

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20180334

Wnt 信号通路在脑血管粥样硬化中的研究进展

唐海双, 黄清海, 刘建民*

海军军医大学附属长海医院神经外科, 脑血管病中心, 上海 200433

[摘要] 目前, 颅内动脉瘤、脑血管狭窄等脑血管疾病已经成为威胁人类健康的隐患之一。血管粥样硬化是一系列脑血管疾病的发病基础。近年来, 越来越多的研究证实, Wnt 信号通路广泛参与脑血管粥样硬化的发生。因此, 本文对 Wnt 信号通路在血管内皮细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞功能障碍中的作用进行总结, 以探讨 Wnt 信号通路在脑血管粥样硬化发生发展中的作用机制, 为脑血管疾病的研究提供新方向。

[关键词] Wnt 信号通路; 血管粥样硬化; 内皮细胞; 巨噬细胞; 平滑肌细胞

[中图分类号] R 743 **[文献标志码]** A

Research progress of Wnt signaling pathway in cerebral atherosclerotic diseases

TANG Hai-shuang, HUANG Qing-hai, LIU Jian-min*

Department of Neurosurgery, Changhai Hospital, Navy Military Medical University, Cerebral Vascular Disease Research Center, Shanghai 200433

[Abstract] The cerebrovascular diseases, such as intracranial aneurysms and cerebrovascular stenosis, have become a major threat to human health. Pathological studies of cerebrovascular diseases have identified that vascular atherosclerosis is the basis of a series of cerebrovascular diseases. Recently, more and more studies have confirmed that Wnt signaling pathway is widely involved in the pathogenesis of cerebrovascular atherosclerosis. This review summarizes the research of Wnt signaling pathway in the dysfunction of vascular endothelial cells, macrophages, and smooth muscle cells, and explore the role of Wnt signaling in cerebrovascular atherosclerosis, hoping to provide a new direction for the future research of cerebrovascular diseases.

[Key Words] Wnt signaling pathway; atherosclerosis; endothelial cell; macrophage; smooth muscle cell

近年来, 随着经济发展和人们生活习惯的改变, 心脑血管疾病已成为威胁现代社会人类的健康隐患。脑血管疾病, 如颅内动脉瘤、脑血管狭窄、基底动脉及椎动脉系统冗扩等, 常伴发脑血管出血和缺血等不良事件, 但目前其确切病因还未被阐明。脑血管疾病患者常伴有程度不一的血管粥样硬化斑块及血管钙化现象。研究^[1-2]认为, 血管粥样硬化和血管钙化可能是脑血管疾病发生发展的初期阶段和始动因素。

Wnt 蛋白家族是一类高度保守的蛋白。Wnt 信号通路在机体内调控多种生理代谢反应, 如细胞增殖、凋亡以及分化。随着对 Wnt 蛋白及其信号通路研究的深入, 研究人员发现 Wnt 信号通路在多种脑血管疾病患者中被激活参与脑血管疾病的病理

生理过程^[3]。本文对 Wnt 信号通路在脑血管粥样硬化中的作用, 以及 Wnt 信号通路在血管内皮细胞和平滑肌细胞中的作用进行综述, 以期对脑血管动脉粥样硬化病理生理机制的阐明提供帮助。

1 Wnt 信号通路概述

Wnt 基因最初于 1982 年在乳腺癌小鼠中发现, 发现初期被命名为 Int1 基因^[4]。随后研究发现, Int1 基因与果蝇中 Wingless 基因同源, 因此将两者统一命名为 Wnt 基因。Wnt 基因编码的 Wnt 蛋白在机体内介导一系列细胞代谢反应^[4]。在人体内, Wnt 信号通路中包括至少 19 种不同的 Wnt 分泌蛋白以及不少于 10 种跨膜 G 蛋白耦联受体[卷曲蛋白家族(Fzd)]; 此外, 在细胞膜上还广泛存在

[收稿日期] 2018-09-18 **[接受日期]** 2018-09-14

[基金项目] 国家重点研发计划资助(2016YFC1300700), 国家自然科学基金面上项目(81771264)。Supported by National Key R&D Program of China(2016YFC1300700) and National Natural Science Foundation of China (81771264)。

[作者简介] 唐海双, 硕士生。E-mail: tanghaishuang5755@163.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161784; E-mail: chstroke@163.com

着 Fzd 蛋白的共受体,即脂蛋白受体相关蛋白(lipoprotein receptor-related protein, LRP)^[5]。不同类型的 Wnt 分泌蛋白与 Fzd 蛋白结合后,其下游细胞代谢反应相差各异。根据 Wnt 分泌蛋白和下游受体蛋白的不同,将 Wnt 信号通路分为经典信号通路和非经典信号通路。

1.1 Wnt 经典信号通路 Wnt 经典信号通路也称 Wnt/ β -连锁蛋白(Wnt/ β -catenin)信号通路。Wnt 1、Wnt 3、Wnt 3a、Wnt 7a、Wnt 7b 等分泌蛋白均通过经典信号通路发挥作用。在该通路中, β -catenin 蛋白细胞内起锚定连接其他蛋白分子,并起到将下游信号由胞质转导到胞核的作用。在 Wnt/ β -catenin 信号通路未被激活时,磷酸化的 β -catenin 蛋白在胞质内与糖原合成酶激酶 3 β (Glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、Axin 蛋白、APC (adenomatous polyposis coli) 蛋白、酪蛋白激酶 1 (Casein kinase 1, CK1) 结合成可解离复合体,其中 Axin 蛋白、APC 蛋白在复合体中起稳定 β -catenin 蛋白的作用。当 Wnt/ β -catenin 信号通路激活后,CK1 和 GSK-3 β 蛋白首先发生磷酸化,随之 β -catenin 蛋白发生去磷酸化反应,使胞内复合体解离;游离的去磷酸化 β -catenin 蛋白聚集在细胞核周,使细胞核内 T 细胞因子(T cell factor, TCF)和淋巴增强结合因子(lymphoid enhancer-binding factor, LEF)复合物(TCF/LEF)由抑制状态转变为转录激活状态,进而激活下游 C-myc、WISP-1 等蛋白,促发不同的生理作用^[6]。

1.2 Wnt 非经典信号通路 Wnt 非经典信号通路包括细胞极性(planar cell polarity pathway, PCP)通路和 Wnt/ Ca^{2+} 信号通路。这两种信号通路均没有 β -catenin 蛋白参与。Wnt 4、Wnt 5a 和 Wnt 11 分泌蛋白通过非经典信号通路发挥作用^[7]。

在 Wnt/ Ca^{2+} 信号通路中,当 Wnt 蛋白与膜蛋白 Fzd 蛋白结合后激活下游磷脂酶 C,使胞内 Ca^{2+} 浓度上升,激活 Ca^{2+} 依赖的蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 和钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (calmodulin-dependent protein kinase II, CAMK II),进而活化 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T-cells, NFAT),而 NFAT 在血管内皮生长因子诱导的血管生成过程中发挥关键作用^[8]。此外,Wnt 蛋白也可与膜 Fzd 蛋白以及 Kny、Ror2、Ryk 等共受体结合后激活 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK),促进相关核因子

转录。

在 Wnt 细胞极性信号通路中,Wnt 蛋白与 Fzd 蛋白结合后激活下游小 GTP 酶,其在细胞极化和细胞骨架重排等方面发挥作用。此外,也有研究^[9]证实,Wnt 细胞极性信号通路与内皮细胞迁移、增殖密切相关。

2 Wnt 信号通路与脑血管粥样硬化

血管粥样硬化是机体内血脂代谢紊乱的结果,其中尤以低密度脂蛋白代谢障碍最明显。在血管粥样硬化病变的初始阶段,血管内皮功能代谢障碍,单核细胞黏附、聚集于受损部位;单核细胞分化为巨噬细胞并分泌一系列细胞因子,继而诱发血管平滑肌细胞迁移,并最终形成粥样斑块。在对脑血管动脉瘤、脑血管缺血性病变以及脑血管冗扩等疾病的病理研究中发现,病变血管部位普遍存在粥样硬化斑块。脑血管粥样硬化斑块可能是众多脑血管疾病发生发展的始动因素^[10-11];此外,当粥样硬化斑块脱落时也会造成缺血性脑卒中等不良事件的发生。多项研究表明,Wnt 信号通路与脑血管粥样硬化的病理生理过程关系密切,其可能主要通过血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和巨噬细胞发挥作用。

2.1 Wnt 信号通路与血管内皮功能障碍 在机体生理状态下,内皮细胞通过分泌一氧化氮等物质调节血管舒缩活动,维持正常的血管功能。当血管内血流动力学发生异常改变而难以血管内皮细胞自主调节时,内皮细胞可被损伤,进而发生细胞功能障碍,并在损伤部位招募大量的炎症细胞。这一病理过程称为粥样硬化发生的初始因素^[12]。

当血管内皮细胞发生功能障碍时,Wnt 信号通路被激活。Wright 等^[13]发现,小鼠脑血管内皮细胞中 Wnt 蛋白和 Fzd 蛋白家族高表达,伴 β -catenin 蛋白及 TCF/LEF 高表达,表明 Wnt 蛋白通过经典信号通路在内皮细胞功能障碍时起作用。此外,Padwal 等^[14]发现,Wnt 1 蛋白在腹膜血管内皮新生过程中高表达。Skaria 等^[15]发现,Wnt5a 信号通路在人冠状动脉内皮细胞增殖时被激活,通过影响血管内皮细胞屏障的通透性在脓毒症中发挥作用。Goodwin 等^[16]对不同来源的血管内皮细胞进行分析后发现,Wnt 2b、Wnt 4 和 Wnt 5a 蛋白以及 Fzd 6、Fzd 8 蛋白在所有的细胞样品中均高表达,而 β -catenin 蛋白在血管分叉部位的内皮细胞中表达

增加。

Wnt 信号通路不仅与内皮细胞的增殖关系密切,而且在调控内皮细胞的炎症反应中起重要作用。Kim 等^[17]报道,在体外将内皮细胞暴露于 Wnt 5a 蛋白环境中培养 1 h 后,细胞中白介素-1 α (IL-1 α)、IL-6、IL-8 及炎症因子环加氧酶-2(COX2)均高表达;其认为 Wnt 5a 蛋白通过 Wnt5a/Ca²⁺ 信号通路激活肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)在上述过程中发挥作用。

2.2 Wnt 信号通路与巨噬细胞功能障碍 血管动脉粥样硬化也是血管壁的慢性炎症反应,而巨噬细胞在其中起着关键作用。在异常血流刺激下,单核细胞聚集于内皮细胞受损部位,分化为巨噬细胞后,在低密度脂蛋白的作用下形成泡沫细胞(粥样硬化的特征性细胞)。Mill 等^[18]在血管粥样硬化斑块中发现,Wnt 5a 蛋白以及基质金属蛋白酶高表达,提示 Wnt 5a 蛋白与血管粥样硬化斑块的稳定性关系密切;Wnt 5 蛋白与 Fzd 5 结合后,可激活下游一系列细胞因子,促进粥样硬化病变血管的炎症反应。Schaaale 等^[19]的研究发现,Wnt 3a 蛋白通过抑制 GSK-3 β 的表达发挥抗炎的作用。Borrell-Pages 等^[20]对 Fzd 蛋白共受体 LRP-5 基因缺陷小鼠进行高胆固醇饮食喂养,结果表明,相比于野生型小鼠,LRP-5 基因缺陷小鼠总胆固醇升高水平不显著,这提示 LRP-5 在粥样硬化形成过程中起保护作用。

2.3 Wnt 信号通路与血管平滑肌细胞功能障碍 血管平滑肌细胞由中膜迁移至内膜是血管粥样硬化斑块发生病理过程中的标志性事件。血管平滑肌细胞在不断聚集的炎症细胞和炎症因子刺激下,由收缩型细胞向分泌型细胞、由分化细胞向去分化细胞转变,并进一步分泌更多的炎症因子,进而导致大量细胞外基质产生。研究^[21-22]发现, β -catenin 蛋白高表达的环境促进血管平滑肌细胞的增殖,这可能与 β -catenin 蛋白通过经典通路激活促进 cyclin D1 分子表达有关。Brown 等^[23]在小鼠颈总动脉结扎诱导的血管增殖中也发现 Wnt 信号通路中蛋白的高表达。Tsaousi 等^[24]在颈动脉结扎的 Wnt 转基因小鼠中发现, β -catenin 蛋白在血管中层高表达。Marchand 等^[25]报道,Wnt 1 蛋白和 Wnt 3a 蛋白在血管平滑肌细胞中通过经典信号通路诱导 cyclin D1 高表达,从而促进细胞增殖。研究^[24]还表明,Wnt 4 蛋白是促进血管平滑肌细胞增殖的

内源性因子;Wnt 4 基因敲除后,血小板源性生长因子刺激的平滑肌细胞增殖被抑制。

Wnt 信号通路在平滑肌细胞迁移的病理生理过程中也发挥重要作用^[26]。在 Wnt 经典信号通路中的 β -catenin 蛋白聚集于细胞质中,同时可聚集到细胞膜上,这些膜蛋白在细胞与细胞黏附间起作用^[27]。当 Wnt 信号通路激活时,细胞质中 β -catenin 蛋白解离,在细胞核附近通过 TCF/LEF 上调 cyclin D1;细胞膜上的 β -catenin 蛋白解离,可降低细胞间的黏附作用^[28]。这一机制很好地解释了血管粥样硬化时平滑肌细胞在增殖的同时发生迁移的现象。

3 小结与展望

Wnt 信号通路复杂,在体内参与多种生理代谢过程。多种研究已证实,Wnt 信号通路广泛参与多种血管疾病的发生。动脉粥样硬化是颅内动脉瘤、颈动脉狭窄等脑血管疾病的重要病理基础,而 Wnt 信号通路在脑血管粥样硬化病变中发挥重要作用。然而,本文涉及的研究大多为基础研究,Wnt 信号通路的作用机制在人体中会有所不同,且这些研究忽略了其他致病因素的共同作用。此外,个体差异性也影响临床治疗,因此将整体化的研究成果应用于临床治疗指导,也需要很长时间的实践过程。Wnt 信号通路对血管内膜细胞和平滑肌细胞的调控及其在肿瘤增生和转移机制中的作用,将为脑血管疾病的研究提供新的思路,也可能成为颅内动脉瘤研究的重要方向,为探索动脉瘤的精准治疗提供新的方向。

参考文献

- [1] PU Y, LAN L, LENG X, et al. Intracranial atherosclerosis: From anatomy to pathophysiology[J]. Int J Stroke, 2017,12(3): 236-245.
- [2] KIM B S, CHUNG P W, PARK K Y, et al. Burden of intracranial atherosclerosis is associated with long-term vascular outcome in patients with ischemic stroke [J]. Stroke, 2017,48(10): 2819-2826.
- [3] FOULQUIER S, DASKALOPOULOS E P, LLURI G, et al. WNT signaling in cardiac and vascular disease [J]. Pharmacol Rev, 2018,70(1): 68-141.
- [4] WIESE K E, NUSSE R, VAN AMERONGEN R. Wnt signalling: conquering complexity[J]. Development, 2018, 145(12). pii: dev165902.
- [5] JANDA C Y, WAGHRAY D, LEVIN A M, et al.

- Structural basis of Wnt recognition by Frizzled[J]. *Science*, 2012,337(6090): 59-64.
- [6] NIEHRS C. The complex world of WNT receptor signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012,13(12): 767-779.
- [7] LIEBNER S, PLATE K H. Differentiation of the brain vasculature: the answer came blowing by the Wnt [J]. *J Angiogenes Res*, 2010, 2: 1.
- [8] IKEDA S, KISHIDA S, YAMAMOTO H, et al. Axin, a negative regulator of the Wnt signaling pathway, forms a complex with GSK-3 β and β -catenin and promotes GSK-3 β -dependent phosphorylation of β -catenin [J]. *Embo J*, 2014,17(5): 1371-1384.
- [9] RATAJSKA A, JANKOWSKA-STEIFER E, CZARNOWSKA E, et al. Vasculogenesis and its cellular therapeutic applications[J]. *Cells Tissues Organs*, 2017, 203 (3): 141-152.
- [10] ALBANESE I, KHAN K, BARRATT B, et al. Atherosclerotic calcification: Wnt is the hint[J]. *J Am Heart Assoc*, 2018,7(4). pii: e007356.
- [11] BADIMON L, BORRELL-PAGES M. Wnt signaling in the vessel wall[J]. *Curr Opin Hematol*, 2017, 24(3): 230-239.
- [12] HEUSCH G, LIBBY P, GERSH B, et al. Cardiovascular remodelling in coronary artery disease and heart failure[J]. *Lancet*, 2014, 383(9932): 1933-1943.
- [13] WRIGHT M, AIKAWA M, SZETO W, et al. Identification of a Wnt-responsive signal transduction pathway in primary endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 263(2): 384-388.
- [14] PADWAL M, CHENG G, LIU L, et al. WNT signaling is required for peritoneal membrane angiogenesis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(6): F1036-F1045.
- [15] SKARIA T, BACHLI E, SCHOEDON G. Wnt5A/Ryk signaling critically affects barrier function in human vascular endothelial cells[J]. *Cell Adh Migr*, 2017, 11(1): 24-38.
- [16] GOODWIN A M, KITAJEWSKI J, D'AMORE P A. Wnt1 and Wnt5a affect endothelial proliferation and capillary length; Wnt2 does not[J]. *Growth Factors*, 2007,25 (1): 25-32.
- [17] KIM J, KIM J, KIM D W, et al. Wnt5a induces endothelial inflammation via β -catenin-independent signaling [J]. *J Immunol*, 2010,185(2): 1274-1282.
- [18] Mill C, Tsaousi A, Woodward E, et al. Increased expression of Wnt5A in unstable atherosclerotic plaques is associated with increased MMP expression and may contribute to instability[J]. *Atherosclerosis*, 2010,213(1): e12-e12.
- [19] SCHAALE K, NEUMANN J, SCHNEIDER D, et al. Wnt signaling in macrophages: augmenting and inhibiting mycobacteria-induced inflammatory responses[J]. *Eur J Cell Biol*, 2011,90(6-7): 553-559.
- [20] BORRELL-PAGÈS M, ROMERO J C, JUAN-BABOT O, et al. Wnt pathway activation, cell migration, and lipid uptake is regulated by low-density lipoprotein receptor-related protein 5 in human macrophages[J]. *Eur Heart J*, 2011,32 (22): 2841-2850.
- [21] XU L, CUI W H, ZHOU W C, et al. Activation of Wnt/ β -catenin signalling is required for TGF- β /Smad2/3 signalling during myofibroblast proliferation [J]. *J Cell Mol Med*, 2017,21(8): 1545-1554.
- [22] DURHAM A L, SPEER M Y, SCATENA M, et al. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness [J]. *Cardiovasc Res*, 2018,114(4): 590-600.
- [23] BROWN B A, WILLIAMS H, BOND A R, et al. Carotid artery ligation induced intimal thickening and proliferation is unaffected by ageing[J]. *J Cell Commun Signal*, 2018, 12 (3): 529-537.
- [24] TSAOUSI A, WILLIAMS H, LYON C A, et al. Wnt4/ β -catenin signaling induces VSMC proliferation and is associated with intimal thickening [J]. *Circ Res*, 2011, 108 (4): 427-436.
- [25] MARCHAND A, ATASSI F, GAAYA A, et al. The Wnt/ β -catenin pathway is activated during advanced arterial aging in humans[J]. *Aging Cell*, 2011,10(2): 220-232.
- [26] PENA E, ARDERIU G, BADIMON L. Tissue factor induces human coronary artery smooth muscle cell motility through Wnt-signalling [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 11 (10): 1880-1891.
- [27] GAY A, TOWLER D A. Wnt signaling in cardiovascular disease: opportunities and challenges[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28(5): 387-396.
- [28] REDDY V S, VALENTE A J, DELAFONTAINE P, et al. Interleukin-18/WNT1-inducible signaling pathway protein-1 signaling mediates human saphenous vein smooth muscle cell proliferation[J]. *J Cell Physiol*, 2011,226(12): 3303-3315.