

# 动脉粥样硬化斑块内血管新生的研究进展

徐添添 周建庆

**【摘要】** 冠状动脉粥样硬化斑块的破裂是冠心病进展甚至死亡的主要原因,最近研究发现,动脉粥样硬化斑块内血管新生以及其在斑块进展中的作用,可能引起严重的并发症,如斑块破裂和出血等,这与斑块的稳定性密切相关。斑块内血管新生可以由诸如低氧和炎症等因素诱导,如果可以抑制或减缓斑块内血管新生来稳定斑块,有望成为防治动脉粥样硬化斑块破裂的新策略。本文就动脉粥样硬化斑块内血管新生的影响因素、血管新生对动脉粥样硬化斑块稳定性的影响及其相关药物治疗进展作一综述,以期对动脉粥样硬化以及冠心病的预防和治疗提供新的靶点。

**【关键词】** 动脉粥样硬化 斑块 血管新生 低氧 炎症

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种缓慢渐进的疾病过程,其特征在于中动脉和大动脉血管壁的多灶性结构改变,最终导致 AS 斑块的形成。AS 的发病机制包括:内皮功能障碍和活化;单核细胞及巨噬细胞黏附、活化和迁移;局部氧化应激;脂质沉积;细胞外基质合成;平滑肌细胞迁移;斑块的增殖和新生血管形成。在 AS 区,局部特定条件(如相对缺氧、炎症、氧化应激等)诱发经典和非经典血管生成因子,促进新生血管生成。新生血管形成了营养物质和氧气的局部流动,从而促进斑块的发展和重塑。然而大量研究证实,不同结构的 AS 斑块具有不同的稳定性,稳定性低的斑块可引起斑块破裂出血和糜烂以及继发性血栓形成,是急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)的主要发病机制。因此,如何稳定 AS 斑块,防止斑块破裂已成为当前冠心病防治研究的热点。近期研究发现,AS 斑块内常出现病理性新生血管,这些新生血管可以促进 AS 斑块的发展,诱发 AS 斑块破裂,与斑块的不稳定性密切相关<sup>[1]</sup>。有学者认为,抑制 AS 斑块内血管新生有望从根本上防止不稳定斑块破裂及其并发症的发生<sup>[2]</sup>。目前,国内外已有学者针对这一环节展开研究并取得进展,尤其是他汀类药物和国内的一些中药制剂,如通心络、丹参和紫杉醇等<sup>[3]</sup>,但抗血管生成药物的临床试验尚未成功。本文就

斑块内新生血管的形成及其对 AS 斑块稳定性的影响作一综述。

## 1 AS 斑块内血管新生概述

血管新生是指基于原有的毛细血管,通过血管内皮细胞的增殖与迁移,从已存在的血管中以芽生或非芽生的形式生成新的毛细血管的过程。血管新生在创伤愈合、胚胎发育、子宫内膜周期性增殖等一些生理现象及肿瘤、增殖性视网膜病变等多种病理状态中扮演重要角色。血管新生是血管生成因子和血管生成抑制因子之间微妙平衡调节的动态过程,但在一些刺激因素的影响下(如炎症和低氧、伤口愈合、月经期间的子宫内膜生长、组织移植等),该平衡被打破,激活促血管新生的相关因子,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF),进而导致局部新生血管生成因子中激活成分占优势,刺激血管内皮细胞增殖和迁移,其最终导致血管网络的增加。

在 AS 斑块中,主要的血管生成机制是从先前存在的滋养血管中萌发血管生成。血管生成的过程通过缺氧启动,诱导血管生成因子(如 VEGF)的表达和释放,并且在恢复常氧时被下调。缺氧和炎症状态促进血管生成和炎症因子的释放,从血管滋养血管刺激发芽血管生成<sup>[4]</sup>。这种形成的新生血管可以提供营养,并促进巨噬细胞浸润、血管壁增厚、脂质沉积、炎症和 AS 病变进展<sup>[5]</sup>。随着斑块内炎症反应增强和斑块体积增大,斑块内的新生血管数量逐渐增多<sup>[6]</sup>。这些新生的血管大多处于不成熟状态,有着管腔壁薄且内皮细胞之间的连接不紧密的

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.4.2019-2

基金项目:宁波市科技计划项目(2011B82015)

作者单位:315211 宁波大学医学院(徐添添);宁波大学医学院附属李惠利医院心血管内科(周建庆)

通信作者:周建庆, zhoujianqing8701@163.com

特点。一方面,这些不成熟的新生血管会引起血液中的脂质、炎症细胞和红细胞从管腔中漏出,为造成不稳定的斑块内环境提供条件;另一方面,这些血管也容易破裂,造成斑块内出血以及斑块破裂,从而加重管腔狭窄<sup>[7-8]</sup>。AS 斑块内的血管新生会影响斑块的发展,并导致一系列临床并发症,因此,研究其发生、发展的机制具有重要的意义。

## 2 影响 AS 斑块内血管新生的因素

### 2.1 低氧环境与斑块内血管新生

低氧与血管新生的关系首先在肿瘤血管新生中得到认证,以往的实验研究已反复证实,低氧是引起斑块内血管新生的基本原因。正常情况下,血液中的氧气可以通过扩散的作用从管腔进入血管壁,而随着 AS 斑块的进展,在 AS 的核心区域血管壁增厚和斑块内炎症反应所致代谢应激水平增加等因素都会使斑块内氧耗不断增加,从而显著减少了氧向内膜的扩散<sup>[9]</sup>。因此产生的不平衡供氧与需氧状态,导致低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)被激活表达且不断积累<sup>[10]</sup>。

HIF-1 是缺氧的关键调节因子,是一种普遍存在的转录因子,能够控制缺氧时有核细胞的反应。它是由 HIF-1 $\beta$ (其活性不受缺氧影响)和 HIF-1 $\alpha$ (活性亚基)组成的异二聚体蛋白。HIF-1 $\alpha$  主要通过 O<sub>2</sub> 依赖性蛋白水解途径在翻译后水平调节,在正常的氧浓度下,HIF-1 $\alpha$  亚基极易经泛素连接蛋白酶复合体途径降解。斑块的低氧环境中,HIF-1 $\alpha$  主要通过血管内皮生长因子(VEGF)、一氧化氮(NO)和活性氧(ROS)3 种途径引起内皮细胞发生改变,VEGF、NO 和自由基的产生,以及血小板衍生生长因子(PDGF)的上调促进了 AS 的发展<sup>[11-12]</sup>。通过诱导 VEGF 的表达,特异性地结合位于新生血管内皮上的 VEGF 受体,促进内皮细胞生长并形成新的血管管腔,提供代谢所需养分,以维持斑块内的氧供需平衡。但如果氧气供应恢复,HIF-1 $\alpha$  会降解,从而减少 VEGF 的产生和随后的血管生成信号传导。HIF 表达可促进缺血坏死性 AS 病变中不稳定的血管生成。这是斑块破裂的主要增强因子之一,从而导致并发症以及上述疾病的发展。

### 2.2 生长因子与斑块内血管新生

血管新生受到许多生长因子的启动和调节,VEGF 和它的受体 VEGFR 因其在血管生成中起重要作用在近 30 年被广泛研究。VEGF 家族包括 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C 以及 VEGF-D 与胎盘生长因子。VEGF-A 在最早被发现时,被认为是一种改变血管通透性的相关因子,能够激活内

皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)生成 NO, NO 可导致血管的舒张以及血管壁通透性增加。不同的 VEGF 受体有完全不同的功能: VEGFR1 参与了定向造血干细胞的募集以及单核细胞的迁移;而 VEGFR2 和 VEGFR3 则是内皮细胞在发挥血管新生功能时的必要条件。

在人类 AS 斑块中存在大量的促血管生长因子,包括 VEGF 家族、FGF 家族、PDGF 家族、TGF- $\beta$ 、Ang-TIE 等<sup>[13]</sup>。除了上述介绍的 VEGF 外,另一个重要因子就是 FGF 家族。FGF 能够促进内皮细胞和平滑肌细胞增殖,其由内皮细胞、单核巨噬细胞、心肌细胞和平滑肌细胞等分泌合成,FGF-2(bFGF)促进血管新生的作用体现在它通过血小板衍生因子间接地促进平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)的增殖,促进毛细血管先被周细胞覆盖,后被 SMC 覆盖,bFGF 还能使血管内皮细胞增殖与迁移,以此来确保血管的稳定和成熟。

### 2.3 炎症与斑块内血管新生

众所周知,AS 的形成本身就是慢性炎症的过程,从斑块内环境的角度上看,这就是巨噬细胞介导的被各种因子激活的炎症信号通路<sup>[14]</sup>。除了分泌促血管新生因子外,单核巨噬细胞还分泌促血栓形成和组织分裂因子,使得斑块的稳定性下降从而加剧了 AS 斑块病变的形成<sup>[15]</sup>。炎症与斑块内血管新生有密切关系,在许多不同病因的慢性炎症疾病中,包括类风湿性关节炎、糖尿病、克罗恩氏病及肿瘤等,都表现出血管新生与炎症反应关系密切。病理学形态研究表明,斑块内的新生血管多数会出现在斑块的肩部,而通常肩部区域往往是炎症细胞密度最大的地方,大量炎症细胞可以通过高渗透性的新生血管进入斑块内,分泌大量的促血管新生的因子,造成局部“血管新生微环境”,促进该部位的血管新生,炎症和斑块内血管新生两者作用相互叠加,会使 AS 斑块更有破裂倾向。Moulton 等<sup>[24]</sup>在 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠的 AS 斑块病变中观察到,滋养血管的密度与斑块内炎症细胞的数量呈高度相关,而与斑块的大小并无关系。Xiao 等<sup>[16]</sup>在兔子疾病模型上检测早期 AS 微血管密度,发现在 AS 早期阶段,炎症和氧化应激是促进斑块内血管新生的主要因素,而不是低氧。血管平滑肌细胞和巨噬细胞都会分泌促血管新生因子,有研究表明,浸润在斑块中的巨噬细胞能够产生大量的 IL-8,其可以吸引内皮细胞、SMC 和成纤维细胞,表现出促血管新生的作用,该作用强度与 VEGF-A 和 FGF-2 相当。

综上所述,炎性细胞产生促进斑块内新生血管形成的各种因素,新生血管反过来诱导炎症细胞的聚集,增加了斑块不稳定性,导致出血和破裂。

2.4 其他影响因素与斑块内血管新生 Tan 等<sup>[17-18]</sup>证实了高密度脂蛋白(HDL)可促进低氧诱导下的血管新生,其促血管新生作用或许是由于其可参与 HIF-1 $\alpha$  (PI3K / Siah1 / PHDs)的翻译后修饰,来增强 HIF-1 $\alpha$ / VEGF 通路,维持了 HIF-1 $\alpha$  的稳定性。尽管低氧在诱导新生血管形成方面的证据已经很充足,有趣的是在正常氧浓度状态下,Hutter 等<sup>[19]</sup>的研究证实氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL) 仍可在单核-巨噬细胞中增加 HIF-1 和 VEGF 的表达,而且也可以诱导内皮细胞增殖,显著增加血管形成。Zhang 等<sup>[20]</sup>研究表明,存在于内皮细胞中的钙激活蛋白酶(Calpains)或可通过 VEGF 的诱导来激活 PI3K / AMPK / Akt / eNOS 途径,从而导致 AS 斑块内新生血管形成。毛洋等<sup>[21]</sup>在兔 AS 疾病模型中,通过 HE 染色及免疫组化染色发现血管细胞黏附分子 1(VCAM-1)和细胞间黏附分子 1(ICAM-1)与 AS 斑块内血管新生密切相关,可促进 AS 斑块的进展和不稳定。

### 3 AS 斑块内血管新生影响斑块稳定性

从 AS 的发病到易损斑块的形成,内膜增厚和炎症反应贯穿了整个病理生理过程,前者使得氧供减少,后者使得氧耗增加,这都使斑块内处于低氧环境,最终诱发新生血管形成。斑块内新生血管的检测率会随着 AS 病变的进展而逐渐增加,AS 病变的病理分型从 I 型到 VI 型,内膜新生血管的发生率也逐渐从 31%发展到 100%, I 型和 II 型为早期病变(内膜增厚和脂肪条纹),而 II 型至 VI 型病变对应于晚期病变(纤维脂质,钙化和复杂斑块)<sup>[22]</sup>,斑块内出血(intraplaque hemorrhage, IPH)是 AS 斑块的常见并发症,由于斑块内新生血管未被或仅部分被壁细胞周细胞和 SMC 覆盖,所以它们很脆弱并易于发生血液外渗<sup>[9]</sup>,通常由斑块底部或边缘新生微血管的破裂引起。相对来说,在斑块内新生血管密度较大的区域发生 IPH 的风险也随之增大。IPH 会导致内皮下形成血肿,随后使斑块向管腔内膨出,并使病变的动脉进一步狭窄甚至发生闭塞。

已经确定,斑块内血管新生和 IPH 是导致斑块不稳定的关键因素,然而这些过程的病理生理学机制尚不清晰。我们知道斑块内的新生血管仅由一层内皮细胞构成,具有管壁不完整、通透性强的特征,但这可为斑块局部提供一些营养成分,这对于改善血管病变处缺血缺氧的状况是有益的,尤其是在 AS 发生初期,有利于病变处血管内膜进行修复。而另一方面,随着 AS 斑块内新生血管数量的进一步增加,缺少了周细胞和基底膜的部分新生血管,管腔明显扩张、脆性大,极容易发生破裂出

血,进而引发血栓栓塞等急性心血管事件<sup>[23]</sup>。

### 4 展望

斑块内血管新生在 AS 的病理生理学机制中起着非常重要的作用。在 AS 斑块内,包括自由基和氧化脂质在内的许多因素可能在血管新生这个过程中发挥双相作用。在 AS 的早期阶段,低水平的炎症氧化应激与相对缺氧的内膜增生相关,促进血管外膜新生毛细血管的形成。在晚期 AS 斑块中,慢性炎症、氧化的脂质和蛋白酶可能会进一步促进血管生成,但是这些新生毛细血管渗漏并且极易受斑块内产生的细胞毒性剂(例如氧化的脂质、氧化应激)的损伤。这种新毛细血管损伤可能导致斑块内出血,释放血细胞、凝血因子和斑块内的蛋白酶。这些事件引起胆固醇积累和胆固醇结晶的形成,纤维蛋白沉积,血红蛋白释放,促进局部氧化应激的血红素和铁离子,脂质过氧化和持续的炎性负担。而且,各种蛋白酶的活化可能会降解纤维帽,从而诱发斑块不稳定性并增加斑块破裂的风险,这通常与 AS 血栓形成事件有关。

斑块内血管生成是一种生理过程,但其中相关的促炎症和 AS 作用对斑块易感性是有害的,因此,抑制斑块内血管生成被认为是与抑制肿瘤血管生成相当的潜在治疗靶点。在实验动物模型中,抗血管生成药物已显示出减缓 AS 病变形成进展的功效,能有效减少 AS 斑块面积,Moulton 等<sup>[24]</sup>首先显示在用血管生成抑制剂内皮抑素或 TNP-470 治疗后,载脂蛋白 E 缺陷小鼠中 AS 病变形成减少。然而在临床试验中,癌症患者使用抗血管生成药物治疗表明,目前可用的抗血管生成药物(主要是抗 VEGF / VEGFR)会发生心血管不良反应,如高血压、心肌缺血和心肌病等<sup>[25]</sup>,增加 AS 患者心血管事件的风险。他汀类药物具有降脂、抗炎、抗血小板活化等多重作用,尤其是临床上治疗冠心病的一线用药,其抑制 AS 斑块内血管新生的作用已被许多研究证实。Koutouzis 等<sup>[26]</sup>通过观察人的颈动脉内膜切除标本,发现他汀类药物能够抑制 AS 斑块内血管新生,并使斑块在形态上趋于稳定状态。但目前探索应用于临床上抑制 AS 斑块内新生血管生成的药物进展较慢,或许维持适当水平的成熟新生血管反而有利于斑块的稳定甚至有利于脂质转移,从而逆转斑块进展。因此,需要进一步研究以发现新的抗血管生成药物,且其不应具有不可接受的副作用,还需评估其在预防 AS 斑块不稳定性方面的潜在功效。研究 AS 斑块内血管新生的发生、发展过程,尤其是病理性新生血管对易损斑块影响的特点及机制,可为研究 AS 斑块机制提供新的方向和思路,甚至有望

为 ACS 的预防和治疗提供新的靶点。

#### 4 参考文献

- [1] Moreno PR, Purushothaman KR, Sirol M, et al. Neovascularization in human atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2006,113(18): 2245–2252. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.578955.
- [2] Arbustini E, Gambarin FI. Theranostic strategy against plaque angiogenesis[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2008,1(5): 635–637. DOI:10.1016/j.jcmg.2008.07.007.
- [3] 蔡宏文,毛威.动脉粥样硬化斑块内新生血管中西医治疗进展[J]. *中华中医药学刊*, 2015,33(5):1168–1170.DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2015.05.044.
- [4] Marsch E, Sluimer JC, Daemen MJ. Hypoxia in atherosclerosis and inflammation [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2013, 24 (5): 393–400. DOI: 10.1097/MOL.0b013e32836484a4.
- [5] Moreno PR, Purushothaman M, Purushothaman KR. Plaque neovascularization: defense mechanisms, betrayal, or a war in progress[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2012,1254: 7–17. DOI:10.1111/j.1749-6632.2012.06497.x.
- [6] Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis[J]. *Cell*, 2011,146(6): 873–887. DOI:10.1016/j.cell.2011.08.039.
- [7] Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Contribution of neovascularization and intraplaque haemorrhage to atherosclerotic plaque progression and instability[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2015,213(3): 539–553. DOI:10.1111/apha.12438.
- [8] Parma L, Baganha F, Quax PHA, et al. Plaque angiogenesis and intraplaque hemorrhage in atherosclerosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 816: 107–115. DOI:10.1016/j.ejphar.2017.04.028.
- [9] Mulligan–Kehoe MJ, Simons M. Vasa vasorum in normal and diseased arteries[J]. *Circulation*, 2014,129(24): 2557–2566. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007189.
- [10] Wihastuti TA, Sargowo D, Tjokropawiro A, et al. Vasa vasorum anti-angiogenesis through H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HIF-1 $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, and iNOS inhibition by mangosteen pericarp ethanolic extract (*Garcinia mangostana* Linn) in hypercholesterol-diet-given *Rattus norvegicus* Wistar strain[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2014,10: 523–531. DOI:10.2147/VHRM.S61736.
- [11] Jain T, Nikolopoulou EA, Xu Q, et al. Hypoxia inducible factor as a therapeutic target for atherosclerosis[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 183: 22–33. DOI:10.1016/j.pharmthera.2017.09.003.
- [12] Ma J, Evrard S, Badiola I, et al. Regulation of the proprotein convertases expression and activity during regenerative angiogenesis: Role of hypoxia-inducible factor (HIF)[J]. *Eur J Cell Biol*, 2017,96(5):457–468. DOI:10.1016/j.ejcb.2017.06.001.
- [13] Camae C, Pucelle M, Negre–Salvayre A, et al. Angiogenesis in the atherosclerotic plaque[J]. *Redox Biology*, 2017,12: 18–34. DOI:10.1016/j.redox.2017.01.007.
- [14] Viola J, Soehnlein O. Atherosclerosis – A matter of unresolved inflammation[J]. *Semin Immunol*, 2015, 27(3): 184–193. DOI: 10.1016/j.smim.2015.03.013.
- [15] Couchie D, Vaisman B, Abderrazak A, et al. Human Plasma Thioredoxin–80 Increases With Age and in ApoE–/– Mice Induces Inflammation, Angiogenesis, and Atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2017,136(5): 464–475. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.027612.
- [16] Xiao WG, Jia ZH, Zhang QY, et al. Inflammation and oxidative stress, rather than hypoxia, are predominant factors promoting angiogenesis in the initial phases of atherosclerosis[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015,12(3): 3315–3322. DOI:10.3892/mmr.2015.3800.
- [17] Tan JT, Prosser HC, Vanags LZ, et al. High-density lipoproteins augment hypoxia-induced angiogenesis via regulation of post-translational modulation of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ [J]. *FASEB J*, 2014, 28(1): 206–217. DOI:10.1096/fj.13-233874.
- [18] Tan JT, Ng MK, Bursill CA. The role of high-density lipoproteins in the regulation of angiogenesis[J]. *Cardiovasc Res*, 2015,106(2): 184–193. DOI:10.1093/cvr/cvw104.
- [19] Hutter R, Speidl WS, Valdiviezo C, et al. Macrophages transmit potent proangiogenic effects of oxLDL in vitro and in vivo involving HIF-1 $\alpha$  activation: a novel aspect of angiogenesis in atherosclerosis[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013,6(4): 558–569. DOI:10.1007/s12265-013-9469-9.
- [20] Zhang Y, Liu NM, Wang Y, et al. Endothelial cell calpain as a critical modulator of angiogenesis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1863(6): 1326–1335. DOI:10.1016/j.bbadis.2017.03.021.
- [21] 毛洋,刘小琼,王洪梅.细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 促进兔动脉粥样硬化斑块内血管新生[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014,22(3): 217–222.
- [22] Otsuka F, Kramer MC, Woudstra P, et al. Natural progression of atherosclerosis from pathologic intimal thickening to late fibroatheroma in human coronary arteries: A pathology study[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 241(2): 772–782. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2015.05.011.
- [23] de Vries MR, Quax PH. Plaque angiogenesis and its relation to inflammation and atherosclerotic plaque destabilization [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2016, 27(5): 499–506. DOI:10.1097/MOL.0000000000000339.
- [24] Moulton KS, Heller E, Konerding MA, et al. Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Circulation*, 1999,99(13): 1726–1732. DOI:10.1161/01.cir.99.13.1726.
- [25] Maurea N, Coppola C, Piscopo G, et al. Pathophysiology of cardiotoxicity from target therapy and angiogenesis inhibitors [J]. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2016,17(Suppl 1): e19–26. DOI: 10.2459/JCM.0000000000000377.
- [26] Koutouzis M, Nomikos A, Nikolidakis S, et al. Statin treated patients have reduced intraplaque angiogenesis in carotid endarterectomy specimens[J]. *Atherosclerosis*, 2007,192(2): 457–463. DOI:10.1016/j.atherosclerosis.2007.01.035.

(收稿日期:2018-12-29)

(本文编辑:马雯娜)