

· 专论与综述 ·

病理性瘢痕形成中 VEGF 表达及调控的研究进展 *

武元元¹ 张选奋^{2△}

(1 兰州大学第二临床医学院 甘肃 兰州 730030 2 兰州大学第二医院整形外科 甘肃 兰州 730030)

摘要 病理性瘢痕一直是整形外科乃至整个外科界研究的热点,由于其发病机制十分复杂,迄今尚无明确的病因学诊断和有效的治疗方法。VEGF 作为目前活性最强的血管生长因子,与病理性瘢痕的发生、发展关系密切。研究病理性瘢痕形成过程中 VEGF 的表达及调控机制,有助于阐明病理性瘢痕的发病机制,为预防和治疗病理性瘢痕提供依据。

关键词 病理性瘢痕; VEGF; 表达; 调控

中图分类号 R619.6 文献标识码 A 文章编号 1673-6273(2012)26-5178-04

Development Study on VEGF Expression and Regulation of Pathological Scar Formation*

WU Yuan-yuan¹, ZHANG Xuan-fen^{2△}

(1 The second clinical medical collage of Lanzhou University, Lanzhou Gansu, 730030, China;

2 Department of plastic surgery, the second hospital of Lanzhou University, Lanzhou Gansu 730030, China)

ABSTRACT: Pathological scar is still the research focus in the plastic surgery and even all surgical field. Due to its very complex pathogenesis, there is no clear etiology diagnosis and effective treatment at present. VEGF as the most active vascular growth factor has close relationship with the occurrence and development of pathological scars. To study the VEGF expression and regulation mechanism in the course of pathological scar formation will not only be favorable to elucidate its pathogenesis but also provide theoretical foundation for its prevention and treatment.

Key words: Pathological scar; VEGF; Expression; Regulation

Chinese Library Classification(CLC): R619.6 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)26-5178-04

前言

瘢痕形成是创伤修复的自然过程,适度的瘢痕形成是一种生理性和自卫性表现,而过度增生则属病理性改变。病理性瘢痕包括增生性瘢痕(hypertrophic scar, HS)和瘢痕疙瘩(keloid, KD),是烧、创伤等组织损伤愈合后最常见的并发症,亦是整形外科亟待解决的难题。近年来,国内外学者已从多方面对病理性瘢痕的形成与发展进行了广泛的研究^[1-3],但其形成机制尚未完全明确。随着细胞生物学和分子生物学在瘢痕形成研究中的不断深入,人们发现新血管形成在瘢痕增生中起关键作用。血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)具有强烈的促血管生成作用,与病理性瘢痕的发生、发展密切相关。

1 VEGF 概述

VEGF 又称血管通透因子(vascular permeability factor, VPF),是目前研究最多的血管生长因子。最早由 Ferrara 从牛垂体滤泡细胞中分离纯化得到,能特异性促进血管内皮细胞增殖

并诱导血管生成。VEGF 是一类糖蛋白,可由巨噬细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、内皮细胞等多种细胞分泌,广泛分布于人和动物体内的脑、肾、肝、脾、肺、骨骼等组织中。现已发现存在于哺乳动物体内的 VEGF 家族成员有 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D 和胎盘生长因子(placental growth factor, PlGF)。此外,又分别从手足口病病毒和蝮蛇毒中分离出 VEGF-E 和 VEGF-F。通常所说的 VEGF 即 VEGF-A,是目前活性最强、专属性最高的血管生长因子,在生理性和病理性新血管形成中发挥着重要作用^[3,4]。

2 VEGF 受体及其信号通路

VEGF 受体包括 VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3,神经纤维网蛋白-1(neuropilin-1, NP-1)和神经纤维网蛋白-2(neuropilin-2, NP-2)。VEGF 与其相应受体结合,诱发一系列信号转导机制,从而发挥生物学作用。由于 VEGFR-1 酪氨酸激酶活性相对弱,对内皮细胞增殖的影响也较弱。因此,VEGFR-1 可能只是一种“诱饵受体”(decoy 受体),以竞争性结合的方式阻止

* 基金项目 国家自然科学基金资助项目(30672185)

作者简介 武元元(1985-),男,硕士研究生,主要研究方向:创伤愈合与瘢痕防治,
电话:13919455036, E-mail: 584276794@qq.com

△通讯作者 张选奋, E-mail: zhxf9304@126.com

(收稿日期:2012-04-09 接受日期:2012-04-29)

VEGF-A 与 VEGFR-2 结合,对其发挥负调控作用^[9]。VEGFR-2 具有超强的酪氨酸激酶活性,主要介导细胞的增殖和分化作用以及微血管的渗透活性。VEGFR-3 多见于淋巴管内皮细胞,与 VEGF-C 和 VEGF-D 紧密结合,激活淋巴管发生。NP-1 和 NP-2 是新发现的 VEGF 受体,主要分布于神经轴突及血管内皮细胞表面^[9]。二者均能与 VEGF165 及 PlGF 结合,作用在于调节或拮抗 VEGFR-2 的信号传导和后续的生物效应。目前已发现的由 VEGF 受体介导的信号通路主要包括 PLC- γ -PKC-MAKP 途径、Ras-Raf-MAPK/ERK 途径、PI-3K-AKT 途径^[7]。另外,VEGFR 还参与介导 STATs 信号途径,Yahata 等证实 STAT3 及其磷酸化参与调控 VEGF 受体信号转导途径诱导的内皮细胞迁移和血管形成^[9]。

3 病理性瘢痕中 VEGF 的表达及意义

生理情况下,VEGF 在健康成人皮肤表达较低,仅维持正常的血管密度及基本渗透功能,以满足低水平营养运输和新陈代谢的需要,而在病理情况下,如增生性疾病(恶性肿瘤、血管瘤、瘢痕等)中 VEGF 表达过量。沈锐等^[9]观察 VEGF 在烧伤创面肉芽组织和烧伤后不同时期 HS 中的动态变化,发现 VEGF 在 HS 中大量表达,4-6 个月时达到峰值。随着 HS 成熟,VEGF 的表达逐渐下降,新生血管也随之减少。因此认为 HS 中 VEGF 的表达量与其丰富的血管密切相关。此结果与李高峰^[10]等的研究结果基本一致,并与 Dor 的观点相符,表明 VEGF 在血管生成及成熟过程中起重要作用。最近,体内、外研究表明,VEGF 在 KD 组织中过度表达,可能在其形成中发挥作用。VEGF 在治疗前的 KD 组织中高表达,而在病情好转后显著减少,这一结果也支持 VEGF 在 KD 发病机制中的作用^[11]。

综合上述研究结果,我们认为病理性瘢痕的形成、增生与发展均与 VEGF 的表达有关。瘢痕组织内 VEGF 高表达可能对其大量的血管生成发挥着支持作用,而丰富的血供可能为瘢痕组织提供充足的氧气和养分,以促进瘢痕成纤维细胞合成过量的胶原纤维,进而促使瘢痕增生。VEGF 在 HS 中的表达与瘢痕微血管密度及其成熟程度密切相关,对 HS 的形成和发展起促进作用,是 HS 的致病因素。在 KD 部位呈现侵袭性生长的肌成纤维细胞持续高表达 VEGF,这表明 VEGF 过度表达可能是 KD 具有侵袭生长和异常瘢痕增生的分子病理基础。另外,早期 HS 组织和 KD 中残留的腺体及其上皮细胞对 FGF-2 和 VEGF 的异常表达可能是瘢痕增生的重要因素,这对解释腺体丰富的部位好发病理性瘢痕具有重要意义。因此,我们认为 VEGF 的表达水平可作为病理性瘢痕增生的良好标记物,成为研究病理性瘢痕发生及演变的重要检测指标。

4 病理性瘢痕中 VEGF 表达的调控

4.1 缺血/缺氧

研究表明^[12],细胞氧浓度在 50-500 或更多基因表达的调节中起关键作用。缺氧时,许多蛋白质包括葡萄糖转运蛋白、参与糖酵解途径的酶、促红细胞生成素酶和 VEGF 的表达均增加^[13]。Kischert 等^[14]发现病理性瘢痕中大多数微血管呈部分或完全闭塞状态,故认为组织缺氧主要是由于内皮细胞增殖凸入管腔导致管腔阻塞,循环障碍所致。Tokuda 等^[15]通过测量培养中的成

纤维细胞周围的氧张力发现细胞表面氧张力与细胞密度和细胞活性等因素有关,表明瘢痕中高细胞密度和高细胞活性是形成瘢痕内缺氧环境的重要原因。以上研究证实了病理性瘢痕组织内缺氧的事实,分析其原因可能主要有两个:一方面是血管因素,损伤后的肉芽及瘢痕组织内新生血管不成熟,供氧不足;另一方面是瘢痕内组织细胞代谢活跃,耗氧增加。病理性瘢痕增生期成纤维细胞处于异常活跃的增殖状态,大量血管增生使血流量绝对值的增加是可能的,但与其高代谢所需的血流量及氧的实际需求量相比,它可能处于一种相对的缺血、缺氧状态下。随着瘢痕的萎缩成熟,组织内血管成熟、供氧增加,细胞活性降低、耗氧减少,其缺氧状况逐渐减轻。

缺氧可通过调控基因转录,促进 VEGF 基因表达。目前认为,VEGF 的表达与缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α)密切相关,缺氧可诱导细胞产生大量的 HIF-1。正常氧分压条件下,其亚单位 HIF-1 α 被泛素化而降解,而在缺氧条件下, HIF-1 α 较稳定,并与 HIF-1 β 形成二聚体,激活 VEGF 启动子,引起 VEGF 表达增加,进而促进血管增生。缺氧诱导元件 HRE 存在于 VEGF 基因的上游区,在缺氧的情况下可以被启动。HIF-1 与 HRE 可发生特异性结合,从而激活启动子促进 mRNA 转录。除此之外,缺氧还可以诱导生成一种 mRNA 结合蛋白 HuR。此蛋白可在细胞核上与 VEGF mRNA 结合并参与其前体的加工,从而介导 VEGF mRNA 的稳定性^[16]。研究表明^[9],瘢痕组织中 VEGF 的表达与 HIF-1 α 的表达呈正相关性。因此认为瘢痕内缺氧环境诱导 HIF-1 α 表达, HIF-1 α 通过上调 VEGF 表达,促进血管生成,改善供氧,从而减轻瘢痕内缺血缺氧状况。缺氧上调 VEGF 的表达水平已为众多研究所证实,但也存在一些争议。Haroon 等^[17]研究发现,创伤后第一天并不存在缺氧,但这时 VEGF、TNF- α 、TGF- β 的表达已增加。因此认为在创伤修复早期,缺氧与启动细胞因子的表达无关。尽管缺氧是否对创伤修复有启动作用存在分歧,但缺氧在瘢痕改建及瘢痕形成中的重要作用是肯定的。

4.2 癌基因

VEGF 的表达还受一些原癌基因和抑癌基因的影响。如 c-Src 基因可由缺氧激活,活化的 c-Src 能增加 VEGF 表达,而 v-Src 基因在非缺氧条件下也能促进 VEGF 表达。当突变型 P53(mtp53)构象发生变化成为野生型 P53(wtp53)时,VEGF 表达降低^[18]。这表明 mtp53 可促进 VEGF 表达,wtp53 则抑制 VEGF 表达。抑癌基因 VHL 的产物 PVHL 和 h-CUL2 形成酶复合物 CBCVHL,可特异性地降解 HIF-1 α 亚基使其失活^[19],从而抑制 VEGF 的表达。除此之外,其产物 PVHL 还可以与转录因子 Sp1 结合,从而抑制 Sp1 结合 VEGF 基因启动子,干扰 VEGF 基因的翻译过程。但是,当 VHL 基因发生突变或缺失的时候,一些缺氧诱导蛋白通过与 VEGF 基因上游的非转录区(UTR)结合,促进 VEGF 的转录,导致 VEGF 的过度表达。另外,Ras 基因的表达产物可通过 MAPK 和 AKT 信号途径增强 HIF-1 α 的活性和稳定性,进而上调 VEGF 的表达。文献报道^[20],腺病毒介导的 IL-24 基因(Ad IL-24)能降低 VEGF 表达和微血管密度,影响肿瘤血管生成,抑制肿瘤生长。近年来,研究发现第 10 号染色体丢失的张力蛋白同源的磷酸酶基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)与病理性

瘢痕的形成相关,其机制可能是病理性瘢痕中 PTEN 表达减少降低了对 PI-3K-AKT 途径的下调作用,从而引起 VEGF 表达增加,但仍需进一步研究和证实^[20]。

4.3 细胞因子

VEGF 的表达可受多种细胞因子(如 FGF-2、IFN- γ 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-4、IL-10)等的调节^[22-23]。FGF-2 可通过上调 VEGF 及其受体的表达,间接促进瘢痕血管增生。TGF- β 不仅诱导平滑肌细胞、成纤维细胞、表皮细胞表达 VEGF,还可诱导 PDGF 和 FGF-2 的表达。有研究提示角质细胞可以分泌特异的生长因子——角质细胞生长因子(Keratinocyte growth factor, KGF)^[24]。KGF 在创伤愈合和瘢痕增生过程中大量表达,并且能够诱导角质细胞合成 VEGF。现已证实,炎性因子 IL-1 β 及 IL-6 都能不同程度的上调 VEGF 的表达^[25-26],而 IL-10 和 IL-13 则抑制 VEGF 的表达。另外,一些小分子炎性介质也参与了 VEGF 合成分泌的调节。如 NO 是一种常见的小分子炎性介质,研究发现 NO 可以促进 VEGF 的合成,反之 VEGF 分泌增加也可以促进 NO 的生成,两者的表达形成反馈互动关系,对于推动炎症的发展具有重要意义。

4.4 激素

血栓粘素、催乳素、促甲状腺激素、糖皮质激素可下调 VEGF 的表达,黄体酮、孕激素、促甲状腺素释放激素则相反。Wu 等^[27]分别对注射类固醇激素前、后的 KD 组织进行了研究分析,发现注射类固醇激素后 KD 组织中内源性 VEGF 和 VEGFmRNA 的表达被显著抑制,在共培养的人脐静脉内皮细胞和角质细胞中,地塞米松治疗组血管形成数量较对照组减少。这些结果表明,VEGF 能增加成纤维细胞活性,而类固醇激素可通过调节内源性 VEGF 的表达抑制 KD 的形成。

4.5 环氧化酶(Cyclooxygenase, Cox)

Cox 是催化花生四烯酸合成前列腺素的关键限速酶,也是非甾体消炎药的作用靶点。在体外培养的人成纤维母细胞中,前列腺素 E2 可使 VEGF 表达上调;而 Cox-2 可能通过前列腺素途径上调 VEGF 的表达,促进血管生成。谭赵云等^[28]研究表明, Cox-2、VEGF 是 HS 发生发展过程中的重要调控因素,综合 Cox-2、VEGF 在 HS 中的表达及相关性分析,推测 Cox-2 可能通过诱导 VEGF 的表达促进瘢痕的血管生成,但两者之间相互调节的具体机制仍不清楚。

4.6 其他

转录因子 AP-1 可与 VEGF 基因启动转录子区域 4 个 AP-1 结合位点结合,促进 VEGF 转录,因而对 VEGF 的表达起关键作用。另外,机械牵张、射线、针刺等因素也可影响 VEGF 的表达,但具体的调控机制有待进一步研究。

5 展望

综上所述,对于病理性瘢痕,VEGF 的过度表达可能是其形成的重要机制之一。VEGF 的异常表达是多种因素调控的结果,通过干预这些调控因素抑制其过度表达,可能会减轻瘢痕增生或促进瘢痕萎缩。随着分子生物学技术在医学科研中的广泛应用,人们对瘢痕形成过程中基因表达调控理论的认识逐步深入。如目前研究的热点基因—IL-24、P53、PTEN 等与病理性瘢痕的发生密切相关,未来很有可能作为新的靶基因广泛应用

于病理性瘢痕的基因治疗。此外,深入研究影响 VEGF 表达的因素及其调控机制,有助于阐明病理性瘢痕发生、发展的机制,进而为临床针对 VEGF 的干预治疗提供理论基础和实验依据,为瘢痕防治提供新的思路和方法。

参考文献(References)

- [1] Butler PD, Longaker MT, Yang GP. Current progress in keloid research and treatment[J]. J Am Coll Surg, 2008, 206(4):731-741
- [2] Robles DT, Moore E, Draznin M, et al. Keloids: pathophysiology and management[J]. Dermatol Online J, 2007, 13(3):9
- [3] Elias PM, Arbisser J, Brown BE, et al. Epidermal vascular endothelial growth factor production is required for permeability barrier homeostasis, dermal angiogenesis, and the development of epidermal hyperplasia: implications for the pathogenesis of psoriasis[J]. Am J Pathol, 2008, 173(3): 689-699
- [4] Van Bergen T, Vandewalle E, Van de Veire S, et al. The role of different VEGF isoforms in scar formation after glaucoma filtration surgery[J]. Exp Eye Res, 2011, 93(5):689-699
- [5] Kappas NC, Zeng G, Chappell JC, et al. The VEGF receptor Flt-1 spatially modulates Flk-1 signaling and blood vessel branching [J]. J Cell Biol, 2008, 181(5):847-858
- [6] Dallas NA, Gray MJ, Xia L, et al. Neuropilin-2 mediated tumor growth and angiogenesis in pancreatic adenocarcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(24): 8052-8060
- [7] Pennell NA, Lynch TJ Jr. Combined inhibition of the VEGFR and EGFR signaling pathways in the treatment of NSCLC [J]. Oncologist, 2009, 14(4):399-411
- [8] Yahata Y, Shirakata Y, Tokumaru S, et al. Nuclear translocation of phosphorylated STAT3 is essential for vascular endothelial growth factor induced human dermal microvascular endothelial cell migration and tube formation[J]. J Biol Chem, 2003, 278(41): 40026-40031
- [9] 沈锐, 利天增, 祁少海, 等. 血管内皮细胞生长因子在烧伤后肉芽组织和增生性瘢痕中的表达[J]. 中国康复理论与实践, 2002, 8(1):1-2
Shen Rui, Li Tian-zeng, Qi Shao-hai, et al. Study of expression of vascular endothelial growth factor in granulation tissue of burn wound and post-burn hypertrophic scar at excessive stages [J]. Chinese Journal of Rehabilitation Theory & Practice, 2002, 8(1):1-2
- [10] 李高峰, 谭军, 钟茜. 瘢痕中 HIF-1 α 的表达及其与 VEGF 和 HO-1 的关系[J]. 中国美容医学, 2006, 15(3): 247-249
Li Gao-feng, Tan Jun, Zhong Qian. Association of HIF-1 α expression and VEGF, HO-1 in scars[J]. Chinese Journal of Aesthetic Medicine, 2006, 15(3): 247-249
- [11] Salem A, Assaf M, Helmy A, et al. Role of vascular endothelial growth factor in keloids: a clinicopathologic study[J]. Int J Dermatol, 2009, 48(10):1071-1077
- [12] Hirota K, Semenza GL. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2006, 59(1):15-26
- [13] Roskoski R Jr. Vascular endothelial growth factor(VEGF) signaling in tumor progression[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2007, 62 (3):179-213
- [14] Kischer CW, Thies AC, Chvapil M. Perivascular myofibroblasts and microvascular occlusion in hypertrophic scars and keloids [J]. Hum Pathol, 1982, 13(9):819-824
- [15] Tokuda Y, Crane S, Yamaguchi Y, et al. The level and kinetics of oxygen tension detectable at the surface of human dermal fibroblast

- cultures[J]. J Cell Physiol, 2000, 182(3):414-420
- [16] Ido K, Nakagawa T, Sakuma T, et al. Expression of vascular endothelial growth factor-A and mRNA stability factor HuR in human astrocytic tumors[J]. Neuropathology, 2008, 28 (6):604-611
- [17] Haroon ZA, Raleigh JA, Greenberg CS, et al. Early wound healing exhibits cytokine surge without evidence of hypoxia [J]. Ann Surg, 2000, 231(1):137-147
- [18] Liang Y, Besch-Williford C, Benakanakere I, et al. Targeting mutant p53 protein and the tumor vasculature: an effective combination therapy for advanced breast tumors[J]. Breast Cancer Res Treat, 2011,125 (2):407-420
- [19] Harris AL. Von Hippel-Lindau syndrome: Target for anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor therapy[J]. Oncologist, 2000, 5(suppl 1): 32-36
- [20] Liu J, Sheng W, Xie Y, et al. The in vitro and in vivo antitumor activity of adenovirus-mediated interleukin-24 expression for laryngocarcinoma[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2010, 25(1): 29-38
- [21] 刘斌, 刘伟峰, 蒋任武, 等. PTEN 和 VEGF 在病理性瘢痕中的表达及其相关性研究[J]. 中国烧伤创痍杂志, 2010, 22(3):209-213
Liu Bin, Liu Wei-feng, Jiang Ren-wu, et al. Expression and Correlation Study of PTEN and VEGF in Pathological Scar [J]. The Chinese Journal of Burns wounds & surface ulcers, 2010, 22(3):209-213
- [22] Xie K, Wei D, Shi Q, et al. Constitutive and inducible expression and regulation of vascular endothelial growth factor[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2004, 15(5):297-324
- [23] Cho ML, Jung YO, Moon YM, et al. Interleukin-18 induces the production of vascular endothelial growth factor (VEGF) in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts via AP-1-dependent pathways[J]. Immunol Lett, 2006, 103(2):159-166
- [24] Frank S, Hübner G, Breier G, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing[J]. J Biol Chem, 1995, 270(21): 12607-12613
- [25] Cohen T, Nahari D, Cerem LW, et al. Interleukin 6 induces the expression of vascular endothelial growth factor[J]. J Biol Chem, 1996, 271 (2):736-741
- [26] Chin K, Kurashima Y, Ogura T, et al. Induction of vascular endothelial growth factor by nitric oxide in human glioblastoma and hepatocellular carcinoma cells[J]. Oncogene, 1997, 15(4):437-442
- [27] Wu WS, Wang FS, Yang KD, et al. Dexamethasone induction of keloid regression through effective suppression of VEGF expression and keloid fibroblast proliferation[J]. J Invest Dermatol, 2006, 126(6):1264-1271
- [28] 谭赵云, 赵柏程, 钱利, 等. COX-2 和 VEGF 在增生性瘢痕中的表达及其临床意义[J]. 中国美容整形外科杂志, 2008, 19 (5):348-352
Tan Zhao-yun, Zhao Bai-cheng, Qian Li, et al. Expression of COX-2 and VEGF in hypertrophic scar and its clinical significance[J]. Chin J Aesth Plast Surg, 2008, 19(5):348-352
-
- (上接第 5177 页)
- [10] Wang Bin. Colleges catering establishment of harmonious growth of system[J]. Century bridge, 2011, 230(15):140-141(In Chinese)
- [11] Xu Ming, Tian Jin, Gu Ruitian. Force Logistics standardized management, path selection [J]. Chinese collective economy, 2010, 8(24):64 (In Chinese)
- [12] Shang Chao-jin. On a few of the correct handling and coordination of military logistics management[J]. Chinese business community (second half) 2009, (09):353(In Chinese)
- [13] Liu Gui-qin. University financial internal control problems in analysis and resolution strategy[J]. Managers, 2012, (05):311(In Chinese)
- [14] Du Jun-yu. College logistic management team Construction [J]. Xiamen College of Education, 2008, 10(02):41-45(In Chinese)
- [15] Zhang Shi-yong. Improve the quality of university support staff, promote the development of Logistics Reform [J]. Management & Technology, 2008, (06):32-33(In Chinese)