

# 脂联素对内皮祖细胞的作用及其在脑卒中治疗方面的意义

张仁伟 刘煜敏

【中图分类号】 R743.3    【文献标识码】 A    【文章编号】 1007-0478(2015)05-0320-03  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2015.05.020

内皮祖细胞(Endothelial progenitor cells, EPCs)是血管内皮的前体细胞,能增殖并分化为血管内皮细胞。血管内皮的损伤是脑血管疾病发生和发展的始动环节,多种病理因素如高血压病、高血糖、高脂血症等都会损伤血管内皮,影响血管内皮功能。近年来,大量研究表明内皮祖细胞能够修复缺血性脑卒中导致的血管内皮损伤,促进血管形成,并能改善脑卒中患者的预后。

脂联素(Adiponectin, APN)是一种脂肪因子,目前研究表明脂联素在抗炎、调节血脂、抗动脉粥样硬化、改善胰岛素抵抗、促进血管形成等方面发挥着广泛的生物学效应。本研究就脂联素对内皮祖细胞的作用及其在缺血性脑血管疾病治疗方面的意义进行综述。

## 1 脂联素

脂联素一种主要是由脂肪组织合成和分泌蛋白质。由于它的结构和补体分子 C1q 家族并和胶原 VIII 和 X 相似,也被称作 GBP28, apM1, AdipoQ 和 ACRP30。1995 年 Scherer 等首先从鼠的脂肪细胞分离出脂联素<sup>[1]</sup>。脂联素在血浆中的含量 5~30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,是血浆中含量最丰厚的脂肪因子。人脂联素基因位于染色体 3q27 上,基因全长约 15.8 kb,包括 3 个外显子和 2 个内含子。人脂联素相对分子质量约  $30 \times 10^3$ ,由 244 个氨基酸组成,有 4 个功能区,包括 N 端信号序列、氨基端非螺旋功能区、胶原蛋白区以及 c 端球形结构域(gAcrp)。脂联素主要有 AdipoR1、AdipoR2 及 T 型钙粘蛋白(T-cadherin)三种受体。AdipoR1 和 AdipoR2 被认为有七跨膜结构,但是实际上在结构、拓扑及功能方面和 G 蛋白偶联受体截然不同<sup>[2]</sup>。脂联素受体在人、啮齿动物及其他哺乳动物的肝、肌肉、心脏、脂肪组织、成骨细胞、胰腺、白细胞、脑组织等中都有表达。其中,AdipoR1 在骨骼肌中表达丰富,而 AdipoR2 主要表达于肝细胞中。T-cadherin 在脉管系统中表达丰富,而在肌肉中表达水平较低。在循环中脂联素主要是以低聚复合物形式存在,包括低分子量(LMW)三聚体、中等分子量六聚体(MMW)和较大的高

分子量(HMW)脂联素形式<sup>[3]</sup>。研究证实 HMW 脂联素在胰岛素抵抗、腹型肥胖、基础脂质氧化方面是主要的活性形式,是代谢综合征(MS)的生物标志<sup>[4]</sup>。

## 2 内皮祖细胞

内皮祖细胞是 Asahara 等首次从人的外周血中用免疫磁珠法分离出来,这种细胞在体外能增殖、转化为血管内皮细胞,因此将其称为内皮祖细胞<sup>[5]</sup>。从胚胎发生学来看,内皮祖细胞和造血干细胞共同来源于中胚层的一种祖细胞——造血管母细胞(Hemangioblast),造血血管母细胞在卵黄囊血岛中分化,周边的细胞分化为扁平的内皮祖细胞,而中央部分细胞则分化为造血干细胞。目前尚未发现内皮祖细胞特异性标志物,多认为内皮祖细胞的定义是共表达 CD133、CD34、VEGFR2(血管内皮生长因子受体-2)及 KDR(激酶插入区受体)等细胞表面标志<sup>[6-7]</sup>。然而用来区分内皮祖细胞的表面标志(包括 CD31+、CD34+、VE-、VEGFR+、Tie-2+及在人体内 CD133+)和成熟内皮细胞有重叠(除了 CD133)<sup>[8]</sup>。内皮祖细胞可以从骨髓、外周血、脐带血中分离提取到。其中骨髓起源的内皮祖细胞是成血管细胞,它被认为在内源性血管修复和保持内皮完整性过程中起重要作用。内皮祖细胞是血管内皮的前体细胞,因此具有普通干细胞和造血的特性,并能够循环在外周血中。当内皮祖细胞受到各种因素刺激后能够从骨髓中向外周循环血液中迁移,循环中的内皮祖细胞能够定向归巢到缺血部位<sup>[5]</sup>,进行增殖分化,参与生理性和病理性血管形成<sup>[9]</sup>。

## 3 脂联素对内皮祖细胞的作用

### 3.1 脂联素增加内皮祖细胞数量,增强迁移能力

在病理条件下机体内皮祖细胞数量减少,迁移能力减弱<sup>[10-11]</sup>,脂联素能通过多种途径增加内皮祖细胞数量,增强迁移能力。Shibata 等通过内皮祖细胞集落形成实验及流式细胞仪检测外周血和骨髓内皮祖细胞实验证实,野生型(WT)大鼠和脂联素基因敲出(APN-KO)大鼠实施肢体缺血实验前循环血液中内皮祖细胞没有差异;实施肢体缺血试验 7 d 后 WT 组内皮祖细胞数量增加明显,而 APN-KO 组增加极少或无增加;通过尾静脉注射携带脂联素基因的慢病毒载体,APN-KO 组大鼠外周和骨髓中内皮祖细胞都显著增

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81371273)

作者单位:430070 武汉大学中南医院神经内科[张仁伟 刘煜敏(通信作者)]

加<sup>[12]</sup>。Ouchi 等认为脂联素通过激活 AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK) 依赖和非依赖细胞内皮一氧化氮合酶 (eNOS) 磷酸化途径诱导内皮细胞 NO 生成, 由于内皮祖细胞动员依赖 eNOS<sup>[14]</sup>, 因此脂联素可能通过诱导 eNOS 生成, 从而增加内皮祖细胞数量。Nakamura 等实验发现脂联素组内皮祖细胞迁移数量是空白对照组的 7 倍, 并且内皮祖细胞迁移活性与脂联素呈剂量依赖性<sup>[15]</sup>。通过实验证实脂联素通过 PI3-k/Cdc42/Rac1 通路促进内皮祖细胞迁移。而 Huang 等认为球形脂联素能够通过上调 eNOS 活性, 增强 NO 生物利用度, 从而促进内皮祖细胞迁移; 并且注入球形脂联素能够通过 NO 和 p38 MAPK (有丝分裂原活化蛋白激酶) 相关机制逆转由于高血糖而受抑制的内皮祖细胞功能, 通过 p38 MAPK 途径增强 eNOS 的活性<sup>[16]</sup>。此外, 球形脂联素还可以通过作用于 AdipoR1 上调受高血糖抑制的内皮祖细胞功能和 eNOS 活性。

### 3.2 脂联素增强内皮祖细胞耐受凋亡能力

Eren 等将 WT 组和脂联素基因敲出 (apM1 - / -) 组骨髓单个核细胞放在含有十字孢碱或 C2 神经酰胺的培养液 (培养液中富含脂联素) 中培养 5 d, 用 DAPI 标记凋亡细胞, 他们发现 WT 组骨髓单个核细胞能够显著耐受凋亡, 和对照组比较凋亡下降 80%<sup>[17]</sup>。相比较而言, apM1 - / - 组细胞抗凋亡能力不到 WT 组的一半, 和对照组比较凋亡下降 60%。通过蛋白印迹法评估抗凋亡蛋白表达情况, 他们发现脂联素抗凋亡的原因是诱发特殊的内源性激酶抑制剂 X-连锁抑制剂 (XIAP), 而不是细胞抑制剂凋亡蛋白 2 (cIAP2) 及 survivin。

P38MAPK 在高血糖下调内皮祖细胞数量过程中起到重要作用<sup>[18]</sup>, 这种激酶被证实能够通过诱导衰老相关周期蛋白依赖激酶抑制剂 p16INK4A 表达, 抑制内皮祖细胞增殖并能够促进内皮祖细胞衰老<sup>[19-20]</sup>。Chang 等证实脂联素能够通过抑制 ROS/p38 MAPK/p16INK4A 通路阻止内皮祖细胞衰老凋亡<sup>[21]</sup>。

### 3.3 脂联素促进内皮祖细胞分化

从骨髓中游离到外周血的内皮祖细胞能够定向归巢, 并增殖分化, 从而对损伤血管进行修复。脂联素可以通过一系列信号转导途径促进内皮祖细胞增殖分化。Shibata 等研究发现 APN-KO 大鼠肢体缺血部位血管修复能力较 WT 大鼠减弱, 补充脂联素后血管能力改善<sup>[22]</sup>; WT 大鼠补充外源性脂联素后血管修复能力较对照组增强, 血管修复速度增快; 并发现脂联素促进血管形成的机制是激活 AMPK 相关的信号通路<sup>[22]</sup>。Ouchi 等研究认为生理剂量的脂联素能够促进类毛细血管结构形成<sup>[13]</sup>。其机制是脂联素激活 AMPK, AMPK 反过来促进 Akt 激活和 eNOS 磷酸化, 从而促进血管形成。PI3-k 在脂联素介导 Akt 活化过程中具有重要作用。AMPK 和 Akt 两者都能直接磷酸化 eNOS, 而 Akt 或 PI3-k 抑制剂能够抑制脂联素诱导 eNOS 磷酸化, 却并不干扰 AMPK 激活。

## 4 脂联素对内皮祖细胞的作用在缺血性脑血管病方面的意义

内皮祖细胞能够定向归巢到缺血部位, 并增殖分化为血管内皮细胞, 参与血管修复。大量研究表明内皮祖细胞移植在治疗缺血性脑卒中方面具有重要作用<sup>[23-24]</sup>。内皮祖细胞能够促进血管形成, 改善缺血脑组织血供, 减小脑梗死体积, 改善大鼠行为学预后。但是在病理条件下如脑卒中、高血压病, 糖尿病等机体内皮祖细胞数量明显减少, 迁移及增殖分化功能受损<sup>[10-11]</sup>, 同时有实验观察到内皮祖细胞定向归巢能力在糖尿病大鼠体内明显减弱<sup>[14]</sup>。此外, 也有研究发现内皮祖细胞数量是血管损伤的一个标志, 内皮祖细胞数量增加和良性预后相关。Bogoslovsky 等认为急性脑卒中患者循环血液中内皮祖细胞数量较低预示着较大的损伤体积, 而内皮祖细胞数量增加和较小的梗死体积及更小程度的梗死进展相关<sup>[25]</sup>。尽管患者有大量的危险因素比如合并其他疾病及药物治疗等可能影响内皮祖细胞在脑卒中患者体内的数量, 但是数量增加更多的内皮祖细胞数量往往对更小的急性损伤体积、梗死体积及损伤进展体积有预示作用。脂联素可以通过多种途径增加循环中内皮祖细胞数量, 增强迁移能力, 增强抗凋亡能力, 并能促进分化, 使内皮祖细胞更好地发挥血管保护作用, 从而能够达到降低脑卒中患者的致死率、致残率, 改善脑卒中预后的目的。

## 5 总结与展望

内皮祖细胞移植治疗缺血性脑血管病是新兴脑血管病研究领域, 并且是富有前景的治疗策略, 可能将成为未来治疗方法代表。但由于机体多种病理生理因素都会导致内皮祖细胞功能障碍, 数量减少, 不能有效发挥修复血管作用。脂联素能够显著增强内皮祖细胞功能, 而且脂联素本身对脑卒中有保护作用<sup>[26-27]</sup>, 因此把脂联素和内皮祖细胞紧密联系起来, 实现强强联合, 最大限度地利用内皮祖细胞及脂联素功能, 将对缺血性脑卒中的治疗产生重大意义。

## 参 考 文 献

- 1 Scherer PE, Williams S, Fogliano M, et al. A Novel Serum Protein Similar to C1q, Produced Exclusively in Adipocytes. *J Bio Chem*, 1995, 270(45):26746-26749.
- 2 Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, 2003, 423(6941):762-769.
- 3 Pajvani UB, Du X, Combs TP, et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *J Biol Chem*, 2003, 278(11):9073-9085.
- 4 Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, et al. Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster. *Diabetes*, 2006, 55(1):249-259.
- 5 Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of Putative Progenitor Endothelial Cells for Angiogenesis. *Science*, 1997,

- 275(5302):964-967.
- 6 Bertolini F, Mancuso P, Gobbi A, et al. The thin red line; angiogenesis in normal and malignant hematopoiesis. *Exp Hematol*, 2000, 28(9):993-1000.
- 7 Liman TG, Endres M. New vessels after stroke: postischemic neovascularization and regeneration. *Cerebrovasc Dis*, 2012, 33(5):492-499.
- 8 Goligorsky MS. Endothelial Progenitor Cells; From Senescence to Rejuvenation. *Semin Nephrol*, 2014, 34(4):365-373.
- 9 Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*, 1999, 85(3):221-228.
- 10 Loomans CJ, de Koning EJ, Staal FJ, et al. Endothelial progenitor cell dysfunction; a novel concept in the pathogenesis of vascular complications of type 1 diabetes. *Diabetes*, 2004, 53(1):195-199.
- 11 Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*, 2002, 106(22):2781-2786.
- 12 Shibata R, Skurk C, Ouchi N, et al. Adiponectin promotes endothelial progenitor cell number and function. *FEBS Lett*, 2008, 582(11):1607-1612.
- 13 Ouchi N, Kobayashi H, Kihara S, et al. Adiponectin stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in endothelial cells. *J Biol Chem*, 2004, 279(2):1304-1309.
- 14 Gallagher KA, Liu ZJ, Xiao M, et al. Diabetic impairments in NO mediated endothelial progenitor cell mobilization and homing are reversed by hyperoxia and SDF-1 alpha. *J Clin Invest*, 2007, 117(5):1249-1259.
- 15 Nakamura N, Naruse K, Matsuki T, et al. Adiponectin promotes migration activities of endothelial progenitor cells via Cdc42/Rac1. *FEBS Lett*, 2009, 583(15):2457-2463.
- 16 Huang PH, Chen JS, Tsai HY, et al. Globular adiponectin improves high glucose-suppressed endothelial progenitor cell function through endothelial nitric oxide synthase dependent mechanisms. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(1):109-119.
- 17 Eren P, Camus S, Matrone G, et al. Adiponectinemia controls pro-angiogenic cell therapy. *Stem Cells*, 2009, 27(11):2712-2721.
- 18 Seeger FH, Haendeler J, Walter DH, et al. p38 mitogen-activated protein kinase downregulates endothelial progenitor cells. *Circulation*, 2005, 111(9):1184-1191.
- 19 Zhang Y, Herbert BS, Rajashekhar G, et al. Premature senescence of highly proliferative endothelial progenitor cells is induced by tumor necrosis factor-alpha via the p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *FASEB J*, 2009, 23(5):1358-1365.
- 20 Janzen V, Forkert R, Fleming HE, et al. Stem-cell ageing modified by the cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a. *Nature*, 2006, 443(7110):421-426.
- 21 Chang J, Li Y, Huang Y, et al. Adiponectin prevents diabetic premature senescence of endothelial progenitor cells and promotes endothelial repair by suppressing the p38 MAP Kinase/p16INK4A signaling pathway. *Diabetes*, 2010, 59(11):2949-2959.
- 22 Shibata R, Ouchi N, Kihara S, et al. Adiponectin Stimulates Angiogenesis in Response to Tissue Ischemia through Stimulation of AMP-activated Protein Kinase Signaling. *J Biol Chem*, 2004, 279(27):28670-28674.
- 23 Fan Y, Shen F, Frenzel T, et al. Endothelial progenitor cell transplantation improves long-term outcome in mice. *Ann Neurol*, 2010, 67(4):488-497.
- 24 Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells participate in cerebral neovascularization after focal cerebral ischemia in the adult mouse. *Circ Res*, 2002, 90(3):284-288.
- 25 Bogoslovsky T, Chaudhry A, Latour L, et al. Endothelial progenitor cells correlate with lesion volume and growth in acute stroke. *Neurology*, 2010, 75(23):2059-2062.
- 26 Nishimura M, Izumiya Y, Higuchi A, et al. Adiponectin prevents cerebral ischemic injury through endothelial nitric oxide synthase dependent mechanisms. *Circulation*, 2008, 117(2):216-223.
- 27 Chen B, Liao WQ, Xu N, et al. Adiponectin protects against cerebral ischemia-reperfusion injury through anti-inflammatory action. *Brain Res*, 2009, 1273:129-137.

(2015-04-15 收稿)