

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.35.040

氧化应激和自噬在动脉粥样硬化中的作用*

李超¹,姜枫²综述,李运伦^{2△}审校

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东中医药大学附属医院, 济南 250014)

[关键词] 动脉粥样硬化; 氧化性应激; 自噬

[中图分类号] R363; R543.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)35-5020-03

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种多因素所致的慢性的、渐进性的动脉炎症性疾病,以动脉壁变硬增厚、弹性减退和管腔狭窄为主要病变特征。虽然 AS 的发病机制及病理演变尚未明晰,但是研究证实脂质代谢异常及氧化应激损伤是其主要原因之一。近年来研究发现,氧化应激能够诱导细胞发生自噬现象以减轻氧化损伤^[1]。有学者在 20 世纪 50 年代首次提出了细胞自噬的概念。自噬,作为一个动态的细胞内物质周转的过程,当细胞外环境改变时,可以通过降解损坏的细胞器及部分蛋白,从而为细胞生存提供新的原材料和能量^[2]。本文从自噬和氧化应激在动脉粥样硬化中的交相作用的角度进行综述,以期为 AS 的防治提供新的思路。

1 氧化应激在 AS 中的作用

氧化应激指的是体内氧化反应与抗氧化能力的不均衡状态,进而对机体产生各种损伤。研究揭示,活性氧(reactive oxygen species, ROS)的蓄积是氧化应激的主要病理变化,ROS 的产生超过了机体抗氧化系统的清除能力。正常浓度的 ROS 具有细胞信号传导、调节细胞生长分化及参与炎症反应等重要作用。然而,氧化应激时蓄积的 ROS 能够促进脂质过氧化、损伤 DNA 和蛋白质及诱导细胞凋亡和增殖,进而促进 AS 的进展^[3]。

1.1 ROS 蓄积促进 AS 的病理进程 氧化应激对 AS 病理变化的影响主要体现在 ROS 的蓄积对 AS 病理进展的促进作用,其主要通过损伤血管内皮依赖性舒张功能、诱导内皮细胞凋亡及平滑肌细胞增殖迁移、促进内皮细胞黏附因子及炎症因子的表达等,进一步造成的血管壁损伤和斑块的形成、破裂。(1)损伤血管内皮依赖性舒张功能:血管内皮功能障碍是 AS 早期的一个重要标志。一氧化氮(NO)生物利用率(包括 NO 的生成和 NO 的生物活性)的降低被认为是血管内皮依赖性舒张功能降低最主要的因素^[4]。ROS 不仅能直接抑制 NO 的生物活性,还能够抑制内皮型一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的表达和活性。此外,ROS 也能够氧化四氢生物蝶呤(tetrahydrobiopterin, BH4)从而促进 eNOS 解偶联生成 ROS 而不是 NO^[5]。(2)诱导内皮细胞凋亡及平滑肌细胞增殖迁移:研究表明,ROS 参与了血管紧张素 II 和胰岛素促进血管平滑肌细胞增殖迁移,而通过抑制 ROS 的产生能够有效地减轻平滑肌细胞增殖迁移,此外 H₂O₂ 还能够诱导内皮细胞凋亡^[6]。oxLDL 也能够通过促进 ROS 的产生而进一步诱导血管内皮细胞凋亡^[7]。(3)促进内皮细胞黏附因子和炎症因子的表达:肿瘤坏死因子-α(TNF-α)是 AS 发生和发展的一个关键炎症因子,而 ROS 能够诱导血管内膜的脂质过氧化及通过介导核转录因子-κB(NF-κB)等通路,进而促进 TNF-α 的产生,同时促进血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion

molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)等的表达^[8]。

1.2 ROS 蓄积的调节机制 ROS 的蓄积主要是由于 ROS 的产生与抗氧化系统的清除平衡失调。促进 ROS 产生的来源除了吸烟、污染等外源性因素,主要依赖多种 ROS 生成酶活性等内源性因素。ROS 的清除则主要依靠机体的抗氧化系统,在血浆中非酶抗氧化剂起到主要作用,但在细胞层面,主要依赖于 SOD、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)等活性酶。

1.2.1 ROS 生成酶 在血管细胞中,生成 ROS 的酶系主要有 4 种:还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶、黄嘌呤氧化酶、eNOS 功能障碍和线粒体呼吸链酶。NADPH 氧化酶是主要作用于血管内皮细胞、平滑肌细胞等细胞膜的一种复合酶,当接触转换生长因子、高糖、高脂等条件时,NADPH 氧化酶则表现较高水平的反应性,通过多种机制产生超氧阴离子(O₂⁻),被认为是血管中生成 ROS 的最主要酶系^[9]。动物实验证实,在 AS 中血管紧张素 II 介导的 NADPH 氧化酶活化被认为是生成 ROS 的主要来源,而 p22phox 基因表达的上调则是关键启动环节^[4]。黄嘌呤氧化酶能够将电子传递给 O₂ 从而产生 O₂⁻ 和 H₂O₂,也是 ROS 主要的生成来源,黄嘌呤经黄嘌呤氧化酶氧化后的最终产物即是尿酸。临床研究发现,黄嘌呤氧化酶抑制剂能够明显降低代谢综合征患者的氧化应激反应,抑制过氧化物酶水平并提高血管舒张功能^[10]。此外,尿酸在高浓度时被血管内皮细胞吸收后,能够增强氧化应激水平而损伤血管内皮功能。eNOS 在 BH₄ 浓度适宜时能够产生 NO,而当 BH₄ 缺乏时,eNOS 就会解偶联产生 ROS 而不是 NO。eNOS 解偶联在过氧亚硝基处理的大鼠主动脉、低密度脂蛋白处理的内皮细胞及离体的 SHR 主动脉等均可被发现。因此,氧化应激能够促进 eNOS 解偶联,而 eNOS 解偶联又可以反过来加重氧化应激。临床研究亦表明,补充 BH₄ 能够明显提高高血压和高胆固醇血症患者的内皮功能^[4]。线粒体呼吸链酶上产生 O₂⁻ 的地方主要是复合物 I 和 III,复合物 I 即 NADH 脱氢酶释放 O₂⁻ 到基质中,也被认为是 O₂⁻ 生成的主要来源,而 O₂⁻ 的生成主要依赖于线粒体基质中的超氧化物歧化酶-2(superoxide dismutase 2, SOD2)的活性^[11]。氧化损伤能够促进线粒体产生更多的 ROS,而动物实验表明,线粒体功能障碍导致的 SOD2 缺乏加重了载脂蛋白 E^{-/-} 小鼠线粒体 DNA 的损伤,并促进了 AS 的进展。

1.2.2 抗氧化系统 血管壁能够产生多种酶以减少 ROS 而发挥抗氧化作用,在细胞层面主要依赖于 SOD、过氧化氢酶和 GPx 等活性酶。SOD 催化 O₂⁻ 的歧化反应生成 O₂ 和 H₂O₂,从而发挥抗氧化作用。包括主要位于细胞质中的 SOD1(Cu-Zn-SOD)、线粒体中的 SOD2(Mn-SOD)及细胞外的 SOD3

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473653)。 作者简介:李超(1990—),在读博士,主要从事中西医结合治疗心血管疾病的研究。 △ 通信作者,E-mail:yunlun.lee@hotmail.com。

(Cu-Zn-SOD),而在心血管系统中主要依赖于 SOD3 降低 O_2^- 含量和维持血管的 NO 水平,血管壁细胞的 SOD3 高表达,能够有效地减轻过氧化物的损伤及脂质斑块的形成^[12]。过氧化氢酶能够催化 H_2O_2 分解为水和氧气,对于过氧化氢酶的全部生物学意义尚未清楚,但是动物实验显示,虽然过氧化氢酶敲除小鼠生长正常并未有严重异常,但是过氧化氢酶的过表达却具有延缓 AS 和抑制血管紧张素 II 诱导的主动脉壁肥厚等心血管系统的保护作用^[10]。GPx 能够促进游离过氧化氢和脂质过氧化物分别分解为水和相应的醇类。GPx1 在 GPx 同工酶中广泛表达,是很多细胞主要的抗氧化酶。研究发现,GPx1 缺陷增加 oxLDL 诱导的泡沫细胞形成。GPx1 的过表达能够加速载脂蛋白 E-/-小鼠 AS 的损伤和进展。GPx4 可以清除 H_2O_2 和各种脂质氢过氧化物,包括氧化磷脂和胆固醇氢过氧化物,在载脂蛋白 E-/-小鼠中 GPx4 的过表达能够降低脂质过氧化和抑制血管细胞对氧化脂质的敏感性,进而延缓 AS 的进展^[13]。

2 自噬在 AS 中的作用

2.1 基础水平的自噬 自噬是细胞对外环境改变做出的适应性反应,它能够降解损伤的细胞器(尤其是极化的线粒体)和大分子蛋白质(长寿蛋白等),基础水平的自噬具有一定的保护作用。自噬不仅通过对受损细胞器的降解以保护血小板对抗氧化应激反应的损伤,还能够延长平滑肌细胞寿命,平滑肌细胞释放胶原纤维能够增强脂质斑块的稳定性^[14]。自噬在内皮细胞和内皮功能的保护方面也发挥了重要作用,氧化应激反应能够在一定程度上诱导内皮细胞自噬的产生,从而保护内皮细胞以对抗氧化损伤。oxLDL 能够诱导内皮细胞自噬产生,从而降低 ROS 的含量,增加 NO 的合成,从而改善内皮依赖性舒张功能^[15]。

自噬的抗粥样硬化作用不仅仅表现在稳定脂质斑块和抵抗氧化应激、炎症损伤等方面,还表现其抗凋亡的作用。自噬对损伤线粒体等细胞器的吞噬,限制了促凋亡蛋白(如细胞色素 C 和细胞凋亡诱导因子等)的释放,促进了细胞的修复,减轻了细胞外环境变化对细胞的损伤效应,从而延长了细胞寿命,减轻了细胞凋亡^[2]。此外,自噬还可以下调血液中载脂蛋白 B,而载脂蛋白 B 在动脉壁内的滞留是 AS 的一个重要起始事件,也是 AS 的重要发病机制。由细胞外环境改变诱发的基础水平自噬对细胞是一种保护作用,同时能够延缓 AS 的发展进程,而往往严重而长久的损伤或刺激能够降低细胞自噬的水平,因此适度的增强自噬,对于 AS 的治疗具有重要的意义。

2.2 过度自噬 与基础水平自噬不同,过度自噬可能诱导内皮细胞和平滑肌细胞的损伤、凋亡。内皮细胞的损伤能够导致内皮功能障碍、细胞因子分泌异常及促进血栓形成等;平滑肌细胞凋亡导致胶原蛋白合成减少及纤维帽变薄,最终促进了脂质斑块的不稳定和粥样硬化的进展。近年来研究发现,吞噬细胞通过自噬作用的死亡能够通过炎症小体的激活而诱发炎症反应,促进相邻吞噬细胞释放白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6 和 TNF- α 等^[16]。由此可见,过度自噬能够促进平滑肌细胞的凋亡及脂质斑块的不稳定性,从而加快了 AS 的进展;还能够通过损伤内皮细胞而导致内皮功能紊乱,进而促进血栓形成及 AS 的发展。

然而,也有报道发现提高自噬水平对抑制 AS 的进展具有一定积极意义。研究发现,Apelin-13 能够通过激活 Class III PI3K/Beclin-1 通路增强自噬水平,抑制泡沫细胞的形成,从而延缓 AS 的进展^[17]。也有研究证实熊果酸促进巨噬细胞自噬,从而抑制 IL-1 β 分泌,促进胆固醇流出,并减轻小鼠的

AS^[18]。因此,具有针对性地了解药物诱导自噬或调控自噬水平对具体疾病的作用及机制具有重要意义。

2.3 自噬的诱导 最早在 AS 中发现诱导自噬现象的是西罗莫司的应用,在胆固醇喂养的兔子体内发现,巨噬细胞的数量显著减少,可能与其自身的自体吞噬有关。而后研究发现,在葡萄糖饥饿法试验中自噬抑制剂促进了心肌细胞死亡,表明自噬可以通过补充耗尽的能量及清除功能失调的受损细胞器达到保护作用^[19]。在 AS 中,自噬的诱导因素有很多,除了部分药物之外,氧化应激、炎症反应、低氧、饥饿甚至剪切力等因素均能诱导细胞发生自噬。虽然适当的自噬能够起到一定的保护作用,但是在疾病的长期发展过程中,往往会出现细胞自噬的不足,无法充分发挥保护作用,此时,针对细胞自噬的药物靶向治疗可能成为治疗 AS 的新方向。

由于脂质斑块稳定性与巨噬细胞密切相关,因此适度的诱导巨噬细胞凋亡在易损斑块的稳定方面具有重要作用,而相对于凋亡和坏死,自噬作为一种新的方式调控巨噬细胞凋亡成为了学者关注的焦点,以临床药物靶向干预巨噬细胞自噬从而调控巨噬细胞凋亡有望成为稳定脂质斑块治疗的新方向。近年来研究表明,很多药物能够通过靶向干预自噬相关通路以调控自噬,进而抑制 oxLDL 诱导平滑肌细胞凋亡,或减轻 oxLDL 对内皮细胞的损伤,减少内皮细胞凋亡,提高 NO 的生物利用率,改善血管内皮功能^[1,20-21]。因此,通过药物靶向调控自噬治疗临床疾病已逐渐成为研究热点,但如何有效而适度的调控自噬仍是自噬在疾病治疗中应用的关键问题。

3 AS 中自噬与氧化应激的交互作用

氧化应激不仅仅直接诱导内皮细胞和平滑肌细胞凋亡、增殖,还通过损伤内皮舒张功能促进 AS 的发展。研究证实,氧化应激能够诱导自噬清除受损细胞器以保护细胞,其机制可能与 ROS 的蓄积和 oxLDL 的氧化损伤有关,脂质的过氧化能够直接影响 PI3K/AKT/mTOR、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)等自噬相关通路而诱导自噬的产生^[22-23]。近年来越来越多的研究表明,oxLDL 能够导致内皮细胞的凋亡及功能障碍,而与此同时又可以诱导细胞发生自噬现象,从而减轻氧化损伤,改善血管内皮舒张功能^[15,24]。亦有研究发现,oxLDL 能够损伤平滑肌细胞自噬,促进平滑肌细胞转化成泡沫细胞,提高自噬水平能够逆转这一现象^[25]。

氧化应激能够诱导细胞自噬的发生,而自噬也能够反向调节氧化应激反应。研究发现,平滑肌细胞的自噬也能够一定程度上减轻氧化损伤,维持细胞功能,体外试验证实上调自噬能够减弱 7-酮基胆固醇诱导的主动脉平滑肌细胞凋亡^[26],进而延缓 AS 的进展。白藜芦醇通过增强自噬降低 oxLDL 产生的氧化应激反应,从而保护细胞免受损伤^[27]。同时研究发现,诱导自噬能够较少由 7-氧固醇导致的细胞脂质积累,并通过降低氧化应激反应减少细胞凋亡^[28]。

氧化应激作为 AS 病理机制中的重要危险因素,能够诱导细胞产生自噬现象,而自噬能在一定程度上反向调节氧化应激反应,减轻氧化损伤,维持内皮功能和脂质斑块的稳定性,延缓 AS 的进展。然而长期氧化应激状态又能够抑制细胞自噬,减少了自噬对细胞的自体保护作用。

4 展 望

作为心脑血管不良事件发生的主要危险因素,AS 同时也是很多疾病(例如高血压病、高脂血症等)的并发症,其发生、发展的病理机制十分复杂,因此,治疗基础疾病时对脉管系统的靶器官保护及对 AS 的靶向治疗尤为重要。氧化应激反应是 AS 病理机制中不可或缺的因素,其不仅仅参与脂质斑块的

形成及内皮功能障碍等多个环节,还能够活化 TNF- α 和 NF- $\kappa\beta$ 而诱导炎症反应,进而从多个方面促进 AS 的进展。自噬作为一种自我保护机制,能够被氧化应激所诱导以减少氧化损伤,然而二者间的内在作用机制尚未完全清楚,调控的平衡也难以把握,如果进一步明确二者在 AS 病理机制的相互作用,有望成为 AS 预防和治疗的的重要方向。

参考文献

- [1] He J, Zhang G, Pang Q, et al. SIRT6 reduces macrophage foam cell formation by inducing autophagy and cholesterol efflux under ox-LDL condition[J]. FEBS J, 2017, 284(9): 1324-1337.
- [2] De Meyer GR, Martinet W. Autophagy in the cardiovascular system[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1793(9): 1485-1495.
- [3] Moris D, Spartalis M, Tzatzaki E, et al. The role of reactive oxygen species in myocardial redox signaling and regulation[J]. Ann Transl Med, 2017, 5(16): 324.
- [4] Higashi Y, Maruhashi T, Noma K, et al. Oxidative stress and endothelial dysfunction: clinical evidence and therapeutic implications[J]. Trends Cardiovasc Med, 2014, 24(4): 165-169.
- [5] Higashi Y, Kihara Y, Noma K. Endothelial dysfunction and hypertension in aging[J]. Hypert Res, 2012, 35(11): 1039-1047.
- [6] 高蒙蒙, 孙桂波, 斯建勇, 等. 红车轴草总黄酮对 H₂O₂ 诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(2): 201-207.
- [7] 陈为, 张葵, 张宸豪, 等. OX-LDL 介导内皮细胞损伤及其对 TLR-4 和 EpCAM 表达的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2015, 41(6): 1144-1149.
- [8] Husain K, Hernandez W, Ansari RA, et al. Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis[J]. World J Biol Chem, 2015, 6(3): 209-217.
- [9] Lassègue B, San Martín A, Griendling KK. Biochemistry, physiology, and pathophysiology of NADPH oxidases in the cardiovascular system[J]. Circ Res, 2012, 110(10): 1364-1390.
- [10] Yiginer O, Ozcelik F, Inanc T, et al. Allopurinol improves endothelial function and reduces oxidant-inflammatory enzyme of myeloperoxidase in metabolic syndrome[J]. Clin Res Cardiol, 2008, 97(5): 334-340.
- [11] Li H, Horke S, Förstermann U. Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention[J]. Trends Pharmacol Sci, 2013, 34(6): 313-319.
- [12] Foerstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function[J]. Eur Heart J, 2012, 33(7): 829.
- [13] Guo Z, Ran Q, Roberts LJ, et al. Suppression of atherogenesis by overexpression of glutathione peroxidase-4 in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Free Radic Biol Med, 2008, 44(3): 343-352.
- [14] Navarro-Yepes J, Burns M, Anandhan A, et al. Oxidative stress, redox signaling, and autophagy: cell death versus survival[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 21(1): 66-85.
- [15] De Meyer GR, Grootaert MO, Michiels CF, et al. Autophagy in vascular disease[J]. Circ Res, 2015, 116(3): 468-479.
- [16] Petrovski G, Ayna G, Majai G, et al. Phagocytosis of cells dying through autophagy induces inflammasome activation and IL-1 β release in human macrophages[J]. Autophagy, 2011, 7(3): 321-330.
- [17] Yao F, Lv YC, Zhang M, et al. Apelin-13 impedes foam cell formation by activating Class III PI3K/Beclin-1-mediated autophagic pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 466(4): 637-643.
- [18] Leng S, Iwanowycz S, Saaoud F, et al. Ursolic acid enhances macrophage autophagy and attenuates atherogenesis[J]. J Lipid Res, 2016, 57(6): 1006-1016.
- [19] Mei Y, Thompson MD, Cohen RA, et al. Autophagy and oxidative stress in cardiovascular diseases[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(2): 243-251.
- [20] Jin X, Chen M, Yi L, et al. Delphinidin-3-glucoside protects human umbilical vein endothelial cells against oxidized low-density lipoprotein-induced injury by autophagy upregulation via the AMPK/SIRT1 signaling pathway[J]. Mol Nutr Food Res, 2014, 58(10): 1941-1951.
- [21] Liang X, Zhang T, Shi L, et al. Ampelopsin protects endothelial cells from hyperglycemia-induced oxidative damage by inducing autophagy via the AMPK signaling pathway[J]. Biofactors, 2016, 41(6): 463-475.
- [22] Hung CH, Chan SH, Chu PM, et al. Metformin regulates oxLDL-facilitated endothelial dysfunction by modulation of SIRT1 through repressing LOX-1-modulated oxidative signaling[J]. Oncotarget, 2016, 7(10): 10773-10787.
- [23] Schrijvers DM, De Meyer GR, Martinet W. Autophagy in atherosclerosis: a potential drug target for plaque stabilization[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(12): 2787-2791.
- [24] Lin HH. In vitro and in vivo atheroprotective effects of gossypetin against endothelial cell injury by induction of autophagy[J]. Chem Res Toxicol, 2015, 28(2): 202-215.
- [25] Li BH, Yin YW, Liu Y, et al. TRPV1 activation impedes foam cell formation by inducing autophagy in oxLDL-treated vascular smooth muscle cells[J]. Cell Death Dis, 2014, 17(5): e1182.
- [26] He C, Zhu H, Zhang W, et al. 7-Ketocholesterol induces autophagy in vascular smooth muscle cells through Nox4 and Atg4B[J]. Am J Pathol, 2013, 183(2): 626-637.
- [27] Guo H, Chen Y, Liao L, et al. Resveratrol protects HU-VECs from oxidized-LDL induced oxidative damage by autophagy upregulation via the AMPK/SIRT1 pathway[J]. Cardiovascular Drugs and Therapy, 2013, 27(3): 189-198.
- [28] Yuan XM, Sultana N, Siraj N, et al. Autophagy induction protects against 7-Oxysterol-induced cell death via lysosomal pathway and oxidative stress[J]. J Cell Death, 2016, 7(9): 1-7.