

SPARC 在颅内动脉瘤发病中调控动脉稳态的研究进展

李波¹ 朱少伟² 李峰¹ 综述 朱树干^{1*} 审校

1. 山东大学齐鲁医院神经外科, 山东 济南 250012;

2. 山东大学齐鲁医院神经内科, 山东 济南 250012

摘 要:对于血流应力的损伤, 颅内动脉壁存在着一个损伤/修复的动态平衡过程—动脉稳态, 其在颅内动脉瘤形成和破裂过程中起着重要的作用。SPARC 是一种具有多种功能的小分子糖蛋白, 能够通过调节细胞外基质蛋白及多种生长因子的表达而影响动脉稳态的平衡。对 SPARC 在动脉瘤发病中对动脉稳态的作用及机制的深入研究, 期望其成为评估动脉瘤形成和破裂的有意义的生物学标志物及潜在的治疗靶点。

关键词:富含半胱氨酸的酸性分泌糖蛋白 (SPARC); 颅内动脉瘤; 动脉稳态; 血管平滑肌细胞 (VSMCs)

颅内动脉瘤 (intracranial aneurysms, IA) 破裂的致死率和致残率很高, 但其确切发病机制仍有待进一步研究。IA 的形成及破裂与血管扩张、细胞外基质重构、内皮细胞迁移、成纤维细胞增殖等病理生理改变密切相关。SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine)、即富含半胱氨酸 (Cys) 的抗粘附酸性糖蛋白, 又称作骨连接素或 BM-40^[1]。它能在多种组织细胞包括血管内皮细胞、血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscles cells, VSMCs) 以及成纤维细胞中表达, 并在组织重构、细胞增殖、以及机体的病理生理过程中有重要作用。SPARC 具有调控和稳态颅内动脉血管损伤/修复动态平衡的功能。本文分别对颅内动脉瘤发病中动脉稳态的概念和机制以及 SPARC 对动脉稳态的调控综述如下。

1 动脉稳态与动脉瘤

动脉瘤发病的病理生理过程存在着“动脉稳态 (steady-state arterial)”, 即对于血流应力的损伤, 动脉血管壁存在着一个损伤/修复的动态平衡过程, 主要有三方面:

1.1 血流的损伤作用

脑动脉管壁的厚度为身体其他部位同管径动脉的 2/3, 周围缺乏组织支持, 但承受的血流量大、血流速度、血流形式和血管壁剪切力等血流动力学方面的原因, 导致动脉管壁承受较强的血流剪切应力、搏动力和压力而引起动脉管壁内弹力层的损伤及中膜缺损; 由于损伤部位受到持续性血流冲击后

局部逐渐膨出, 最后形成 IA, 尤其是分叉部。如此病理改变与临床发现分叉部动脉瘤最常见的现象是非常一致的。

1.2 动脉壁的退行性病变

随着年龄的增长, 颅内动脉粥样硬化和高血压发生率增高, 动脉内弹力板发生断裂及消失, 削弱了动脉壁的对抗巨大压力的能力, 渐渐膨出形成动脉瘤; 也有学者认为, 动脉粥样硬化造成动脉营养血管闭塞, 使血管壁变形, 造成动脉管壁脆性增加, 最终形成动脉瘤; 40~60 岁是动脉粥样硬化和高血压发展的明显阶段, 同时也是动脉瘤的好发年龄, 这足以说明两者的相互关系密切。

1.3 多种生长因子及细胞外基质的修复作用

当动脉管壁内皮细胞受到上述损伤因素的刺激后, 可释放多种生长因子, 刺激细胞增生, 促进修复过程, 如①血小板源性生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 能引起成纤维细胞、平滑肌细胞和单核细胞的增生和游走, 并促进胶质细胞增生。Piazuelo 等^[2]证明 PDGF 参与损伤的修复过程。②成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 生物活性十分广泛, 主要作用于内皮细胞, 特别是在损伤修复过程中, 能促使血管内皮细胞分泌并诱导其产生蛋白溶解酶, 便于内皮细胞迁移。有研究表明^[3], FGF 能加速骨折的愈合。③表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 对上皮细胞、成纤维细胞、胶质细胞及平滑肌细胞都有促进增殖、

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81171172)。

收稿日期: 2011-10-06; 修回日期: 2011-12-02

作者简介: 李波 (1983-), 男, 博士研究生。主要研究方向: 脑血管疾病的基础与临床。

通讯作者: 朱树干 (1952-), 男, 主任医师, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 脑血管疾病、脑肿瘤的基础与临床。

迁移的作用。④转化生长因子(transforming growth factor, TGF) TGF- α 可与 EGF 受体结合,故与 EGF 有相同作用;TGF- β 是与损伤修复关系最密切的生长因子之一,能够诱导细胞外基质的产生、积聚,促进胶原的合成。Kishi 等^[4]证明 TGF- β 能够促进鼠皮肤内胶原的合成。⑤血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可以直接作用于血管内皮细胞,诱导内皮细胞增殖和迁移;VEGF 还可增加血管通透性。研究证明^[5], VEGF 能够加速骨折的愈合。

血管损伤修复过程中,迁移增生的平滑肌细胞和成纤维细胞等分泌的细胞外基质起着非常重要的作用。细胞外基质中各种成分所提供的信息可以调控组织重建、损伤修复、纤维化等,如①胶原蛋白(collagen)为人体提供细胞外支架,胶原蛋白至少有 14 种:I 型和 III 型胶原为纤维性胶原蛋白,体内含量最为丰富。IV、V、VI 型胶原为非纤维性胶原蛋白,存在于间质和基底膜内。胶原蛋白是细胞外基质中提供张力的主要成分,也是保持血管具有稳定结构和张力的重要蛋白。Meltem 等^[6]证明胶原蛋白在损伤修复中有重要作用。②粘附性糖蛋白(adhesive glycoproteins)和整合素(integrins)纤维连接蛋白与细胞粘附、伸展、迁移直接相关,并能增强毛细血管对生长因子增殖作用的敏感性;层粘连蛋白介导细胞与结缔组织基质粘附还可引起内皮细胞有序排列;整合素是细胞表面受体的主要家族,是损伤修复、血小板聚集的关键因素,某些细胞只有通过整合素的粘附作用才能发生增殖。③蛋白多糖(proteoglycans)是构成细胞外基质的主要成分,它能调节细胞增殖、粘附、迁移等,并把多种细胞连接在一起,对维持组织弹性有重要作用。④基质金属蛋白酶家族:明胶酶等金属蛋白酶是降解细胞外基质成分的关键酶,可由成纤维细胞、巨噬细胞、中性粒细胞及一些上皮细胞等分泌。细胞外基质的合成与降解是损伤修复过程中的重要特征。活化型的金属蛋白酶可由特异性的金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)家族快速抑制,从而有效地控制降解过程。动脉的损伤和修复是一个复杂的系统,包含了许多对局部血流动力学改变发生反应的分子,这些分子的功能就是维持这个动态系统的适度血管紧张度,同时对血流应力导致的损伤及退行性变进行修复,动脉稳态反映了所有这些因素的平衡。

2 SPARC 表达与动脉瘤

在人类正常的软骨细胞、胚胎滋养层、血管平滑肌等细胞中,SPARC 呈限制性中等程度表达,但在损伤组织修复过程中的内皮细胞和纤维母细胞及侵袭性恶性肿瘤细胞中呈高表达。研究发现,遗传因素等引起的基因改变在 IA 病理发生中有非常重要的作用^[7,8],而遗传性疾病引起的细胞外基质的改变,容易导致动脉管壁以及脆性的改变,最终导致 IA 形成。且已有的 IA 与遗传性疾病相关性的研究证实,SPARC 的高表达与颅内动脉瘤的发生密切相关:约 5% 的 IA 患者合并各种遗传性疾病,比如埃勒斯-当洛综合症 IV 型、马凡综合征、神经纤维瘤病 I 型以及常染色体显性多囊肾(ADPKD),并且发现 ADPKD 与 IA(包括无症状动脉瘤)有着明确的相关性^[9]。ADPKD 患者肾囊肿液中 SPARC 水平明显高于单纯性肾囊肿患者,并且高于 ADPKD、单纯肾囊肿患者和正常对照组血浆以及尿液中的浓度;ADPKD 患者多囊肾组织中 SPARC 的 mRNA 转录和蛋白表达水平显著高于正常肾组织。另外,体外实验运用 SPARC 处理囊肿衬里上皮细胞(CLECs),可有效抑制 CLECs 增殖,使细胞周期停滞于 G0/G1 期,促进细胞凋亡;增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA),微型染色体维持蛋白 2(minichromosome maintenance protein, MCM2),C1Nd1 以及 Bcl-2 的 mRNA 转录水平明显降低,而 p21(Waf1) mRNA 转录水平升高^[10]。

此外,对大脑中动脉远端多发性动脉瘤所至颅内出血的 3 岁患者术后标本进行研究发现^[11]:与颞浅动脉标本相比,动脉瘤标本的 SPARC 的 mRNA 及蛋白明显过度表达。另有研究表明,在肾血管损伤中,SPARC 基因 mRNA 及蛋白也明显过度表达^[12]。

3 SPARC 分子结构特点与生理功能

人 SPARC 位于染色体 5q31-5q33, mRNA 由于间接方法不同而长度各异,其 cDNA 编码一个由 286 个氨基酸组成的蛋白质。Maurer 等^[13]把 SPARC 分为 3 个区域:I 区为酸性钙离子结合区域;II 区为同卵泡静止素同源的 Cu 离子结合区域(FS 区);III 区为细胞外与钙离子高亲和力结合的区域(EC 区),参与 SPARC 与胶原、内皮细胞的钙依赖性结合。主要功能如下:

3.1 抗粘附作用

SPARC 作为细胞外基质中一种分泌型糖蛋白,①能够诱导体外培养的内皮细胞和成纤维细胞变

圆;②能够改变细胞骨架元件(肌动蛋白)的分布,而减少局部粘附;③能够增强内皮细胞的通透性而损害其屏障功能。Motamed等^[14]研究表明,人体内酪氨酸激酶的活性是导致内皮细胞粘附力改变的重要因素之一。

3.2 调节细胞增殖周期

研究证明,SPARC能够直接抑制内皮细胞合成DNA,使细胞增殖停滞于G1期,但Ledda等^[15]实验发现,SPARC对黑色素瘤细胞没有生长抑制作用。研究显示,在纤维母细胞瘤内,SPARC能与的血小板源性生长因子(PDGF)相结合,而调节细胞的增殖。Kupption等^[16]研究发现,SPARC还能通过与VEGF直接结合,而抑制VEGF介导的有丝分裂。此外,SPARC还可通过减少酪氨酸蛋白激酶磷酸化的活性而减弱VEGF的作用。

3.3 调节组织分化和胚胎发育

SPARC通过重构ECM和结合生长因子而影响细胞分化,尤其是损伤的组织,其在组织分化和胚胎发育方面起着重要作用。机体受损或者恶变的组织中SPARC基因高表达,如角膜损伤。研究证实,人角化细胞中,SPARC明显表达但有限制性;衰老实验模型中,SPARC的信使RNA转录增强。由于发现鼠胚胎中的SPARC广泛分布,如心脏原基细胞等,有学者^[17]就设想SPARC对胚胎的正常发育和组织分化可能有很重要的作用。但Gilmour等^[18]研究发现,许多小鼠即使缺乏SPARC,亦可正常发育至六个月大,之后才发现此类小鼠会有白内障或者晶体囊破裂为特征的眼病,但不致死,其中原因可能为小鼠机体内SPARC的功能被SC1、QR1等蛋白家族中相关功能蛋白所替换。

4 SPARC调控动脉稳态平衡

近年来研究表明,细胞外基质的破裂可能是IA形成的病理生理学表现,在许多破裂的动脉瘤壁的细胞外基质中结构蛋白减少。同时对IA患者的皮肤组织活检、颅内和颅外动脉的检测结果显示,同样证实了结构蛋白的降低^[19]。SPARC能够与细胞外基质蛋白相互作用,可以调节细胞外基质的重构,并证实,SPARC能够介导心梗后早期的细胞外基质的重塑^[20]。SPARC重塑细胞外基质的方向主要有以下几点:①SPARC与细胞外基质的胶原蛋白(包括I、Ⅲ、Ⅳ、V型)相结合,调控SPARC的生物活性,如抗粘附和抗增殖作用^[21,22],导致细胞外基质重塑;②SPARC还可以增加金属基质蛋白酶(包括

MMP-7、MMP-3、MMP-2和MMP-13)的产生和活性^[23],并可以降低MMP抑制剂TIMP的水平;敲除SPARC后,MMP-2、MMP-9和MMP-14表达下调^[24],而MMP可降解细胞外基质中的主要生物大分子。研究已证实,IA患者MMP的活性增高,MMP可能参与了动脉瘤的形成和发展;③在体内,SPARC还可以与玻璃体结合蛋白相互作用,他们对血管壁有共同的结合位点,对细胞粘附具有相反的作用,影响基质重塑^[25]。④SPARC还至少可以通过调控以下四种细胞生长因子的活性而调控细胞外基质的成分。如:研究证实鼠类的SPARC可以与PDGF-AB和PDGF-BB(血小板源生长因子)而不能与PDGF-AA相结合,抑制PDGF诱导的血管平滑肌细胞增殖,更重要的是,体外试验中,SPARC能够抑制PDGF-AA、PDGF-BB和PDGF-AB诱导的人平滑肌细胞增殖^[26];血管内皮生长因子(VEGF)与PDGF有20%的相似氨基酸序列,SPARC能够与VEGF结合,抑制VEGF诱导的人微血管内皮细胞(HMEC)的增殖和扩展。SPARC能够阻止VEGF与HMEC的高度亲和性,并且能阻止VEGF诱导的VEGFR1的磷酸化;SPARC能够调控纤维生长因子-2(FGF-2)的生物活性,SPARC可以抑制FGF-2引起的牛主动脉内皮细胞和HMEC的增殖。SPARC能够阻止HMEC和MM14肌原细胞FGF-2诱导的FGFR1的磷酸化;转化生长因子- β (TGF- β)与结缔组织的快速重塑有关,并且能够调控细胞外基质的表达。研究证实TGF- β 能够通过转录后机制扩大人成纤维细胞SPARC基因mRNA的水平,并且新近研究表明,SPARC能够扩大培养的小鼠肾小球膜细胞TGF- β 1的表达,因此这两种因子形成了一个正反馈环路影响彼此的生成^[27]。

5 展望

SPARC通过抗内皮细胞、平滑肌细胞的增殖、扩展和粘附,重构细胞外基质等方面调控机体的血管稳态平衡。需要进一步深入研究其与各种细胞外因子的相互作用,确定其在动脉瘤发病机制中对动脉稳态的作用,并期望其成为评估动脉瘤形成和破裂的有意义的生物学标志物及潜在的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Termine JD, Kleinman HK, Witson SW, et al. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. Cell, 1981, 26(1):99-105.
- [2] Piazuelo E, Jimenez P, Lanos A, et al. Platelet-derived

- growth factor and epidermal growth factor play a major role in human colonic fibroblast repair activities. *Eur Surg Res*, 2000,32(3):191-196.
- [3] Kawaguchi H, Nakamura K, Tabata Y, et al. Acceleration of fracture healing in nonhuman primates by fibroblast growth factor-2. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(2): 875-880.
- [4] Kishi K, Nakajima H, Tajima S. Differential responses of collagen and glycosaminoglycan syntheses and cell proliferation to exogenous transforming growth factor beta 1 in the developing mouse skin fibroblasts in culture. *Br J Plast Surg*, 1999, 52(7):579-582.
- [5] Street J, Bao M, deGuzman L, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(15):9656-9661.
- [6] Meltem BK, Tanyel FC, Sevda M, et al. The preventive effect of heparin on stricture formation after caustic esophageal burns. *J Pediatr Surg*, 1999, 34(2):291-294.
- [7] Rahme RJ, Batjer HH, Bendok BR. Multiplicative impact of smoking and genetic predisposition on intracranial aneurysm formation. *Neurosurgery*, 2010, 67(2):15-16.
- [8] Biros E, Golledge J. Meta-analysis of whole-genome linkage scans for intracranial aneurysm. *Neurosci Lett*, 2008, 431(1):31-35.
- [9] Xu HW, Yu SQ, Mei CL, et al. Screening for intracranial aneurysm in 355 patients with autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Stroke*, 2011,42(1):204-206.
- [10] Wang W, Mei C, Tang B, et al. Aberrant expression of SPARC and its impact on proliferation and apoptosis in ADPKD cyst-lining epithelia. *Nephrol Dial Transplant*, 2006,21(5):1278-1288.
- [11] Peter DG, Kassa AB, Feingold E, et al. Molecular anatomy of an intracranial aneurysm: coordinated expression of genes involved in wound healing and tissue remodeling. *Stroke*, 2001,32(4):1036-1042.
- [12] Pichler RH, Hugo C, Shankland SJ, et al. SPARC is expressed in renal interstitial fibrosis and in renal vascular injury. *Kidney Int*, 1996, 50(6):1978-1989.
- [13] Maurer P, Hohenadl C, Hohenester E, et al. The C-terminal portion of BM-40 (SPARC/osteonectin) is an autonomously-folding and crystallisable domain that binds calcium and collagen IV. *J Mol Biol*, 1995,253(2):347-357.
- [14] Motamed K and Sage EH. SPARC inhibits endothelial cell adhesion but not proliferation through a tyrosine phosphorylation-dependent pathway. *J Cell Biochem*, 1998,70(4):543-552.
- [15] Ledda F, Bravo AI, Adris S, et al. The expression of the secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is associated with the neoplastic progression of human melanoma. *J Inv Dermatol*, 1997,108(2):210-214.
- [16] Kupprion C, Motamed K, Sage EH. SPARC (BM-40, osteonectin) inhibits the mitogenic effect of vascular endothelial growth factor on microvascular endothelial cells. *J Biol Chem*, 1998, 273(45):29635-29640.
- [17] Mason IJ, Murphy D, Munke M, et al. Developmental and transformation-sensitive expression of the Sparc gene on mouse chromosome 11. *EMBO J*, 1986,5(8):1831-1837.
- [18] Gilmour DJ, Lyon GJ, Carlon MB, et al. Mice deficient for the secreted glycoprotein SPARC/osteonectin/BM40 develop normally but show severe age-onset cataract formation and disruption of the lens. *EMBO J*, 1998,17(7):1860-1870.
- [19] Xiang J, Natarajan SK, Tremmel M, et al. Hemodynamic-morphologic discriminants for intracranial aneurysm rupture. *Stroke*, 2011,42(1):144-152.
- [20] McCurdy SM, Dai Q, Zhang J, et al. SPARC mediates early extracellular matrix remodeling following myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(2):497-505.
- [21] Hohenester E, Sasaki T, Giudici C, et al. Structural basis of sequence-specific collagen recognition by SPARC. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008,105(47):18273-18277.
- [22] Capper D, Mittelbronn M, Goeppert B, et al. Secreted protein, acidic and rich in cysteine (SPARC) expression in astrocytic tumor cells negatively correlates with proliferation, while vascular SPARC expression is associated with patient survival. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2010,36(3):183-197.
- [23] Bradshaw AD. The role of SPARC in extracellular matrix assembly. *J Cell Commun Signal*, 2009,3(3-4):239-246.
- [24] Seet LF, Su R, Toh LZ, et al. In vitro analyses of the anti-fibrotic effect of SPARC silencing in human Tenon's fibroblasts: comparisons with mitomycin-C. *J Cell Mol Med*, 2011,3(10):1582-4934.
- [25] Seet LF, Su R, Barathi VA, et al. SPARC deficiency results in improved surgical survival in a novel mouse model of glaucoma filtration surgery. *PLoS One*, 2010, 5(2):e9415.
- [26] Raines EW, Lane TF, Iruela-Arispe ML, et al. The extracellular glycoprotein SPARC interacts with platelet-derived growth factor (PDGF)-AB and-BB and inhibits the binding of PDGF to its receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(4):1281-1285.
- [27] McCurdy S, Baicu CF, Heymans S, et al. Cardiac extracellular matrix remodeling: fibrillar collagens and Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine (SPARC). *J Mol Cell Cardiol*, 2010,48(3):544-549.