

透明质酸与血管病变的研究进展

杨兴文¹ 综述, 李伟华² 审校

(1.宁夏医科大学检验学院,宁夏银川市 750003; 2.甘肃省人民医院中心实验室,甘肃省兰州市 730000)

[关键词] 透明质酸; 血管病变; 动脉粥样硬化; 糖尿病

[摘要] 细胞外基质(ECM)在器官的形成、生长、功能和许多人类疾病中起重要作用。透明质酸(HA)是细胞外基质的主要成份之一,对肿瘤细胞的生长、分化、转移及血管新生有重要作用。在损伤部位 HA 碎片通过各种免疫细胞刺激炎症基因的表达。大血管和微血管病变是很多疾病,如糖尿病的主要并发症,由于代谢与 HA 合成之间紧密相关,有可能 HA 与糖尿病等疾病有紧密联系。血管平滑肌细胞源性的 HA 促进血管损伤后新内膜的形成,HA 可能是潜在的治疗心血管疾病的靶标。文章主要综述 HA 与血管病变的关系。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Progress in the Research of Hyaluronic Acid and Vascular Disease

YANG Xing-Wen¹, and LI Wei-Hua²

(1. Inspection Institute of Ningxia Medical University, Yinchuan, Ningxia 750003, China; 2. Central Laboratory, People's Hospital of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730000, China)

[KEY WORDS] Hyaluronic Acid; Vascular Disease; Atherosclerosis; Diabetes

[ABSTRACT] Extracellular matrix (ECM), formed in organ growth, plays an important role in many human diseases. Hyaluronic acid (HA) is one of the main components of the ECM, which plays an important role in tumor cell growth, differentiation, metastasis and angiogenesis. The expression of inflammatory genes is stimulated by various immune cells to stimulate the expression of HA in the damaged site. Macro- and microangiopathies are the major complications of many diseases such as diabetes, due to the close contact between the metabolism and HA synthesis, and it is possible to make HA and diabetes and other diseases have close contact. Vascular smooth muscle cell (VSMC) derived HA promotes the formation of new intima after vascular injury, and HA may be a potential target for the treatment of cardiovascular disease. This article mainly reviewed the relationship between HA and vascular disease.

心脑血管疾病已成为危害中国及世界人口健康的“第一杀手”,如何提高心脑血管疾病的诊治和预防水平已成为迫切需要解决的重大医学和社会问题。而这些疾病共同的病理基础都是血管病变,即血管功能及结构异常。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在器官的形成、生长、功能和许多人类疾病中起重要作用。透明质酸(hyaluronan, HA)是ECM的主要成份之一,对炎症和肿瘤细胞的生长、分化、转移及血管新生有重要作用。本文重点关注HA与血管病变的关系,从HA与大血管病变、HA与动脉粥样硬化(As)、HA与糖尿病血管并发症三

个层面来说明,现综述如下。

1 透明质酸

1.1 透明质酸

ECM在器官的形成、生长、功能和许多人类疾病中起重要作用。HA是ECM的主要组成成分,是一个非硫酸化的由单位D-葡萄糖醛酸及N-乙酰葡萄糖胺组成的高级多糖。D-葡萄糖醛酸及N-乙酰葡萄糖胺之间由 β -1,3-配糖键相连,双糖单位之间由 β -1,4-配糖键相连。双糖单位可达25000之多,带负

[收稿日期] 2016-01-04

[修回日期] 2016-03-25

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81460155/H0705)

[作者简介] 杨兴文,硕士研究生,主要从事血管疾病的生物化学及分子生物学研究,E-mail 为 yangxingwen199051@163.com。通讯作者李伟华,博士,教授,硕士研究生导师,主要从事自由基与炎症、糖尿病血管并发症等疾病的研究,E-mail 为 liwhsl@163.com。

电荷,电子显微镜下观察证实 HA 为一线性单链。在体内 HA 的分子量从 5000 Da 到 20000 kDa。1934 年,美国哥伦比亚大学眼科教授 Meyer 和 Palmer 于牛眼晶状体中首先发现了 HA^[1]。HA 广泛分布于低等生物如从简单的细菌到复杂的真核生物。在人类,HA 广泛地存在于眼睛的玻璃体中、脐带、关节液、心脏瓣膜、皮肤和骨组织中。大量研究证明 HA 除具有保水作用外,还具有调节渗透压、维持组织形态、屏障扩散、润滑关节和缓冲应力等生理功能。更为重要的是,HA 能够被特定的细胞受体识别,如 CD44^[2],从而调控细胞的黏附、生长、分化和激活特异性细胞类型,调控免疫反应、血管化和愈合过程。

1.2 透明质酸合成

HA 是由质膜内表面上膜结合的合酶合成的,并且它的链通过孔状结构被挤入细胞外空间。HA 的合成依赖于透明质酸合成酶(hyaluronan synthase, HAS)的作用。酶使用 UDP- α -N-乙酰基-D-葡糖胺和 UDP- α -D-葡糖醛酸作为底物。HA 在机体内分布广泛。哺乳动物有三种 HAS 分别是:HAS-1、HAS-2 和 HAS-3。三种酶测得的基因序列证明它们有 7 个相同的跨膜区域和 1 个细胞内区域,这些区域与蛋白激酶 C 结合而磷酸化。研究发现^[3]三种酶在组织中的活性各不相同。HAS-1 活性最低,作用较弱,主要合成大分子量 HA (2000 kDa)。HAS-2 是活性较强的合成酶,参与高分子量 HA (high molecular weight, HMW-HA) (1000 kDa) 合成。HAS-3 合成的 HA 比通过 HAS-1 和 HAS-2 合成的 HA 分子量要小。HAS-3 是活性最强的酶,主要合成短链的 HA (100~1000 kDa)。HAS-3 的活性表达,提示组织合成大量的低分子量 HA (low molecular weight, LMW-HA),参与细胞壁的合成及与 HA 受体 CD44 结合传递信息,改变细胞的功能^[4]。

2 透明质酸与血管病变

2.1 透明质酸与大血管病变

大血管疾病是一类很凶险的疾病,发病急,进展快,病死率高。这些血管的口径大、管径粗,且具有很强的功能,人体所有组织器官的血液供应都来源于它们。心脑血管疾病(如冠心病、心肌梗死、高血压、脑卒中)的共同病理基础是血管病变,是由于血管功能及结构异常导致的血管病理性改变。血管病变也是心脑血管疾病、肺动脉高压、脏器损伤等多种重大慢性疾病的共同病理学基础。近二、三十年中,心脏病学专家在研究 As、冠心病机制以及

冠心病预防的临床试验中发现:多种炎症细胞、炎症介质参与了 As 和血栓形成。研究认为大血管病变是一种慢性炎症反应性疾病。炎症过程中涉及到多种因素以不同的形式参与血管疾病的发生、发展。也有学者认为血管稳态失衡与血管重构是血管病变的关键。ECM 如各种胶原、HA、弹力纤维、蛋白聚糖与糖蛋白等,是血管中占比最大的组成成分。这些成分交织成网,组成一个动态平衡的细胞外微环境,共同维持血管的正常结构与功能。研究发现,不同心血管疾病状态下,或同一种心血管疾病的不同进程,ECM 的改变各不相同,从而影响了细胞从外向内的信号传导。此外,ECM 的降解产物又可能通过新的配体,发挥新的生物学功能^[5]。HA 是 ECM 的主要成份之一,在血管形成、血管重塑中有重要作用。

HA 由葡萄糖醛酸和乙酰氨基葡萄糖双糖重复单元组成,其分子量可高达上百万,HA 的生理功能和应用特性与其分子量、分子量分布等分子参数密切相关。相对分子量(relative molecular mass, Mr) > 2×10^6 的 HMW-HA,具有较好的粘弹性、保湿性、抑制炎症反应、润滑等功能。Mr 在 $(1 \sim 8) \times 10^4$ 之间的 LMW-HA 和 Mr < 1×10^4 的 HA 寡聚糖(o-HA)具有抗肿瘤、促进伤口愈合、促进血管生成、免疫调节等作用。已证明 HA 对生理和病理的影响取决于其链的长度^[6-7]。HMW-HA (Mr > 500 kDa) 是在生理条件下的主要类型,广泛存在于正常人组织中。HMW-HA 具有抗炎作用,降低巨噬细胞的吞噬作用,可减少单核细胞和其他细胞释放细胞因子,限制氧化损伤及细胞凋亡。4-甲基伞酮抑制 HA 合成将增加实验动物 As 发生率。然而,它在炎症和组织损伤中的片段(这些 HA 片段即 LMW-HA, Mr < 500 kDa) 发挥血管生成和促炎效应。此外,LMW-HA 在损伤组织中分解代谢引起炎症反应和适当免疫应答,还可引起树突细胞释放促炎因子、白细胞介素 1B (Interleukin-1B, IL-1B)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)、IL-6 和 IL-12,它们促进细胞迁移、增殖并诱导基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)活化。血管平滑肌细胞中 HA 的过量表达增强了血管损伤后新生内膜的形成。Kashima 等^[8]通过对过表达鼠 HAS-2 特别是在血管平滑肌细胞过表达鼠 HAS-2 的条件转基因(CTG)小鼠和血管平滑肌细胞源性 HA 作用的研究表明,血管平滑肌细胞源性的 HA 促进血管损伤后新生内膜的形成,HA 可能是潜在的治疗心血管疾病的靶标。

综上所述,HA 对大血管病变具有保护作用,其

作用与 HA 分子量大小有关。HMW-HA 对血管的保护作用与其抗炎作用密切相关。HMW-HA 除具有抗炎作用外,还可降低巨噬细胞的吞噬作用,减少单核细胞和其他细胞释放细胞因子,限制氧化损伤及细胞凋亡。但是 HMW-HA 抑制炎症反应的机制和信号通路尚不清楚,有待进一步研究。

2.2 透明质酸与动脉粥样硬化

As 是一种累及体循环大、中动脉的以脂质沉积和炎症反应为主要特征的血管疾病,多种血管壁细胞如内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞和淋巴细胞介入 As 的发生发展。血管性疾病是由血管内皮细胞功能障碍引发的动脉的病理状态。由于多种因素作用如病原体、氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)颗粒和其他炎症刺激因子等使内皮细胞活化,并开始在其表面上合成促炎分子如细胞因子、趋化因子和表达黏附分子,由此增强了在血管壁渗透的循环免疫细胞(如单核细胞、淋巴细胞)的募集。由于内皮细胞因子和免疫细胞浸润,平滑肌细胞开始增殖并朝着血管内腔迁移。然而,平滑肌细胞分泌多种 ECM 分子如 HA 和 ECM 降解酶(包括 MMP)导致血管壁的增厚。粥样硬化斑块组成包括增殖的平滑肌细胞、巨噬细胞和各种类型的淋巴细胞,因而阻碍血流,导致周围组织氧气和营养物质的量减少。最终斑块可能破裂导致血栓的形成^[9-10]。Kashima 等^[8]研究发现 HA 在人 As 斑块显著表达。

HA 和蛋白多糖聚糖参与血管重塑^[11]。聚糖是一种蛋白多糖,与 HA 相互作用在血管内 ECM 形成大量聚集体。通过多种方式,聚糖可以介导结合细胞因子、酶、脂蛋白及其他 ECM 分子和信号受体^[12-13]。HA/聚糖在人球囊血管成形术后、人颞动脉的假性动脉瘤、晚期的人类 As 斑块、斑块血栓接口、再狭窄病变中增加,表明可能在血栓形成过程中发挥作用^[14-15]。

血管增厚与增殖、迁移、去分化和血管平滑肌细胞密切相关,表明了这些 ECM 分子在控制平滑肌行为方面的作用。有趣的是,内皮细胞在促炎性细胞因子刺激后可以合成 HA,改变黏附能力和免疫细胞的募集。HA 的关键促 As 性能有很多方式表现。体外实验表明^[8],LMW-HA 诱导血管平滑肌细胞活化、迁移、增殖及产生炎性细胞因子和活性氧(reactive oxygen species, ROS)。转基因 HAS-2 小鼠显示出损伤后内膜加速形成,然而通过使用 4-甲基伞形酮抑制 HA 形成则表现出减缓新生内膜形成。在体外实验中,4-甲基伞形酮阻断血管平滑肌细胞增殖、迁移,并诱导其凋亡。此外,通过用 HMW-HA

处理细胞来抑制细胞凋亡明显恢复了细胞活力。CD44 基因敲除小鼠缺乏主要的 HA 受体,被保护防止 As。

ox-LDL 是 As 形成和发展过程中的重要危险因素。ox-LDL 可诱导巨噬细胞在斑块内富集并转化为泡沫细胞,也能诱导免疫反应并促进分泌炎症因子进一步激活巨噬细胞加剧炎症反应。ox-LDL 具有细胞毒性能够损伤内皮组织促进血小板黏附,在进展期斑块能导致细胞坏死。研究发现 ox-LDL 能够激活 MMP,增加胶原降解,进而诱导斑块不稳定。用 ox-LDL 处理平滑肌细胞显著诱导 HA 在体外分泌以及细胞增殖和迁移。有趣的是,阻断清道夫受体 LOX-1^[16]降低了 HA 的合成并且抑制了细胞迁移^[17]。这些证据表明 HA 有促进 As 的作用。因此更好地了解其生成的调节机制可能对限制 HA 合成,以抵消血管增厚是很有帮助的。

综上所述,促进 As 的 HA 主要是 LMW-HA,而 HMW-HA 发挥与 LMW-HA 截然相反的作用。HA 促进 As 可能与 HA-CD44 信号密切相关,有目标地阻断 HA-CD44 可能为今后 As 的治疗提供新的思路。

2.3 透明质酸与糖尿病血管病变

糖尿病(diabetes mellitus, DM)目前已在全球范围内流行,成为发展中国家和发达国家严重危害人类健康和生命的疾病,其主要危害在于慢性并发症的发生。大血管和微血管病变是 DM 主要的并发症。糖尿病大血管病变包括脑血管疾病、冠心病(coronary heart disease, CHD)和周围血管疾病;糖尿病微血管病变包括糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)和糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)。由于代谢与 HA 合成之间紧密相关,有可能 HA 与糖尿病也有一定的相关性。在糖尿病患者的血清中,HA 含量和血管 HA 染色是升高的^[18]。类似的结果发现在猪糖尿病模型和高糖培养的平滑肌细胞(模拟糖尿病)^[19]。另外,肾病也与糖尿病相关。已知在高血糖状态下大鼠肾小球系膜细胞合成 HA 增加,并且依赖 HA 免疫细胞开始募集^[20-22]。有趣的是,最近发现的证据也表明 HA 涉及胰岛炎症,突显出 HA 在 1 型 DM 发病机制中的一个潜在作用^[23-24]。

HA 也涉及糖尿病溃疡,有利于愈合过程^[25]。糖尿病足占所有非创伤性截肢的 50%。周围神经病变和血管病变被认为是导致慢性足部溃疡的主要因素^[26]。用 HA 或 HA 工程支架(主要由 HA 苯酯组成)与培养的自体成纤维细胞和角质形成细胞

通过支持细胞的增殖和迁移,促进愈合过程,但也引起组织水化^[27]。

已知依赖二酰基甘油的蛋白激酶 C(PKC)各亚型在糖尿病动物微血管细胞的培养中被激活。这是由于在高血糖条件下 DAG 的水平增加。众所周知 PKC 活化增强了 HA 合成^[28],很显然,在糖尿病条件下 PKC 是 HA 积累的一个可能原因^[29]。HA 很可能是糖尿病血管并发症的一个重要因素,但是其与糖尿病并发症的关系目前还不十分清楚,有待进一步研究。

3 展 望

大血管和微血管病变是很多疾病如糖尿病的主要并发症,由于代谢与 HA 合成之间紧密相关,有可能 HA 与糖尿病血管病变等有紧密联系。然而 HA 在炎症和血管损伤间的分子机制尚待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Meyer K, Palmer J W. The polysaccharide of the vitreous humor[J]. *J Biol Chem*, 1934, 107(3): 629-634.
- [2] Toole B P. Hyaluronan-CD44 interactions in cancer: paradoxes and possibilities[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(24): 7462-468.
- [3] Itano N, Kimata K. Mammalian hyaluronan synthases[J]. *IUBMB Life*, 2002, 54(4): 195-199.
- [4] Wijnand K, Cheng C, Pasterkamp G, et al. Toll like receptor 4 in atherosclerosis and plaque destabilization [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 209(2): 314-320.
- [5] Gao J, Sun L, Huo L, et al. CYLD regulates angiogenesis by mediating vascular endothelial cell migration [J]. *Blood*, 2010, 115(20): 4130-137.
- [6] Almond A. Hyaluronan[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64(13): 1591-596.
- [7] Jiang D, Liang J, Noble P W. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases[J]. *Physiol Rev*, 2011, 91(1): 221-264.
- [8] Kashima Y, Takahashi M, Shiba Y, et al. Crucial role of hyaluronan in neointimal formation after vascular injury[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58760.
- [9] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(9): 2045-051.
- [10] Libby P, Ridker P M, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2002, 105(9): 1135-143.
- [11] Wight T N. Arterial remodeling in vascular disease: a key role for hyaluronan and versican[J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 4933-937.
- [12] Kenagy R D, Min S K, Clowes A W, et al. Cell Death-associated ADAMTS4 and Versican Degradation in Vascular Tissue[J]. *J Histochem Cytochem*, 2009, 57(9): 889-897.
- [13] Kenagy R D, Plaas A H, Wight T N. Versican degradation and vascular disease [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2006, 16(6): 209-215.
- [14] Kolodgie F D, Burke A P, Farb A, et al. Differential accumulation of proteoglycans and hyaluronan in culprit lesions insights into plaque erosion [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, 22(10): 1642-648.
- [15] Kolodgie F D, Burke A P, Wight T N, et al. The accumulation of specific types of proteoglycans in eroded plaques: a role in coronary thrombosis in the absence of rupture[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2004, 15(5): 575-582.
- [16] Kita T, Kume N, Yokode M, et al. Oxidized-LDL and atherosclerosis: role of LOX-1[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 902(1): 95-102.
- [17] Viola M, Bartolini B, Vigetti D, et al. Oxidized low density lipoprotein (LDL) affects hyaluronan synthesis in human aortic smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(41): 29595-603.
- [18] Morita M, Yano S, Ishibashi Y, et al. Close relationship between serum hyaluronan levels and vascular function in patients with type 2 diabetes[J]. *Biomarkers*, 2014, 19(6): 493-497.
- [19] Sainio A, Jokela T, Tammi M I, et al. Hyperglycemic conditions modulate connective tissue reorganization by human vascular smooth muscle cells through stimulation of hyaluronan synthesis [J]. *Glycobiology*, 2010, 20(9): 1117-126.
- [20] Wang A, Hascall V C. Hyaluronan structures synthesized by rat mesangial cells in response to hyperglycemia induce monocyte adhesion[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(11): 10279-285.
- [21] Lewis A, Steadman R, Manley P, et al. Diabetic nephropathy inflammation, hyaluronan and interstitial fibrosis [J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23(6): 731-739.
- [22] Wang A, de la Motte C, Lauer M, et al. Hyaluronan matrices in pathobiological processes [J]. *FEBS J*, 2011, 278(9): 1412-418.
- [23] Bogdani M, Johnson P Y, Potter-Perigo S, et al. Hyaluronan and hyaluronan-binding proteins accumulate in both human type 1 diabetic islets and lymphoid tissues and associate with inflammatory cells in insulinitis[J]. *Diabetes*, 2014, 63(8): 2727-743.
- [24] Bogdani M, Korpos E, Simeonovic C J, et al. Extracellular matrix components in the pathogenesis of type 1 diabetes[J]. *Curr Diab Rep*, 2014, 14(12): 1-11.
- [25] Chen C P, Hung W, Lin S H. Effectiveness of hyaluronic acid for treating diabetic foot: a systematic review and meta-analysis [J]. *Dermatol Ther*, 2014, 27(6): 331-336.
- [26] Rathur H M, Boulton A J. Pathogenesis of foot ulcers and the need for offloading[J]. *Horm Metab Res*, 2005, 37: 61-68.
- [27] Andrews K L, Houdek M T, Kiemele L J. Wound management of chronic diabetic foot ulcers: from the basics to regenerative medicine[J]. *Prosthet Orthot Int*, 2015, 39(1): 29-39.
- [28] Wang H S, Tung W H, Tang K T, et al. TGF- β induced hyaluronan synthesis in orbital fibroblasts involves protein kinase C β II activation in vitro[J]. *J Cell Biochem*, 2005, 95(2): 256-267.
- [29] Hascall V C, Wang A, Tammi M, et al. The dynamic metabolism of hyaluronan regulates the cytosolic concentration of UDP-GlcNAc [J]. *Matrix Biol*, 2014, 35: 14-17.

(此文编辑 许雪梅)