

急性心肌梗死后血管新生相关分子机制的研究进展

崔加敏¹, 刘婷婷², 孙芳玲², 郭德玉², 王文^{2*}, 石京山^{1*}

(1. 遵义医学院基础药理教育部重点实验室暨特色民族药教育部国际合作联合实验室, 贵州 遵义 563099; 2. 首都医科大学宣武医院实验动物室, 北京 100053)

【摘要】 血管新生是指机体在正常生长发育过程中或创伤修复与缺血缺氧条件下, 在原有血管丛基础上经出芽或其他方式形成新血管的过程。血管新生大致包括五个阶段: 血管基底膜降解、内皮细胞增殖、血管芽生、管腔形成、血管网络稳定及成熟。在缺血性心脏病中, 急性心肌梗死严重威胁着人类的健康, 其病理特点是心肌血管的狭窄和堵塞, 导致心肌梗死。因此, 促血管新生成为治疗缺血性心脏病的方法之一。多种促血管生成的细胞因子参与到血管新生的过程中, 如多肽类生长因子和脂类介质。本文就缺血性心肌梗死后心肌促血管生成因子的表达做一综述。

【关键词】 心肌缺血; 血管新生; 促血管生成因子; 多肽类生长因子; 急性心肌梗死

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 03-0108-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.03.021

Research progress on molecular mechanisms of angiogenesis after acute myocardial infarction

CUI Jiamin¹, LIU Tingting², SUN Fangling², GUO Deyu², WANG Wen^{2*},
SHI Jingshan^{1*}

(1. Key Laboratory of Basic Pharmacology of Ministry of Education and Joint International Research Laboratory of Ethnomedicine of Ministry of Education, Zunyi Medical University, Zunyi 563099, China;
2. Experimental Animal Center, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053)

【Abstract】 Angiogenesis is a process that new blood vessels generate on the basis of an original vascular plexus via sprouting or other forms during normal growth and development of an organism or under particular conditions such as wound repairing and ischemic hypoxia. In general, angiogenesis includes five stages: degradation of the vascular basement membrane, endothelial cell proliferation, vascular sprouting, lumen formation and vascular network turning stable and mature. Among ischemic heart diseases, acute myocardial infarction seriously threatens human health, its pathological characteristics include myocardial vascular stenosis and blockage, leading to myocardial infarction. Therefore, the promotion of angiogenesis has become one of the therapies for ischemic heart diseases. A variety of pro-angiogenic cytokines are involved in the process of angiogenesis, such as polypeptide growth factors and lipid mediators. In this paper we review the recent progress in research on the expression of pro-angiogenic factors in myocardium after ischemic myocardial infarction.

【基金项目】 国家自然科学基金(编号:81573633, 81503049, 81373994)。

【作者简介】 崔加敏(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 心血管药理。E-mail: cjmin1234567@163.com

【通信作者】 石京山(1959—), 男, 博士生导师, 研究方向: 心血管药理, E-mail: shijs@zmc.edu.cn;

王文(1968—), 男, 博士生导师, 研究方向: 心血管药理, E-mail: lzwwang@163.com。* 共同通信作者

[Key words] myocardial ischemia; angiogenesis; pro-angiogenic factors; polypeptide growth factors; acute myocardial infarction

心血管疾病因其高发病率和死亡率而备受关注,其中急性心肌梗死的死亡率总体上呈上升态势^[1],其治疗手段主要有溶栓治疗与心脏冠状动脉侧支循环的形成和开放,如经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)和溶栓^[2-3]。然而,缺血心肌血流恢复可能引起心肌再灌注损伤,反而降低了治疗手段的疗效^[4]。近年来,治疗性血管新生是缺血性心脏病治疗研究的新领域,在阻止心室重构和恢复血流方面起到重要作用^[5]。目前,治疗性血管新生机制研究主要集中在血管形成过程中,并正逐步倾向于通过调节促血管生成因子,调控内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)分化为血管的血管生成机制研究^[6]。促血管生成的因子主要包括多肽类生长因子和脂类介质,多肽类生长因子包括:血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、血管生成素-1(angiotensin-1, Ang-1)等。脂类介质包括:溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)以及鞘氨醇-1-磷酸酯(sphingosine-1-phosphate, S1P)等。目前,心肌梗死后血管新生的研究大多集中在多肽类生长因子方面。本文主要介绍多肽类生长因子及其信号转导通路在急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)后血管新生中的作用和脂类介质对血管新生的影响。

1 多肽类生长因子

1.1 VEGF-VEGFR 信号转导系统促血管内皮细胞增殖、迁移

现今认为血管新生来源于组织源性的信号通路,其中最为重要的是 VEGF-VEGFR 信号传导系统^[7]。VEGF 是分子量 46×10^3 的特异性肝素结合生长因子,是高度保守的同源二聚体糖蛋白,血管内皮细胞的促有丝分裂剂^[8]。在转录过程中,由于 mRNA 不同的剪切方式,形成 6 种 VEGF 异构体,包括 VEGFA、VEGFB、VEGFC、VEGFD、VEGFE、VEGFF,都是同源二聚体蛋白且具有相似的空间结构^[9]。VEGFA 作为血管发生和血管新生的重要因

子,在哺乳动物体内主要有四种亚型,即 VEGF121、VEGF145、VEGF165、VEGF189。VEGFA 通过与血管内皮细胞上的细胞表面型受体 VEGFR1、VEGFR2 结合发挥生物学作用^[10]。对于基因敲除鼠的研究已证明 VEGFA 与其受体 VEGFR2 结合主要介导组织血管的形成,而 VEGFC 与其受体 VEGFR3 结合则主要表达在淋巴血管和血管芽生的过程中。VEGFA-VEGFR2 信号的内吞作用可受到多种跨膜蛋白的调控,如 VEGFR3、NRP1、VE-cadherin、ephrin-B2、血小板反应蛋白受体 CD47 和整合素^[11-12]。

心肌梗死发生后,在缺血缺氧的刺激下,梗死区心肌释放大量的 HIF-1 α 。作为心肌缺血调控的总开关,HIF-1 α 不仅在血管形成初期过程中发挥其作用,在血管形成的后期通过调控血管平滑肌细胞和周细胞对血管内皮细胞的被覆,诱导新生血管发育为成熟的血管^[13-14]。在低氧情况下,HIF-1 α 与 HIF-1 β 结合而成有活性的 HIF-1, HIF-1 能够与 VEGF 上的 HRE 相结合,从而激活 VEGFA/VEGFR2 信号通路。VEGFR2 可通过下游 JAK2、PLC γ 1 信号通路调节血管内皮细胞的增殖,通过 Src、FAK 信号通路调节血管内皮细胞的迁移,通过 JAK2、Akt 信号通路调节内皮细胞的存活^[15]。Tang 等^[16]研究表明,给予间充质干细胞治疗 Sprague-Dawley 大鼠心肌梗死,由于心梗初期炎症反应导致心肌血管内皮细胞大量死亡,不能提供充足的血流供应,达不到重塑缺血心肌的治疗目的。但当对心肌梗死动物尾静脉注射靶向释放的 VEGF 时,VEGF 可促进间充质干细胞治疗中的血管新生,从而达到治疗目的。

1.2 FGF 及其信号转导系统

成纤维细胞生长因子(FGFs)家族是多功能多效应的蛋白分子家族,包括 22 个成员,共用对肝素具有高亲和力,包括 120 个氨基酸中心域的高序列同源性区域。FGFs 在多种细胞和组织的迁移、分化进程中起着重要的作用。已报道 FGFs 在病理状态下如肿瘤组织中,可促进血管新生^[17]。在 FGF 家族中,酸性成纤维生长因子 aFGF 和碱性成纤维生长因子 bFGF 被认为是刺激内皮细胞迁移形成管状结构,促进血管新生最重要的细胞因子。哺乳类动物 FGFR 有四种亚型,FGFR-1、FGFR-2、FGFR-3、

FGFR4^[18]。与其他受体酪氨酸激酶相似,FGFR 与配体结合,通过酪氨酸磷酸化传导细胞外信号。FGFs 与 FGFR 结合,使受体二聚化,激活酪氨酸激酶活性,导致细胞内结构域自身磷酸化。bFGF 通过上调整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的表达,稳定内皮细胞的迁移和粘附,最终形成成熟的血管。FGF 信号转导系统可通过 Ras/MAPK、PI-3 K/Akt、PLC γ /Ca²⁺ 三条信号通路调节内皮细胞的增殖、迁移,参与到形成血管腔的过程中^[19]。已证明 FGF-1/FGF-2 和 FGFR 在梗死后心肌上表达,并促进 AMI 后血管新生,其中,FGF-2 显著促进 AMI 后动脉形成^[20-21]。对猪应激性心肌梗死模型冠状动脉内注射腺病毒转染的 FGF4,可改善心肌灌注、增加区域性功能^[22]。临床前研究已证明,通过联合应用几种促血管生成因子如 VEGFs、FGFs,增加心肌缺血区的局部灌注,改善组织的能量代谢和心肌功能,最终可达到预防缺血性损伤的目的^[23]。

1.3 HGF 促血管新生作用

肝细胞生长因子(HGF)是一种二硫键连接的异二聚体多功能细胞生长因子,属于纤溶酶原依赖的生长因子家族,分子量为 80×10^3 ,是间质细胞衍生的多效性因子,通过自分泌和旁分泌的途径可调节上皮细胞和内皮细胞的相互作用,同时也表现出 AMI 后强大的促血管生成作用^[24-25]。HGF 受体 c-Met 是跨膜型酪氨酸激酶受体,HGF 的生物学效应均是与其受体作用而完成的^[26]。研究表明,在实验动物及人类心肌梗死后,尽管缺血心肌上 c-Met 受体上调,但缺氧的环境减少心肌 HGF 的释放量^[24]。

有研究显示在人类内皮细胞和血管平滑肌细胞中,HGF 显著刺激基质降解通路,产生大量的基质金属蛋白酶(MMP-1),同时 HGF 能明显促进 VEGF 对血管新生的作用,其可能机制是通过 ets 通路,尤其是 ets-1 途径^[27-28]。研究表明,HGF 不仅具有促血管生成的作用,而且可通过 PI-3 K 信号通路上调 Akt,起到抗细胞凋亡、阻止心室重构和功能障碍的作用^[26]。

1.4 TGF- β 信号通路调节内皮组织状态

转化生长因子 TGF- β 是由两个结构相同或相近的、分子量为 12.5×10^3 的亚单位借二硫键连接的多功能二聚体多肽生长因子,可由单核细胞和胶质细胞分泌,调控细胞的增殖、迁移、细胞外基质的形成和多种细胞形态的分化。TGF- β 诱导前驱细胞

分化为周皮细胞和平滑肌细胞,调节内皮细胞的增殖,促细胞外基质的堆积作用,从而参与到血管新生的过程中。TGF- β 有两种受体,特异性跨膜一型受体(ALK-1)和丝氨酸/苏氨酸激酶二型受体(ALK-5),内皮细胞表达 TGF- β 一型受体(ALK-1)^[29-30]。

TGF- β 信号通路对血管形成起到至关重要的作用,根据环境不同,TGF- β 具有促血管新生或者抑血管新生的作用^[31],在内皮细胞中存在两条不同的信号通路,即 ALK-5-Smad2/3 信号通路和 ALK-1-Smad1/5 信号通路。TGF- β 通过平衡激活受体样激酶 ALK-1 和 ALK-5 信号通路调节内皮组织的状态^[32]。TGF- β 与 ALK-1 结合导致 Smad1/5 的磷酸化,诱导 Id1 的表达,从而促进血管内皮细胞的迁移和增殖。TGF- β 通过激活 ALK-5,磷酸化 Smad2/3,导致 1 型纤溶酶原激活物抑制物(PAI-1)和纤维连接蛋白的表达,从而抑制迁移、增殖和管腔形成。此外,活化的 ALK-1 途径会抑制 ALK-5 信号通路,endoglin 是 TGF- β /ALK-5 信号通路的负调节因子,在人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells,HUVECs)中,ALK 可上调 endoglin,在人真皮微血管内皮细胞(human dermal microvascular endothelial cells,HDMECs)中缺氧可导致其上调^[32-33],但这其中的机制仍不清楚。

1.5 PDGF 信号通路促血管成熟

血小板衍生生长因子(PDGF),可由多种细胞分泌,如内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞和血小板。由于形成二聚体结构时二硫键连接的方式不同,PDGF 可分为三种不同的异构体,包括 PDGF-AA、PDGF-BB、PDGF-AB。三种 PDGF 配体通过与细胞膜上 PDGF 受体(PDGFR-A、PDGFR-B)的细胞外配体结合域结合,促使受体胞内蛋白激酶结构域二聚化,激活肽段具有酪氨酸蛋白激酶活性的结构域,使酪氨酸残基自身磷酸化并激活细胞内一系列生化反应,从而促进周皮细胞的增殖^[34-35]。

许多研究表明,生长因子如 bFGF、VEGF、Ang-2 是引发血管生成的关键因素,但这些生长因子单独作用时会导致早期心肌上新血管渗漏和不成熟^[36]。PDGF 是促分裂和增殖活性的生长因子,能促进多种细胞进行有丝分裂,如在新生血管的成熟阶段,内皮细胞上的 PDGFR-B 通过招募壁细胞,刺激壁细胞的迁移和增殖,通过上调金属蛋白酶抑制剂(TIMP-1)的作用,促进细胞外基质成分的合成,

从而促血管成熟^[37-38]。PDGFR-B 信号通路有助于早期心脏发育与传导系统的建立,在生理及病理状态 PDGFR 参与到反应性心肌肥大和心肌细胞增殖的过程中。PDGFR 也可通过 MAPK 和 PI-3 K 信号通路调节心肌细胞的增殖和存活。同时,还可以参与诱导生长的细胞分泌其他生长因子,在血流动力学过载状态,应激心肌细胞表面 PDGFR 表达水平上调,通过增加缺氧诱导因子 HIF 和 VEGF 的表达,阻止心肌细胞向扩张型心肌病的进展^[38]。

1.6 血管生成素家族

目前发现的血管生成素主要有四个亚型,即 Ang-1、Ang-2、Ang-3、Ang-4,与内皮细胞选择性酪氨酸激酶受体 Tie-2 结合,代表了一个促血管生成的家族。目前对 Ang-1/Ang-2 系统参与到血管新生及促新生血管成熟的作用研究相对深入。Ang-1 由 498 个氨基酸组成,其中 N 端有一疏水分分泌信号肽和 α 螺旋的结构域,C 端包含一纤维蛋白原类似结构域。Ang-1 与 Tie-2 结合形成二聚体,使 Tie-2 自身磷酸化从而被激活,活化的 Tie-2 通过激活调节亚基 P85,进而活化 PI-3 K/Akt 信号转导通路,参与血管生成的调节^[39]。同时,Ang-1 可通过加强内皮细胞之间的连接,中和 VEGF 诱导的血管渗透性增加的现象,促新生血管成熟^[40-41]。

Ang-2 作为内源性 Tie-2 受体拮抗剂,与 Tie-2 结合,但不引起 Tie-2 磷酸化,从而抑制 Ang-1 的活性。有文献报导,Ang-2 能明显刺激内皮祖细胞的移行,但对内皮细胞的迁移无影响,Ang-2 与内皮祖细胞间的相互作用可能是新生血管形成的始动环节。缺乏 Tie-2 或者 Ang-1 的转基因小鼠,都表现出胚胎致死性^[42-43]。Sandhu 等^[44]证明,左冠状动脉结扎的 Sprague-Dawley 大鼠,其 Ang-2 表达量持续增加,而 Ang-1 表达量减少,表明 Ang-2 在心肌梗死后血管新生方面占主导作用。Ang-1/Ang-2 系统通过稳定新生血管、促进周皮细胞的招募和粘附,从而控制血管新生的多方面因素。

2 脂类介质

血小板和巨噬细胞等释放的多种脂类介质在血管生成方面起关键作用,如溶血磷脂酸 (lysophosphatidic acid, LPA)、磷脂酸 (phosphatidic acid, PA)、1-磷酸鞘氨醇 (sphingosine 1-phosphate, S1P)。在凝血过程中,血清对内皮细胞化学趋化活性的 80% 以上是由血小板来源的 S1P 产生的^[45]。

S1P 可由血小板或吞噬细胞等多种细胞成分储存和释放,通过自分泌和旁分泌的形式调节细胞的增殖、迁移、分化。S1P 与 G 蛋白偶联受体家族 EDG-1、-3、-5、-6、-8 结合,可激活 G_q -、 G_i -、 G_{12} -、 G_{13} -和 Rho 依赖的信号通路。S1P 可调节多种蛋白和信号转导通路的表达,如胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、p38-MAPK 信号通路、磷脂酶 C 和 D (phospholipases C and D)、腺苷酸环化酶和粘着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK)。S1P 参与到血管新生的多个过程中,包括细胞外基质降解、内皮细胞和血管平滑肌细胞的增殖与迁移。在体内和体外实验中,均证实 S1P 能增加毛细血管的形成。S1P 调节血管发生是通过 EDG-1 耦合 ERK 信号通路实现的,同时,S1P 能协同多肽类生长因子,刺激血管生成^[46]。

3 展望

急性心肌梗死作为一种严重的缺血性心脏病,其发病率呈逐年上升趋势。早期采取措施恢复缺血区心肌组织血流供应是减少病死率的关键。目前,治疗急性心肌梗死的方法主要有溶栓治疗和心脏冠状动脉侧支循环的形成和开放。心脏冠脉侧支循环的形成能有效减轻心肌缺血,防止心肌细胞坏死,而血管新生可促进缺血心肌周边组织建立侧支循环。随着对血管新生相关分子机制研究的深入,治疗性血管新生将成为未来急性心肌梗死的有效治疗手段。

参考文献:

- [1] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2016》概要 [J]. 中国循环杂志, 2017, 32(6): 521-530.
- [2] Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target [J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 92-100.
- [3] Ng R, Yeghiazarians Y. Post myocardial infarction cardiogenic shock: a review of current therapies [J]. J Intensive Care Med, 2013, 28(3): 151-165.
- [4] Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury [J]. N Engl J Med, 2007, 357(11): 1121-1135.
- [5] Nessa A, Latif SA, Siddiqui NI, et al. Angiogenesis — a novel therapeutic approach for ischemic heart disease [J]. Mymensingh Med J, 2009, 18(2): 264-272.
- [6] Zheng Y, Xiao M, Li L, et al. Remote physiological ischemic training promotes coronary angiogenesis via molecular and cellular mobilization after myocardial ischemia [J]. Cardiovasc Ther, 2017, 35(3): e12257.

- [7] Heba G, Krzemiński T, Porc M, et al. The time course of tumor necrosis factor- α , inducible nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor expression in an experimental model of chronic myocardial infarction in rats [J]. *J Vasc Res*, 2001, 38 (3): 288-300.
- [8] Harada K, Friedman M, Lopez JJ, et al. Vascular endothelial growth factor administration in chronic myocardial ischemia [J]. *Am J Physiol*, 1996, 270(5 Pt 2): H1791-H1802.
- [9] Eichmann A, Simons M. VEGF signaling inside vascular endothelial cells and beyond [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2012, 24(2): 188-193.
- [10] Zhao T, Zhao W, Chen Y, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A: role on cardiac angiogenesis following myocardial infarction [J]. *Microvasc Res*, 2010, 80(2): 188-194.
- [11] Koch S, Tugues S, Li X, et al. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors [J]. *Biochem J*, 2011, 437 (2): 169-183.
- [12] Kaur S, Martin-Manso G, Pendrak ML, et al. Thrombospondin-1 inhibits VEGF receptor-2 signaling by disrupting its association with CD47 [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (50): 38923-38932.
- [13] Cheng C, Li P, Wang YG, et al. Study on the expression of VEGF and HIF-1 α in infarct area of rats with AMI [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(1): 115-119.
- [14] Ai F, Chen M, Li W, et al. Danshen improves damaged cardiac angiogenesis and cardiac function induced by myocardial infarction by modulating HIF1 α /VEGFA signaling pathway [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(10): 18311-18318.
- [15] Luan X, Gao YG, Guan YY, et al. Platycodin D inhibits tumor growth by antiangiogenic activity via blocking VEGFR2-mediated signaling pathway [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 281 (1): 118-124.
- [16] Tang Y, Gan X, Cheheltani R, et al. Targeted delivery of vascular endothelial growth factor improves stem cell therapy in a rat myocardial infarction model [J]. *Nanomedicine*, 2014, 10 (8): 1711-1718.
- [17] Korc M, Friesel RE. The role of fibroblast growth factors in tumor growth [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2009, 9(5): 639-651.
- [18] Powers CJ, McLeskey SW, Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2000, 7(3): 165-197.
- [19] Böttcher RT, Niehrs C. Fibroblast growth factor signaling during early vertebrate development [J]. *Endocr Rev*, 2005, 26(1): 63-77.
- [20] Zhao T, Zhao W, Chen Y, et al. Acidic and basic fibroblast growth factors involved in cardiac angiogenesis following infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2011, 152(3): 307-313.
- [21] Chen WC, Lee BG, Park DW, et al. Controlled dual delivery of fibroblast growth factor-2 and Interleukin-10 by heparin-based coacervate synergistically enhances ischemic heart repair [J]. *Biomaterials*, 2015, 72: 138-151.
- [22] Gao MH, Lai NC, McKirnan MD, et al. Increased regional function and perfusion after intracoronary delivery of adenovirus encoding fibroblast growth factor 4: report of preclinical data [J]. *Hum Gene Ther*, 2004, 15(6): 574-587.
- [23] Dragneva G, Korpisalo P, Ylä-Herttuala S. Promoting blood vessel growth in ischemic diseases: challenges in translating preclinical potential into clinical success [J]. *Dis Model Mech*, 2013, 6(2): 312-322.
- [24] Jayasankar V, Woo YJ, Pirolli TJ, et al. Induction of angiogenesis and inhibition of apoptosis by hepatocyte growth factor effectively treats postischemic heart failure [J]. *J Card Surg*, 2005, 20(1): 93-101.
- [25] Ruvinov E, Leor J, Cohen S. The promotion of myocardial repair by the sequential delivery of IGF-1 and HGF from an injectable alginate biomaterial in a model of acute myocardial infarction [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(2): 565-578.
- [26] Wang Y, Ahmad N, Wani MA, et al. Hepatocyte growth factor prevents ventricular remodeling and dysfunction in mice via Akt pathway and angiogenesis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2004, 37 (5): 1041-1052.
- [27] Tomita N, Morishita R, Taniyama Y, et al. Angiogenic property of hepatocyte growth factor is dependent on upregulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets-1 [J]. *Circulation*, 2003, 107(10): 1411-1417.
- [28] Kappel A, Schlaeger TM, Flamme I, et al. Role of SCL/Tal-1, GATA, and Ets transcription factor binding sites for the regulation of *Flk-1* expression during murine vascular development [J]. *Blood*, 2000, 96(9): 3078-3085.
- [29] Lupo G, Motta C, Salmeri M, et al. An *in vitro* retinoblastoma human triple culture model of angiogenesis: a modulatory effect of TGF- β [J]. *Cancer Lett*, 2014, 354(1): 181-188.
- [30] Goumans MJ, Lebrin F, Valdimarsdottir G. Controlling the angiogenic switch: a balance between two distinct TGF- β receptor signaling pathways [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2003, 13(7): 301-307.
- [31] Frangiannis NG. The role of transforming growth factor (TGF)- β in the infarcted myocardium [J]. *J Thorac Dis*, 2017, 9 (Suppl 1): S52-S63.
- [32] Ota T, Fujii M, Sugizaki T, et al. Targets of transcriptional regulation by two distinct type I receptors for transforming growth factor- β in human umbilical vein endothelial cells [J]. *J Cell Physiol*, 2002, 193(3): 299-318.
- [33] Pepper MS. Transforming growth factor- β : vasculogenesis, angiogenesis, and vessel wall integrity [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1997, 8(1): 21-43.
- [34] Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis [J]. *Cell*, 2011, 146(6): 873-887.
- [35] Gaengel K, Genové G, Armulik A, et al. Endothelial-mural cell signaling in vascular development and angiogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(5): 630-638.
- [36] Awada HK, Johnson NR, Wang Y. Sequential delivery of

angiogenic growth factors improves revascularization and heart function after myocardial infarction [J]. J Control Release, 2015, 207: 7–17.

[37] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis [J]. Nature, 2011, 473 (7347): 298–307.

[38] Alameddine RS, Yakan AS, Skouri H, et al. Cardiac and vascular toxicities of angiogenesis inhibitors: the other side of the coin [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2015, 96(2): 195–205.

[39] Kim I, Kim HG, So JN, et al. Angiopoietin-1 regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-Kinase/Akt signal transduction pathway [J]. Circ Res, 2000, 86(1): 24–29.

[40] Lee SW, Kim WJ, Jun HO, et al. Angiopoietin-1 reduces vascular endothelial growth factor-induced brain endothelial permeability via upregulation of ZO-2 [J]. Int J Mol Med, 2009, 23(2): 279–284.

[41] Zhang H, Yuan YL, Wang Z, et al. Sequential, timely and controlled expression of hVEGF165 and Ang-1 effectively improves functional angiogenesis and cardiac function *in vivo* [J]. Gene Ther, 2013, 20(9): 893–900.

[42] Davis S, Aldrich TH, Jones PF, et al. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning [J]. Cell, 1996, 87(7): 1161–1169.

[43] Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts *in vivo* angiogenesis [J]. Science, 1997, 277(5322): 55–60.

[44] Sandhu R, Teichert-Kuliszewska K, Nag S, et al. Reciprocal regulation of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 following myocardial infarction in the rat [J]. Cardiovasc Res, 2004, 64(1): 115–124.

[45] English D, Garcia JG, Brindley DN. Platelet-released phospholipids link haemostasis and angiogenesis [J]. Cardiovasc Res, 2001, 49(3): 588–599.

[46] Pyne S, Pyne N. Sphingosine 1-phosphate signalling via the endothelial differentiation gene family of G-protein-coupled receptors [J]. Pharmacol Ther, 2000, 88(2): 115–131.

[收稿日期]2017–08–15

• 专家问答 •

问:肥胖相关性肾病模型的评价指标有哪些?

答:主要评价指标包括:(1)肥胖:模型组小鼠体重超过正常对照组小鼠平均体重的 20%。(2)血糖:模型组小鼠与正常对照组小鼠相比,仍小于 16.7 mmol/L,即未达小鼠糖尿病判定标准。(3)出现小鼠肾脏功能或结构的异常(出现蛋白尿,肾脏病理:肾小球肥大伴或不伴局灶节段性硬化),同时伴有代谢综合征其他临床表现的改变。

(感谢 上海中医药大学中医肾病研究所 刘伟伟 的解答)