

缺氧以及血管生成在类风湿关节炎中的作用

★ 路千里 (江西中医学院基础医学院 南昌 330006)

关键词:缺氧;血管生成;类风湿关节炎;综述

中图分类号:R 593.22 文献标识码:A

类风湿关节炎(RA)的表现为多关节滑膜炎伴随软骨及软骨下骨的侵蚀,并最终导致关节功能丧失。这种侵蚀是由许多蛋白水解酶所介导的,目前的研究显示前炎性细胞因子在其中占主导作用。新生的血管为增殖的滑膜细胞供应氧和营养物质,因此它在炎症的维持和侵袭过程中占主导作用^[1]。血管生成由许多前血管生成分子所辅助,其中最主要的是血管内皮生长因子(VEGF)。VEGF还导致血管渗透性增加。

体外试验显示 VEGF 可分别在前炎性细胞因子和缺氧刺激下表达上调,但是在体试验中这些因素是相互作用。然而尽管存在血管生成,RA 关节还是处于缺氧状态。

1 缺氧和 RA

RA 患者滑液样本检测发现其中含有低浓度葡萄糖和高浓度乳酸,呈缺氧和酸中毒状态,提示滑膜组织中存在无氧代谢。在早期研究中 Lund-Olesen^[2]发现 RA 膝关节滑液的 PO_2 为 27 mmHg,而在骨关节炎患者和正常人中,分别为 43 mmHg 和 63 mmHg。后来的研究也证实了这些发现,甚至发现 PO_2 的值可以低至 15 mmHg。

2 组织对缺氧的反应

越来越得到研究发现低氧诱导因子-1(HIF-1)在缺氧中作用重要^[3]。它是由 120 KD 的 α 亚基(HIF-1 α)和 91~94 KD 的 β 亚基(HIF-1 β)组成的异二聚体。可以调控许多低氧状态时的适应性反应。HIF-1 是调节机体内细胞对缺氧反应的核转录因子,其表达受氧浓度调节。HIF-1 β 呈固定表达, HIF-1 的活性主要由 HIF-1 α 决定。通常 HIF-1 α 只能在低氧情况下稳定表达,氧浓度 < 6% 时, HIF-1 α

含量呈指数级上升,当 PO_2 值为 10~15 mmHg 时到达最大值^[4]。细胞缺氧时, HIF-1 α 稳定表达并从胞浆转移至胞核,同时 HIF-1 β 从胞浆转移到核,两者聚合成 HIF-1 分子而发挥核转录因子的作用。正常氧浓度时, HIF-1 β 重新出现在胞浆中,而核中高浓度的 HIF-1 α 很快被降解。

体外试验显示,影响 HIF-1 α 转录因子的不仅仅是低氧,许多 RA 病理过程中的生长因子和细胞因子也有重要作用,包括 IL-1 β 。肿瘤坏死因子(TNF- α)也可上调 HIF-1 α mRNA。

3 参与 RA 缺氧的因素

参与 RA 低氧的因素包括炎性滑膜组织的高代谢需要以及快速的滑膜组织增生,所以细胞与血管的距离增大,从而导致低氧状态^[5]。运动和滑液分泌增多可导致关节内压力增高至 300 mmHg。这将会在缺氧的局部环境中损伤脉管系统,加重缺氧。当这些症状暂时缓解后,关节内压趋于正常,小血管再充盈并增生,大量 RA 滑膜血管表达新生血管生成标记物,然而它们缺少使血管成熟的辅助细胞。Peter C. Taylor 等发现与正常组相比胶原诱导关节炎小鼠关节组织在运动时氧化能力失调^[6]。同样 RA 关节中功能失调的血管不能稳定组织中的氧环境,使得组织对缺氧再灌注损伤敏感,因此细胞辅酶 II 的参与下处在易于进行氧化反应的状态,产生大量活性氧。后者在高浓度时会导致组织损伤。

4 缺氧的作用

在体外缺氧培养条件下通过 IL-1 和 TGF- β 的刺激会使滑膜成纤维细胞大量表达 VEGF^[7]。RA 组织缺氧导致 VEGF mRNA 表达稳定增加,通过与 HIF-1 和 HIF-2 的结合上调 VEGF 基因的转录。这

些转录因子在 RA 患者滑膜衬里细胞和基质细胞的过度表达与个体差异有关,而与关节炎无关^[8]。另一些研究显示 HIF-1 α 在 RA 滑膜中主要表达于滑膜衬里层。而且将新鲜正常的滑膜组织放入低氧调节培养,会有明显的核表达增加^[9]。因此 RA 关节的缺氧环境会促进转录变化从而导致持续的滑膜炎。需要注意的是,当特异性的阻断佐剂性关节炎(AA)小鼠骨髓衬里细胞中的 HIF-1 α 时,滑膜炎和关节炎的症状显著减弱。在此模型中,失去 HIF-1 α 可阻止骨髓细胞浸润。然而 HIF-1 也是骨髓细胞正常糖酵解调控的必要部分。缺少 HIF-1 α 使细胞内 ATP 大量减少,这种代谢缺陷会导致骨髓细胞聚集、活力和侵袭力显著损伤^[10]。

5 RA 病理状态时的血管生成

缺氧、疾病和组织损伤时分泌的前血管生成分子可导致血管生成发生。通过滑膜活检发现在疾病发生的早期,血管生成就已发生。新的血管为增加的炎症细胞群提供氧和营养,促进白细胞浸润,从而导致持续的滑膜炎。

研究关节炎试验模型显示与血管翳相比在软骨和骨的破坏中血管增生的作用更重要^[11]。血清中血管生成标志物可以用来作为鉴别早期 RA 患者是否会发展到严重关节破坏的指标,从而在早期进行 TNF- α 阻断达到早期干预,往往有较好的临床效果^[12]。

6 VEGF 在 RA 中的作用

除缺氧外,许多相互作用的过程都会促进 RA 关节的血管生成,包括血流增加后血管壁增加的切应力和血浆中渗透出的纤维蛋白产物。此外还有许多炎症细胞,包括巨噬细胞、淋巴细胞、肥大细胞和成纤维细胞产生的可溶性产物都会促进血管生成。在这些产物中有前炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 和 IL-8。此外,许多内皮生长因子在 RA 滑膜中也被找到,其中 VEGF 是最强的内皮特异性因子。

VEGF 通过 VEGF 的选择剪接而以多个亚型存在。在 VEGF 对 RA 的易感性可能与其基因多态性有关^[13]。成纤维细胞在 IL-1 和 TNF- α 的刺激下上调 VEGF 的表达,还受激活的成粒细胞、成纤维样细胞和结合的 CD4 配体的调节^[14]。

VEGF 在 RA 患者的血清、滑膜组织和滑液中都有发现^[14]。中性粒细胞分泌 VEGF,并且 RA 滑液中性粒细胞分泌的 VEGF 水平以及关节液中的游离 VEGF 和疾病的活动极其相关^[15]。在体外,人外周血单核细胞在 RA 关节中细胞因子如 TNF- α 的刺激下可分泌 VEGF。有报道血小板也可分泌 VEGF。

因此,血清中 VEGF 的来源可能是多途径的。

7 VEGF 与疾病的活动和治疗作用

Peter C. Taylor 等发现新诊断出 RA 患者血清 VEGF 浓度高于长期治疗的患者。这个发现可能反映其对药物治疗的反应。如果抗风湿药物对早期 RA 患者有效则患者体内血清 VEGF 水平会有明显下降,反之则血清 VEGF 水平没有明显变化^[16]。阻断 TNF- α 可以导致迅速的呈剂量依赖性但不均一的血清 VEGF 下降。

在正常时期,血管生成处于许多诱导剂和抑制剂相互作用而产生的精确动态平衡中^[17]。由于对 RA 的治疗作用引起血清 VEGF 水平明显下降,提示由于持续的关节炎导致血管生成诱导剂和抑制剂间的不平衡。为了证明这个假设,血管生成抑制剂内皮它丁的浓度在血清 VEGF 浓度升高患者的血清或滑液样本中并未上升,但在一次性输入 TNF- α 阻断药 infliximab 后血清内皮它丁的浓度下降^[18]。另一个天然的血管生成抑制剂是可溶性 Flt-1 (sFlt-1), Peter C. Taylor 等发现血清 sFlt-1 在早期和持续期 RA 患者体内增加,在 RA 患者体内血清 sFlt-1 水平与血清 VEGF 浓度呈正相关^[19]。RA 血清 sFlt-1 水平的增加可能是 VEGF 激活抑制缺乏的代偿。

RA 患者血管通透性随 VEGF 水平快速下降而降低,可能是使用抗 TNF- α 治疗后早期降低关节肿胀的原因。因此使用 infliximab 治疗阻断 TNF- α 后,RA 和牛皮癣性关节炎可见患者滑膜血管生成减少和血管退化^[20]。

8 RA 中的内皮功能失调

严重 RA 患者过早死亡的主要原因是由于并发严重的心血管疾病。在动脉粥样硬化的早期,就出现内皮功能失调,最近的数据显示内皮功能失调也在 RA 早期就以出现。这种失调不依赖那些通常促进动脉粥样硬化的心血管危险因素^[21]。有人在研究内皮功能与炎症之间的关系后发现,抑制 RA 导致的全身性炎症可以逆转内皮功能失调^[22]。最近报道通过腕部超声波检查发现,使用 infliximab 可以改善内皮依赖的血管舒张,但作用短暂。它可以改善疾病的活动期症状,并降低急性期标志物。使用 infliximab 后血管舒张会明显改善 2~7 d,但使用后的第 4 周,内皮功能重新回到治疗前^[23]。这些研究提示 TNF- α 是 RA 内皮功能失调的重要因素,TNF- α 阻断剂可以延缓动脉粥样硬化的疾病进程,尤其可以减少这些患者斑块破裂和急性冠状动脉综合征的发生。

血管生成是 RA 的重要特征,新血管的形成成为

增生的炎性细胞提供氧分和营养,同时促进关节损伤。已有的证据显示血管生成存在于多数侵蚀性疾病的活动中,同时提示抑制滑膜血管生成可以作为治疗的方案^[1]。尽管 RA 滑膜炎中存在过剩的脉管系统,RA 关节还是处于缺氧状态,反复的缺氧再充氧会导致吞噬细胞产生氧化剂,促进 RA 关节的氧化应激反应。细胞的氧化反应改变会改变细胞内转录因子 HIF-1 α 的浓度,后者激活特定的基因序列导致持续的滑膜炎。所以 HIF-1 α 是 RA 治疗的潜在靶点。这个理论还需要进一步的试验证明,因为 HIF-1 α 的表达同样对维持软骨的完整有重要作用。

此外血管病理改变,也可表现为内皮功能失调和 RA 的心血管并发症。RA 治疗中持续的、良好的抑制滑膜炎可有助于减少这些并发症。

参考文献

- [1] Koch A. Angiogenesis as a target in rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2003, 62(Suppl 2): ii60 - ii67.
- [2] Lund-Olesen K. Oxygen tension in synovial fluids[J]. Arthritis Rheum, 1970, 13(6): 769 - 776.
- [3] Wang GL, Jiang B-H, Rue EA, et al. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(12): 5 510 - 5 514.
- [4] Jiang BH, Semenza GL, Bauer C, et al. Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O₂ tension[J]. Am J Physiol, 1996, 271(4 Pt 1): 1 172 - 1 180.
- [5] Stevens CR, Blake DR, Merry P, et al. A comparative study by morphometry of the micro-vasculature in normal and rheumatoid synovium[J]. Arthritis Rheum, 1991, 34(12): 1 508 - 1 513.
- [6] Etherington PJE, Winlove CP, Taylor PC, et al. VEGF release is associated with reduced oxygen tensions in experimental inflammatory arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2004, 20(6): 799 - 805.
- [7] Berse B, Hunt JA, Diegel RJ, et al. Hypoxia augments cytokine (transforming growth factor beta (TGF-beta) and IL-1)-induced vascular endothelial growth factor secretion by human synovial fibroblasts[J]. Clin Exp Immunol, 1999, 115(1): 176 - 182.
- [8] Li ZG, Wang JF, Cheng JD, et al. Regularity of hypoxia inducible factor 1 alpha expression in acute myocardial ischaemia in rats[J]. Chin Med J (Engl), 2007, 120(2): 162 - 5.
- [9] Hitchon CA, El-Gabalawy HS. Oxidation in rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2004, 6(6): 265 - 278.
- [10] Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, et al. HIF-1alpha is essential for myeloid Cell-mediated inflammation[J]. Cell, 2003, 112(5): 645 - 657.
- [11] Pladys P, Sennlaub F, Brault S, et al. Microvascular rarefaction and decreased angiogenesis in rats with fetal programming of hypertension associated with exposure to a low-protein diet in utero[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2005, 289(6): R1580 - 8.
- [12] Taylor PC, Steuer A, Gruber J, et al. Measurement of synovitis and joint vascularity by ultrasonography in a randomised, placebo-controlled study of infliximab therapy in early rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2004, 50(16): 1107 - 1116.
- [13] Han SW, Kim GW, Seo JS, et al. VEGF gene polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2004, 43(9): 1 173 - 1 177.
- [14] Kasama T, Shiozawa F, Kobayashi K, et al. Vascular endothelial growth factor expression by activated synovial leukocytes in rheumatoid arthritis: critical involvement of the interaction with synovial fibroblasts[J]. Arthritis Rheum, 2001, 44(11): 2 512 - 2 524.
- [15] Kasama T, Kobayashi K, Yajima N, et al. Expression of vascular endothelial growth factor by synovial fluid neutrophils in rheumatoid arthritis (RA) [J]. Clin Exp Immunol, 2000, 121(3): 533 - 538.
- [16] Alexandrakis MG, Sfiridaki A, Miyakis S, et al. Relationship between serum levels of vascular endothelial growth factor, hepatocyte growth factor and matrix metalloproteinase-9 with biochemical markers of bone disease in multiple myeloma[J]. Arthritis Rheum, 2007, 379(1-2): 31 - 5.
- [17] Walsh DA. Angiogenesis and arthritis[J]. Rheumatol, 1999, 38(2): 103 - 112.
- [18] Kucharz EJ, Gozdzik J, Kopec M, et al. A single infusion of infliximab increases the serum endostatin level in patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2003, 21(2): 273 - 274.
- [19] Manau D, Fabregues F, Penarrubia J, et al. Vascular endothelial growth factor levels in serum and plasma from patients undergoing controlled ovarian hyperstimulation for IVF [J]. Hum Reprod, 2007, 22(3): 669 - 75.
- [20] Goedkoop AY, Kraan MC, Picavet DI, et al. Deactivation of endothelium and reduction in angiogenesis in psoriatic skin and synovium by low dose infliximab therapy in combination with stable methotrexate therapy: a prospective single-centre study[J]. Arthritis Res Ther, 2004, 6(4): R326 - R334.
- [21] Vaudo G, Marchesi S, Gerli R, et al. Endothelial dysfunction in young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity[J]. Ann Rheum Dis, 2004, 63(1): 31 - 35.
- [22] Del Rincon ID, Williams K, Stern MP, et al. High incidence of cardiovascular events in a rheumatoid arthritis cohort not explained by traditional cardiac risk factors[J]. Arthritis Rheum, 2001, 44(12): 2 737 - 2 745.
- [23] Gonzalez-Juanatey C, Testa A, Garcia-Castelo A, et al. Active but transient improvement of endothelial function in rheumatoid arthritis patients undergoing long-term treatment with anti-tumor necrosis factor alpha antibody[J]. Arthritis Rheum, 2004, 51(3): 447 - 450.

(收稿日期: 2008-10-18)

欢 迎 投 稿 ! 欢 迎 订 阅 !