

整联蛋白调控血管新生内膜增生的研究进展

王为森¹ 张 艺² 王 韵^{2*}

¹陆军军医大学(原第三军医大学)学员旅3营, 重庆 400038;

²陆军军医大学(原第三军医大学)细胞生物学教研室, 重庆 400038)

摘要 血管新生内膜增生是支架植入术、动静脉瘘术等血管手术以及动脉粥样硬化、高血压等心血管疾病的生理特征。整联蛋白介导的细胞黏附在新生内膜增生过程中起着重要作用。该文概述了整联蛋白在此过程中对白细胞黏附、平滑肌细胞迁移增殖、再内皮化的调控及目前用于研究新生内膜的相关动物模型。了解整联蛋白调节血管新生内膜增生的分子机制, 为临床上防治新生内膜增生、解决术后血管再狭窄等相关研究提供参考。

关键词 整联蛋白; 新生内膜增生; 血管损伤; 细胞黏附

Advances of Vascular Neointimal Hyperplasia Regulated by Integrin

Wang Weisen¹, Zhang Yi², Wang Yun^{2*}

¹The 3st Battalion of Trainee Brigade, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China;

²Department of Cell Biology, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract Neointimal hyperplasia is a major morphological feature of many cardiovascular diseases such as atherosclerosis and hypertension, it is also responsible for the stenosis of vascular surgery including stent angioplasty and arteriovenous fistula surgery. Integrin-mediated cell adhesion plays a very important role in neointimal hyperplasia development. We reviewed here the effect of integrin on neointimal formation through regulating leucocyte adhesion, smooth muscle cell proliferation and migration, reendothelialization as well as the frequently used animal model of neointimal hyperplasia. Understanding the mechanisms of neointimal hyperplasia modulated by integrin will provide new therapeutic strategies for these clinical diseases.

Keywords integrin; neointimal hyperplasia; vascular injury; cell adhesion

血管支架植入、动静脉瘘术、心脏冠脉搭桥等术后血管狭窄一直是临床上亟待解决的难题。术后往往由于血管新生内膜增生(neointimal hyperplasia)以及后续血栓形成(thrombosis)引起脉管狭窄, 最终导致血液通路的堵塞。新生内膜增生不仅是血管损伤后发生的过度修复过程, 也是动脉粥样硬化、高血压等心血管疾病共同的生理特征。

血管疾病或手术引起的内皮细胞损伤及内皮

层的剥落, 导致内皮层保护下的血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)暴露在血流中, 随后发生新生内膜增生。新生内膜增生是一个复杂的病理过程, 有多种细胞的参与, 主要包括: (1)在血管内皮层受损后, 血小板很快聚集并黏附在损伤部位, 白细胞发生趋化, 引起炎症反应; (2)位于血管中膜的平滑肌细胞迁移到内膜处增殖并释放细胞外基质; (3)内皮细胞再生(再内皮化)重塑保护性屏障^[1-2]。

收稿日期: 2017-07-10 接受日期: 2017-10-09

陆军军医大学2017年校级大学生创新创业训练计划项目(批准号: 201790031039)、重庆市自然科学基金(批准号: cstc2014jcyjA10098)和国家自然科学基金(批准号: 81470963、81472400)资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-68752252, E-mail: yunwang@tmmu.edu.cn

Received: July 10, 2017 Accepted: October 9, 2017

This work was supported by the Student's Platform for Innovation and Entrepreneurship Training Program (Grant No.201790031039), the Natural Science Foundation Project of Chongqing (Grant No.cstc2014jcyjA10098) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81470963, 81472400)

*Corresponding author. Tel: +86-23-68752252, E-mail: yunwang@tmmu.edu.cn

网络出版时间: 2018-01-03 17:14:09 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180103.1713.002.html>

整联蛋白(integrin), 也称为整合素, 通过介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质的黏附及信号转导参与个体生长发育、创伤愈合、炎症反应等一系列重要生理和病理过程。本文将阐述整联蛋白介导的细胞黏附在新生内膜增生过程中的作用及目前用于研究新生内膜增生的动物模型。

1 概述

整联蛋白是由 α 和 β 两个亚基组成的异二聚体跨膜蛋白, 是一类依赖于二价金属阳离子(Ca^{2+} 或 Mg^{2+})的黏附分子。动物细胞表面选择性表达18种不同的 α 亚基和8种 β 亚基^[3], 相互结合形成24种不同的异二聚体(表1)。整联蛋白主要有两个功能, 一是黏附功能, 介导细胞与细胞之间以及细胞与细胞外基质之间的相互识别与黏附, 可联系细胞外部作用因素与细胞内部结构(细胞骨架); 二是转导信号, 介导“由内向外”(inside out)及“由外向内”(outside in)的信号转导。

整联蛋白的表达具细胞特异性, 许多同一类型细胞可同时表达数种不同的整联蛋白, 但不同类型细胞表达的整联蛋白种类不同。新生内膜增生有内皮细胞、平滑肌细胞、血小板等多种细胞的参与, 整联蛋白在这些细胞的表达具有明显差异, 从而具有不同的生物学效应。表1概括了24种整联蛋白的表达及在新生内膜增生过程中发挥的作用。例如, 整联蛋白 $\beta 1$ 可在多种细胞表达, 在血管平滑肌细胞表达的整联蛋白 $\beta 1$ 诱导平滑肌细胞增殖和迁移, 促进新生内膜增生^[4]; 在造血细胞表达的整联蛋白 $\beta 1$ 则促进再内皮化, 阻止新生内膜增生^[5]。整联蛋白 $\beta 2$ 仅表达于白细胞, 介导白细胞与血管内皮细胞结合, 促进白细胞向血管受损部位归巢, 引发炎症反应^[6]。整联蛋白 $\alpha \text{IIb}\beta 3$ 仅表达于血小板与巨核细胞, 介导新生内膜增生过程中血小板的聚集^[7]。了解整联蛋白调节血管新生内膜增生的分子机制, 对临床上防治新生内膜增生、解决术后血管再狭窄进行靶向治疗具有重要意义。

2 整联蛋白介导白细胞、血小板的黏附

血管内皮层受损后的新生内膜增生起始阶段, 主要涉及白细胞、血小板的募集和炎症反应。白细胞特异性表达整联蛋白 $\beta 2$ 和 $\alpha 4$ 两种亚基, $\beta 2$ 亚基可结合 αL 、 αM 、 αX 和 αD 四种 α 亚基, $\alpha 4$ 亚基可结合 $\beta 1$ 和 $\beta 7$ 两种 β 亚基。整联蛋白 $\beta 2$ 和整联蛋白 $\alpha 4$ 介导白

细胞在血管内壁上的滚动黏附, 经趋化因子活化后整联蛋白进一步介导细胞稳定黏附、跨膜迁移等能力, 白细胞浸润到相关组织部位后通过分泌细胞因子, 引起炎症反应。其中, 整联蛋白 $\beta 2$ 不仅介导了白细胞的激活, 还参与了后续的黏附、募集及跨内皮迁移^[6]。血小板特异性表达的整联蛋白 $\alpha \text{IIb}\beta 3$ 介导血管损伤后血小板的募集。

整联蛋白参与血管损伤后白细胞的激活和黏附。早在1996年, Inoue等^[8]就对经皮下穿刺血管成形术后整联蛋白 $\beta 2$ 及其结合亚基 αL 、 αM 、 αX 的作用进行了评估。在术后48 h时, 相比未出现再狭窄的病人, 术后血管再狭窄病人白细胞中整联蛋白 $\alpha \text{M}\beta 2$ (macrophage antigen-1, Mac-1)表达显著升高, 而整联蛋白 $\alpha \text{L}\beta 2$ (lymphocyte function-associated antigen 1, LFA1)、整联蛋白 $\alpha \text{X}\beta 2$ 变化不大。随后, 他们进一步发现球囊成形术、冠状动脉支架植入术都引起了白细胞的活化; 相比球囊成形术, 支架植入后整联蛋白 αM (CD11b)表达升高, 白细胞激活更加显著, 也更容易由于新生内膜增生导致术后血管再狭窄^[9]。近年来的研究表明, 利用类似载脂蛋白A-I(apolipoprotein A-I, ApoA-I)的肽段D-4F阻断整联蛋白 $\alpha \text{M}\beta 2$ 表达, 可阻止白细胞黏附, 减轻炎症反应, 抑制颈动脉损伤后的新生内膜增生^[10]。

整联蛋白介导的血小板黏附可影响白细胞浸润。Tseng等^[7]建立小鼠静脉移植模型, 将供体小鼠的下腔静脉移植到受体小鼠的颈动脉, 术后1 h发现大量内皮损伤及血小板黏附, 且白细胞的浸润明显增多。如给小鼠注射整联蛋白 $\alpha \text{IIb}\beta 3$ 拮抗剂抑制血小板的黏附, 白细胞的黏附也相应减少, 减轻了新生内膜增生程度。早期研究也已证明支架植入术后, 白细胞表面的整联蛋白 $\alpha \text{M}\beta 2$ 表达增加, 可促进白细胞对血管损伤部位血小板和纤维蛋白原的黏附, 导致新生内膜增厚^[30-31]。糖尿病、高胆固醇血症等患者血液中游离CD40L高于正常人, 易患动脉粥样硬化或冠状动脉介入术后再狭窄。引起新生内膜增生的原因主要是由于升高的CD40L提高了白细胞整联蛋白 $\alpha \text{M}\beta 2$ 的表达, 促进白细胞与血小板的黏附^[32]。有研究表明, 白细胞整联蛋白 $\alpha \text{M}\beta 2$ 可与血小板表面的糖蛋白GPIIb-a(glycoprotein IIb-a)相互作用, 从而促进白细胞募集^[33]。这些研究都表明了整联蛋白(尤其是整联蛋白 $\alpha \text{M}\beta 2$ 介导的白细胞、血小板活化及黏附)在新生内膜增生过程中的重要作用。

表1 整联蛋白在新生内膜增生中的作用

Table 1 Effect of integrin on neointimal hyperplasia

整联蛋白亚基 Integrin subunits	构成的异二聚体 Heterodimer	分布 Distributions	对新生内膜增生的作用 Possible effect on neointimal hyperplasia	
β1	α1β1	Ubiquitous ^[11]	Not described	
	α2β1	Ubiquitous ^[11]	Promoting smooth muscle cells proliferation and migration ^[12]	
	α3β1	Ubiquitous ^[13]	Not described	
	α4β1 (VLA4)	Hematopoietic cells ^[11]	Promoting reendothelialization ^[14-15]	
	α5β1	Ubiquitous ^[16]	Promoting reendothelialization ^[5] and smooth muscle cells proliferation and migration ^[4]	
	α6β1	Ubiquitous ^[16]	Not described	
	α7β1	Muscle ^[16]	Inhibiting smooth muscle cells proliferation and maintaining contractile or differentiated phenotype of smooth muscle cells ^[17-18]	
	α8β1	Smooth muscle, kidney and epithelial cells ^[13]	Maintaining contractile or differentiated phenotype of smooth muscle cells ^[19-20] , inhibiting smooth muscle cells migration ^[21]	
	α9β1	Ubiquitous ^[13]	Not described	
	α10β1	Heart and skeletal muscles ^[13]	Not described	
	α11β1	Ubiquitous ^[13]	Not described	
	αvβ1	Ubiquitous ^[13]	Not described	
	β2	αDβ2	Leukocytes ^[22]	Not described
		αLβ2 (LFA1)	Leukocytes ^[22]	Promoting leukocytes rolling and arresting ^[6]
αMβ2 (Mac1)		Leukocytes ^[22]	Promoting leukocytes or platelets adhesion ^[7] and leukocytes recruitment ^[6,10,23]	
αXβ2		Leukocytes ^[22]	Promoting monocytes recruitment, αX gene knock out decreasing atherosclerosis development in apoE(-/-) mice on a high-fat diet ^[24]	
β3	αvβ3	Smooth muscle cells, macrophages, endothelial cells ^[25]	Promoting smooth muscle cells proliferation, migration ^[26] and transformation into synthetic phenotype ^[27] , promoting reendothelialization ^[28]	
	αIIbβ3	Platelets, megakaryocytes ^[16]	Platelets aggregation ^[7]	
β4	α6β4	Epithelial cells ^[16]	Not described	
β5	αvβ5	Blood vessels, tumors and neural crest cells ^[13,15]	Promoting endothelial progenitor cells recruitment and reendothelialization ^[15]	
β6	αvβ6	Epithelial cells ^[29]	Not described	
β7	α4β7	Leukocytes ^[13]	Not described	
	αEβ7	Leukocytes ^[13]	Not described	
β8	αvβ8	Kidney, placenta, uterus and ovary ^[13]	Not described	

3 整联蛋白对平滑肌细胞增殖、迁移及表型转换的作用

血管VSMC的增殖、迁移及分泌细胞外基质是新生内膜增生最显著的特征。在正常生理条件下, VSMC呈收缩表型, 通过收缩调节血压及血流分布; 在新生内膜增生过程中, VSMC从分化状态的收缩表型转变为未分化的合成表型, 获得增殖能力并合成、分泌大量细胞外基质。内皮损伤24 h内, 在成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor,

bFGF)的介导下, VSMC开始增殖并持续几周。损伤后1~3 h内, 在血小板衍生因子(platelet derived growth factor, PDGF)的影响下, VSMC迁移到内膜层。迁移到内皮层的平滑肌细胞分泌大量细胞外基质引起新生内膜进一步增生。

3.1 整联蛋白β1

整联蛋白β1亚基可与多种α亚基结合参与新生内膜增生的调控。整联蛋白α7β1是层黏连蛋白的受体, 参与血管重塑、肌肉系统病变和神经肌接头的

发育等生理、病理过程。整联蛋白 $\alpha 7$ 敲除小鼠胚胎部分发生死亡,一些整联蛋白 $\alpha 7$ 缺失的胚胎出现脑血管出血及血管平滑肌细胞数量下降的现象^[34]。整联蛋白 $\alpha 7$ 对平滑肌细胞增殖呈负调控作用,整联蛋白 $\alpha 7$ 缺失的VSMC呈合成表型,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路激活,细胞过度增殖并引起新生内膜增生。如将整联蛋白 $\alpha 7$ 重新表达或利用MAPK抑制剂处理,可使缺失整联蛋白 $\alpha 7$ 的VSMC恢复收缩表型^[17]。低聚软骨基质蛋白(cartilage oligomeric matrix protein, COMP)引起的VSMC的表型转换也由整联蛋白 $\alpha 7\beta 1$ 介导。体外培养的VSMC经整联蛋白 $\alpha 7$ siRNA处理后黏附COMP能力降低;COMP可使VSMC保持分化状态的收缩表型,在体利用腺病毒在大鼠球囊损伤动脉处过度表达COMP,可保持VSMC收缩表型,抑制新生内膜增生^[18]。

整联蛋白 $\alpha 8$ 的表达有助于VSMC应力纤维的形成,促进细胞黏附与生长^[35],整联蛋白 $\alpha 8$ 还可作为VSMC分化标志物并维持VSMC的分化状态^[20]。利用球囊损伤大鼠颈动脉诱导新生内膜增生,在晚期狭窄管腔的新生内膜中,可检测到VSMC整联蛋白 $\alpha 8$ 表达显著升高,与VSMC的收缩表型一致^[19]。此外,整联蛋白 $\alpha 8$ 具有减弱VSMC迁移的能力,整联蛋白 $\alpha 8$ 敲除小鼠颈动脉结扎后血管阻塞加重;载脂蛋白(apolipoprotein-E, ApoE)基因敲除ApoE^{-/-}的动脉粥样硬化模型小鼠整联蛋白 $\alpha 8$ 表达下降,ApoE^{-/-}和integrin $\alpha 8^{-/-}$ 双基因敲除小鼠血管损伤更为严重。上述结果表明,整联蛋白 $\alpha 8\beta 1$ 在血管重塑和动脉粥样硬化过程中具有保护作用^[21]。

整联蛋白 $\beta 1$ 亚基与 $\alpha 2$ 、 $\alpha 5$ 亚基形成的二聚体也参与了调控VSMC增殖迁移。研究表明,整联蛋白 $\alpha 2\beta 1$ 的激动剂aggrexin通过与整联蛋白 $\alpha 2\beta 1$ 的结合,促进NF- κ B(nuclear factor-kappa B)转位和PDGF的产生,诱导VSMC的增殖和迁移^[12]。此外,整联蛋白 $\alpha 5\beta 1$ 介导了CD9引起VSMC增殖和迁移及新生内膜增生,这个过程与Akt(protein kinase B)激酶磷酸化,细胞与纤连蛋白的黏附能力增强有关^[4]。

3.2 整联蛋白 $\beta 3$

在血管内膜增生过程中,整联蛋白 $\beta 3$ 是目前研究最多的整联蛋白,整联蛋白 $\beta 3$ 在调节平滑肌细胞增殖迁移过程中发挥重要作用。 $\beta 3$ 亚基可与 αv 亚基或 αIIb 亚基结合形成两种异二聚体,其中整联蛋白

$\alpha v\beta 3$ 在VSMC表达。整联蛋白 $\beta 3$ 敲除小鼠颈动脉结扎后,VSMC从中膜向内膜的迁移能力下降,新生内膜增生的程度低于正常小鼠^[26]。

VSMC的增殖迁移主要由整联蛋白 $\alpha v\beta 3$ 与配体的结合介导,整联蛋白 $\alpha v\beta 3$ 的配体有骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、纤维蛋白原、纤连蛋白、魏氏因子vWF(von Willebrand factor)、铺展蛋白等。阻断整联蛋白 $\alpha v\beta 3$ 与配体的结合,可以阻止新生内膜增生。选择性抑制整联蛋白 $\alpha v\beta 3$ 的单克隆抗体triflavin和abciximab都可以抑制VSMC的增殖和迁移,从而阻止大鼠球囊成形术后新生内膜增生^[36-37]。整联蛋白 $\alpha v\beta 3$ 的人源化单克隆抗体vitaxin也已证明能抑制兔球囊损伤动脉VSMC迁移及内膜增生^[38]。骨桥蛋白不仅可以促进VSMC中整联蛋白 $\beta 3$ 的表达,还可以进一步结合integrin $\beta 3$ 并引起黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)的磷酸化,促进VSMC的迁移,利用OPN抗体阻断其引起的整联蛋白 $\beta 3$ 的表达以及FAK磷酸化,可降低球囊损伤动脉的新生内膜增生^[39]。微丝相关蛋白4(microfibrillar-associated protein 4, MFAP4)是新发现的整联蛋白 $\alpha v\beta 3$ 的配体。体外培养的VSMC经MFAP4抗体处理后迁移能力下降。体内实验也表明,MFAP4敲除小鼠颈动脉结扎后新生内膜形成速度减慢,这个过程与MFAP4介导的FAK磷酸化有关^[40]。

整联蛋白 $\beta 3$ 还具有调节VSMC表型转换的作用。Jiang等^[27]的研究发现,静脉曲张的血管中VSMC的OPN和整联蛋白 $\beta 3$ 启动子甲基化水平低于正常静脉,导致OPN和整联蛋白 $\beta 3$ 高表达,VSMC从收缩表型转变为合成表型并在内膜大量增殖。

4 整联蛋白在再内皮化中的作用

以往认为内皮损伤后主要靠损伤边缘的正常内皮细胞增生、迁移参与再生。越来越多的研究表明,内皮损伤后主要由干细胞募集到损伤处分化为内皮细胞,参与再内皮化过程,被招募的干细胞来源于骨髓细胞、造血干细胞、内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)、间充质干细胞及循环的祖细胞等^[28,41-42]。

整联蛋白在干细胞募集的过程中发挥了重要作用。当大鼠骨髓来源的单核细胞系细胞被单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)活化后,整联蛋白 $\beta 1$ 表达上调,黏附能力增强,聚集

到球囊损伤动脉内皮处,发挥内皮前体细胞的作用,转分化为内皮样细胞,抑制新生内膜增生^[43]。高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinaemia)小鼠骨髓CD34阳性和血管内皮细胞生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)阳性,即CD34(+)/VEGFR2(+)祖细胞integrin β 1表达下调,从而抑制其增殖、迁移及向受损血管归巢的能力,阻碍了再内皮化^[44]。与整联蛋白 β 1结合的 α 4、 α 5亚基也参与了再内皮化进程。整联蛋白 α 4表达受GSK-3 β (glycogen synthase kinase-3 beta)蛋白激酶的调节,经GSK-3 β 抑制剂处理的EPCs凋亡数减少,整联蛋白 α 4表达上调,EPCs黏附血管损伤部位的能力增强,促进了受损血管的再内皮化,降低新生内膜增生^[44]。整联蛋白 α 5表达受到microRNA92a的调节,新生内膜增生时,整联蛋白 α 5表达下降。通过抑制microRNA92a能促进内皮细胞整联蛋白 α 5的表达,降低白细胞黏附,加速受损血管的再内皮化^[5]。

整联蛋白 β 2可诱导CD34(+)/CD31(+)祖细胞分化为内皮细胞。向小鼠导丝损伤动脉内注射整联蛋白 β 2活化的CD34(+)/CD31(+)祖细胞,可抑制损伤动脉新生内膜形成^[45]。整联蛋白 β 3通过对血小板和循环的成血管细胞(circulating angiogenic cells, CACs)的作用影响再内皮化。Integrin β 3缺失的CACs对内皮下层的黏附力减弱。此外,缺少integrin β 3的血小板不能诱导CACs分化为内皮细胞。Integrin β 3敲除小鼠动静脉瘘术后再内皮化严重受阻,导致新生内膜过度增生^[28]。EPCs经瘦素处理后整联蛋白 α 4和整联蛋白 α v β 5表达上调,从而促使更多EPCs归巢至血管受损处,加速了再内皮化进程,减轻新生内膜形成^[15]。

5 研究新生内膜增生的动物模型

血管内膜增生动物模型的建立有助于深入探讨白细胞黏附与炎症反应、血小板黏附与血栓形成、内皮细胞损伤及其功能障碍、平滑肌细胞增殖迁移等多种血管内膜增生内在机制。目前所用血管内膜增生动物模型主要包括物理性或化学性内膜损伤、高胆固醇血症诱导的内膜损伤等方法。

(1)导丝(wire injury model)损伤动脉模型^[25-26,46]。以往所用的导丝不仅破坏了内皮层,还损伤了血管中膜。在利用聚四氟乙烯(polytetrafluoroethylene, PTFE)作为导丝材料后,可以仅损伤内皮而不影响中膜。因此,在内皮细胞再生的研究中更多采用这

种模型。

(2)结扎模型(ligation injury model)^[10,26]。结扎模型多为颈动脉连接,这种模型对血管内膜损伤很小,主要造成中膜的平滑肌细胞迁移到内膜。整联蛋白 β 3在新生内膜增生过程中对平滑肌细胞迁移的作用就是通过对导丝损伤模型和颈动脉结扎模型比较发现的^[26]。由于连接的血管不同,结扎模型还可用于研究狭窄的血管、血流动力学等对内膜和动脉粥样斑块的影响。

(3)球囊血管成形术模型(balloon angioplasty model)^[18-19,25]。这种模型可造成明显的中膜损伤,能更好地模拟人类动脉内膜切除术后经皮下穿刺球囊血管成型术(endarterectomy and percutaneous transluminal arterial balloon angioplasty, PTCA)。该模型主要用于研究平滑肌细胞增殖、迁移及其来源等方面。

(4)支架植入(in stent model)模型^[46]。PTCA术后的支架植入有金属支架或药物缓释支架。主要用于研究药物对平滑肌细胞增殖迁移的作用以及术后再狭窄。

(5)动静脉瘘(arteriovenous fistul)手术模型^[47-48]。慢性肾病后许多病人常利用动静脉瘘手术建立血液通路,动静脉瘘术也往往由于新生内膜增生引起的血管堵塞。这种模型的建立可用于研究慢性肾病对新生内膜增生的影响。

(6)移植(bypass graft)模型^[7]。这种模型多用于研究静脉新生内膜形成过程中血栓形成及血小板功能。

(7)Cuff套管植入术^[46]。该模型用于动脉外膜损伤而不直接引起内皮层的破坏,可用于动脉损伤后内皮细胞功能的研究。

(8)心血管疾病新生内膜增生模型。新生内膜增生是动脉粥样硬化等心血管疾病的特征,因此也可以通过建立心血管疾病动物模型来研究新生内膜增生。如通过给予动物高脂饮食,诱导动脉粥样硬化的发生,从而建立此类疾病有关的内膜增生动物模型^[21]。此外,还有高胆固醇血症、高同型半胱氨酸血症诱导内膜损伤、糖尿病、肥胖和高血压等条件下新生内膜增生等动物模型^[46]。

此外,还有辐射损伤、酸腐蚀等造成贯穿血管从内皮层到外膜损伤^[46],不同的损伤启动了下游不同的级联反应,可根据研究背景和所要研究的具体

机制选用不同的动物模型。

6 展望

动脉粥样硬化、支架移植等血管手术或动脉粥样硬化、高血压等心血管疾病会引起炎症、尿毒症、低氧损伤、血液动力学改变等一系列变化。这些变化通过调控相关基因表达, 影响血管内膜、中膜、外膜细胞的迁移和增殖, 最终引起新生内膜形成。

探寻解决新生内膜形成的方案一直是亟待解决的问题。整联蛋白作为一类功能强大的细胞黏附分子, 通过介导细胞黏附在炎症反应、细胞增殖迁移、再内皮化等方面影响新生内膜的形成。对白细胞、血小板特异性表达的如整联蛋白 $\alpha V\beta 3$ 、整联蛋白 $\alpha IIb\beta 3$, 研究并开发拮抗剂或利用RNA干扰等技术靶向阻断其表达, 可以抑制炎症反应、血栓形成, 减轻新生内膜增生程度。由于整联蛋白 $\beta 3$ 与包含Arg-Gly-Asp(RGD)三肽序列的细胞外基质成分结合, 研发阻断整联蛋白 $\beta 3$ 与配体结合的抗体、设计类似于RGD结构的人工合成肽等, 可以阻止血小板整联蛋白 $\alpha IIb\beta 3$ 、平滑肌细胞整联蛋白 $\alpha V\beta 3$ 的功能发挥, 同样可以阻止血栓形成以及平滑肌细胞增殖、迁移。内皮损伤后, 则需要促进如整联蛋白 $\beta 1$ 、整联蛋白 $\beta 2$ 等相关整联蛋白的表达, 促进再内皮化进程。针对不同整联蛋白结构特点以及相应表达细胞的功能状态, 可以多种方式联用, 从而达到抑制新生内膜增生的目的。

综上所述, 整联蛋白作为临床上抑制新生内膜增生的分子靶点, 有广泛的应用前景。同样的整联蛋白在不同细胞发挥效应的差异、同一细胞中不同整联蛋白的功能的不同、整联蛋白相关的信号调节机制等问题, 都值得人们进一步探索研究。利用相关新生内膜动物模型了解整联蛋白在新生内膜增生过程中的具体作用机制, 将为临床上防治新生内膜增生、解决术后血管再狭窄等相关研究打下应用基础。

参考文献 (References)

- Ahanchi SS, Tsihlis ND, Kibbe MR. The role of nitric oxide in the pathophysiology of intimal hyperplasia. *J Vasc Surg* 2007; 45 Suppl A: A64-73.
- Tian DY, Jin XR, Zeng X, Wang Y. Notch signaling in endothelial cells: is it the therapeutic target for vascular neointimal hyperplasia? *Int J Mol Sci* 2017; doi: 10.3390/ijms18081615.
- Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002; 110(6): 673-87.
- Kotha J, Zhang C, Longhurst CM, Lu Y, Jacobs J, Cheng Y, *et al.* Functional relevance of tetraspanin CD9 in vascular smooth muscle cell injury phenotypes: a novel target for the prevention of neointimal hyperplasia. *Atherosclerosis* 2009; 203(2): 377-86.
- Daniel JM, Penzkofer D, Teske R, Dutzmann J, Koch A, Bielenberg W, *et al.* Inhibition of miR-92a improves re-endothelialization and prevents neointima formation following vascular injury. *Cardiovasc Res* 2014; 103(4): 564-72.
- Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(9): 678-89.
- Tseng CN, Chang YT, Lengquist M, Kronqvist M, Hedin U, Eriksson EE. Platelet adhesion on endothelium early after vein grafting mediates leukocyte recruitment and intimal hyperplasia in a murine model. *Thromb Haemost* 2015; 113(4): 813-25.
- Inoue T, Sakai Y, Morooka S, Hayashi T, Takayanagi K, Takabatake Y. Expression of polymorphonuclear leukocyte adhesion molecules and its clinical significance in patients treated with percutaneous transluminal coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28(5): 1127-33.
- Inoue T, Sohma R, Miyazaki T, Iwasaki Y, Yaguchi I, Morooka S. Comparison of activation process of platelets and neutrophils after coronary stent implantation versus balloon angioplasty for stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2000; 86(10): 1057-62.
- Du L, Qu X, Zheng H, Li R, Wang J, Chen M, *et al.* Reverse apolipoprotein A-I mimetic peptide R-D4F inhibits neointimal formation following carotid artery ligation in mice. *Am J Pathol* 2013; 182(5): 1932-9.
- Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser C, Krieger M, Scott MP, *et al.* *Molecular Cell Biology*, 5th ed. New York: Worth Publisher, 2004, 197-244.
- Chung CH, Lin KT, Chang CH, Peng HC, Huang TF. The integrin $\alpha 2\beta 1$ agonist, aggregin, promotes proliferation and migration of VSMC through NF- κ B translocation and PDGF production. *Br J Pharmacol* 2009; 156(5): 846-56.
- Pan L, Zhao Y, Yuan Z, Qin G. Research advances on structure and biological functions of integrins. *Springerplus* 2016; 5(1): 1094.
- Hibbert B, Ma X, Pourjabbar A, Holm E, Rayner K, Chen YX, *et al.* Inhibition of endothelial progenitor cell glycogen synthase kinase-3 β results in attenuated neointima formation and enhanced re-endothelialization after arterial injury. *Cardiovasc Res* 2009; 83(1): 16-23.
- Schroeter MR, Leifheit M, Sudholt P, Heida NM, Dellas C, Rohm I, *et al.* Leptin enhances the recruitment of endothelial progenitor cells into neointimal lesions after vascular injury by promoting integrin-mediated adhesion. *Circ Res* 2008; 103(5): 536-44.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Morgan D, Raff M, Roberts K, *et al.* *Molecular Biology of the Cell*, Sixth ed. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, 2014, 1074-90.
- Welsch JV, Lange N, Singer CA, Elorza M, Scowen P, Keef KD, *et al.* Loss of the $\alpha 7$ integrin promotes extracellular signal-regulated kinase activation and altered vascular remodeling. *Circ Res* 2007; 101(7): 672-81.
- Wang L, Zheng J, Du Y, Huang Y, Li J, Liu B, *et al.* Cartilage oligomeric matrix protein maintains the contractile phenotype of

- vascular smooth muscle cells by interacting with alpha(7)beta(1) integrin. *Circ Res* 2010; 106(3): 514-25.
- 19 Zargham R, Pepin J, Thibault G. alpha8beta1 Integrin is up-regulated in the neointima concomitant with late luminal loss after balloon injury. *Cardiovasc Pathol* 2007; 16(4): 212-20.
- 20 Zargham R, Thibault G. Alpha 8 integrin expression is required for maintenance of the smooth muscle cell differentiated phenotype. *Cardiovasc Res* 2006; 71(1): 170-8.
- 21 Menendez-Castro C, Cordasic N, Neureiter D, Amann K, Marek I, Volkert G, *et al.* Under-expression of alpha8 integrin aggravates experimental atherosclerosis. *J Pathol* 2015; 236(1): 5-16.
- 22 Takada Y, Ye X, Simon S. The integrins. *Genome Biol* 2007; 8(5): 215.
- 23 Wainwright CL, Miller AM, Wadsworth RM. Inflammation as a key event in the development of neointima following vascular balloon injury. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001; 28(11): 891-5.
- 24 Wu H, Gower RM, Wang H, Perrard XY, Ma R, Bullard DC, *et al.* Functional role of CD11c+ monocytes in atherogenesis associated with hypercholesterolemia. *Circulation* 2009; 119(20): 2708-17.
- 25 Kokubo T, Uchida H, Choi ET. Integrin alpha(v)beta(3) as a target in the prevention of neointimal hyperplasia. *J Vasc Surg* 2007; 45 Suppl A: A33-8.
- 26 Choi ET, Khan MF, Leidenfrost JE, Collins ET, Boc KP, Villa BR, *et al.* Beta3-integrin mediates smooth muscle cell accumulation in neointima after carotid ligation in mice. *Circulation* 2004; 109(12): 1564-9.
- 27 Jiang H, Lun Y, Wu X, Xia Q, Zhang X, Xin S, *et al.* Association between the hypomethylation of osteopontin and integrin beta3 promoters and vascular smooth muscle cell phenotype switching in great saphenous varicose veins. *Int J Mol Sci* 2014; 15(10): 18747-61.
- 28 Liang M, Wang Y, Liang A, Dong JF, Du J, Cheng J. Impaired integrin beta3 delays endothelial cell regeneration and contributes to arteriovenous graft failure in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2015; 35(3): 607-15.
- 29 Bandyopadhyay A, Raghavan S. Defining the role of integrin alphavbeta6 in cancer. *Curr Drug Targets* 2009; 10(7): 645-52.
- 30 Inoue T, Uchida T, Yaguchi I, Sakai Y, Takayanagi K, Morooka S. Stent-induced expression and activation of the leukocyte integrin Mac-1 is associated with neointimal thickening and restenosis. *Circulation* 2003; 107(13): 1757-63.
- 31 Shimazawa M, Kondo K, Hara H, Nakashima M, Umemura K. Sulfatides, L- and P-selectin ligands, exacerbate the intimal hyperplasia occurring after endothelial injury. *Eur J Pharmacol* 2005; 520(1/2/3): 118-26.
- 32 Li G, Sanders JM, Bevard MH, Sun Z, Chumley JW, Galkina EV, *et al.* CD40 ligand promotes Mac-1 expression, leukocyte recruitment, and neointima formation after vascular injury. *Am J Pathol* 2008; 172(4): 1141-52.
- 33 Zago AC, Simon DI, Wang Y, Sakuma M, Chen Z, Croce K, *et al.* The importance of the interaction between leukocyte integrin Mac-1 and platelet glycoprotein Ib-a for leukocyte recruitment by platelets and for the inflammatory response to vascular injury. *Arq Bras Cardiol* 2008; 90(1): 54-63.
- 34 Flintoff-Dye NL, Welsler J, Rooney J, Scowen P, Tamowski S, Hatton W, *et al.* Role for the alpha7beta1 integrin in vascular development and integrity. *Dev Dyn* 2005; 234(1): 11-21.
- 35 Zargham R, Wamhoff BR, Thibault G. RNA interference targeting alpha8 integrin attenuates smooth muscle cell growth. *FEBS Lett* 2007; 581(5): 939-43.
- 36 Sheu JR, Wu CH, Chen YC, Hsiao G, Lin CH. Mechanisms in the inhibition of neointimal hyperplasia with triflavin in a rat model of balloon angioplasty. *J Lab Clin Med* 2001; 137(4): 270-8.
- 37 Wu CH, Chen YC, Hsiao G, Lin CH, Liu CM, Sheu JR. Mechanisms involved in the inhibition of neointimal hyperplasia by abciximab in a rat model of balloon angioplasty. *Thromb Res* 2001; 101(3): 127-38.
- 38 Coleman KR, Braden GA, Willingham MC, Sane DC. Vitaxin, a humanized monoclonal antibody to the vitronectin receptor (alphavbeta3), reduces neointimal hyperplasia and total vessel area after balloon injury in hypercholesterolemic rabbits. *Circ Res* 1999; 84(11): 1268-76.
- 39 Han M, Wen JK, Zheng B, Liu Z, Chen Y. Blockade of integrin beta3-FAK signaling pathway activated by osteopontin inhibits neointimal formation after balloon injury. *Cardiovasc Pathol* 2007; 16(5): 283-90.
- 40 Schlosser A, Pilecki B, Hemstra LE, Kejlving K, Kristmannsdottir GB, Wulf-Johansson H, *et al.* MFAP4 promotes vascular smooth muscle migration, proliferation and accelerates neointima formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2016; 36(1): 122-33.
- 41 Caplice NM, Wang S, Tracz M, Croatt AJ, Grande JP, Katusic ZS, *et al.* Neoangiogenesis and the presence of progenitor cells in the venous limb of an arteriovenous fistula in the rat. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293(2): F470-5.
- 42 Werner N, Nickenig G. Influence of cardiovascular risk factors on endothelial progenitor cells: limitations for therapy? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(2): 257-66.
- 43 Fujiyama S, Amano K, Uehira K, Yoshida M, Nishiwaki Y, Nozawa Y, *et al.* Bone marrow monocyte lineage cells adhere on injured endothelium in a monocyte chemoattractant protein-1-dependent manner and accelerate reendothelialization as endothelial progenitor cells. *Circ Res* 2003; 93(10): 980-9.
- 44 Nelson J, Wu Y, Jiang X, Berretta R, Houser S, Choi E, *et al.* Hyperhomocysteinemia suppresses bone marrow CD34+/VEGF receptor 2+ cells and inhibits progenitor cell mobilization and homing to injured vasculature—a role of beta1-integrin in progenitor cell migration and adhesion. *FASEB J* 2015; 29(7): 3085-99.
- 45 Shih YT, Wang MC, Yang TL, Zhou J, Lee DY, Lee PL, *et al.* beta(2)-Integrin and Notch-1 differentially regulate CD34(+) CD31(+) cell plasticity in vascular niches. *Cardiovasc Res* 2012; 96(2): 296-307.
- 46 Jeremy JY, Thomas AC. Animal models for studying neointima formation. *Curr Vasc Pharmacol* 2010; 8(2): 198-219.
- 47 Brahmabhatt A, Remuzzi A, Franzoni M, Misra S. The molecular mechanisms of hemodialysis vascular access failure. *Kidney Int* 2016; 89(2): 303-16.
- 48 Wang Y, Liang A, Luo J, Liang M, Han G, Mitch WE, *et al.* Blocking Notch in endothelial cells prevents arteriovenous fistula failure despite CKD. *J Am Soc Nephrol* 2014; 25(4): 773-83.