BMP9/ALK1/Endoglin信号通路参与调节血管形成与稳态维持

王淑娟, 米立志*

天津大学生命科学学院, 天津 300072

* 联系人, E-mail: lizhi.mi@tju.edu.cn

收稿日期: 2017-12-18; 接受日期: 2018-04-10; 网络版发表日期: 2018-06-11

国家自然科学基金(批准号: 31670738)资助

摘要 在发育过程中, 新生血管的形成与稳态维持是机体生命活动的重要基础. 而血管生成机制复杂, 参与并促进血管生成的因子众多. 此过程发生异常直接与血管类疾病、炎症、癌症等疾病密切相关. 除了VEGF/VEGFR, Ang-Tie2, DLL4-Notch和PDGF-BB/PDGFR β 等主要调节血管形成的传导通路外, BMP9/ALK1/Endoglin通路在其中也起着重要的作用. 此通路中二聚化配体BMP9作为信号分子, 与受体ALK1和Endoglin结合后激活受体, 进而调控下游靶基因的表达. 本文旨在对此信号通路中关键节点的分子结构和作用机制进行阐述, 并对未来的机制研究与药物开发进行展望.

关键词 血管形成, BMP9, Endoglin

血管组成的循环网络是体内输送养料和氧气, 排除代谢废物与二氧化碳, 以及各种血细胞与淋巴细胞循环的通路. 其形成与稳态维持是机体生命活动的重要基础, 不仅在发育与组织损伤修复中起着不可或缺的作用, 且直接与心脑血管、炎症、癌症等重大疾病密切相关^[1-4]. 因此深入理解与探讨血管的发生、发展、形成与稳态维持的分子机制, 阐明新的通路及其关键节点分子的结构与功能关系, 并在此基础上开发新的靶向药物与治疗策略, 无论在基础生物学还是临床医学上都有着非常重大的意义.

1 血管形成

在发育过程中, 由无血管胚胎的中胚层(meso-

derm)发育的成血管细胞(hemangioblast)聚集、分化, 从而生长出新的血管的过程叫血管新生(vasculogenesis). 在这一过程中, 卵黄囊中血岛周围的细胞分化为内皮细胞, 而中心血岛细胞则分化为血细胞. 随后原始的血管网络则通过在已有血管上以出芽的方式产生, 并经过大量的重塑, 这一过程称为血管形成(angiogenesis). 血管新生仅限于胚胎发育的早期, 而血管形成则是在胚胎发育后期以及出生后新血管形成的主要机制^[1,5,6].

2 与血管形成和稳态维持有关的疾病

2.1 血管类疾病

血管形成与稳态维持的异常与血管类疾病直接相

引用格式: 王淑娟, 米立志. BMP9/ALK1/Endoglin信号通路参与调节血管形成与稳态维持. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 640-649
Wang S J, Mi L Z. BMP9/ALK1/Endoglin signaling regulates the angiogenesis and vascular homeostasis (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2018, 48: 640-649, doi: [10.1360/N052017-00290](https://doi.org/10.1360/N052017-00290)

关. 各种慢性缺血性疾病的一个显著特征是在局部缺氧时不能刺激新血管形成, 或形成不充分. 例如, 在冠状动脉疾病中, 心血管功能受阻, 这时如能形成新的副动脉作为旁路则可以缓解已硬化动脉的压力与功能, 并有利于病人的健康. 但遗憾的是大多数冠状动脉病人血管形成功能很欠缺^[5,7]. 血管形成与稳态维持的失调也直接导致了如遗传性出血性毛细血管扩张症(hereditary hemorrhagic telangiectasia, HHT)、先兆子痫(Preeclampsia)等疾病, 是妊娠高血压的罪魁祸首^[8,9].

2.2 炎症

炎症的发生也会刺激血管形成. 激活的炎症反应会释放大量的细胞因子、生长因子及各种蛋白酶. 这些因子直接作用于内皮细胞, 刺激血管形成, 并提高细胞的渗透性. 因此血管形成是各种慢性炎症如类风湿性关节炎、牛皮癣、自身免疫疾病、肥胖及糖尿病等的一个重要表征^[10,11]. 当然, 这些疾病的发生并非都是血管形成所导致的, 但抗血管形成药物对治疗这些疾病确有帮助.

2.3 癌症的发展和转移

癌症的发展和转移是依赖于血管形成的. 在癌症发生的早期, 肿瘤生长所需的氧气可以从周围组织血液中通过扩散获取. 但随着癌症的发展, 扩散的氧气不足以维持肿瘤的生长, 使肿瘤处于缺氧状态. 这时肿瘤细胞就会开启血管形成的“开关”, 刺激血管形成以便为肿瘤的快速增殖提供足够的氧气^[12,13]. 这一肿瘤血管形成的过程甚至在癌变前期就已发生. 同时血管网络也为癌细胞的转移提供了通路^[13].

因为血管的形成及稳态维持与癌症的发展、扩散及转移密切相关, 因此开发针对血管形成的靶向药物与治疗策略是癌症医学研究的一个重要方向^[12]. 当前临床应用的治疗策略主要是通过靶向抑制肿瘤的血管形成来控制肿瘤的生长^[14]. 但是这一抗肿瘤血管形成的疗法存在耐药性问题^[14-16]. 同时抑制多个血管形成通路会显著改善抗肿瘤血管形成疗法的疗效^[14-16]. 但这需要对调控血管形成及稳态维持的新信号通路的关键节点分子的结构, 通路之间相互沟通的分子机制等有深入的理解和研究.

3 血管的形成、重塑与稳态维持的分子机制

血管的形成与稳态维持是受到多个信号通路构成的复杂网络调控的^[5]. 其中血管内皮生长因子/血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptor, VEGF/VEGFR)、Ang-Tie2、Delta-like 4 (DLL4)-Notch和PDGF-BB/PDGFR β 等4个复杂的、相辅相成的信号传导通路在调节血管形成与稳态中发挥着重要作用^[17-22]. 各个信号通路之间交互作用, 控制形成血管内皮细胞的激活与静息状态, 从而达到促进血管形成, 亦或维持血管网络稳态的作用^[23,24]. 而最近发现的一个重要通路BMP9/ALK1/Endoglin通路同样在调节血管形成与稳态维持中发挥重要的作用^[6,25].

3.1 BMP9

BMP9属于TGF β /BMP超家族^[26,27]. TGF β /BMP家族是最古老的发育信号分子家族, 其家族成员都是通过细胞表面酶联受体而发挥作用的^[26]. 这些发育信号调控细胞增殖、分化、迁移、凋亡等功能, 是组织器官的形成与稳态维持的负调控因子^[28]. 在胚胎发育中, 他们对于建立胚胎的前后、左右、腹背的不对称形态起着重要的调控作用^[29,30].

最初发现BMP9在肝细胞的增殖、骨形成、造血及中枢神经系统发育中都起着作用^[31-34]. 野生型BMP9含有429个氨基酸, 它由一个信号肽(1~22)、一个Pro-domain (23~319)和一个生长因子(320~429)构成(图1). BMP9合成的初期以前体复合物的形式存在, 由一条包括前体结构域(Prodomain)和生长因子(growth factor, GF)两部分的肽链组成^[35]. BMP9羧基末端含有7个高度保守的半胱氨酸残基, 其中第392位的半胱氨酸会形成分子间二硫键, 使生长因子以共价偶联的二聚体的形式存在. 此复合物在前体蛋白转化酶(proprotein convertase)的作用下, 其前体结构域和生长因子间的肽键会被切割开, 但两者仍会以非共价形式结合^[35].

后续研究表明, BMP9作为ALK1和Endoglin的配体, 在血管与淋巴管的发育、重构及稳态维持等功能上也起着不可或缺的作用^[36,37]. BMP9、其I型受体ALK1及共受体Endoglin在基因上的突变均会导致相同的遗传性出血性毛细血管扩张症^[6,38,39]. 虽然最新实

图1 BMP9结构示意图(网络版彩图)

验表明, ALK2受体可能也参与了BMP介导的血管形成^[40]。但体外生化实验中BMP9成熟生长因子与ALK2的亲合力比其与ALK1的亲合力低3个数量级^[35]。因此ALK2是否可以作为BMP9的受体来调控血管形成还有待确定。

3.2 ALK1

激活素受体样激酶1 (ALK1, activin receptor-like kinase 1)是TGF β /BMP家族蛋白的I型受体,是7个I型受体中的一员。ALK1表观分子量为56 kD,具有单次跨膜结构域。它由信号肽(1~21)、较大的胞外域(22~118)、单次疏水跨膜结构域(119~141)和胞内激酶结构域(142~503)构成(图2)。

ALK1在血管的重塑过程中发挥很重要的作用^[39]。人ALK1基因的突变直接导致遗传性出血性毛细血管扩张症^[39],敲除ALK1基因的纯合子小鼠(*Mus musculus*)胚胎会死在中孕期,并表现为严重的血管异常^[41~43]。在ALK1基因敲除的小鼠模型中,胚胎卵黄囊血管会发生扩张、卷曲等形态变化,同时其动、静脉也会不经毛细血管网床直接连通^[43]。

ALK1曾经被认为是TGF β 的受体^[39]。因为在早期的体外实验中发现, TGF β 1和TGF β 3可以激活由ALK1胞外域与ALK5胞内域构成的嵌合体,并且TGF β 1还可以增强ALK1/ALK5复合物的形成以及ALK1依赖的SMAD1/5/8的磷酸化水平^[25,39,43]。但这些证据尚不足以证明在体内TGF β 可以作为ALK1的天然配体。近来的研究则发现, BMP9和BMP10是ALK1的高亲和力配体^[27],并且二者在血液中的浓度均高于所测定的它们

图2 ALK1结构示意图(网络版彩图)

激活内皮细胞ALK1通路的EC₅₀值^[39]。因此在生理条件下,血流中的BMP9和BMP10是能够激活血管内皮细胞上的ALK1受体,并诱导血管的静息^[44]。

3.3 Endoglin

(1) Endoglin的结构特征。Endoglin也被称为CD105,是具有单次跨膜域的糖基化膜蛋白^[45]。Endoglin是转化生长因子/成骨蛋白(TGF β /BMP)家族成员的一个辅助受体。成熟的野生型Endoglin多肽含有633个氨基酸,为I型膜蛋白,它是由一个较大的胞外域、一个单次疏水跨膜域及一个很小的胞内域构成。它的胞外域包含一个OR (Orphan)结构域和一个ZP (zona pellucida)结构域(图3)^[45~48]。前者OR结构域因无已知的同源结构而得名,它是由OR1和OR2两个亚结构域组成,据推测OR结构域是由OR2基因通过复制产生OR1基因,然后循环置换后得到完整OR结构域编码区^[45]。后者ZP结构域则与卵细胞透明胶质蛋白ZP-1等的寡聚结构域同源,是参与许多细胞外基质蛋白聚合或多聚化的重要结构模块, ZP结构域可分为ZP-N和ZP-C两个亚结构域^[45]。在ZP结构域后是其单次跨膜域和胞内区。胞内区含有一个PDZ结合功能化模块,以及多个磷酸化位点,对于介导该受体与其他胞内或跨膜蛋白的相互作用和信号传导起着重要作用。Endoglin在血管新生、创伤修复、心血管发育,以及维持血管壁的完整等方面起着重要作用^[49~51]。

表达的Endoglin除了会以全长的膜蛋白形式存在外,还可以通过翻译后剪切,以可溶的胞外域的形式向细胞外分泌^[52,53]。这种可溶的Endoglin胞外域可以通过

图3 Endoglin结构示意图(网络版彩图)

结合Endoglin的配体来抑制Endoglin配体与细胞表面受体的结合,从而调控细胞对TGF β /BMP信号的反应.例如,在妊娠高血压患者的血液中就发现有高表达的可溶性Endoglin胞外域^[52,53].

(2) Endoglin/BMP9复合物结构. Jovine研究组^[45]解析了Endoglin胞外域OR及ZP结构域各自的结构,以及OR结构域与BMP9生长因子复合物的结构(图4).他们发现,OR结构域形成了一种独特的二重循环置换的折叠结构.而ZP结构域则和其他含ZP结构域蛋白一样,是由ZP-N和ZP-C两部分组成,但二者之间的连接部分却非常短,这使得ZP-C的FG无规卷曲上的3₁₀螺旋部分紧密排靠在ZP-N的 β A- β G折叠的表面上,从而阻碍了Endoglin的ZP结构域像其他含ZP结构域的蛋白那样通过这个界面的作用形成多聚体(图4A)^[45].在他们解析的BMP9与OR复合物的结构中,Endoglin OR1通过一个约670 Å²的疏水界面结合到BMP9的生长因子“指端”(图4B).他们的生化实验进一步证明,Endoglin的ZP结构域介导了Endoglin的二聚化并增强了Endoglin与BMP9二聚体之间的二价结合能力(bivalent interaction)^[45].这些结构信息对于更好地理解BMP9的识别及其介导的信号传导奠定了基础.

(3) Endoglin与血管稳态. Endoglin于1995年在第5次白细胞分化抗原国际会议上被正式命名, Lastres等人^[54]在20世纪90年代研究证明它是转化生长因子受体TGF β 受体复合物的组成成分.随着临床医学对Endoglin研究的日益深入,证明其与血管生成具有密切的

联系^[55]. Endoglin敲除的小鼠会由于血管网络结构的缺陷死于胚胎发育的早期^[56].而在人类中,已知Endoglin的突变会导致HHT^[56].这种疾病是由于脑、肺、肝等器官的动、静脉血管形成不良所造成的.研究还表明, Endoglin参与了人的内皮细胞增殖以及肿瘤的血管形成.在发炎或肿瘤等血管形成比较活跃的组织,血管内皮细胞表面Endoglin的表达量会异常升高^[55]. Endoglin表达量的升高还与内皮细胞的异常增殖密切相关.不仅如此, Endoglin的表达量与癌症患者的存活期、能否治愈及癌症是否会发生转移呈负相关^[57].因此Endoglin已被用作肿瘤血管形成的生物标志物之一^[57].鉴于Endoglin在血管稳态与重塑中的重要作用,它被认为是治疗癌症和血管类疾病的一个潜在的药物靶点.但目前对于它的生理功能,在血管发育、稳态及重构中的作用,以及在内皮细胞增殖分化中信号传导的角色却不完全了解.

3.4 BMP9/ALK1/Endoglin通路

在BMP9/ALK1/Endoglin通路中, BMP9是以二聚体的形式行使信号分子的作用.当激活的BMP9生长因子与其细胞表面Endoglin, ALK1等多元受体相互作用后会磷酸化下游的SMAD蛋白,磷酸化的SMAD进入细胞核,作为转录因子调节一系列与分化相关的靶基因的表达,进而调控细胞的功能(图5).在这一过程中,生长因子的激活作为信号的发端,控制着生长因子的生物学可利用度,是调节TGF β /BMP细胞信号特

图4 ZP及OR-BMP9复合物结构

图5 BMP9的识别与信号传导(网络版彩图)

异性与强度的重要环节^[58].

3.5 TGFβ/BMP前体复合物的激活

TGFβ/BMP家族成员是以前体复合物的形式表达、合成并分泌到细胞外的^[58,59]. 前体复合物中包含有一个生长因子的二聚体和两个前体结构域(prodomain), 二者之间通过前体转化酶的剪切位点连接在一起. 在前体复合物分泌前后, 在前体转化酶的作用下, 生长因子与前体结构域之间的共价连接被剪除. 但二者仍通过非共价的方式紧密结合在一起, 并会与细胞外基质相互作用. 这种结合方式会抑制生长因子与其受体结合, 使其处于潜伏态. 只有当生长因子从这一复合物中被释放出来, 才能与细胞表面的受体相结合, 发挥其生物功能, 这一过程称为生长因子的激活(图6).

3.6 pro-TGFβ1与pro-BMP9分子结构

为了深入理解与阐明TGFβ/BMP家族成员潜伏与激活的分子机制, Springer研究组^[26,35]比较了pro-TGFβ1与pro-BMP9的前体复合物的分子结构(图7), 研究了它们二者之间潜伏与激活机制上的异同.

TGFβ1是调控细胞增殖、分化、凋亡等功能的一个重要的负调控因子^[26]. 它在免疫等疾病中起着重要

图6 TGFβ/BMP家族成员的潜伏与激活(网络版彩图)

作用. 它的前体复合物形成一个闭环状的结构(图7). 在这一结构中, 两个前体结构域通过它们领结部(bow-tie)的二硫键共价连接在一起. 在对侧的N端则各有一个自由的半胱氨酸可以和细胞外基质蛋白LTBP (latent TGFβ binding protein)上的半胱氨酸形成二硫键, 从而使前体结构域形成一个稳定的闭环, 把生长因子包裹在其中(图7). 包裹着的生长因子其构象有别于成熟的、可以和受体结合的生长因子的构象. 由于这两点的限制, pro-TGFβ1的生长因子无法与细胞表面受体结合, 故处于潜伏态. 当这一闭合的潜伏态的TGFβ1前体复合物与整合素(integrin)结合后, 这一闭

图 7 TGFβ1与BMP9前体复合物的结构

环构象可以被细胞骨架施加的机械作用力所打破, 生长因子从潜伏态复合物中释放出来, 激活下游信号通路. 这一机制被称为机械力活化^[26,60].

与之不同, BMP9前体复合物的结构似一只展翅飞翔的蝴蝶, 是一个开放式的结构(图7)^[35]. 两个前体结构域结合在生长因子二聚体的两端, 彼此之间无相互作用. 前体复合物中的生长因子与成熟的受体复合物中的生长因子的构象无明显差别, 并且前体结构域与生长因子的结合位点和受体与生长因子结合位点重叠^[35]. 进一步的生物学实验表明, 前体结构域虽然会随浓度对生长因子的促成骨细胞分化活性有抑制作用, 但在比较前体复合物与成熟的生长因子的生物活性时, 并没有发现二者有明显差异. 因此他们推测这一开放式的前体复合物构象可能代表着该复合物的一种预激活状态, 其前体结构域可以被细胞表面受体通过竞争性结合的方式释放^[35,61].

尽管机械力没有直接参与BMP9前体复合物的构象调节与激活过程, 但Schwartz和Eichmann研究组^[62,63]的工作揭示血流剪切力在BMP9信号传导以及血管的重塑与稳态维持过程中起着重要调节作用. 他们发现血流剪切力可以触发ALK1/Endoglin复合物的形成, 从而增强内皮细胞对BMP9信号的敏感性^[62]. 因此, 血流剪切力与BMP9信号的协同效应起到了对内皮细胞增殖的抑制和对壁细胞招募的作用, 进而促进了血管的稳定及静息^[63,64].

那么造成pro-TGFβ1与pro-BMP9结构显著差异的根本原因是什么? BMP9的前体结构域的生理功能是什么? pro-BMP9是否也存在一个类似pro-TGFβ1的潜伏态构象? 如果存在这样一个构象, 那它又是如何与细胞外基质相互作用以维持这一潜伏态结构的, 又是

如何被激活或转化为开放式的预激活状态的? 激活后的生长因子又是如何与细胞表面受体相互作用的? 这种受体与配体的结合又是如何调控受体胞内域的活性与构象从而促进细胞的增殖、分化、转移等功能的? 阐明这些问题是进行合理化药物设计, 开发新的抗血管形成的靶向治疗药物、诊断探针与治疗策略的前提.

3.7 BMP9与BMP10的异同

BMP10是TGFβ/BMP家族中与BMP9序列相似性最高的同源蛋白, 且与BMP9在功能上具有部分可替换性. 但BMP10在心脏中高表达并调控心脏的发育^[37]. 而BMP9高表达于肝脏, 主要调控血管的形成与稳态维持^[44]. 以前的研究曾经认为, BMP10是以潜伏态的形式分泌并结合于细胞外基质, 但Morrell和LiWei研究组^[65]比较了BMP10前体复合物与其成熟的生长因子的活性后, 对上述观点提出了质疑. 因此对二者结构上的差异进行了分析(图8). 二者的差异主要在于前体结构域远离生长因子的一侧. 而生长因子结构域的差

图 8 BMP9/BMP10结构异同

橘黄色标记的氨基酸为BMP9/BMP10不相同的氨基酸

异则存在于生长因子与前体结构域 $\alpha 2$ 及 $\alpha 5$ 螺旋结合的界面。这两部分界面也是生长因子与BMP9 I型受体ALK1及II型受体BMPRII结合的界面^[66]。因此认为, BMP9/BMP10功能上的差异可能来源于二者与受体的不同识别以及由前体结构域介导的与细胞外基质的不同相互作用。但具体的分子机制还有待进一步研究。

4 展望

综上所述, 血管重塑与稳态维持对于机体的发育、生长、创伤修复、组织再生都起着重要作用。而

血管重塑与稳态维持的失调直接导致了心脑血管疾病、癌症、炎症等重大疾病。因此, 深入理解血管重塑与稳态维持的分子结构与机制至关重要。血管重塑与稳态维持受到包括BMP9在内的多个信号通路组成的复杂网络调控, 各个信号通路之间交互作用调控形成血管的内皮细胞、周细胞、肌细胞的激活与静息状态, 刺激或抑制血管重塑。阐明在血管重塑与稳态维持中重要的BMP9/ALK1/Endoglin通路中的关键节点分子的结构与作用机制, 以此为基础通过蛋白质工程、化学生物学及信息生物学等方法设计靶向性药物或探针, 在临床医学上具有非常重大的意义。

致谢 感谢天津大学生命科学学院秦晓红老师及本研究组所有成员在文章撰写过程中提出的宝贵意见。

参考文献

- 1 Folkman J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6: 273–286
- 2 Cao Y, Arbiser J, D'Amato R J, et al. Forty-year journey of angiogenesis translational research. *Sci Transl Med*, 2011, 3: 114rv3
- 3 Carmeliet P, Jain R K. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*, 2000, 407: 249–257
- 4 Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*, 2005, 438: 932–936
- 5 Jeltsch M, Leppänen V M, Saharinen P, et al. Receptor tyrosine kinase-mediated angiogenesis. *Cold Spring Harbor Perspect Biol*, 2013, 5: a009183
- 6 David L, Feige J J, Bailly S. Emerging role of bone morphogenetic proteins in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2009, 20: 203–212
- 7 Zachary I, Morgan R D. Therapeutic angiogenesis for cardiovascular disease: biological context, challenges, prospects. *Heart*, 2011, 97: 181–189
- 8 Lebrin F, Mummery C L. Endoglin-mediated vascular remodeling: mechanisms underlying hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Trends Cardiovasc Med*, 2008, 18: 25–32
- 9 Gregory A L, Xu G, Sotov V, et al. Review: the enigmatic role of endoglin in the placenta. *Placenta*, 2014, 35: S93–S99
- 10 Kobayashi H, Lin P C. Angiogenesis links chronic inflammation with cancer. *Methods Mol Biol*, 2009, 511: 185–191
- 11 Wang Y, Oliver G. Current views on the function of the lymphatic vasculature in health and disease. *Genes Dev*, 2010, 24: 2115–2126
- 12 Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 1996, 86: 353–364
- 13 Baeriswyl V, Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*, 2009, 19: 329–337
- 14 Viallard C, Larrivée B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. *Angiogenesis*, 2017, 20: 409–426
- 15 Saharinen P, Eklund L, Alitalo K. Therapeutic targeting of the angiopoietin-TIE pathway. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 635–661
- 16 Jayson G C, Kerbel R, Ellis L M, et al. Antiangiogenic therapy in oncology: current status and future directions. *Lancet*, 2016, 388: 518–529
- 17 Bhattacharya R, Fan F, Wang R, et al. Intracrine VEGF signalling mediates colorectal cancer cell migration and invasion. *Br J Cancer*, 2017, 117: 848–855
- 18 Payton M, Jun T, Wayne W, et al. Antagonism of Ang-Tie2 and Dll4-Notch signaling has opposing effects on tumor endothelial cell proliferation, evidenced by a new flow cytometry method. *Laborat Invest J Tech Methods Pathol*, 2014, 94: 1296–1308
- 19 Aguirre Palma L M, Flamme H, Gerke I, et al. Angiopoietins modulate survival, migration, and the components of the Ang-Tie2 pathway of chronic lymphocytic leukaemia (CLL) cells *in vitro*. *Cancer Microenviron*, 2016, 9: 13–26
- 20 Li S, Xu G, Gao F, et al. Expression and association of VEGF-Notch pathways in infantile hemangiomas. *Exp Therapeut Med*, 2017, 14: 3737–3743

- 21 Liang S, Yu H, Chen X, et al. PDGF-BB/KLF4/VEGF signaling axis in pulmonary artery endothelial cell angiogenesis. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41: 2333–2349
- 22 Peng C, Zhang S, Liu H, et al. A newly synthesized Ligustrazine stilbene derivative inhibits PDGF-BB induced vascular smooth muscle cell phenotypic switch and proliferation via delaying cell cycle progression. *Eur J Pharmacol*, 2017, 814: 106–113
- 23 Sajib S, Zahra F T, Lionakis M S, et al. Mechanisms of angiogenesis in microbe-regulated inflammatory and neoplastic conditions. *Angiogenesis*, 2018, 21: 1–14
- 24 Jain R K. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med*, 2003, 9: 685–693
- 25 Jonker L. TGF- β & BMP receptors endoglin and ALK1: overview of their functional role and status as antiangiogenic targets. *Microcirculation*, 2014, 21: 93–103
- 26 Shi M, Zhu J, Wang R, et al. Latent TGF- β structure and activation. *Nature*, 2011, 474: 343–349
- 27 David L, Mallet C, Mazerbourg S, et al. Identification of BMP9 and BMP10 as functional activators of the orphan activin receptor-like kinase 1 (ALK1) in endothelial cells. *Blood*, 2007, 109: 1953–1961
- 28 Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF- β signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell*, 2003, 113: 685–700
- 29 Herpin A, Lelong C, Favrel P. Transforming growth factor- β -related proteins: an ancestral and widespread superfamily of cytokines in metazoans. *Dev Comp Immunol*, 2004, 28: 461–485
- 30 Wu M Y, Hill C S. TGF- β superfamily signaling in embryonic development and homeostasis. *Dev Cell*, 2009, 16: 329–343
- 31 Song J J, Celeste A J, Kong F M, et al. Bone morphogenetic protein-9 binds to liver cells and stimulates proliferation. *Endocrinology*, 1995, 136: 4293–4297
- 32 Helm G A, Alden T D, Beres E J, et al. Use of bone morphogenetic protein-9 gene therapy to induce spinal arthrodesis in the rodent. *J Neurosurg*, 2000, 92: 191–196
- 33 Ploemacher R, Engels L, Mayer A, et al. Bone morphogenetic protein 9 is a potent synergistic factor for murine hemopoietic progenitor cell generation and colony formation in serum-free cultures. *Leukemia*, 1999, 13: 428–437
- 34 Lopez-Coviella I, Berse B, Krauss R, et al. Induction and maintenance of the neuronal cholinergic phenotype in the central nervous system by BMP-9. *Science*, 2000, 289: 313–316
- 35 Mi L Z, Brown C T, Gao Y, et al. Structure of bone morphogenetic protein 9 procomplex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 3710–3715
- 36 Bidart M, Ricard N, Levet S, et al. BMP9 is produced by hepatocytes and circulates mainly in an active mature form complexed to its prodomain. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69: 313–324
- 37 Chen H, Brady Ridgway J, Sai T, et al. Context-dependent signaling defines roles of BMP9 and BMP10 in embryonic and postnatal development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 11887–11892
- 38 Ruiz-Llorente L, Gallardo-Vara E, Rossi E, et al. Endoglin and alk1 as therapeutic targets for hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Expert Opin Therapeut Targets*, 2017, 21: 933–947
- 39 Roman B L, Hinck A P. ALK1 signaling in development and disease: new paradigms. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74: 4539–4560
- 40 Lee H W, Chong D C, Ola R, et al. Alk2/ACVR1 and Alk3/BMPR1A provide essential function for bone morphogenetic protein-induced retinal angiogenesis highlights. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37: 657–663
- 41 Rochon E R, Menon P G, Roman B L. Alk1 controls arterial endothelial cell migration in lumenized vessels. *Development*, 2016, 143: 2593–2602
- 42 Ntumba K, Akla N, Oh S P, et al. BMP9/ALK1 inhibits neovascularization in mouse models of age-related macular degeneration. *Oncotarget*, 2016, 7: 55957–55969
- 43 Oh S P, Seki T, Goss K A, et al. Activin receptor-like kinase 1 modulates transforming growth factor- β 1 signaling in the regulation of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 2626–2631
- 44 Ricard N, Ciaia D, Levet S, et al. BMP9 and BMP10 are critical for postnatal retinal vascular remodeling. *Blood*, 2012, 119: 6162–6171
- 45 Saito T, Bokhove M, Croci R, et al. Structural basis of the human endoglin-BMP9 interaction: insights into BMP signaling and HHT1. *Cell Rep*, 2017, 19: 1917–1928
- 46 Van Le B, Franke D, Svergun D I, et al. Structural and functional characterization of soluble endoglin receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 383: 386–391
- 47 Llorca O, Trujillo A, Blanco F J, et al. Structural model of human endoglin, a transmembrane receptor responsible for hereditary hemorrhagic

- telangiectasia. *J Mol Biol*, 2007, 365: 694–705
- 48 Alt A, Miguel-Romero L, Donderis J, et al. Structural and functional insights into endoglin ligand recognition and binding. *PLoS ONE*, 2012, 7: e29948
- 49 Pepper M S. Transforming growth factor-beta: vasculogenesis, angiogenesis, and vessel wall integrity. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1997, 8: 21–43
- 50 Bernabeu C, Conley B A, Vary C P H. Novel biochemical pathways of endoglin in vascular cell physiology. *J Cell Biochem*, 2007, 102: 1375–1388
- 51 Shovlin C L, Scott J. Inherited diseases of the vasculature. *Annu Rev Physiol*, 1996, 58: 483–507
- 52 Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*, 2006, 12: 642–649
- 53 Levine R J, Lam C, Qian C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*, 2006, 355: 992–1005
- 54 Lastres P, Martín-Perez J, Langa C, et al. Phosphorylation of the human-transforming-growth-factor- β -binding protein endoglin. *Biochem J*, 1994, 301: 765–768
- 55 Torsney E, Charlton R, Parums D, et al. Inducible expression of human endoglin during inflammation and wound healing *in vivo*. *Inflamm res*, 2002, 51: 464–470
- 56 Arthur H M, Ure J, Smith A J H, et al. Endoglin, an ancillary TGF β receptor, is required for extraembryonic angiogenesis and plays a key role in heart development. *Dev Biol*, 2000, 217: 42–53
- 57 Paaue M, Heijkants R C, Oudt C H, et al. Endoglin targeting inhibits tumor angiogenesis and metastatic spread in breast cancer. *Oncogene*, 2016, 35: 4069–4079
- 58 Sengle G, Ono R N, Sasaki T, et al. Prodomains of transforming growth factor β (TGF β) superfamily members specify different functions. *J Biol Chem*, 2011, 286: 5087–5099
- 59 Gregory K E, Ono R N, Charbonneau N L, et al. The prodomain of BMP-7 targets the BMP-7 complex to the extracellular matrix. *J Biol Chem*, 2005, 280: 27970–27980
- 60 Dong X, Zhao B, Iacob R E, et al. Force interacts with macromolecular structure in activation of TGF- β . *Nature*, 2017, 542: 55–59
- 61 Kienast Y, Jucknischke U, Scheiblich S, et al. Rapid activation of bone morphogenetic protein 9 by receptor-mediated displacement of prodomains. *J Biol Chem*, 2016, 291: 3395–3410
- 62 Franco C A, Gerhardt H. Blood flow boosts BMP signaling to keep vessels in shape. *J Cell Biol*, 2016, 214: 793–795
- 63 Baeyens N, Larrivé B, Ola R, et al. Defective fluid shear stress mechanotransduction mediates hereditary hemorrhagic telangiectasia. *J Cell Biol*, 2016, 214: 807–816
- 64 Vion A C, Alt S, Klaus-Bergmann A, et al. Primary cilia sensitize endothelial cells to BMP and prevent excessive vascular regression. *J Cell Biol*, 2018, 217: 1651–1665
- 65 Jiang H, Salmon R M, Upton P D, et al. The prodomain-bound form of bone morphogenetic protein 10 is biologically active on endothelial cells. *J Biol Chem*, 2016, 291: 2954–2966
- 66 Townson S A, Martinez-Hackert E, Greppi C, et al. Specificity and structure of a high affinity activin receptor-like kinase 1 (ALK1) signaling complex. *J Biol Chem*, 2012, 287: 27313–27325

BMP9/ALK1/Endoglin signaling regulates the angiogenesis and vascular homeostasis

WANG ShuJuan & MI Li-Zhi

School of Life Science, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Angiogenesis, the formation of new blood vessels, is critical for animals' life and health. In development, the blood vessel formation, maturation, and homeostasis are tightly regulated by many factors for the integrity and functions of circulation and immune systems. Besides the VEGF/VEGFR, Ang/Tie2, DLL4/Notch and PDGF-BB/PDGFR β signaling pathways, which have been known for many years for their importance in angiogenesis and vascular diseases, the BMP9/ALK1/Endoglin pathway was recently identified as a new, but critical player in vascularization. In this signaling pathway, BMP9, the dimeric ligand circulating in the blood, binds to its receptors, Endoglin, ALK1, and the type II BMP receptors expressed on vascular endothelial cells. As such, it triggers the activation of these receptors, regulates the expression of its downstream targeted genes, and controls the vascular genesis and homeostasis. Herein, we review the literatures on the structural and functional studies of the key molecules in this signaling pathway. In addition, we provide our perspectives for future mechanistic studies of and drug development targeting at this signaling pathway.

angiogenesis, BMP9, Endoglin

doi: [10.1360/N052017-00290](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052017-00290)