

乙醛脱氢酶 2 抗心肌缺血-再灌注损伤机制

邹丽华 刘晋萍 张 浩

【摘要】 心肌缺血-再灌注期间氧化应激产生的毒性醛类可诱发心功能障碍。乙醛脱氢酶 2 (ALDH2) 是乙醛及其衍生物在体内氧化的关键酶, 近年研究表明, ALDH2 与心肌保护密切相关。目前研究表明, ALDH2 除了可有效清除心肌细胞内的毒性醛类, 还可在缺血-再灌注中调节自噬、对抗内质网应激、抑制心肌细胞凋亡等。该文旨在概述 ALDH2 在缺血-再灌注中心肌保护机制研究的新进展。

【关键词】 缺血-再灌注损伤; 乙醛脱氢酶 2; 心肌保护

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.04.009

缺血-再灌注损伤 (IRI) 指缺血的组织、器官经恢复血流后不但不能使其功能和结构恢复, 反而加重功能障碍和结构损伤。体外循环下心血管手术过程中, 主动脉的阻断与开放可引发心肌缺血-再灌注损伤 (MIRI), 探索针对 MIRI 的心肌保护措施仍是临床的重要课题。Chen 等^[1] 研究发现, 乙醛脱氢酶 (aldehyde dehydrogenase, ALDH) 2 可减轻缺血心肌的氧化应激。且 ALDH2 不仅能有效清除毒性醛类, 还可调节自噬、对抗内质网应激、抑制心肌细胞凋亡等, 本文旨在综述其抗 MIRI 机制。

1 ALDH2 的结构与分布

ALDH 是依赖 NAD^+ 的脱氢酶大家族, ALDH 家族有 19 个同工酶, 其中 ALDH2 是位于线粒体内的四聚体蛋白, 每个亚基有 3 个结构域: NAD^+ 结构域、催化结构域及寡聚化结构域。ALDH2 广泛分布于各组织, 其在心脏中的含量远高于其他 ALDH。ALDH2 由染色体 12q24 编码, 第 12 外显子的核苷酸 G 可突变成 A, 使残基 487 位的谷氨酸被赖氨酸替代, 突变的 ALDH2 丧失结合 NAD^+ 的能力, 酶活性下降。调查显示, ALDH2 在人群分布上具有基因多态性特点, 世界人群约 8% 携带突变基因, 其中中国和日本人携带率高达 40%, 而欧洲人和非洲人罕见此突变^[2,3]。

2 ALDH2 的生理功能与活性调节

ALDH2 可将体内乙醛不可逆地转化成乙酸,

后者进入三羧酸循环生成最终产物 CO_2 和 H_2O 。此外, ALDH2 还可催化硝酸甘油产生二硝基甘油和亚硝酸盐, 后者进一步生成的 NO 可产生血管扩张作用。Chen 等^[1] 应用高通量技术筛选出 ALDH2 特异性激动剂 Alda-1, 其将 ALDH2 的 NAD^+ 结合位点予以显露, 并与底物结合通道相互作用而将通道部分封堵, 使 ALDH2 免受毒性醛类反向抑制而保持活性。Alda-1 还可纠正 NAD^+ 结合位点的结构异常, 提高突变型 ALDH2 活性^[4]。此外, 研究发现 ALDH2 的活性可被大豆甙选择性抑制^[5]。

3 ALDH2 在缺血-再灌注中的保护机制

心肌缺血-再灌注期间, ALDH2 含量无明显变化, 但其活性呈规律性地改变, 缺血时 ALDH2 活性持续下降, 再灌注时活性逐渐增加^[6]。目前认为 ALDH2 主要通过活性调节, 加强毒性醛类的清除而发挥心肌保护作用, 此外, 还可能与调节自噬、对抗内质网应激、抑制心肌细胞凋亡等有关。

3.1 清除毒性醛类

醛类可作为乙醇代谢产物或脂质过氧化产物在细胞中形成, 脂质过氧化产生的醛类具高活性和稳定性, 可随缺血时间的延长生成增加, 它们可与脂质、蛋白、DNA 形成加合物, 影响这些生物大分子的功能, 产生心血管毒性。调查显示, 毒性醛类含量与缺血性心脏病、心律失常、心衰显著相关^[7]。因此, 作为氧化应激的次级产物, 毒性醛类可能会放大氧化应激所产生的 MIRI。

ALDH2 是心脏中乙醛氧化的关键酶, 与其他 ALDH 相比 ALDH2 具有非常低的 K_m 值, 可快速清除乙醛。动物和临床研究均表明, ALDH2 活性

基金项目: 国家自然科学基金 (81270225)

作者单位: 100037 北京协和医学院中国医学科学院阜外心血管病医院体外循环科

通信作者: 刘晋萍, Email: jinpingsw@hotmail.com

下降可使体内乙醛水平明显增高^[8,9]。此外, ALDH2 还可分解丙烯醛以及乙醛衍生物 4-羟壬烯醛(4-HNE)和丙二醛(MDA),减轻毒性醛类对细胞的氧化损伤。在缺血-再灌注心肌中,过表达的 ALDH2 可有效清除 4-HNE,减少心肌梗死面积,提高射血分数,促进缺血后心脏功能恢复^[10]。另一方面,毒性醛类还是 ALDH2 强有效的抑制剂,4-HEN 可使人类重组的 ALDH2 完全失活,但 Alda-1 可逆转 4-HEN 对 ALDH2 的抑制作用^[1]。由于 ALDH2 对醛类的催化作用依赖于 NAD^+ , Hill 等^[11]推测,缺血期间 NAD^+/NADH 比值下降,使 ALDH2 催化效力降低而减少 4-HEN 氧化,后者的过度堆积进一步抑制 ALDH2 活性;再灌注期间,虽然脂质过氧化产生大量 4-HNE,但 NAD^+ 水平的迅速恢复使 ALDH2 催化效力增强,4-HNE 清除增加,进而达到心肌保护作用。

3.2 调节自噬

自噬对细胞存活至关重要,过度自噬可导致重要细胞器和蛋白的自我降解。在缺血期自噬上调并在再灌注期进一步增强,缺血期自噬通过回收能源物质发挥心肌保护作用,但在再灌注期,它一方面通过提供热量使细胞免受再灌注损伤,另一方面,又可以增加 ROS 的产生而导致细胞损伤。因此认为再灌注期间自噬增强弊大于利,若能在缺血期适当地增强自噬,而在再灌注期适当地抑制自噬,将可能更好地保护心肌。对 ALDH2 的研究表明,它恰可以兼顾这种双向作用。Ma 等^[10]发现在缺血期间,ALDH2 通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK),使下游 TSC2 蛋白磷酸化,后者进一步抑制 mTOR 而增强自噬;再灌注期 ALDH2 转而引起丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)磷酸化,与缺血期不同的是, Akt 使 mTOR 活性增加而抑制自噬。另还分别在缺氧期抑制自噬,在复氧期诱发自噬,观察到 ALDH2 的心肌保护作用减弱,从而反向证明 ALDH2 可能通过调节自噬而对抗 MIRI。Ge 等^[12]也发现 ALDH2 通过改变 Akt 和 AMPK 信号及调节自噬流,以对抗乙醇毒性作用,并得出 ALDH2 是通过恢复 Akt-mTOR-STAT3-Notch 信号级联反应而抑制自噬的结论^[13],在缺血-再灌注期间, ALDH2 是否也经过上述级联反应的激活抑制自噬还有待进一步研究。

3.3 改善内质网应激

缺血-再灌注可损伤内质网功能,产生大量错误

折叠或未折叠的蛋白,未折叠的蛋白经自噬清除,可引发心肌凋亡和心功能异常,即内质网应激。Li 等^[14]发现,ALDH2 可明显减轻酒精引起的内质网应激。Liao 等^[15]则发现,ALDH2 可减轻内质网应激引发的心脏收缩功能障碍。因此推测,在缺血-再灌注期间,ALDH2 还可能通过对抗内质网应激发挥心肌保护作用。目前,在衣霉素和毒胡萝卜素诱发的内质网应激模型中,已发现 ALDH2 抗内质网应激不同的信号途径。

3.3.1 PI3K-AKT 途径 在外界应激下,磷脂酰肌醇 3(PI3K)-Akt 信号是细胞生存的关键调节者,活化 Akt 可改善由内质网应激引起的心脏功能障碍^[16]。Liao 等^[15]用衣霉素诱发 ALDH2 敲除和野生型小鼠内质网应激发现, ALDH2 抗内质网应激部分由 PI3K-AKT 途径介导,ALDH2 通过增加 Akt 的活性而对抗内质网应激。同时发现,抑制 PI3K 后,虽其下游的 Akt 活性被进一步抑制,但 ALDH2 仍能对抗内质网应激发挥心肌保护作用。因此,对于 ALDH2 是否确实通过活化 PI3K-AKT 途径来对抗内质网应激仍难以确定。此外,在用衣霉素处理后 4-HNE 发生蓄积,后者可引起 Akt 的失活。因此猜测,ALDH2 对抗内质网应激可能不是通过 PI3K-AKT 途径,而是通过清除 4-HNE 减少对 Akt 的抑制而发挥心肌保护作用。

3.3.2 Akt-TSC-mTOR 途径 研究用毒胡萝卜素诱发 ALDH2 转基因和野生型小鼠内质网应激时发现,内质网应激通过抑制 Akt-TSC-mTOR 信号使得自噬增强,进而引起心脏收缩功能障碍^[17]。而 ALDH2 对抗内质网应激可能是通过增加 Akt 磷酸化水平,再依次抑制 TSC2 蛋白活性而增加 mTOR 活性,进而抑制自噬达到心肌保护。

3.4 抑制心肌细胞凋亡

缺血-再灌注过程中,ROS 和毒性醛类可诱导细胞凋亡,而 ALDH2 的活性与心肌细胞凋亡密切相关,目前已发现 ALDH2 抗凋亡的不同作用途径。(1)毒性醛类可诱导 ROS 产生增加,激活细胞外信号调节蛋白激酶 1/2 (ERK1/2)、应激活化蛋白激酶/Jun 氨基末端激酶(SPAK/JNK)和 P38MAP 激酶(P38 MAPK),产生细胞凋亡。用大豆甙抑制 ALDH2 活性后,ERK1/2、SPAK/JNK 和 P38 MAPK 磷酸化水平显著增高,加重心肌细胞凋亡^[18]。但在转染 ALDH2 的人类胎儿心肌细胞中, ALDH2 的过表达可明显抑制 ERK1/2、SPAK/

JNK 的磷酸化,对 P38MAPK 磷酸化没有影响^[19]。因此,ALDH2 可能通过下调 MAPK 信号而对抗心肌细胞凋亡,但其对 P38 MAPK 磷酸化的作用仍需进一步研究。(2)ALDH2 抗心肌细胞凋亡可能与 Bcl-2 蛋白表达上调、p53 表达下调有关^[20]。(3)miR-34a 可下调 ALDH2 的表达而增加心肌细胞凋亡,阻滞 miR-34a 有利于心肌保护^[21]。(4)ALDH2 对抗内质网应激诱发的凋亡可能是由 PI3K-AKT-p47phox-caspase3 通路所介导^[15]。

3.5 作为 PKC ϵ 的下游磷酸化靶点发挥心肌保护效应

缺血预处理可提高心肌对缺血-再灌注的耐受性。ALDH2 的磷酸化与心脏预处理相关,抑制 ALDH2 活性可明显减弱远程缺血预处理的心肌保护作用^[1,22]。而此前的研究已明确 PKC ϵ 参与了预处理的心肌保护^[23]。那么 PKC ϵ 与 ALDH2 的磷酸化是否存在关联?有学者应用蛋白组学方法确定 ALDH2 是 PKC ϵ 下游的关键酶,活化的 PKC ϵ 进入线粒体,将 ALDH2 的 185 位苏氨酸、412 位苏氨酸和 279 位丝氨酸磷酸化而增加 ALDH2 活性^[1,24]。在敲除 PKC ϵ 的小鼠模型中,ALDH2 激动剂可直接激活 ALDH2,进一步证明线粒体 ALDH2 位于 PKC ϵ 下游^[25]。此外,缺血-再灌注可促使心肌细胞释放肾素,后者引发局部肾素-血管紧张素系统激活而致严重的心律失常。Koda 等^[26]发现,缺血预处理通过激活 PKC ϵ 活化下游的 ALDH2,进而抑制再灌注期间肥大细胞释放肾素。Robador 等^[27]则在心脏交感神经末梢中发现,腺苷和组胺可分别作用于腺苷受体 A1、腺苷受体 A3、组胺受体 H3 而活化 PKC ϵ 和 ALDH2,活化的 ALDH2 通过抑制心脏交感神经末梢释放去甲肾上腺素而发挥心肌保护作用。这些结果表明:ALDH2 是 PKC ϵ 直接的下游物质;可由 PKC ϵ 介导的磷酸化激活;PKC ϵ 抗 MIRI 的作用部分可通过增强 ALDH2 的活性实现。各种激活 PKC ϵ 的途径都可能通过间接提高 ALDH2 活性达到心肌保护作用。

3.6 其他

Lagranha 等^[28]发现,ALDH2 抗缺血-再灌注损伤存在性别差异,雌性大鼠的心脏损伤较雄性更小且 ALDH2 磷酸化水平更高,而在卵巢切除的雌性大鼠 ALDH2 磷酸化水平与雄性无差异,并认为 PI3K 可能参与了雌激素介导的 ALDH2 磷酸化。此外,在缺血-再灌注期间,ALDH2 还可能通过抑

制线粒体渗透性转换孔道的开放发挥心肌保护作用^[29]。

4 前景与展望

ALDH2 的心肌保护作用除了与毒性醛类的清除有关外,还可能涉及多种机制。虽然这些机制暂无定论,但从目前研究来看,ALDH2 确实可作为抗缺血-再灌注损伤新的重要治疗靶点。在缺血期再灌注期间提高 ALDH2 的活性,对改善心功能大有裨益,尤其对于具突变型 ALDH2 患者及其在体外循环下心血管手术中的个性化管理意义重大。因此,对 ALDH2 心肌保护机制的研究应受到更多重视。

参 考 文 献

- [1] Chen C H, Budas G R, Churchill E N, et al. Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart[J]. *Science*, 2008, 321(5895): 1493-1495.
- [2] Brooks P J, Enoch M A, Goldman D, et al. The alcohol flushing response: an unrecognized risk factor for esophageal cancer from alcohol consumption[J]. *PLoS medicine*, 2009, 6(3): e50.
- [3] Goedde H W, Agarwal D P, Harada S, et al. Population genetic studies on aldehyde dehydrogenase isozyme deficiency and alcohol sensitivity[J]. *Am J Hum Genet*, 1983, 35(4): 769-772.
- [4] Perez-Miller S, Younus H, Vanam R, et al. Alda-1 is an agonist and chemical chaperone for the common human aldehyde dehydrogenase 2 variant[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(2): 159-164.
- [5] Keung W M, Klyosov A A, Vallee B L. Daidzin inhibits mitochondrial aldehyde dehydrogenase and suppresses ethanol intake of Syrian golden hamsters[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(5): 1675-1679.
- [6] Gong D, Zhang Y, Zhang H, et al. Aldehyde dehydrogenase-2 activation during cardioplegic arrest enhances the cardioprotection against myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2012, 12(4): 350-358.
- [7] Bhatnagar A. Environmental cardiology: studying mechanistic links between pollution and heart disease[J]. *Circ Res*, 2006, 99(7): 692-705.
- [8] Peng G S, Yin S J. Effect of the allelic variants of aldehyde dehydrogenase ALDH2* 2 and alcohol dehydrogenase ADH1B* 2 on blood acetaldehyde concentrations[J]. *Hum Genomics*, 2009, 3(2): 121-127.
- [9] Zhang H, Gong D, Zhang Y, et al. Effect of mitochondrial aldehyde dehydrogenase-2 genotype on cardioprotection in patients with congenital heart disease[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(13): 1606-1614.
- [10] Ma H, Guo R, Yu L, et al. Aldehyde dehydrogenase 2

- (ALDH2) rescues myocardial ischaemia/reperfusion injury: role of autophagy paradox and toxic aldehyde[J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(8): 1025-1038.
- [11] Hill B G, Awe S O, Vladykovskaya E, et al. Myocardial ischaemia inhibits mitochondrial metabolism of 4-hydroxy-trans-2-nonenal[J]. *Biochem J*, 2009, 417(2): 513-524.
- [12] Ge W, Guo R, Ren J. AMP-dependent kinase and autophagic flux are involved in aldehyde dehydrogenase-2-induced protection against cardiac toxicity of ethanol[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 51(9): 1736-1748.
- [13] Ge W, Ren J. mTOR - STAT 3 - notch signalling contributes to ALDH2 - induced protection against cardiac contractile dysfunction and autophagy under alcoholism[J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(3): 615-625.
- [14] Li S Y, Gilbert S A B, Li Q, et al. Aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) ameliorates chronic alcohol ingestion-induced myocardial insulin resistance and endoplasmic reticulum stress [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2009, 47(2): 247-255.
- [15] Liao J, Sun A, Xie Y, et al. Aldehyde dehydrogenase-2 deficiency aggravates cardiac dysfunction elicited by endoplasmic reticulum stress induction[J]. *Mol Med*, 2012, 18: 785-793.
- [16] Zhang Y, Xia Z, La Cour K H, et al. Activation of Akt rescues endoplasmic reticulum stress-impaired murine cardiac contractile function via glycogen synthase kinase-3 β -mediated suppression of mitochondrial permeation pore opening [J]. *Antioxid Redox signal*, 2011, 15(9): 2407-2424.
- [17] Zhang B, Zhang Y, La Cour KH, et al. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase obliterates endoplasmic reticulum stress-induced cardiac contractile dysfunction via correction of autophagy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1832 (4): 574-584.
- [18] Zhang P, Xu D, Wang S, et al. Inhibition of aldehyde dehydrogenase 2 activity enhances antimycin-induced rat cardiomyocytes apoptosis through activation of MAPK signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2011, 65(8): 590-593.
- [19] Li S Y, Li Q, Shen J J, et al. Attenuation of acetaldehyde-induced cell injury by overexpression of aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) transgene in human cardiac myocytes: role of MAP kinase signaling [J]. *J Molr Cellr Cardiol*, 2006, 40(2): 283-294.
- [20] 俞佳艳, 孙爱军, 贾建国, 等. 转染乙醛脱氢酶 2 基因对心肌梗死后心衰小鼠心功能的影响 [J]. *中国临床医学*, 2008, 15(3): 277-280.
- [21] 范凡, 孙爱军, 卜丽萍, 等. miR34a 通过调控乙醛脱氢酶 2 参与心肌细胞凋亡及心室重构 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(3): 222-222.
- [22] Contractor H, Støttrup N B, Cunningham C, et al. Aldehyde dehydrogenase-2 inhibition blocks remote preconditioning in experimental and human models [J]. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(3): 1-10.
- [23] Nattel S, Khan R A. Protein kinase C, connexin43, and ischemic preconditioning: complex interactions of potential importance for controlling arrhythmias [J]. *Heart Rhythm*, 2007, 4(9): 1194-1195.
- [24] Churchill E N, Disatnik M H, Mochly-Rosen D. Time-dependent and ethanol-induced cardiac protection from ischemia mediated by mitochondrial translocation of PKC and activation of aldehyde dehydrogenase 2 [J]. *J Mol Cellular Cardiol*, 2009, 46(2): 278-284.
- [25] Budas G R, Disatnik M H, Chen C H, et al. Activation of aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) confers cardioprotection in protein kinase C epsilon (PKC) knockout mice [J]. *J Molecular Cell Cardiol*, 2010, 48(4): 757-764.
- [26] Koda K, Salazar-Rodriguez M, Corti F, et al. Aldehyde dehydrogenase activation prevents reperfusion arrhythmias by inhibiting local renin release from cardiac mast cells [J]. *Circulation*, 2010, 122(8): 771-781.
- [27] Robador P A, Seyedi N, Chan N Y, et al. Aldehyde dehydrogenase type 2 activation by adenosine and histamine inhibits ischemic norepinephrine release in cardiac sympathetic neurons: mediation by protein kinase C ϵ [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 343(1): 97-105.
- [28] Lagranha C J, Deschamps A, Aponte A, et al. Sex differences in the phosphorylation of mitochondrial proteins result in reduced production of reactive oxygen species and cardioprotection in females [J]. *Circ Res*, 2010, 106(11): 1681-1691.
- [29] 李正红, 姜翠荣, 夏满莉, 等. 乙醛脱氢酶 2 和线粒体渗透转换参与乙醇后处理的心肌保护作用 [J]. *浙江大学学报 (医学版)*, 2010, 39(6): 566-571.

(收稿:2013-04-03 修回:2013-05-28)

(本文编辑:金谷英)