

· 综述 ·

# 巨噬细胞在创伤愈合血管生成中作用的研究进展

刘亮 刘旭盛

血管生成 (angiogenesis) 是机体在生长发育过程中或组织创伤修复、缺血缺氧和炎症等情况下,原有毛细血管内皮细胞 (endothelial cell, EC) 经过生芽、迁移、增殖与基质重塑等形成新毛细血管的过程<sup>[1]</sup>。它包括 5 个阶段: (1) 血管细胞分泌蛋白水解酶降解血管基底膜。(2) EC 穿过基底膜迁移到血管周围基质中。(3) EC 增殖、相互黏附并连结。(4) 新生 EC 形成管腔样结构。(5) 基质重塑、平滑肌的包绕及血管相互吻合形成血管网。血管生成在许多正常的生理过程中有重要作用<sup>[2]</sup>。

在特定的组织中是否发生血管生成,取决于相当数量的诱导和抑制新生血管形成的因子之间的平衡。正常组织中的血管通常是稳定的,且细胞分泌低水平的诱导因子和高水平的抑制因子。正常的细胞和正经历有害转化的细胞都有表达血管发生表型的能力,而在非正常细胞中诱导因子和抑制因子之间的平衡会发生改变,其种类和数量可产生相应变化<sup>[3]</sup>。

创伤后长入纤维蛋白凝块的毛细血管是早期肉芽组织中一个重要的组成成分,它可以将营养、炎症细胞和氧输送到创伤部位。修复过程不仅需要清除坏死组织,若血管生成不足会导致创面难愈。成血管表型的表达是一个复杂的过程,它需要许多细胞因子的共同参与。有很多细胞参与创伤愈合的过程,如:成纤维细胞、巨噬细胞 (macrophages, M $\phi$ )、血小板、EC、肥大细胞、白细胞和淋巴细胞。其中, M $\phi$  可通过变形运动吞噬和清除异物与衰老细胞;通过分泌多种生物活性物质刺激组织中血管生成,调节结缔组织基质的合成与降解;此外,它还参与调节免疫应答。因而 M $\phi$  在创伤愈合中具有重要作用,是该过程的“指导者”和“管理者”。

M $\phi$  参与了包括病理生理、创伤愈合和肿瘤形

成在内的许多情况下的新生血管生长<sup>[4]</sup>,目前初步认为与以下 3 种机制有关。

第一,活化的 M $\phi$  可直接分泌诱导新生血管生长的细胞因子。M $\phi$  可被低氧或高浓度乳酸激活,也可被内皮细胞产生的细胞因子激活。

有文献报道,创伤后 24~48 h,创伤组织中主要是 M $\phi$  和淋巴细胞<sup>[5]</sup>。M $\phi$  是一种多功能细胞,在不同的生理和病理条件下发挥不同的作用。这些功能包括: (1) 胞吞作用: M $\phi$  在接触到细菌、异物、衰亡的细胞时,即伸出伪足将其黏附和包围,并吞入胞质形成吞噬小体和吞饮泡。吞噬小体与初级溶酶体接触、融合,成为次级溶酶体,溶酶体酶消化分解异物,残留的异物则形成残余体。此外, M $\phi$  表面有多种受体如抗体 Fc 段的受体、C<sub>3</sub> 补体的受体等,当抗体、补体和免疫反应同时存在时, M $\phi$  的吞噬作用显著增强,即体现免疫吞噬功能。(2) 细胞毒作用: M $\phi$  及其合成和释放的多种活性因子如白细胞介素 (IL)1、淋巴细胞活化因子等对靶细胞有杀伤作用。M $\phi$  可分泌 100 多种不同的物质,包括多肽类激素、凝血因子、酶与细胞因子抑制剂、连接细胞间基质和细胞的蛋白、生物活性寡肽、脂类、类固醇激素、氮及氧活化介质、嘌呤和嘧啶以及其他酶<sup>[6]</sup>。这些物质的功能各不相同,其中某些因子使 M $\phi$  在调节血管生成因子表型中发挥重要作用。促血管生成的因子主要有成纤维细胞生长因子 (FGFs)、血管内皮生长因子 (VEGFs)、血小板源生长因子 (PDGFs)、转化生长因子  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ )、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、胰岛素样生长因子 (IGF)、IL-8、IL-10、IL-6 等。抑制血管生成的因子包括血管生成抑制素、内皮抑素、血小板因子 4、IL-12、血敏感蛋白 (TSPs)、干扰素 (INF) $\alpha$ 、INF- $\beta$ 、和血管生成促进素 2 等。研究表明, IL-10 促血管生成涉及对于基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 及其抑制物分泌的调控<sup>[7]</sup>。

在 M $\phi$  产生的调节血管生成的因子中,有关 FGFs 和 VEGFs 的研究报道较多。Nissen 等<sup>[8]</sup>报道,修复早期受伤部位出现碱性成纤维细胞生长因

作者单位: 400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室(刘亮现在第一军医大学南方医院烧伤科,510515)

通信(讯)作者:刘旭盛, Email: Liuxusheng2002@hotmail.com, 电话: 023-68752865

子(bFGF)水平升高,可能是受到 EC 迁移和增殖启动的刺激,但受伤 24 h 后细胞内 bFGF 的水平明显下降,可能与组织和血小板中预先储存的 bFGF 释放有关。新血管的形成依靠受损细胞和周围相连组织的基质,并且 bFGF 的水平只在创伤修复早期升高,因此应有另外的血管生成因子参与新血管的形成。目前认为其中之一是 VEGFs,它与 bFGF 均参与血管 EC 迁移、增殖和管样结构的形成,VEGFs 不足会导致血管腔闭合、血管退化。Sellke 等<sup>[9]</sup>的实验结果表明,FGFs 和 VEGFs 可以引起在体血管形成。犬急性心肌梗死后注入 bFGF,14 d 后坏死区心肌组织内小动脉和微血管数目明显增加;直接向猪心肌梗死模型的缺血区心肌组织转入腺病毒携带的 VEGF121,或向其冠状动脉内注射 VEGF165 蛋白,均可改善心肌的血液灌流和功能。有研究证实 VEGFs 和 bFGF 在血栓中有暂时表达,说明二者在血栓溶解中有一定作用<sup>[10]</sup>。Robson 等<sup>[11]</sup>将 bFGF 和粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)用于临床上应激性溃疡患者,结果表明单用 bFGF 者比合用者效果好。与 bFGF 不同,VEGFs 的高水平不出现在创伤早期,它在创伤后 7 d 才达到高峰。从这一点看,VEGFs 可能是持续诱导血管生长的主要刺激因子。M $\phi$ 、FGF 和 EC 都可产生 VEGFs,尤其是缺氧的情况下可大量产生<sup>[12]</sup>。当然,很可能还有另外的血管生成因子直接或间接参与创伤愈合过程,比如近来有学者认为,TGF- $\beta$  超家族的成员激活素 A 在创伤愈合过程中能调节血管形成和组织的纤维化<sup>[13]</sup>。事实上有许多其他血管生成因子,包括 MMP-2、MMP-9、TGF- $\alpha$ 、PDGFs、IGF-I、TGF- $\beta$ 、IL-1、IL-8 等,在不同类型的创伤中被观察到表达增强。M $\phi$  不仅诱导创伤初期新生血管生成,可能还介导后续创伤愈合过程中血管生成表型的表达。此外,M $\phi$  还可通过分泌单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)来持续诱导新生血管生长,因为 MCP-1 可持续地催化更多的 M $\phi$  聚集到创面。Low 等<sup>[14]</sup>在小鼠实验中观察到,MCP-1 用药组与对照组相比创面血管生成延迟,伤后 5 d 创面的血管密度下降 48%,说明 MCP-1 在创伤愈合中有重要作用。另外,Li 等<sup>[15]</sup>还观察到 PR39 这种 M $\phi$  源性肽能抑制核小体表面蛋白依赖性缺氧诱导因子 1 $\alpha$  的减少,体外实验显示可加快血管形成、增加小鼠心肌的血管。

第二,M $\phi$  可产生能降解连接组织基质的因子,这对 EC 有关键作用。M $\phi$  可产生金属蛋白酶(如胶原酶)和丝氨酸蛋白酶[如组织型和尿激酶型纤溶

酶原激活物(t-PA 和 u-PA)],这些酶可以降解细胞外基质(extracellular matrix,ECM)、调整机械结构并使与 ECM 结合的生长因子释放<sup>[16]</sup>。MMPs 是金属蛋白酶超家族中的一个亚群,是一组可以降解大多数 ECM 成分的蛋白水解酶。MMP-13 是小鼠体内的基质胶原酶;MMP-2 和 MMP-9 则降解 IV、V、VII 和 X 型胶原和弹性蛋白,并使胶原变性;MMP-3、MMP-7 和 MMP-10 降解蛋白多糖、纤维连接蛋白(fibronectin, FN)、层粘连蛋白(laminin, LN)、弹性蛋白和明胶等;MMP-12 主要降解可溶性蛋白、IV 型胶原、FN、LN、entactin 和蛋白多糖;MMP-8、MMP-12、MMP-13、MMP-14 的催化区可以象蛋白分解一样处理纤维蛋白<sup>[17]</sup>。在血管生成初期 EC 迁移时,其迁移的前沿区域 u-PA 及其受体和 t-PA 表达上调,激活纤溶酶原,造成纤维蛋白和其他基质成分被降解,有利于基底膜的降解和 EC 的迁移。同时,上述变化受控于生长因子和细胞因子,VEGFs 和 bFGF 可以上调 t-PA、u-PA 及其受体的表达,TNF- $\alpha$  和 IL-1 上调 MMP-1 和 MMP-3 的表达,TNF- $\beta$  则上调 u-PA 和下调纤溶酶原抑制物的表达。在血管生成早期,上述蛋白水解酶加上 t-PA 和 u-PA 激活的纤溶酶除了水解基底膜、利于 EC 迁移和管样结构的形成外,还可以帮助白细胞、血管平滑肌细胞等向血管生成部位迁移。这些细胞到达后,蛋白水解酶继续帮助血管壁基质和细胞重塑,使血管成熟。新生血管成熟的特征为新的基底膜沉积和 EC 增殖下调,其中基质的重塑具有重要地位。Kraling 等<sup>[18]</sup>证实,真皮微血管 EC 中 MMPs 含量降低、其组织抑制物 TIMP 及其蛋白含量升高均有利于基质重塑和新生血管成熟。有学者以大鼠为研究对象,在实验早期抑制 MMPs 活性,结果可以阻断微血管生成;但在血管生长期,则可稳定已生成的微血管并防止其退化<sup>[19]</sup>。另外,Reed 等<sup>[20]</sup>观察到老年小鼠肉芽组织 MMP-1 表达明显低于青年对照组,而 TIMP 的表达则高于青年对照组;体外实验证实老年人微血管 EC 的 MMP-1 分泌和活性不足,而 TIMP1 的表达则高于青年对照组,EC 迁移距离明显变短,加入 TIMP 抗体则增强其迁移能力。

第三,M $\phi$  可分泌某些因子刺激其他细胞(如 EC、成纤维细胞和角质形成细胞)分泌高水平的促血管生成因子。不过这方面的研究相对较少,关于 M $\phi$  和其他修复细胞之间的调控关系更鲜见报道。

创面愈合过程中的血管生成和病理性血管生成之间的根本不同,在于新生血管生长是一个高度受

控和有序的过程。在正常的创伤愈合过程中,高度增生的毛细血管会在愈合完成时迅速退化。要完成这一退化过程,诱导因子和抑制因子之间的平衡须恢复到毛细血管退化和 EC 重新静止这一水平。Mφ 可在新生毛细血管消退阶段分泌有助于毛细血管退化的细胞血小板反应素 1 (thrombospondin 1, TSP-1)。新近报道 TSP-1 可以在炎症反应早期减少 Mφ 的聚集和 MCP-1 的分泌, TSP-1 缺陷小鼠的血管生成增加<sup>[21]</sup>。

Mφ 是创面愈合过程中血管生成的重要参与者,对 Mφ 与其他创面修复相关细胞之间关系的深入认识,将有助于进一步了解创面愈合及其难愈机制。

参 考 文 献

- 1 刘秀华,田牛. 血管生成机制的研究进展. 中华创伤杂志, 2002, 18:57 - 59.
- 2 Flamme I, Frolich T, Risau W. Molecular mechanisms of vasculogenesis and embryonic angiogenesis. J Cell Physiol, 1997, 173:206 - 210.
- 3 Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. Science, 1997, 255:44.
- 4 Pettet G, Chaplain MA, McElwain DL, et al. On the role of angiogenesis in wound healing. Proc R Soc Lond B Biol Sci, 1996, 263:1487 - 1493.
- 5 Mark W, Lingen DD, Ph D. Role of leukocytes and endothelial cells in the development of angiogenesis in Inflammation and Wound Healing. Arch Pathol Lab Med, 2001, 125:67 - 71.
- 6 Nathan C. Secretory products of macrophages. J Clin Invest, 1987, 79:319 - 326.
- 7 Stearns ME, Rhim J, Wang M. Interleukin10(IL-10) inhibition of primary human prostate cell-induced angiogenesis: IL-10 stimulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and inhibitor of matrix metalloproteinase (MMP)-2/MMP-9 secretion. Clin Cancer Res, 1999, 5:189 - 196.
- 8 Nissen NN, Polverini PJ, Gamelli RL, et al. Basic fibroblast growth factor mediates angiogenic activity in early surgical wounds. Surgery, 1996, 119:457 - 465.
- 9 Sellke FW, Simons M. Angiogenesis in cardiovascular disease: current status and therapeutic potential. Drugs, 1999, 58:391 - 396.
- 10 Waltham M, Burnand KG, Collins M, et al. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor are found in resolving venous thrombi. J Vasc Surg, 2000, 32:988 - 996.
- 11 Robson MC, Hill DP, Smith PD, et al. Sequential cytokine therapy for pressure ulcers: clinical and mechanistic response. Ann Surg, 2000, 231: 600 - 11.
- 12 Nissen NN, Polverini PJ, Koch AF, et al. Vascular endothelial growth factor mediate angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. Am J Pathol, 1998, 152:1445 - 1452.
- 13 Yamamoto T, Takeuchi S, Suzuki K, et al. Expression and possible roles of activin A in proliferative vitreoretinal diseases. Jpn J Oph, 2000, 44:221 - 226.
- 14 Low QE, Druzea IA, Duffner LA, et al. Wound healing in MIP-1alpha and MCP-1 mice. Am J Pathol, 2001, 159:457 - 63.
- 15 Li J, Post M, Volk R, et al. PR39, a peptide regulator of angiogenesis. Nat Med, 2000, 6:49 - 55.
- 16 Kraling BM, Wiederschain DG, Boehm T, et al. The role of matrix metalloproteinase activity in the maturation of human capillary endothelial cells in vitro. J Cell Sci, 1999, 112:1599 - 1609.
- 17 Hiller O, Lichte A, Oberpichler A, et al. Matrix metalloproteinases collagenase-2, macrophage elastase, collagenase-3, and membrane type 1-matrix metalloproteinase impair clotting by degradation of fibrinogen and factor XII. J Biol Chem, 2000, 275:33008 - 33013.
- 18 Kraling BM, Wiederschain DG, Boehm T, et al. The role of matrix metalloproteinase activity in the maturation of human capillary endothelial cells in vitro. J Cell Sci, 1999, 112:1599 - 1609.
- 19 Zhu WH, Guo X, Villaschi S, et al. Regulation of vascular growth and regression by matrix metalloproteinase in the rat aorta model of angiogenesis. Lab Invest, 2000, 80:545 - 555.
- 20 Reed MJ, Corsa AC, Kudravi SA, et al. A deficit in collagenase activity contributes to impaired migration of aged microvascular endothelial cells. J Cell Bio, 2000, 77:116 - 126.
- 21 Agah A, Kyriakides TR, Lawler J, et al. The lack of thrombospondin-1 (TSP1) dictates the course of wound healing in double-TSP1/TSP2-null mice. Am J Pathol, 2002, 161: 831 - 839.

(收稿日期:2002-04-26)

(本文编辑:赵敏 王旭)

读者 · 作者 · 编者

常用医学名词的正确写法与不宜写法

正确写法	不宜写法	正确写法	不宜写法	正确写法	不宜写法
血流动力学	血液动力学	心肌梗死	心肌梗塞	凝血因子 I	纤维蛋白原
体循环	大循环	磷酸酯胆碱	卵磷脂	凝血因子 II	凝血酶原
糖类	碳水化合物	革兰染色	革兰氏染色	血细胞比容	血细胞压积
布氏杆菌	布杆菌	抗生素	抗菌素	核素	同位素
洋地黄	毛地黄	脑卒中	中风	变态反应	过敏反应核素
鼻出血	鼻衄	苷	貳	肾上腺皮质功能不全	爱迪生病