

活化素受体样激酶 1 与心血管疾病研究进展

熊若琦¹, 涂江华^{1,2}, 胡长平^{1,2*}

(1.中南大学湘雅药学院药理学系,湖南长沙 410078;2.心血管研究湖南省重点实验室)



胡长平,医学博士,二级教授,博士生导师,中南大学“升华学者计划”特聘教授。现任中南大学湘雅药学院副院长、临床药理学系主任、心血管研究湖南省重点实验室主任。现为中国药理学理事、中国药理学学会麻醉药理学专业委员会副主任委员、全国高等学校药类专业第五届教材评审委员会委员、湖南省生理学会副理事长、湖南省药理学学会副理事长、湖南省药学会常务理事。主编、参编教材和专著 30 余部。发表 SCI 收录论文 116 篇。主持国自重大研究计划项目 1 项、国自面上项目 3 项以及美国心脏协会博士后基金、教育部博士点(博导类)基金、湖南省科技计划项目各 1 项。获省部级科研成果奖 5 项。

摘要: 活化素受体样激酶 1 (ALK1) 是转化生长因子 β (TGF β) 受体超家族的一种跨膜丝氨酸/苏氨酸受体激酶。ALK1 主要在内皮细胞中表达,在内皮细胞生物学和血管再生中的作用已得到广泛研究。最近研究提示,ALK1 在心血管内稳态中发挥重要作用,与心血管疾病的发生发展密切相关。本文旨在描述 ALK1 信号传导的机制,讨论其在心血管内稳态中的作用及其与心血管疾病发生、发展间的联系,从而为心血管疾病的防治提供潜在的新靶点和策略。

关键词: 活化素受体样激酶 1; 骨形态发生蛋白; 内皮糖蛋白; 心血管内稳态; 心血管疾病
中图分类号:R543 文献标识码:A

Role of activin receptor-like kinase1 in cardiovascular diseases

XIONG Ruoqi, TU Jianghua, Hu Changping

(Department of Pharmacology, Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410078, Hunan, China)

Abstract: Activin receptor-like kinase 1 (ALK1) is a transmembrane serine/threonine receptor kinase in the transforming growth factor-beta receptor super family. ALK1 is mainly expressed in endothelial cells. The role of ALK1 in endothelial cell biology and in angiogenesis has been thoroughly studied. Recent studies suggest that ALK1 plays important roles in cardiovascular homeostasis and thereby is involved in the genesis and development of cardiovascular diseases. The purpose of this review is to present an updated view of mechanism of ALK1 signaling and discuss the role of ALK1 in cardiovascular homeostasis and the relationship between ALK1 and the development of cardiovascular disease, providing a new target and strategy for future diagnosis and therapy in cardiovascular diseases.

Key words: activin receptor-like kinase 1; bone morphogenetic protein; endoglin; cardiovascular homeostasis; cardiovascular diseases

活化素受体样激酶 1 (activin receptor-like kinase 1, ALK1) 是转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 受体超家族的一种跨膜丝氨酸/苏氨酸

受体激酶。ALK1 具有显著的细胞特异性,主要表达于动脉内皮细胞 (endothelial cells, ECs)^[1]。ALK1 与四个配体相互作用:(1) TGF- β 1 和 TGF- β 3,与 TGF- β II 型受体 (T β RII) 形成复合体;(2) 骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 9 和 BMP10,与活化素受体 IIA 型 (ActRIIA) 或 BMPRII

收稿日期:2018-05-15;修回日期:2018-06-22

基金项目:国家自然科学基金(91439105,81473209)。

* 通信作者, E-mail: huchangping@csu.edu.cn.

型受体 (BMPRII) 形成复合体。ALK1 激活诱导 Smad1/5/8 磷酸化, Smad1/5/8 与同类受体 Smad4 形成二聚物, 此复合体转移至细胞核并直接调节特定基因的转录^[2]。

ALK1 编码基因 *Acrv1* 杂合突变导致 2 型遗传性出血性毛细血管扩张症 (hereditary hemorrhagic telangiectasia, HHT2) 的发生, 而促进配体结合的辅助受体内皮糖蛋白 (endoglin) 杂合突变则引起 HHT1^[3-4]。这两个基因突变占 HHT 病例的 85%~96%^[5]。缺少 ALK1 信号传递会使 HHT 患者发展成动静脉畸形, 其特征为动脉和静脉之间直接发生联系。由于正常的毛细血管起到缓冲动静脉之间血液流动速度, 并与周围组织进行高效气体交换的作用, 因此动静脉畸形可导致组织出血和缺氧。ALK1 不仅在内皮细胞表达, 也在平滑肌细胞、成肌纤维细胞、肝星状细胞、软骨细胞、单核细胞、成肌细胞、巨噬细胞和成纤维细胞表达, 但其在这些细

胞中的作用还未得到深入研究^[6], 这也说明 ALK1 与心血管疾病的确存在复杂的联系。本文旨在描述 ALK1 的信号传导和对心血管内稳态的病理生理作用及相关机制, 从而概述其与心血管疾病的关系。

1 ALK1 蛋白结构与基因调控

1.1 ALK1 结构

ALK1 是 TGF β /BMP 配体超家族的 I 型受体, 结构可分为四大区域: ①信号肽, 在形成成熟蛋白质的过程中发生移动; ②富含半胱氨酸的 EC 域, 属于配体结合区域; ③细胞内域, 富含甘氨酸/丝氨酸 GS 域 (172-201) 和丝氨酸/苏氨酸激酶域 (202-492), 对调节激酶活性很重要, 可使 Smad1/5/8 磷酸化; ④单独的跨膜域 (图 1)。ALK1 与其他 I 型受体的 GS 域、丝氨酸-苏氨酸激酶域和 C-端尾部具有高度相似性^[7], 但细胞外域却不同。

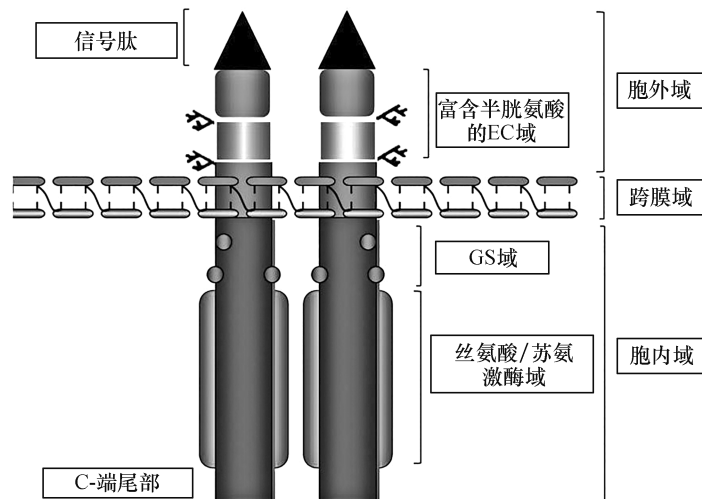


图 1 ALK1 的分子结构示意图

1.2 ALK1 与基因调控

ALK1 不与 TGF- β 直接结合, 而是与 TGF- β 、T β RII (TGF β II 型受体) 形成一个高亲和力的异聚受体复合体^[8]。T β RII 结合配体和 ALK1 后, 使 ALK1 近膜 GS 域磷酸化, GS 域又激活 T β RII 丝氨酸/苏氨酸激酶活性^[9]。此外, 免疫亲和素 FKBP12^[10] 和核受体肝 X 受体 β (LXR β)^[11] 等蛋白质也能结合 ALK1, 并下调其表达。

ALK1 下游激活时, 其下游靶标 pSmad1/5/8 以及 ID1、ID2、ID3 编码转录抑制蛋白; Smad6 和 Smad7 编码抑制型 Smads^[12-13]。Endoglin 也是 ALK1 的靶标^[12-13]。细胞实验发现, Notch 和 ALK1 刺激对 Notch 靶标 (由 RBPJ/NICD 引起的, 如 HEY1

和 HEY2) 的 mRNA 表达具有加强或协同效应^[14-15], 而刺激 BMP9 会使 pSmad1/5/8 与这些启动子结合^[16]。然而, pSmad1/5/8、RBPJ 和 NICD 如何影响这些基因启动子尚不清楚。BMP9/ALK1 下游靶标 Notch 的诱导是否需要 RBPJ 或 NICD, 证据不一致^[14-15, 17]。

其他由 ALK1 调控的基因包括编码动脉标记蛋白的趋化因子受体 (CXCR4) 和在内皮细胞表达的促迁移因子 DLL4 (delta-like 4), 以及编码内皮血管管的内皮素-1 (endothelin 1, EDN1)^[18]。破坏斑马鱼的 ALK1 编码基因 *Acrv1* 或 BMP10/BMP10 类似物将上调 CXCR4a 和 DLL4 的表达, 下调动脉内

皮细胞中 EDN1 的表达^[19-20]。在培养的人内皮细胞中, BMP9/ALK1 信号传递会抑制 CXCR4 而诱导 EDN1^[21]。然而, 无论是 EDN1 缺失还是 Notch 激活都足以形成 *Acrv1* 突变拟表型, 而无论是 CXCR4a 缺失还是 Notch 抑制都能够挽救 *Acrv1* 突变^[19-20]。人内皮细胞中, BMP9/ALK1 信号传递也诱导联接蛋白 40 (CX40, 也称为 GJA5) 表达, 此蛋白能编码缝隙连接的组成部分, *Acrv1* 和 CX40 在基因水平上能影响小鼠受伤引起的皮肤动静脉畸形发展^[22]。TMEM100 编码功能未知的小跨膜蛋白, 在小鼠和培养内皮细胞中, BMP9/ALK1 诱导其表达^[23-24]。TMEM100 在胚胎和出生后动物的内皮细胞中表达, 其大量缺失则能模拟动物 *Acrv1* 在胚胎、新生儿和成年阶段的缺失表型^[24]。TMEM100 由内质网应激诱导, 位于细胞膜上^[21], 说明它可能通过内膜系统与跨膜受体的伴侣作用有关。

2 ALK1 信号传导

2.1 ALK1 与 TGF- β /BMP9/10 人类 TGF- β 家族包括 33 个分泌配体, 在结构和种系基础上分为多个亚族, 包括 TGF- β s、活化素类、Nodal 和 BMPs。TGF- β 家族配体与 I 型和 II 型跨膜受体 (丝氨酸-苏氨酸激酶) 的胞外域结合。在 I 型受体的负调节域内, 持续活化的 II 受体使保守的丝氨酸磷酸化^[21]。活化的 I 型受体反过来磷酸化下游信号分子, 即受体调节的 Smads 或 R-Smads, 将信号从细胞膜传递至细胞核^[21]。人类和其他高等脊椎动物中存在 7 个 I 型 (ALK1-7) 和 5 个 II 型受体 (ActRIIA、ActRIIB、BMPRII、T β RII、AMHRII)。I 型受体 ALK1、ALK2、ALK3 和 ALK6 主要与 BMPs 和生长分化因子结合, 并激活 R-Smads 1、5、8, 而 ALK4、ALK5、ALK7 与活化素类、肌肉生长抑制素和 TGF- β s 等配体结合, 并激活 R-Smads 2 和 3。活化的 R-Smads 与其共同伙伴 Smad4 形成一个复合物, 并转移至细胞核内, 在核内调节靶基因的转录^[21]。

ALK1 最初被描述为 TGF- β 受体, 因为 TGF- β 1 和 TGF- β 3 能激活 ALK1 胞外域 (ECD)/ALK5 胞内域 (ICD) 嵌合受体^[21]; 同时, TGF- β 1 可以增强内皮细胞中 ALK1/ALK5 复合体的形成, 并激活 ALK1 介导的 Smad1/5/8 磷酸化^[21]。然而, TGF- β 作为 ALK1 配体, 在体内的生理意义还不清楚。最近发现, BMP9 和 BMP10 是 ALK1 生理相关的配体。BMP9 和 BMP10 生长因子域同源二聚体是 TGF- β

家族唯一与 ALK1 高度结合的配体^[25]。

2.2 ALK1 与 ALK5 Smads 1 和 5 信号传导由 ALK1 磷酸化诱导, 与 Smad2/3 产生对抗作用。内皮细胞中 ALK1 过表达可减少 ALK5 的信号传递, 然而内皮细胞中 ALK5 过表达却增加 ALK1 信号传递^[26]。研究发现, TGF- β 激活 ALK5-Smad2/3 和 ALK1-Smad1/5/8 通路, 从而分别抑制与激活内皮细胞的迁移和增殖。然而, ALK1 和 ALK5 的表达方式不同, 预示它们具有独立的信号传递通路^[26]。

2.3 ALK1 与内皮糖蛋白 III 型受体 endoglin 是 TGF- β 家族多个配体的辅助受体, 所有配体中 endoglin 可以分别与 BMP9 和 BMP10 生长因子同源二聚体结合^[21]。结构研究表明, 在没有 endoglin 时, II 型受体从 BMP9 或 BMP10 生长因子的功能前区取代它们, 反之, 与 I 型受体 ALK1 结合, 形成信号复合物。当 endoglin 存在时, 能促进 BMP9 与 ALK1 结合并增强信号传递; endoglin 结合循环的 BMP9 或 BMP10 前复合物, 从功能前区取代生长因子同源二聚体。这种由 endoglin 调控的对 BMP9 或 BMP10 同源二聚体在膜上的定位能促进 ALK1 的结合; 最后, II 型受体结合并取代 endoglin, 形成 I 型-II 型受体信号复合物。然而, II 型受体是如何取代 endoglin 以及膜粘附是如何影响这个过程的都还未知。

3 ALK1 与心血管内稳态

内皮细胞和平滑肌细胞之间的关系成为血管内稳态的关键。血管内皮的主要作用是分泌一些物质, 如血管舒张剂 (NO、EDHF、PGE₂) 和血管收缩剂 (TBXA₂、内皮素), 从而促进平滑肌细胞收缩或舒张^[27]。

3.1 ALK1 与内皮细胞 ALK1 表达增加可促进内皮细胞的增殖和迁移^[26]。ALK1 胞外域的嵌合蛋白能减少血管形成和限制肿瘤体积, 作为有效的抗血管再生复合物, 能减少新血管形成^[28]。Endoglin^{+/-} 小鼠心肌梗死后血管再生受损, 发现 endoglin 缺乏会下调 TGF- β /ALK1 信号通路, 抑制内皮细胞增殖^[29]。相反, 也有文献报道, 活化的 ALK1, 通过 Smad1/5 磷酸化, 抑制人皮肤微血管内皮细胞和其他组织内皮细胞的增殖、迁移和粘附, 对血管再生的成熟阶段产生影响^[30]; ALK1 基因剂量的减少 (杂合 ALK1^{+/-} 小鼠) 导致视网膜血管内皮细胞增殖和血管增生增强^[31]。ALK1 与血管再生的关联存在相反的实验证据, 可能与不同实验时使用的细胞类型和环境不同有关。

研究发现, BMP9/ALK1 可阻止 PI3K/AKT 和 VEGF 引起的 ERK 激活。相反, 药物抑制 PI3K 足以消除体内 ALK1 诱导的血管增生。PTEN 是可以抵消内皮细胞 PI3K 信号通路的主要脂质蛋白磷酸酶。研究还发现, BMP9/ALK1 通过刺激 PTEN 活性抑制 PI3K 信号级联^[32]。而这并非 BMP9/ALK1 独有, 因为之前研究已经证明 DLL4/Notch 也会诱导 PTEN 表达而抑制柄细胞增殖^[33]。考虑到先前 ALK1 和 Notch 之间的相互作用, BMP9 刺激引起 PTEN 增加可解释为 Notch 引起的间接反应。然而, 不能排除 BMP9 刺激时 Smad 对 PTEN 启动子的直接影响。事实上, VEGF 通过增加内皮细胞中 miR-17-92 基因簇的聚集抑制 PTEN 表达^[34]。因此, 也可能是 BMP9/ALK1 通过抑制 PTEN 表达的负向调节因子来调控 PTEN 量。研究确定内皮细胞中 BMP9/ALK1 和 PTEN 之间的相互作用, 对阐明 ALK1 表达缺失致血管增生的发病机制至关重要。

另有研究发现, Dkk-3 (一种肿瘤抑制因子) 通过激活 ALK1 受体而使 Smad1, 5, 8 磷酸化, 诱导 Smad4 聚集在 VEGF 启动子上, 上调 VEGF 转录水平而作用于内皮细胞, 反过来, 通过活化 VEGFR2 调控血管再生活性^[35]。此外, TGF- β 中和实验证明 Dkk-3 介导的 ALK1 受体活化不需要 Dkk-3 和 TGF- β 相互作用。此外, 内皮细胞中 Dkk-3 介导的 ALK1 激活和 VEGF 上调不需要 TGF- β 。因此, Dkk-3 是否为 TGF- β 受体的直接激活因子, 或其是否作用于另一种激活 ALK1 的膜受体仍然有待确定。Dkk-3 与 ALK1 在内皮细胞中的功能联系提示 Dkk-3 在血管病理中发挥一定的作用。在病理条件下, Dkk-3 可能通过增强 Smad1, Smad5 和 Smad8 磷酸化促进血管重构。

3.2 ALK1 与平滑肌细胞 ALK1 虽然主要在内皮细胞表达, 然而 ALK1 对血管内稳态的调节作用并非全由内皮介导。ALK1 也调节平滑肌细胞的分化和聚集^[36]。ALK1 也诱导血管间质细胞 (vascular mesenchymal cells, VMCs) 中基质 Gla 蛋白的表达^[26], 促进 VMCs 增殖和分化。ALK1 过表达能诱导 ALK5 的表达, 从而上调 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 的表达。在人主动脉平滑肌细胞中, TGF- β 通过 Smad2/3 和 Smad1/5 通路诱导平滑肌细胞分化 (其标记因子为 α -SMA 和钙调节蛋白), ALK1 不参与这一过程而 ALK5 参与^[37], 这表明 TGF- β 1 可能激活 Smad1/5, 此时该通路与 ALK1 无关。因此, ALK1 在平滑肌细胞分化中的作用有待深入研究。

4 ALK1 与心血管疾病

4.1 ALK1 与肺动脉高压 HHT 与血管扩张、静脉畸形、血管阻力低及可能的左心衰有关。相比之下, 肺动脉高压 (pulmonary hypertension, PH) 的特点是肺动脉毛细血管增殖、血管收缩增强, 从而导致阻力高、心排血量低及右心衰^[38]。编码 BMPR2 和 ALK1 的基因突变与 PH 有关^[26]。文献报道, *Acrv1* 胚胎体细胞镶嵌体的特点是两个不同的突变等位基因来自相同的单体型, 因此能够解释 HHT 与 PH 的相关性; 在外显子 10 内发现了两个相邻的致病杂合突变, 突变在细胞隔离前发生, 进而导致体细胞和生殖系组织基因镶嵌。相较于携带 *BMPR2* 突变体的 PH 患者, 携带 *Acrv1* 突变体的 PH 患者早期预后较差^[39]。然而, 矛盾的是, 很少有患者出现 HHT/PH 综合征^[40]。从遗传的角度来看, 这种关系存在一定的意义, *BMPR2* 编码可以与 ALK1 结合的 II 型受体, *BMPR2* 杂合突变占 70% 以上的遗传性 PH, 20% 的 *Acrv1* 突变与 PH 发生有关。在极少数情况下, *Acrv1* 突变导致先天性 PH 或不患 HHT 的遗传性 PH^[41]。出现 HHT/PH 的患者大多存在 *Acrv1* 基因杂合突变, 而较少的患者存在 *BMPR2* 突变^[21]。

PH 时 EDN1 表达上调。EDN1 是强有力的血管收缩剂和促细胞分裂剂, 可调节内皮细胞迁移和血管再生^[42]。研究发现, TGF- β 通过 ALK5/Smad3 通路诱导 EDN1 表达, TGF- β 抗迁移和抗增殖作用是由 EDN1 对内皮细胞的自分泌功能来调控的^[43]。此外, BMP9 以与 TGF- β 1 相同的方式增加人肺微血管内皮细胞的 EDN1 产生, 但当两者在一起, 会进一步增加 EDN1 水平^[44]。BMP9 不仅通过 ALK1 受体诱导 Smad1/5 磷酸化, 与 TGF- β 一样, 也诱导 Smad2 的磷酸化。也有研究发现, BMP9 可刺激人肺动脉内皮细胞中 EDN1 的释放, 由 Smad1 和 p38 MAPK 介导, 与 Smad4 途径无关; EDN1 释放部分通过 BMPRII 和 ALK1 调节^[45]。BMPRII 功能障碍对 EDN1 基础水平的调节非常重要, 因此对 PH 的发病机制也同样重要。

最近研究发现, 抗小鼠 ALK1 胞外域的抗体 (anti-mALK1) 与 ALK1 细胞外区域结合, 抑制小鼠肺动脉平滑肌细胞中 TGF β 介导的 Smad1/5 磷酸化和核定位, 说明 ALK1 调控小鼠肺动脉平滑肌细胞中 TGF β 引起的 Smad1/5 磷酸化, 这与之前在人主

动脉平滑肌细胞的观察结果相反^[46]。

4.2 ALK1 与动脉粥样硬化 小鼠体内研究发现, ALK1 在动脉弯曲和分支点的表达较强, 而这些部位是易发生动脉粥样硬化的扰流位点^[47]。另有研究表明, ALK1 在内皮、新生内膜和人冠状动脉粥样硬化病变的血管中层表达增加^[48]。有趣的是, 也有研究发现 ALK1 细胞外域的顶端可以相对低的亲和力与含有 ApoB100 的循环低密度脂蛋白 (LDL) 结合, 同时还能调控 LDL 转胞吞至内皮下的作用, 从而启动动脉粥样硬化病变^[45]。此作用不需要 BMP9/BMP10、endoglin、BMPRII 和 ALK1 激酶活性, 以 LDL/ALK1 间的相互作用为目标可能发现防治动脉粥样硬化新靶点。

研究表明, 抑制 BMP 信号传递可减少动脉粥样硬化斑块的形成。由于 ALK1 调节 LDL 吸收是通过在胞外直接与之结合, 同时还传递 BMP 信号, 所以 ALK1 在动脉粥样硬化的发展中至少发挥两个独立的功能。由于 ALK1 基因敲除会使早期胚胎血管缺陷及引起内皮细胞死亡, 所以关于 ALK1 缺失是否影响体内 LDL 消除和动脉粥样化形成仍有待深入研究^[49]。

4.3 ALK1 与高血压 高血压和 ALK1 配体 TGF- β 之间存在密切关系。TGF- β 1 应急调控可诱导血管舒张并降低血压^[50]。然而, TGF- β 1 表达增加与血压升高有关, TGF β 中和抗体可降低高血压大鼠血压^[51]。血管紧张素 II (angiotension II, Ang II) 和醛固酮是血压的重要调控者, 可增加 TGF- β 1 的 mRNA 表达并使其转化为活性形式; Ang II 也增加 TGF- β II 型受体 mRNA 的表达^[52]。不仅 ALK1 的配体 TGF- β 1, ALK1 本身也与高血压具有密切联系。ALK1 受体与血压的调控有关, ALK1^{+/-} 小鼠的血压增高, 主要是因为交感神经和肾素-血管紧张素系统的激活以及胆碱能神经元的数量减少有关^[53]。

4.4 ALK1 与心力衰竭 心脏纤维化使心衰患者心肌僵硬, 由于肌细胞分离使心肌收缩紊乱, 阻断离子通道, 加重组织缺氧。控制心脏纤维化最有效的促纤维细胞因子是转化生长因子 β (TGF- β) 家族。TGF- β 1 主要通过 TGF- β II 型受体 (TGF β R2)、TGF- β I 型受体 (活化素受体样激酶 5, ALK5) 和 Smad2/3 传递信号, 促进心肌 I 型胶原蛋白的产生和心肌纤维化。研究表明, TGF β -1/ALK5 在成纤维细胞中传递信号需要 TGF- β 共受体 endoglin, 并且降低 endoglin 水平能通过减弱 Smad2/3 的信号传递从而抑制心肌纤维化^[54]。研究表明, 心衰患者和压力负荷小鼠模型的 ALK1 水平降低会进一步引起心衰,

ALK1 表达降低与心脏功能受损和心脏纤维化加重相关, 此外, ALK1 可能通过维持心衰中的 Smad1 活性来抑制心肌纤维化^[55]。最近研究发现, ALK2 在心肌细胞中表达并调控钙调磷酸酶激活, 特异性敲除心肌细胞 ALK2 会减少血管紧张素 II 引起的小鼠心肌肥大和心脏纤维化, 特异性敲除心肌细胞的 ALK1 则无表型影响^[56]。这些发现提示, ALK1 可能是心肌纤维化的一个重要负调控因子, ALK1 在非肌细胞的表达可能对心脏重构至关重要。

敲除小鼠全身 ALK1 导致早期死亡和高输出性心力衰竭, 这是由于动静脉畸形的发展及与内脏出血有关。在 HHT2 表型小鼠模型中的研究证明了充血性心力衰竭是适应性而非不适性重构, 因为高输出性心力衰竭^[57]。近来 ALK1 抑制剂已经开发用于癌症治疗。不适性心脏重构常与化疗有关, 临床研究发现出现收缩期心力衰竭的患者接受 ALK1 抑制剂治疗时必须排除高输出性心力衰竭。高输出性心力衰竭是 HHT2 患者最常见的死亡率增加的并发症^[58]。

5 结论与展望

最初 *Acvrl1* 和 endoglin 是作为 HHT 的致病基因而发现。现在发现, ALK1 对心血管内稳态的影响不仅是由于其对内皮细胞生物学的重要作用, ALK1 也调节血管平滑肌细胞生物学。ALK1 在炎症细胞、心肌细胞、成纤维细胞中也发挥作用, 最近报道了第一个选择性的 ALK1 抑制剂 San78-130, 通过抑制 ALK 抑制肌成纤维细胞 BMP-9/Smad1/5 信号通路, 也可促进离体血管新生^[59], 说明其可能与其他重要的心血管疾病也存在联系, 可能是心血管疾病的新靶点。

参考文献:

- [1] SEKI T, YUN J, OH SP. Arterial endothelium-specific activin receptor-like kinase 1 expression suggests its role in arterialization and vascular remodeling [J]. *Circ Res*, 2003, 93(7):682-89.
- [2] MASSAGUE J. How cells read TGF-beta signals [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(3):169-78.
- [3] JOHNSON DW, BERG JN, BALDWIN MA, et al. Mutations in the activin receptorlike kinase 1 gene in hereditary haemorrhagic telangiectasia type 2 [J]. *Nat Genet*, 1996, 13(2):189-95.
- [4] MCALLISTER KA, GROGG KM, JOHNSON DW, et al. Endoglin, a TGF-b binding protein of endothelial cells, is the gene for hereditary haemorrhagic telangiectasia type 1 [J]. *Nat Genet*, 1994, 8(4):345-51.
- [5] MCDONALD J, WOODERCHAK-DONAHUE W, VANSANT WEBB

- C, et al. Hereditary hemorrhagic telangiectasia: genetics and molecular diagnostics in a new era [J]. *Front Genet*, 2015, 6:1.
- [6] LEBRIN F, DECKERS M, BERTOLINO P, et al. TGF-beta receptor function in the endothelium [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65(3):599-608.
- [7] TENDIJE P, FRANZEN P, YAMASHITA H, et al. Serine/threonine kinase receptors [J]. *Prog Growth Factor Res*, 1994, 5(1):55-72.
- [8] ATTISANO L, CARCAMO J, VENTURA F, et al. Identification of human activin and TGF beta type I receptors that form heteromeric kinase complexes with type II receptors [J]. *Cell*, 1993, 75(4):671-80.
- [9] GOUMANS MJ, VALDIMARSDOTTIR G, ITOH S, et al. Activin receptor-like kinase (ALK)1 is an antagonistic mediator of lateral TGFbeta/ALK5 signaling [J]. *Mol Cell*, 2003, 12(4):817-28.
- [10] WANG T, LI BY, DANIELSON PD, et al. The immunophilin FKBP12 functions as a common inhibitor of the TGF beta family type I receptors [J]. *Cell*, 1996, 86(3):435-44.
- [11] MO J, FANG SJ, CHEN W, et al. Regulation of ALK-1 signaling by the nuclear receptor LXRbeta [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(52):50788-94.
- [12] LUX A, SALWAY F, DRESSMAN HK, et al. ALK1 signalling analysis identifies angiogenesis related genes and reveals disparity between TGF-beta and constitutively active receptor induced gene expression [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2006, 6:13.
- [13] OTA T, FUJII M, SUGIZAKI T, et al. Targets of transcriptional regulation by two distinct type I receptors for transforming growth factorbeta in human umbilical vein endothelial cells [J]. *J Cell Physiol*, 2002, 193(3):299-318.
- [14] ISO T, MAENO T, OIKE Y, et al. Dll4-selective Notch signaling induces ephrinB2 gene expression in endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 341(3):708-14.
- [15] ROSTAMA B, TURNER JE, SEAVEY GT, et al. DLL4/Notch1 and BMP9 interdependent signaling induces human endothelial cell quiescence via P27KIP1 and thrombospondin-1 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(12):2626-37.
- [16] MORIKAWA M, KOINUMA D, TSUTSUMI S, V, et al. ChIP-seq reveals cell type-specific binding patterns of BMP-specific Smads and a novel binding motif [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(20):8712-27.
- [17] WOLTJE K, JABS M, FISCHER A. Serum induces transcription of Hey1 and Hey2 genes by Alk1 but not Notch signaling in endothelial cells [J]. *PLOS One*, 2015, 10(3):e0120547.
- [18] STRASSER GA, KAMINKER JS, TESSIER-LAVIGNE M. Microarray analysis of retinal endothelial tip cells identifies CXCR4 as a mediator of tip cell morphology and branching [J]. *Blood*, 2010, 115(24):5102-10.
- [19] CORTI P, YOUNG S, CHEN CY, et al. Interaction between alk1 and blood flow in the development of arteriovenous malformations [J]. *Development*, 2011, 138(8):1573-82.
- [20] ROCHON ER, WRIGHT DS, SCHUBERT MM, et al. Context-specific interactions between Notch and ALK1 cannot explain ALK1-associated arteriovenous malformations [J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 107(1):143-52.
- [21] ROMAN BL, HINCK AP. ALK1 signaling in development and disease: new paradigms [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(24):4539-4560.
- [22] GKATZIS K, THALGOTT J, DOS-SANTOS-LUIS D, et al. Interaction between ALK1 signaling and connexin40 in the development of arteriovenous malformations [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(4):707-17.
- [23] MOON EH, KIM MJ, KO KS, et al. Generation of mice with a conditional and reporter allele for Tmem100 [J]. *Genesis*, 2010, 48(11):673-78.
- [24] SOMEKAWA S, IMAGAWA K, HAYASHI H, et al. Tmem100, an ALK1 receptor signaling-dependent gene essential for arterial endothelium differentiation and vascular morphogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(30):12064-69.
- [25] TOWNSON SA, MARTINEZ-HACKERT E, GREPPI C, et al. Specificity and structure of a high affinity activin receptor-like kinase 1 (ALK1) signaling complex [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(33):27313-25.
- [26] MARIA GN, JOSE M. MF, JOSE M. LN. The ALK-1/Smad1 pathway in cardiovascular physiopathology. A new target for therapy? [J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 2013, 1832(10):1492-510.
- [27] TANG Y, YANG X, FRIESEL RE, et al. Mechanisms of TGF-beta-induced differentiation in human vascular smoothmuscle cells [J]. *J Vasc Res*, 2011, 48(6):485-94.
- [28] MITCHELL D, POBRE EG, MULIVOR AW, et al. ALK1-Fc inhibits multiple mediators of angiogenesis and suppresses tumor growth [J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(2):379-88.
- [29] VAN LAAKE LW, VAN DEN DRIESCHE S, POST S, et al. Endoglin has a crucial role in blood cell-mediated vascular repair [J]. *Circulation*, 2006, 114(21):2288-97.
- [30] LAMOUILLE S, MALLET C, FEIGEJJ, et al. Activin receptor-like kinase 1 is implicated in the maturation phase of angiogenesis [J]. *Blood*, 2002, 100(13):4495-501.
- [31] ALSINA-SANCHIS E, GARCIA-IBANEZ Y, FIGUEIREDO AM, et al. ALK1 loss results in vascular hyperplasia in mice and humans through PI3K activation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(5):1216-29.
- [32] GRAUPERA M, POTENTE M. Regulation of angiogenesis by PI3K signaling networks [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(9):1348-55.
- [33] SERRA H, CHIVITE I, ANGULO-URARTE A, et al. PTEN mediates Notch dependent stalk cell arrest in angiogenesis [J]. *Nat Commun*, 2015, 6:7935.
- [34] CHAMORRO-JORGANES A, LEE MY, ARALDI E, et al. VEGF-induced expression of miR-17-92 cluster in endothelial cells is mediated by ERK/ELK1 activation and regulates angiogenesis [J]. *Circ Res*, 2016, 118(1):38-47.
- [35] BUSCETI CL, MARCHITTI S, BIANCHI F, et al. Dickkopf-3 upregulates VEGF in cultured human endothelial cells by activating activin receptor-like kinase 1 (ALK1) pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8:111.

- [36] SEKI T, HONG KH, OH SP. Nonoverlapping expression patterns of ALK1 and ALK5 reveal distinct roles of each receptor in vascular development [J]. *Lab Invest*, 2006, 86(2):116-29.
- [37] LEBRIN F, GOUMANS MJ, JONKER L, et al. Endoglin promotes endothelial cell proliferation and TGF-beta/ALK1 signal transduction [J]. *EMBO J*, 2004, 23(20):4018-28.
- [38] TUDER RM, ARCHER SL, DORFMULLER P, et al. Relevant issues in the pathology and pathobiology of pulmonary hypertension [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62:D4-12.
- [39] EYRIES M, COULET F, GIRERD B, et al. ACVRL1 germinal mosaic with two mutant alleles in hereditary hemorrhagic telangiectasia associated with pulmonary arterial hypertension [J]. *Clin Genet*, 2012, 82(2):173-79.
- [40] TREMBATH RC, THOMSON JR, MACHADO RD, et al. Clinical and molecular genetic features of pulmonary hypertension in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia [J]. *N Engl J Med*, 2001, 345:325-34.
- [41] GIRERD B, MONTANI D, COULET F, et al. Clinical outcomes of pulmonary arterial hypertension in patients carrying an ACVRL1 (ALK1) mutation [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 181(8):851-86.
- [42] SHAO D, PARK JE, WORT SJ. The role of endothelin-1 in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension [J]. *Pharmacol Res*, 2011, 63:504-11.
- [43] CASTANARES C, REDONDO-HORCAJO M, MAGAN-MARCHAL N, et al. Signaling by ALK5 mediates TGF-beta-induced ET-1 expression in endothelial cells: a role for migration and proliferation [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(7):1256-66.
- [44] STAR GP, GIOVINAZZO M, LANGLEBEN D. Bone morphogenic protein-9 stimulates endothelin-1 release from human pulmonary microvascular endothelial cells: a potential mechanism for elevated ET-1 levels in pulmonary arterial hypertension [J]. *Microvasc Res*, 2010, 80(3):349-54.
- [45] PARK JE, SHAO D, UPTON PD, et al. BMP-9 induced endothelial cell tubule formation and inhibition of migration involves Smad1 driven endothelin-1 production [J]. *Plos One*, 2012, 7(1):e30075.
- [46] ZHANG H, DU L, ZHONG Y, et al. Transforming growth factor-beta stimulates Smad1/5 signaling in pulmonary artery smooth muscle cells and fibroblasts of the newborn mouse through ALK1 [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 313(3):L615-2.
- [47] KORFF T, AUFGEBAUER K, HECKER M. Cyclic stretch controls the expression of CD40 in endothelial cells by changing their transforming growth factor-beta1 response [J]. *Circulation*, 2007, 116(20):2288-97.
- [48] YAO Y, ZEBBOUDJ AF, TORRES A, et al. Activin-like kinase receptor 1 (ALK1) in atherosclerotic lesions and vascular mesenchymal cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 74(2):279-89.
- [49] KRAEHLING JR, CHIDLOW JH, RAJAGOPAL C, et al. Genome-wide RNAi screen reveals ALK1 mediates LDL uptake and transcytosis in endothelial cells [J]. *Nat Commun*, 2016, 7:13516.
- [50] SANTIBANEZ JF, LETAMENDIA A, PEREZ-BARRIOCANAL F, et al. Endoglin increases eNOS expression by modulating Smad2 protein levels and Smad2-dependent TGF-beta signaling [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 210(2):456-68.
- [51] LAVOIE P, ROBITAILLE G, AGHARAZII M, et al. Neutralization of transforming growth factor-beta attenuates hypertension and prevents renal injury in uremic rats [J]. *J Hypertens*, 2005, 23(10):1895-903.
- [52] GORDON KJ, BLOBE GC. Role of transforming growth factor-beta super family signaling pathways in human disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1782(4):197-228.
- [53] NUNEZ MG, RIOLOBOS AS, CASTELLANO O, et al. Heterozygous disruption of activin receptor-like kinase 1 is associated with increased arterial pressure in mice [J]. *Dis Mod Mec*, 2015, 8(11):1427-39.
- [54] KAPUR NK, WILSON S, YUNIS AA, et al. Reduced endoglin activity limits cardiac fibrosis and improves survival in heart failure [J]. *Circulation*, 2012, 125(22):2728-38.
- [55] MORINE KJ, QIAO X, PARUCHURI V, et al. Reduced activin receptor-like kinase 1 activity promotes cardiac fibrosis in heart failure [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2017, 31:26-33.
- [56] SHAHID M, SPAGNOLLI E, ERNANDE L, et al. BMP type I receptor ALK2 is required for angiotensin II-induced cardiac hypertrophy [J]. *Am J Phys Heart Circ Phys*, 2016, 310(8):H984-4.
- [57] MORINE KJ, QIAO X, PARUCHURI V, et al. Conditional knockout of activin like kinase-1 (ALK-1) leads to heart failure without maladaptive remodeling [J]. *Heart Vessels*, 2017, 32(5):628-36.
- [58] BUSCARINI E, LEANDRO G, CONTE D, et al. Natural history and outcome of hepatic vascular malformations in a large cohort of patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia [J]. *Dig Dis Sci*, 2011, 56(7):2166-78.
- [59] CHO H, SENGUPTA S, JEON SS, et al. Identification of the first selective activin receptor-like kinase 1 inhibitor, a reversible version of L-783277 [J]. *J Med Chem*, 2017, 60(40):1495-508.

(本文编辑:秦旭平)