

氧化应激相关酶介导心血管疾病中血管内膜增生的机制

倪 钧

【摘要】 体内多种氧化应激相关酶,如血红素氧合酶-1、髓过氧化物酶以及还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶,均与血管内膜增生过程相关。深入研究体内氧化还原酶及其介导的氧化应激过程,有利于了解心血管疾病中血管内膜增生的机制,寻求合适的治疗靶点。

【关键词】 氧化应激;氧化还原酶;血管内膜增生;心血管疾病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2016.06.012

动脉粥样硬化引起的心血管疾病,尤其是冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)已成为当前最常见的疾病之一。动脉粥样硬化主要由内皮损伤和脂质代谢异常等因素引起,导致血管腔狭窄^[1],如不及早治疗,可引起心绞痛、心肌梗死。经皮冠状动脉介入治疗(PCI)已成为治疗冠心病的首选方法,但 PCI 术后支架内再狭窄仍是困扰临床医师以及影响患者预后的重要因素^[2-3]。支架内再狭窄的发生主要与血管损伤后平滑肌细胞过度增殖有关,而支架扩张的高压作用又进一步刺激并促进平滑肌细胞增殖。药物洗脱支架载有的药物能显著抑制血管内膜平滑肌细胞增殖,使支架内狭窄的发生率显著降低,但仍有部分患者在冠状动脉置入药物支架后反复出现支架内再狭窄。对于这部分患者,进一步探索血管内膜增生的内在机制,显得非常重要。

1 氧化应激参与血管内膜增生

氧化应激在血管内膜增生过程中扮演着重要角色^[4]。血管内膜增生是血管受损后的自然修复过程,但过度的增生会导致血管再狭窄的发生。以往的研究已经发现,血管内膜增生源于血管壁中膜的平滑肌细胞受到了局部或血液循环中氧化应激和炎症因子刺激后,发生过度增生增殖的反应。其整个过程包括血管内皮受损,血小板聚集,炎性细胞浸润,平滑肌细胞增殖及迁移至内膜下^[5]。血管受到损伤后,局部超氧阴离子(O_2^-)成倍地增加,促使血管活性物质释放^[6]。增加的 O_2^- 能加重局部血管

内皮和平滑肌细胞凋亡,介导血管平滑肌细胞增殖和迁移,最终导致血管重构^[7]。而使用抗氧化剂(如普罗布考及维生素 C、E 等)能在动物模型中抑制新生内膜的形成^[8-9]。人体内多种重要的催化酶,如血红素氧合酶-1、髓过氧化物酶以及还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶等,参与并介导氧化应激过程,研究发现这些酶均与血管内膜增生有关。

2 血红素氧合酶-1

血红素氧合酶-1 是人体内血红素代谢的重要酶,其主要作用是将血红素氧化降解为二价铁离子、一氧化碳和胆绿素,后者转化为胆红素排出体外^[10-11]。血红素氧合酶-1 能抑制血管平滑肌细胞的增殖和从动脉中层向内膜的迁移,从而保护受损血管。

血红素氧合酶-1 诱导剂普罗布考能显著抑制体外血管平滑肌细胞增殖。动物实验也表明,普罗布考能抑制兔髂动脉支架内膜增生,其作用机制与血红素氧合酶-1 的酶活性有关,可能由血红素氧合酶-1 降解血红素产生的一氧化碳介导^[12]。体外实验发现,一氧化碳能明显抑制平滑肌细胞对炎症刺激的反应,拮抗一氧化碳则能完全消除血红素氧合酶-1 抑制平滑肌细胞增殖的作用^[13]。血红素氧合酶-1 基因敲除小鼠的血管平滑肌细胞具有高度增殖和合成 DNA 的潜力,血红素氧合酶-1 转基因小鼠在主动脉球囊受损后则无明显的内膜增生。临床研究提示,冠状动脉介入治疗后患者长期服用血红素氧合酶-1 诱导剂普罗布考能显著改善患者的

长期预后,提高生存率^[14]。

药物洗脱支架显著降低了冠心病支架内再狭窄和术后心脏事件的发生率,但其长期疗效还有待观察,某些药物洗脱支架存在晚期再追赶现象,即支架内再狭窄仅在一定时间内被抑制,其后仍然发生^[15]。在高胆固醇饮食喂养的大鼠球囊损伤模型和高胆固醇饮食喂养的兔髂动脉球囊损伤模型中,血红素氧合酶-1 显著抑制血管内膜增生,且对血管再内皮化无明显影响^[16]。体外运用腺病毒过表达血红素氧合酶-1 能抑制血管平滑肌细胞的增殖,防止内膜增生^[13],并促使血管内皮细胞增殖,促进受损血管再内皮化。血红素氧合酶-1 有望成为冠心病支架术后再狭窄和血栓形成的备选药物。

3 髓过氧化物酶

髓过氧化物酶是中性粒细胞、单核细胞和某些组织的巨噬细胞胞内颗粒的主要成分^[17],是内源性防御的重要因子和体内产生活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的主要来源。髓过氧化物酶的主要功能是在吞噬细胞内杀灭微生物,利用过氧化氢(H_2O_2)和氯离子产生次氯酸,形成具有氧化能力的 ROS。髓过氧化物酶还可释放到细胞外,激发免疫反应,清除多种细胞及有害物质,如肿瘤细胞、血小板、自然杀伤细胞、原虫和毒素等。髓过氧化物酶可参与调节炎症反应的许多过程,但其催化产生的 ROS 过多会使组织发生损伤。

Yang^[18]等使用纯化的髓过氧化物酶处理分离后培养的大鼠颈动脉 1 h 后发现,血管内膜增生的程度显著增加,提出其机制为髓过氧化物酶催化底物 H_2O_2 生成次氯酸,次氯酸释放 ROS 损伤血管壁,诱导炎症介质产生,促进血管平滑肌细胞增生。Tiyerili^[19]等发现,髓过氧化物酶抑制剂能显著减少血管损伤后的内膜增生,在髓过氧化物酶敲除的小鼠中,这种抑制作用更加明显。这些结果均提示髓过氧化物酶在动脉粥样硬化炎症发病过程中发挥重要作用。

4 NADPH 氧化酶

NADPH 氧化酶是维持机体内氧化还原平衡的重要酶分子。NADPH 氧化酶催化 NADPH 和 O_2 发生反应,产生 $NADP^+$ 及 H_2O_2 。反应过程中产生的 O_2^- 和 H_2O_2 均是 ROS 的重要组成部分,是体内细胞防御(如中性粒细胞清除细菌和霉菌)的重要途径。Violi 等^[20]报道,NADPH 氧化酶和动脉粥样硬化的发病相关,NADPH 氧化酶产生的 ROS 可

介导巨噬细胞黏附并迁移进入受损血管壁。NADPH 氧化酶抑制剂则能延缓小鼠动脉粥样硬化的发生^[21]。

NADPH 氧化酶家族分为 NADPH 氧化酶 1~4 亚型,其中 NADPH 氧化酶 1、NADPH 氧化酶 2 和 NADPH 氧化酶 4 主要在血管壁中表达。上调血管组织中 NADPH 氧化酶 1 的表达量,能促进平滑肌细胞迁移和增殖,抑制内皮细胞的功能,降低一氧化氮合酶(eNOS)的释放,加速动脉粥样硬化的发生。Jing 等^[22]使用肾功能衰竭毒素 PCS 刺激人血管内皮细胞和单核细胞,发现 NADPH 氧化酶 4 的蛋白表达增加,而 NADPH 氧化酶 1 的表达仅轻度升高,提示 NADPH 氧化酶 4 可能是肾性毒素促动脉粥样硬化的途径之一。细胞内 NADPH 氧化酶 4 的上升同样使 ROS 升高,引起 O_2^- 和 H_2O_2 增加,促进细胞分泌炎症介质,促使巨噬细胞和炎症细胞浸润,使斑块的稳定性显著降低。NADPH 氧化酶 4 大量分布于血管内皮和平滑肌细胞的线粒体、内质网及细胞核内。研究表明,NADPH 氧化酶 4 与聚合酶 δ 相互作用蛋白 2 (polymerase- δ -interacting protein 2, POLDIP2) 和 p22 等基团结合后,才具有相应的催化活性^[23]。与其他 NADPH 氧化酶亚型(如 NADPH 氧化酶 1 和 NADPH 氧化酶 2 蛋白)相比,NADPH 氧化酶 4 蛋白具有 E-loop 的尾部,其中的组氨酸序列高度保守,组氨酸序列中的点突变能改变 NADPH 氧化酶 4 的催化作用,使催化反应的产物由 H_2O_2 变为 O_2^- 。这些 O_2^- 在粥样斑块中释放,能降低斑块稳定性,使斑块破裂的可能性显著增加。Jing 等^[22]还指出,在高胆固醇饮食喂养的 ApoE^{-/-} 小鼠中,使用 NADPH 氧化酶抑制剂 Apocinin 能显著降低 PCS 诱发的动脉粥样硬化的形成。

5 结语

综上所述,血红素氧合酶-1、髓过氧化物酶以及 NADPH 氧化酶介导的氧化应激过程均在血管内膜增生的病理生理过程中发挥重要作用。深入研究体内氧化还原酶及其介导的氧化应激过程,有利于进一步了解心血管疾病中血管内膜增生的机制,寻求合适的治疗靶点,为转化医学提供理论基础和实践目标。

参考文献

- [1] Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease [J]. N Engl J Med, 2005, 352 (16): 1685-1695.

- [2] Park SJ, Kim YH. Current status of percutaneous coronary intervention with drug-eluting stents in Asia[J]. *Circulation*, 2008, 118(25): 2730-2737.
- [3] Windecker S, Meier B. Late coronary stent thrombosis[J]. *Circulation*, 2007, 116(17): 1952-1965.
- [4] Schearts RS, Henry TD. Pathophysiology of coronary artery stenosis[J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2002, 3(S5): S4-9.
- [5] Muto A, Fitzgerald TN, Pimiento JM, et al. Smooth muscle cell signal transduction: implications of vascular biology for vascular surgeons[J]. *J Vasc Surg*, 2007, 45 (Suppl A): A15-24.
- [6] Souza HP, Souza LC, Anastacio VM, et al. Vascular oxidant stress early after balloon injury: evidence for increased NAD(P)H oxidoreductase activity[J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 28(8): 1232-1242.
- [7] Pollman MJ, Hall JL, Gibbons GH. Determinants of vascular smooth muscle cell apoptosis after balloon angioplasty injury: influence of redox state and cell phenotype [J]. *Circ Res*, 1999, 84(1): 113-121.
- [8] Nunes GL, Robinson K, Kalynych A, et al. Vitamins C and E inhibit O₂ production in the pig coronary artery [J]. *Circulation*, 1997, 96(10): 3593-3601.
- [9] Freyschuss A, Stiko-Rahm A, Swedenborg J, et al. Antioxidant treatment inhibits the development of intimal thickening after ballooninjury of the aorta in hypercholesterolemic rabbits[J]. *J Clin Invest*, 1993, 91(4): 1282-1288.
- [10] Cheng C, Noorderloos M, van Deel ED, et al. Heme oxygenase 1 determines atherosclerotic lesion progression into a vulnerable plaque [J]. *Circulation*, 2009, 119 (23): 3017-3027.
- [11] Li M, Peterson S, Husney D, et al. Long-lasting expression of HO-1 delays progression of type I diabetes in NOD mice [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(5): 567-571.
- [12] Deng Y, Wu B, Witting P, et al. Probucol protects against smooth muscle cell proliferation by upregulating heme oxygenase-1[J]. *Circulation*, 2004, 110(13): 1855-1860.
- [13] Beck K, Wu BJ, Ni J, et al. Interplay between heme oxygenase-1 and the multifunctional transcription factor yin yang 1 in the inhibition of intimal hyperplasia[J]. *Circ Res*, 2010, 107(12): 1490-1497.
- [14] Kasai T, Miyauchi K, Kubota N, et al. Probucol therapy improves long-term (>10-year) survival after complete revascularization: A propensity analysis[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 220(2): 463-469.
- [15] Park KM, Kim CH, Lee HY, et al. Does “Late catch-up” exist in drug-eluting stents: insights from a serial quantitative coronary angiography analysis of sirolimus versus paclitaxel stent? [J]. *Am Heart J*, 2010, 159(3): 446-453.
- [16] Levonen AL, Inkala M, Heikura T, et al. Nrf2 gene transfer induces antioxidant enzymes and suppresses smooth muscle cell growth in vitro and reduces oxidative stress in rabbit aorta in vivo[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27 (4): 741-747.
- [17] Loscalzo J. Oxidative stress: a key determinant of atherothrombosis[J]. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31(Pt 5): 1059-1061.
- [18] Yang J, Cheng Y, Ji R, et al. Novel model of inflammatory neointima formation reveals a potential role of myeloperoxidase in neointimal hyperplasia[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291(6): H3087-3093.
- [19] Tiyerili V, Camara B, Becher MU, et al. Neutrophil-derived myeloperoxidase promotes atherogenesis and neointima formation in mice[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 204(2): 29-36.
- [20] Violi F, Basili S, Nigro C, et al. Role of NADPH oxidase in atherosclerosis[J]. *Future Cardiol*, 2009, 5(1): 83-92.
- [21] Di Marco E, Gray SP, Chew P, et al. Pharmacological inhibition of NOX reduces atherosclerotic lesions, vascular ROS and immune-inflammatory response in diabetic Apoe (-/-) mice[J]. *Diabetologia*, 2014, 57(3): 633-642.
- [22] Jing YJ, Ni JW, Ding FH, et al. p-Cresyl sulfate is associated with carotid arteriosclerosis in hemodialysis patients and promotes atherogenesis in apoE^{-/-} mice [J]. *Kidney Int*, 2016, 89(2): 439-449.
- [23] Victor VM, Apostolova N, Herance R, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in atherosclerosis: mitochondria-targeted antioxidants as potential therapy[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(35): 4654-4667.

(收稿:2016-09-26 修回:2016-10-03)

(本文编辑:胡晓静)