

## Periostin促进血管形成的机制

陈鑫磊<sup>△</sup>(综述), 秦泽莲<sup>\*</sup>(审校)

(北京大学第三医院成形科, 北京 100191)

中图分类号: R730.2 R641

文献标识码: A

文章编号: 1006-2084(2011)02-0161-03

**摘要:** 新生血管对于肿瘤生长和创伤愈合过程是必不可少的, 而血管内皮细胞的增殖和迁移又在新生血管形成的过程中起到关键作用。Periostin是一种细胞黏附蛋白, 在多种恶性肿瘤和创伤组织中过表达。在血管形成过程中, 它能够通过调控血管内皮细胞的趋化性和趋触性来促进细胞的迁移, 而这一过程是通过活化 FAK-PI<sub>3</sub>K-AKT 信号途径实现的; 在低氧环境中, periostin能够促进内皮细胞的增殖并抑制其凋亡。

**关键词:** Periostin 内皮细胞; 血管; 细胞低氧

**Mechanisms of Periostin induced Angiogenesis** CHEN Xin-lei QIN Ze-lian. (Department of Plastic Surgery, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China)

**Abstract** It is known that neovascularization is essential for tumor growth and wound healing whereas the proliferation and migration of vascular endothelial cells is critical for angiogenesis. Periostin, a 90-kDa secretory cell adhesion protein, has been shown to be overexpressed in many malignant tumors and wounded tissues. Periostin can regulate chemotaxis and haptotaxis to promote the migration of endothelial cells in angiogenesis through the activation of FAK-PI<sub>3</sub>K-AKT signaling pathway, in addition to promoting the proliferation but inhibiting the apoptosis of endothelial cells in the presence of hypoxia.

**Key words** Periostin Endothelial cells Blood vessels Hypoxia

创伤愈合过程中, 血管形成起着至关重要的作用。成骨细胞特异性因子 2 (osteoblast-specific factor 2, OSF-2), 是在成骨细胞中发现的具有细胞黏附作用的蛋白质。随着对其研究的加深, 发现其在多种组织中过表达, 尤其是各种创伤愈合和恶性肿瘤组织内, 它不仅能够促进细胞的黏附作用还能调控细胞的迁移和增殖, 尤其在肿瘤内的血管形成过程中表现突出。血管系统的生成一般分为血管发生和血管新生两种过程。血管发生主要在胚胎早期, 定义为由内皮祖细胞参与的新生血管形成方式, 其连续不断的参与构建生长中的毛细血管而生成新的血管; 血管新生是在原有毛细血管或微静脉基础上由血管内皮细胞增殖和迁移, 从先前存在的血管处以出芽或非出芽等形式生成新血管。为了探索肿瘤和创伤愈合组织等疾病的发生发展过程, 在此重点讨论血管新生过程中 periostin 对内皮细胞的调节作用。

### 1 Periostin的结构和表达

Takeshita 等<sup>[1]</sup>在 1993 年对鼠成骨细胞系 (M3T3-E1) 进行减数杂交 cDNA 筛查时发现了 OSF-2。OSF-2 由 811 个氨基酸组成, 其结构为: 一个由半胱氨酸富集区连接的典型的信号序列, 一个四倍重叠区和 C 末端区域。OSF-2 的四倍重叠区与成束蛋白 (fasciclin 1, FAS1) 具有相似的结构。FAS1 在

果蝇中起到黏附分子的作用, 与轴突的引导, 迁移和分化有关。而转化生长因子 β 诱导基因克隆 3 也具有 FAS1 结构, 且证实可以促进成纤维细胞的黏附作用<sup>[2]</sup>, 因此认为, OSF-2 也具有促进细胞黏附的作用。后来为了避免与成骨细胞特异性转录因子 2 混淆, 又因早期研究发现其主要在骨膜与牙周韧带中表达, 故 OSF-2 更名为 periostin。Periostin 的 C 末端可以进行选择性剪切, 所形成的分子即 periostin 的异构体, 称为 periostin 样因子, 共 5 种, 均具有促进细胞黏附的功能。进一步研究发现, periostin 基因位于鼠的 3 号染色体, 以及人类的 13 号染色体上。Periostin 除了在正常骨膜和牙周韧带中表达外, 其在多数成人组织中均有表达, 尤其在主动脉、胃、下消化道、胎盘、子宫以及大部分的胎儿组织中显著表达, 而在脑组织、卵巢和造血器官未检测到表达。最近, 实验发现 periostin 在许多人类恶性肿瘤以及创伤愈合的组织中都过表达。比如, 前列腺癌、乳腺癌、直肠癌、头颈部恶性肿瘤、胰腺导管腺癌、黑色素瘤以及皮肤损伤和心肌缺血后重建<sup>[3-6]</sup>等。

2 Periostin 促进内皮细胞的迁移和增殖

### 2 Periostin 促进内皮细胞的迁移和增殖

在血管形成中, 内皮细胞的迁移包含 3 个主要的机制, 即趋化性、趋触性和趋应力性<sup>[7]</sup>。对 periostin 的研究证实, 其与内皮细胞迁移的趋化性和趋触性有密切关系。

2.1 Periostin 与内皮细胞的趋化性 趋化性即内皮细胞沿着化学趋化剂浓度梯度由低到高移动。调控内皮细胞迁移的趋化性细胞因子有很多, 但是最主要的是血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)。VEGF 家族包括 7 个成员, 分别为 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F、胎盘源性生长因子, 其中最重要的是 VEGF-A。已经发现的 VEGF 的酪氨酸激酶受体有 3 个, 即 VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3。VEGFR-2 是

VEGF最重要的受体,能够调节内皮细胞的迁移、增殖、分化以及血管的通透性。研究发现,用 periostin 过表达质粒转染 293T 细胞,细胞植入裸鼠皮下,与空质粒对照组形成的肿块比较,实验组的肿块出血明显,血红蛋白量较对照组增多 30%,并且 CD31 染色明显加深,后采用体外细胞共培养的方法证明,periostin 所导致的血管形成并不是通过增加 VEGF 的量,而是通过上调血管内皮细胞中 VEGFR-2 的表达来实现的,阻断表达能够抑制 periostin 所诱导的肿瘤生长和血管形成<sup>[8]</sup>。Sirwardena 等<sup>[9]</sup>采用组织形态学分析方法检测口腔鳞癌组织中的血管密度,证明过表达 periostin 的组织中血管密度明显增高。然后对体外培养的脐静脉内皮细胞用不同浓度的重组 periostin 蛋白处理并进行小管评分,结果显示 periostin 能够以剂量依赖的方式促进毛细血管形成。Bao 等<sup>[10]</sup>发现,periostin 能够增加直肠癌转移癌生长时的血管密度,从而促进转移灶的血管形成,利于肿瘤的生长。虽然 periostin 不能通过过表达 VEGF 来刺激内皮细胞的趋化性移动,但是仍然可以通过增加 VEGF 受体的表达,提高敏感性,促进 VEGF 和 VEGFR-2 结合的方式来促进内皮细胞的迁移和增殖,后二者的研究已经证明 periostin 的促血管形成作用,但是相关机制未能阐明,尚需进一步研究。

**2.2 Periostin 与内皮细胞的趋触性** 一定浓度的细胞外基质成分(例如 I 型胶原蛋白)能够促进内皮细胞的迁移,其作用可以依赖或不依赖于内皮细胞的趋化性。细胞外基质主要包括胶原蛋白、纤维连接蛋白、层粘连蛋白等一些蛋白类物质。细胞基质蛋白是一类细胞外基质相关的分子,是根据他们调节细胞与基质相互作用的能力来定义的。细胞基质蛋白在发育过程中呈高水平表达,但是在出生后,它仅在创伤或者疾病的组织中表达量才会明显增高。基于其在发育过程中以及在创伤时的表达和功能,periostin 也被归类为细胞基质蛋白。细胞基质蛋白能够影响细胞黏附、细胞外基质合成(例如胶原合成)、细胞的增殖与凋亡、细胞的迁移等<sup>[11]</sup>。Periostin 能够与其他细胞外基质成分直接相互作用,如 I、III 和 V 型胶原蛋白、纤连蛋白和腱糖蛋白 C,能够促进细胞外基质的浸润和收缩<sup>[12-13]</sup>。Sweeney 等<sup>[14]</sup>研究发现, I 型胶原支持内皮细胞的趋化性运动,在三维培养条件下, I 型胶原可以促进内皮小管的形成。Kii 等<sup>[15]</sup>采用免疫电镜的方法检测发现,periostin 主要存在于小鼠牙周韧带的胶原纤维中,经高倍镜观察,periostin 是与胶原纤维直接结合在一起的。Norris 等<sup>[16]</sup>也证实 periostin 与 I 型胶原有着共同的分布区域,它直接结合于 I 型胶原。他们还发现

periostin 基因剔除的小鼠胶原纤维的直径减小,胶原交联水平降低。提示 periostin 调节 I 型胶原原纤维的合成。通过 periostin 与 I 型胶原的密切关系,因此可以推断 periostin 在血管形成中也能通过对 I 型胶原的调节来促进内皮细胞的迁移。

**3 Periostin 通过 FAK-PI3K-AKT/PKB 信号通路促进血管形成**

研究发现,periostin 能够通过整合素  $\alpha v\beta_3$  局部黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)信号通路上调 VEGFR-2 的表达,促进乳腺癌的血管形成,在心肌缺血损伤后,periostin 能够激活心肌细胞和血管内皮细胞膜上的  $\alpha v\beta_1$ 、 $\alpha v\beta_3$ 、 $\alpha v\beta_5$  整合素,通过磷酸肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase PI3K)途径来促进心脏重建<sup>[17-20]</sup>。VEGFR-2 的磷酸化和 PI3K 的活化对内皮细胞的迁移起到重要作用<sup>[21]</sup>。PI3K 能够促进 3 磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1 的活化,而后者能够活化蛋白激酶 B(Akt/protein kinase B, AKT/PKB)信号系统,AKT 能够磷酸化一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase eNOS)使其活化并产生 NO<sup>[22]</sup>。研究表明,VEGF 通过 AKT/eNOS/NO 途径来调控内皮细胞的迁移和增殖<sup>[23-24]</sup>。综上所述,VEGF-VEGFR-2-PI3K-AKT/PKB-NO 通路调控内皮细胞的迁移和增殖,影响着血管形成。同时,VEGF 也能活化 FAK 途径促进内皮细胞的迁移<sup>[25]</sup>。在血管形成与整合素的关系研究中,发现整合素  $\alpha v\beta_3$  能够促进 VEGF-A 的活性,并与 VEGFR-2 免疫共沉淀,且其抗体能够阻断 VEGFR-2 的磷酸化, $\beta_3$  整合素是 VEGF-A 激活 PI3K 所必需的<sup>[26]</sup>。另外,在其他肿瘤组织的研究中也发现  $\alpha v\beta_3$ 、 $\alpha v\beta_5$ 、整合素以及 PI3K、AKT/PKB、FAK 均涉及肿瘤细胞的增殖和凋亡及肿瘤内血管形成的调控<sup>[19,27]</sup>。Periostin 对血管内皮细胞的调节和血管形成的调控存在着共同的信号通路,即整合素-FAK-PI3K-AKT/PKB 信号通路。

**4 低氧环境下 Periostin 抑制内皮细胞的凋亡**

由于肿瘤的无限制性增长和组织损伤时导致的局部组织低灌注状态,必然导致肿瘤和创伤愈合组织内细胞处于低氧低营养的应激条件下,而氧气状态是血管形成的先决条件。因为已经证实低氧能够直接诱导内皮细胞的凋亡<sup>[28]</sup>,有报道,将原代人冠状动脉内皮细胞低氧培养(1% O<sub>2</sub>) 24 h,内皮细胞的迁移、增殖以及小管形成、VEGF 诱导的 eNOS 的活化、NO 的产生和 AKT 活化均受到不同程度的抑制,VEGFR-2 表达下调,结果表明慢性低氧抑制血管的形成<sup>[29]</sup>。Siddiqui 等<sup>[30]</sup>研究把体外培养的人真皮成纤维细胞分别于急性缺氧和慢性缺氧培养,结果显示细胞的生长,胶原合成及细胞因子的分泌在急性

缺氧时增加,而在慢性缺氧时减少,当细胞重新培养于正常氧浓度时,抑制消失,实验结果表明不同氧状态下的细胞反应性不同,另外,低氧可以通过影响胶原的产生间接影响着影响内皮细胞的趋触性运动。

综上所述,低氧状态对于内皮细胞的作用是复杂的,早期低氧的刺激可能引发细胞的应激反应,使得一系列调节血管形成的分子表达变化,对血管形成起到暂时的刺激作用。但是,长期的缺氧状态下,细胞功能受损,引发程序性死亡,这种代偿作用被抵消而达到抑制作用。为了研究 peristin 对肿瘤转移的影响,有研究者在模拟转移瘤的应激(低氧和低营养)条件下,观察肿瘤细胞和内皮细胞的反应,结果显示 peristin 不但能够抑制低氧状态下的肿瘤细胞的凋亡,还能抑制应激状态(低氧、低营养状态)诱导的内皮细胞的凋亡<sup>[10]</sup>。Peristin 能够保护血管内皮细胞免于低氧引起的细胞损伤,维持其正常的细胞功能,利于血管形成来增强肿瘤的侵袭性,促进转移瘤的生成。进一步的研究发现,在直肠癌中这种调节是通过  $\alpha v\beta_3$ -AKT/PKB 途径实现的,而在胰腺癌中是通过  $\alpha_6\beta_4$ -PI3K-AKT/PKB、FAK 信号通路实现的。虽然细胞的来源不同,但是 peristin 的调节信号通路基本一致,均与血管形成调节具有共同的信号通路。然而 peristin 在低氧环境下如何与促血管形成分子相关作用没有阐明。

## 5 小结

Peristin 是促进血管形成的重要分子,它能够通过 PI3K-AKT/PKB 等信号通路的活化促进血管内皮细胞的增殖和迁移,并能抑制内皮细胞的凋亡,减少低氧低营养状态下细胞的损伤,促进创伤和肿瘤组织中的血管形成,然而其促血管形成的分子机制需要进一步研究,为临床创伤愈合、肿瘤等疾病的研究和治疗奠定理论基础。

## 参考文献

- [1] Takeshita S, Kikuno R, Tezuka K, et al. Osteoblast-specific factor 2 cloning of a putative bone adhesion protein with homology with the insect protein fasciclin II [J]. *Biochem J* 1993; 294(Pt 1): 271-278.
- [2] Kim JE, Jeong HW, Nam JD, et al. Identification of motifs in the fasciclin domains of the transforming growth factor-beta-induced matrix protein beta $\alpha$ 3 that interact with the alpha $\beta$ 5 integrin [J]. *J Biol Chem* 2002; 277(48): 46159-46165.
- [3] Tischler V, Fritzsche FR, Wild PJ. Periostin is up-regulated in high grade and high stage prostate cancer [J]. *BMC Cancer* 2010; 10(2): 273.
- [4] Puglisi C, Puppini E. Expression of Periostin in human breast cancer [J]. *J Clin Pathol* 2008; 61(4): 494-498.
- [5] Tihon G, Mattioli M, Brasseur F, et al. Human periostin gene expression in normal tissues, tumors and melanoma: evidences for periostin production by both stromal and melanoma cells [J]. *Mol Cancer* 2007; 6(1): 80.
- [6] Roy S, Patel D, Khanna S, et al. Transcription profile analysis of blood vessels laser captured from human skin and chronic wound-edge tissue [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(36): 14472-14477.
- [7] Lamalice L, Le Boeuf F, Huot J. Endothelial cell migration during angiogenesis [J]. *Circ Res* 2007; 100(6): 782.
- [8] Shao R, Bao S, Bai X, et al. Acquired expression of periostin by hu-

- man breast cancers promotes tumor angiogenesis through up-regulation of vascular endothelial growth factor receptor 2 expression [J]. *Mol Cell Biol* 2004; 24(9): 3992-4003.
- [9] Sirwardena BS, Kudo Y, Ogawa I, et al. Periostin is frequently overexpressed and enhances invasion and angiogenesis in oral cancer [J]. *Brit J Cancer* 2006; 95(10): 1396-1403.
- [10] Bao S, Ouyang G, Bai X, et al. Periostin potently promotes metastatic growth of colon cancer by augmenting cell survival via the Akt/PKB pathway [J]. *Cancer Cell* 2004; 5(4): 329-339.
- [11] Hamilton DW. Functional role of periostin in development and wound repair: implications for connective tissue disease [J]. *J Cell Commun Signal* 2008; 2(1): 9-17.
- [12] Takayama G, Arima K, Kanaji T, et al. Periostin: a novel component of subepithelial fibrosis in bronchial asthma: a downstream of IL-4 and IL-13 signals [J]. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118(1): 98-104.
- [13] Butcher JT, Norris RA, Hoffman S, et al. Periostin promotes atrioventricular mesenchyme matrix invasion and remodeling mediated by integrin signaling through Rho/P-B-Kinase [J]. *Dev Biol* 2007; 302(1): 256-266.
- [14] Sweeney SM, Guy CA, Fields GB, et al. Defining the domains of type I collagen involved in heparin binding and endothelial tube formation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(13): 7275-7280.
- [15] Kii I, Amizuka N, Minqi L, et al. Periostin is an extracellular matrix protein required for eruption of incisors in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 342(3): 766-772.
- [16] Norris RA, Danon BM, Ironov V, et al. Periostin regulates collagen fibrillogenesis and the biomechanical properties of connective tissues [J]. *J Cell Biochem* 2007; 101(3): 695-711.
- [17] Kuhn B, del Monte F, Hajar RJ, et al. Periostin induces proliferation of differentiated cardiomyocytes and promotes cardiac repair [J]. *Nat Med* 2007; 13(8): 962-969.
- [18] Iekushi K, Taniyama Y, Azuma J, et al. Novel mechanisms of vasculature on the treatment of acute myocardial infarction through inhibition of the antiadhesion molecule periostin [J]. *Hypertension* 2007; 49(6): 1409-1414.
- [19] Oka T, Xu J, Kaiser RA, et al. Genetic manipulation of Periostin expression reveals a role in cardiac hypertrophy and ventricular remodeling [J]. *Circ Res* 2007; 101(3): 313-321.
- [20] Shimazaki M, Nakamura K, Kii I, et al. Periostin is essential for cardiac healing after acute myocardial infarction [J]. *J Exp Med* 2008; 205(2): 295-303.
- [21] Mawick JA, Edirisinghe I, Annachalam G, et al. Cigarette smoke regulates VEGFR2-mediated survival signaling in rat lungs [J]. *J Inflamm (Lond)* 2010; 7(1): 11.
- [22] Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, et al. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation [J]. *Nature* 1999; 399(6736): 601-605.
- [23] Park CW, Kim HW, Lim JH, et al. Vascular endothelial growth factor inhibition by dR6c causes endothelial apoptosis, fibrosis, and inflammation in the heart via the Akt/eNOS axis in db/db mice [J]. *Diabetes* 2009; 58(11): 2666-2676.
- [24] Youn JY, Wang T, Cai H. An ezrin/calpain/PI3K/AMPK/eNOS179 signaling cascade mediating VEGF-dependent endothelial nitric oxide production [J]. *Circ Res* 2009; 104(1): 50-59.
- [25] Le Boeuf F, Houle F, Sussan M. Phosphorylation of focal adhesion kinase (FAK) on Ser732 is induced by rho-dependent kinase and is essential for p190<sup>cas</sup> tyrosine kinase 2-mediated phosphorylation of FAK on Tyr407 in response to vascular endothelial growth factor [J]. *Mol Biol Cell* 2006; 17(8): 3508-3520.
- [26] Soldi S, Mitola M. Role of alpha $\beta$ 3 integrin in the activation of vascular endothelial growth factor receptor-2 [J]. *EMBO J* 1999; 18(4): 882-892.
- [27] Baril P, Gangeswaran R, Mahon PC, et al. Periostin promotes invasiveness and resistance of pancreatic cancer cells to hypoxia-induced cell death: role of the beta4 integrin and the PI3K pathway [J]. *Oncogene* 2007; 26(14): 2082-2094.
- [28] Antonova OA, Loktionova SA, Golubeva NV, et al. Damage and activation of endothelial cells during in vitro hypoxia [J]. *Bull Exp Biol Med* 2007; 144(4): 504-506.
- [29] Olszowska-Pazdrak B, Hein TW, Olszowska P, et al. Chronic hypoxia attenuates VEGF signaling and angiogenic responses by downregulation of KDR in human endothelial cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009; 296(5): C1162-C1170.
- [30] Sildiqui A, Galiano RD, Connors D, et al. Differential effects of oxygen on human dermal fibroblasts: acute versus chronic hypoxia [J]. *Wound Repair Regen* 1996; 4(2): 211-218.

收稿日期: 2010-08-12 修回日期: 2010-12-27