分泌的方式使炎症效应不断扩大,引起炎症接连反应。MCP-1 是一个主要趋化因子,产生诱导单核细胞迁移和分化为巨噬细胞,后者促进 DM 肾脏 ECM 产生和间质纤维化^[26]。去除 ICAM-1 可阻止 DM 尿蛋白排泄物(UAE)增加、肾小球肥大、肾小球基质增生,证明炎症参加了肾脏的病理改变^[27]。Zhang 等^[16]发现 AG 能明显阻止肾小球系膜中高糖和 TGF- β 诱导的 MCP-1、ICAM-1 分泌,证明 AG 能抑制 DN 的炎症反应。这一结果和最近报道的 AG 具有抗炎作用是一致的^[28]。生长因子在 DN 的发病机制中扮演了重要角色。在 DM 鼠的肾小球中, TGF- β 的过度表达在增加 ECM 蛋白质合成同时减少了其分解,最终导致 ECM 堆积,被认为是 DN 的主要调质^[25,29]。另一个重要的生长因子是 VEGF,它是主要的生成血管和血管渗透性因子,动物和临床实验均证明 DN 的早期 VEGF 表达增强^[30]。Zhang 等^[16]研究发现,予腺病毒介导的 AG 后, STZ 诱导的 DM 大鼠肾脏或人系膜细胞(HMC)中的 TGF- β 和 VEGF 表达明显降低,从而证明 AG 是肾脏中 TGF- β 和 VEGF 的内源性拮抗剂或抑制剂, AG 水平减少可能导致 DN 中上述两种生长因子的过度表达。ANG II 通过刺激 ECM 产生和抑制其降解在 DN 肾小球硬化中发挥了决定性作用^[31]。Zhang 等^[16]进一步证明 AG 呈浓度依赖性抑制由 ANG II 诱导的纤维结合蛋白分泌。总之, DM 肾脏病变的过程中异常的血管发生和炎症起了重要作用, AG 正是通过强大的抑制血管发生而发挥作用,此外还发挥抗炎作用,从而对 DN 早期病理变化有明显改善作用^[16]。

综上所述, AG 治疗 DN 的研究已深入开展,但具体作用机制还有待于进一步探索,要应用于临床还有很长的距离。

天然 AG 受血浆来源限制, 基因重组又受表达量低的限制, 如何获得足够量的活性蛋白、在体内达到治疗水平浓度这一问题尚有待解决。除此而外, 它在人体的有效治疗剂量, 在体内是否会被体内的酶所降解而失活、长期治疗有何副作用以及是否会产生耐药性等尚不完全清楚。但是不可否认, 它的出现为 DN 的治疗带来了希望。随着其基础和临床研究的继续进行, 将可能会成为 DN 新的治疗手段, 从而为广大患者造福。

[参 考 文 献]

- [1] O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, *et al*. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma[J]. *Cell*, 1994, 79(2): 315-328.
- [2] Lannutti BJ, Gately ST, Quevedo ME, *et al*. Human angiostatin inhibits murine hemangioma tumor growth in vivo[J]. *Cancer Res*, 1997, 57(23): 5277-5280.
- [3] Kirsch M, Strasser J, Allende R, *et al*. Angiostatin suppresses malignant glioma growth in vivo[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(20): 4654-4659.
- [4] Sima J, Zhang SX, Shao C, *et al*. The effect of angiostatin on vascular leakage and VEGF expression in rat retina[J]. *FEBS Lett*, 2004, 564(1-2): 19-23.
- [5] Cao Y, Cao R, Veitonmaki N. Kringle structures and antiangiogenesis[J]. *Curr Med Chem Anticancer Agents*, 2002, 2(6): 667-681.
- [6] Guan XQ, Wang YX, Wu LC, *et al*. Molecular cloning and expression of the cDNA encoding angiogenesis inhibitor K4K5 with *Pichia pastoris*[J]. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao*, 2001, 17(2): 126-130.
- [7] Dong Z, Kumar R, Yang X, *et al*. Macrophage-derived metalloelastase is responsible for the generation of angiostatin in Lewis lung carcinoma[J]. *Cell*, 1997, 88(6): 801-810.
- [8] 辛利, 张励, 徐韧, 等. 人血管抑素在毕氏酵母中的表达及其活性测定[J]. *生物化学与生物物理学报*, 2001, 33(3): 291-295.
- [9] Matsumoto G, Shindo J. Cancer therapy by gene therapy with angiostatin[J]. *Drugs Today (Barc)*, 2001, 37(12): 815-821.
- [10] Moser TL, Kenan DJ, Ashley TA, *et al*. Endothelial cell surface F1-FD ATP synthase is active in ATP synthesis and is inhibited by angiostatin[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(12): 6656-6661.
- [11] Liu J, Razani B, Tang S, *et al*. Angiogenesis activators and inhibitors differentially regulate caveolin-1 expression and caveolae formation in vascular endothelial cells. Angiogenesis inhibitors block vascular endothelial growth factor-induced down-regulation of caveolin-1[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(22): 15781-15785.
- [12] Benelli R, Morini M, Carrozzino F, *et al*. Neutrophils as a key cellular target for angiostatin implications for regulation of angiogenesis and inflammation[J]. *FASEB J*, 2002, 16(2): 267-269.
- [13] Ito H, Rovira II, Bloom ML, *et al*. Endothelial progenitor cells as putative targets for angiostatin[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(23): 5875-5877.
- [14] Osterby R, Asplund J, Bangstad HJ, *et al*. Neovascularization at the vascular pole region in diabetic glomerulopathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1999, 14(2): 348-352.
- [15] Kanasaki Y, Suzuki D, Uehara G, *et al*. Vascular endothelial growth factor gene expression is correlated with glomerular neovascularization in human diabetic nephropathy[J]. *Am J Kidney Dis*, 2005, 45(2): 288-294.
- [16] Zhang SX, Wang JJ, Lu K, *et al*. Therapeutic potential of angiostatin in diabetic nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(2): 475-486.
- [17] Ichinose K, Maeshima Y, Yamamoto Y, *et al*. Antiangiogenic endostatin peptide ameliorates renal alterations in the early stage of a type 1 diabetic nephropathy model[J]. *Diabetes*, 2005, 54(10): 2891-2903.
- [18] Rovin BH, Doe N, Tan LC. Monocyte chemoattractant protein-1 levels in patients with glomerular disease[J]. *Am J Kidney Dis*, 1996, 27(5): 640-646.
- [19] Nishioka H, Kanauchi M, Dohi K. Role of monocyte chemoattractant peptide 1 in diabetic nephropathy[J]. *Nephron*, 2001, 88(2): 189-190.
- [20] Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Egido J. Angiotensin III increases MCP-1 and activates NF-kappaB and AP-1 in cultured mesangial and mononuclear cells[J]. *Kidney Int*, 2000, 57(6): 2285-2298.
- [21] Ina K, Kitamura H, Okeda T, *et al*. Vascular cell adhesion molecule-1 expression in the renal interstitium of diabetic KKAy mice[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 1999, 44(1): 1-8.
- [22] Wendt TM, Tanji N, Guo J, *et al*. RAGE drives the development of glomerulosclerosis and implicates podocyte activation in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(4): 1123-1237.
- [23] Senthil D, Choudhury GG, McLaurin C, *et al*. Vascular endothelial growth factor induces protein synthesis in renal epithelial cells: a potential role in diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2003, 64(2): 468-479.
- [24] Wang SN, LaPage J, Hirschberg R. Role of glomerular ultrafiltration of growth factors in progressive interstitial fibrosis in diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2000, 57(3): 1002-1014.
- [25] Ziyadeh FN, Han DC, Cohen JA, *et al*. Glycated albumin stimulates fibronectin gene expression in glomerular mesangial cells; involvement of the transforming growth factor-beta system[J]. *Kidney Int*, 1998, 53(3): 631-638.
- [26] Janssen U, Sowa E, Marchand P, *et al*. Differential expression of MCP-1 and its receptor CCR2 in glucose primed human mesangial cells[J]. *Nephron*, 2002, 92(4): 797-806.
- [27] Okada S, Shikata K, Matsuda M, *et al*. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are resistant against renal injury after induction of diabetes[J]. *Diabetes*, 2003, 52(10): 2586-2593.
- [28] Benelli R, Morini M, Brigati C, *et al*. Angiostatin inhibits extracellular HIV-Tat-induced inflammatory angiogenesis[J]. *Int J Oncol*, 2003, 22(1): 87-91.
- [29] Ng DP, Warram JH, Krolewski AS. TGF-beta 1 as a genetic susceptibility locus for advanced diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus: an investigation of multiple known DNA sequence variants[J]. *Am J Kidney Dis*, 2003, 41(1): 22-28.
- [30] Khamaisi M, Schrijvers BF, De Vriese AS, *et al*. The emerging role of VEGF in diabetic kidney disease[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2003, 18(8): 1427-1430.
- [31] Leehey DJ, Singh AK, Alavi N, *et al*. Role of angiotensin II in diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int (Suppl)*, 2000, 77(1): 93-98.