

细胞自噬与中医气虚痰瘀关系探讨

黄贵华¹ 纪云西^{1*} 吴大力¹ 钱方² 蒋历¹ 韦义展¹ 刘杰民³

(1. 广西中医学院第一附属医院, 广西壮族自治区南宁市园湖路 2 号, 530023;

2. 广东省深圳市中医院; 3. 贵州省人民医院)

* 通讯作者: ji-yunxi@163.com

[摘要] 通过探讨细胞自噬产生的病理生理机制与中医气虚、痰瘀病机两者的相关性, 认为细胞自噬与中医气虚情况下, 通过“精化气”以维持机体生命活动的机制, 以及在脏腑功能失调下内生实邪的自我清除以维持内环境的阴阳平衡相一致。通过细胞自噬机制的阐明对揭示中医气虚痰瘀的微观病理生理机制提供新思路。

[关键词] 细胞自噬; 气虚; 痰瘀; 微观机制

细胞自噬是细胞在接受到一定的内外环境刺激后诱导产生的“自我消化”过程, 一方面, 自噬是净化自身受损蛋白质、细胞器的机制, 通过降解胞内受损的结构, 并产生氨基酸、游离脂肪酸等物质以供蛋白质和能量的合成, 使细胞能够适应缺氧和饥饿等环境; 另一方面, 正常细胞通过自噬清除过多的蛋白质及受损或衰老的细胞器, 以维持内环境稳定, 这与中医气虚情况下, 通过“精化气”以维持机体生命活动的机制, 以及在脏腑功能失调下内生实邪的自我清除以维持内环境的阴阳平衡相一致。

细胞自噬是以胞质内出现双层膜结构包裹长寿命蛋白和细胞器的自噬体为特征的细胞“自我消化”的一系列生化过程^[1], 起到调控细胞内容物降解和再循环, 参与细胞器的代谢和再利用及对细胞内生物能量的补充, 主要表现为细胞质中出现大量包裹着细胞质和细胞器的空泡结构, 以及溶酶体对空泡内成分的降解, 产生氨基酸和 ATP 等, 以平衡细胞合成和分解代谢, 维持机体的能量代谢循环, 稳定细胞内环境, 维持细胞的存活。被视为机体应对不良刺激的一种自我保护机制, 在防止神经退行性病变、肿瘤、病原微生物感染等疾病及延长寿命过程中起积极作用^[2]。随着年龄的增加自噬功能下降造成异常蛋白质、DNA 及细胞器进行性的积聚, 这些积聚的蛋白质分子是人体老化与许多急性、慢性疾病的主要病因^[3], 这与中医脏腑功能衰退, 气血亏虚, 气化失司, 痰瘀内结的致病机制相一致, 因此, 对细胞自噬作用的研究不仅有理论意义, 也具有重要的作用价值。

1 自噬的发生及其作用

在营养缺乏、生长因子撤离、辐射等各种不利应激的情况下, 细胞自噬活性的增加为其生存暂时提

供了有利条件。自噬能通过该机制清除细胞内过多或异常的蛋白质、细胞器, 甚至病原微生物, 这不仅有利于维持细胞稳态, 也促进氨基酸等的再循环, 为多种生化进程提供底物或原料^[4]。自噬作为一种重要的物质代谢方式, 是细胞对持续性内外刺激的非损伤性应答反应, 以维持细胞结构、代谢和功能的平衡^[5]。而且自噬过程经历的时间较短(半衰期为 8min), 说明自噬是细胞对于环境变化的有效反应, 对新陈代谢起着举足轻重的作用: ①自噬是对外源性刺激(包括营养缺乏、细胞密度负荷、低氧、氧化应激、感染等)的适应性反应; ②自噬作为细胞保持稳定状态的管家机制, 可调控长寿命蛋白、过氧化物体、线粒体和内质网的更新; ③自噬参与一定的组织特异性融合; ④自噬既可以作为一种防御机制清除胞质内受损的细胞器、代谢产物, 进行亚细胞水平上的重构, 保护受损的细胞, 同时它作为一种细胞死亡程序诱导细胞主动性死亡^[6]。

中医强调整体平衡, “过犹不及”是中医病因学最基本的观点之一, 即指出疾病发生发展的根本原因就是人体机能的太过与不及。内伤或外感诸因素, 可致脏腑精气阴阳亏虚或亢逆而出现相应的虚实病证, “邪气盛则实, 精气夺则虚”(《素问·通评虚实论》); “虚实者, 有余不足也”(《景岳全书·传忠录·虚实篇》)。虚证因于内伤, 实证因于邪侵。现代医学表明, 自噬参与多种疾病的病理过程, 无论是自噬过度还是自噬不足都可能导致疾病发生。且是否在自噬的调控中存在一种量效关系, 即在一定范围及程度上的自噬作用对细胞起保护作用, 而超出此量则起相反作用^[7]。我们认为, 自噬是对机体正虚邪实作出的一种自我调节方式, 但其本身的太过与不及同样是重要的致病因素。中医治病强调“以

平为期”,调节这种太过与不及,使之趋于平衡,因而依据疾病的虚实病机,促进或抑制机体自噬,是调整机体阴阳平衡的重要方法。

2 自噬是正气亏虚下自救方式

细胞在缺乏营养和能量供应时,通过双层膜或者多层膜结构包裹部分细胞质与细胞器,形成特异性的自噬体,并与溶酶体融合进一步形成自噬溶酶体。胞质和细胞器成分在自噬溶酶体中被降解为核苷酸、氨基酸、游离脂肪酸等小分子物质,并进入三羧酸循环,产生小分子和 ATP,再被细胞所利用^[8]。1977 年,Hourdry 等首次在即将死亡的细胞中发现了自噬现象,并提出自噬可能促进细胞存活的假说。近年来,大部分研究者通过缺血缺氧动物模型和细胞培养实验证实了自噬不但对营养缺乏状态下的细胞起保护性作用,而且可以促进细胞存活。心脏缺血后,心肌细胞内的自噬体明显增加,溶酶体的活性也增强^[9],由此保证自噬能有效地对心肌细胞提供能量。通过自噬相关基因敲除或药物阻断等抑制自噬的方法,也证明了自噬在维持饥饿状态下细胞存活中的作用。研究发现,对于禁食小鼠给予抗脂质分解药物可引起游离脂肪酸和葡萄糖明显减少,胰高血糖素/胰岛素比例上升,同时自噬功能增强^[10]。电镜下观察小鼠肝细胞可以见到自噬体明显增多;在体研究表明,新生鼠在出生后的短时间内,由于来自胎盘的营养供给中断,体细胞处于饥饿状态,此时新生鼠的大部分组织细胞通过提高自噬程度维持存活,自噬基因敲除导致自噬功能缺失的小鼠,导致细胞内 ATP 浓度下降,在出生后数小时内死于能量缺乏^[11-13],说明在饥饿和新生儿早期,激活的自噬对维持细胞的生存是必需的。

自噬调控机制的异常,将引起细胞功能改变,甚至细胞死亡。有研究认为,细胞自噬不仅是细胞的一种生存机制,也是细胞死亡的一种方式^[13]。自噬型细胞死亡始于细胞的自噬作用,以胞浆中形成大量自噬体为特征,其内存在多种细胞成分(生物大分子和细胞器等),高尔基体、多聚核糖体、内质网的降解都早于核解体。在此过程中,线粒体功能完整,为自噬提供所需能量,当线粒体绝大部分变性、溶解,染色质断裂、核解体时称之为自噬型细胞死亡^[14]。自噬的过度发生将导致自噬体的形成数量超过溶酶体的降解能力,在一些调节因子的作用下,自噬将作为一种死亡机制诱导细胞发生 II 型程序性细胞死亡,与凋亡一起促进细胞死亡^[15]。有学者认为,细

胞过度自噬大量降解细胞内的蛋白质和细胞器,使细胞的能量过度消耗,最终引起细胞死亡^[16]。从中医角度分析,当机体气血亏虚,即精微物质和能量供给不足时,细胞发生自噬,将细胞内错误折叠的蛋白及受损亚细胞器进行“自我消化”,补充能量供细胞的正常生命活动需要,以此作为代偿,促使阴阳自和。一旦“精气转化”的气化功能停止,必将导致阴阳离绝。

3 自噬是机体转化、消除内生实邪

正常机体自噬发生水平较低。当自稳态发生改变时(如发育分化、衰老),或机体受外界的各种刺激(如脑损伤、缺氧缺血、惊厥等)的情况下自噬即刻被诱导,细胞借此途径清除胞内多余或损伤的细胞器及胞内成分^[17]。例如,处于基线水平的自噬在阻止鼠脑和肝细胞中积聚倾向性蛋白在胞质中的沉淀、泛素化蛋白的清除中发挥作用^[18]。Ebato 等^[19]研究发现,在标准饮食下,非糖尿病小鼠的胰岛 β 细胞自噬维持着很低水平,但在高脂饮食喂养下,糖尿病和非糖尿病小鼠的胰岛 β 细胞自噬都出现了显著的激活,电镜下可以观察到大量的自噬小体的出现。研究发现,抗脂质分解药物可以在不到 6h 的时间内逆转小鼠肝细胞年龄相关的线粒体 DNA 氧化损害的累积^[20]。这些研究结果显示,年龄相关的线粒体 DNA 及其功能的变化更大程度上是由年龄相关的自噬调节能力的下降引起的,自噬调节能力的下降导致细胞识别及降解严重受损线粒体的能力下降,从而细胞产生的病理性产物“垃圾”——破损或衰老的细胞器、长寿命蛋白质、错误合成或折叠错误的蛋白质等,属于中医的内生痰瘀之邪。现代研究认为,痰属于病理性生化物质在体内堆积的结果,存在一个量变过程;瘀则是病理性生化物质的物理化学性质和生物学功能发生了改变或同时伴有相关细胞形态结构和功能改变的结果^[21]。而这种内生痰瘀之邪均需要通过自噬加以及时清除,以维持细胞的自稳,因此,自噬是细胞的“垃圾清理站”。而自噬的降解产物,可为细胞提供一定的能量和合成底物,因此,自噬也是细胞的“备用仓库”^[22]。我们认为,细胞一旦启动自噬程序,必定是在机体接受到了外界环境的致病因素——外邪,或机体内部产生了突发性的应激,如情志刺激、压力或危机等应激因素。自噬的发生与中医的气虚、痰瘀关系密切。如果机体长期处于营养物质和能量供给充足的状态下,细胞的合成和分解代谢均处于旺盛状态,因而细胞合成

蛋白质的数量大大增加,蛋白质错误折叠与修饰机会增多,同时,糖脂通过线粒体 β 氧化的能量代谢旺盛,脂质过氧化增多,线粒体、内质网等细胞器的自身损伤增加,因而细胞增强自噬,以清除细胞内的“残留物”,以维持内环境的平衡,这与中医阴阳自和机制相吻合。

自噬不足导致衰老细胞组分、蛋白质多肽或蛋白质片段、亚细胞器的过多沉积,影响细胞的正常生命活动,我们认为是中医痰瘀在细胞微观层面上的体现。机体自身存在着处理细胞内衰老的细胞器、蛋白折叠残留片段的功能,以防止其在细胞内的积聚成病理产物,细胞自噬可能是机体自身的“废物重新利用”,从中医角度认为,这种细胞自噬正是气化功能的微观体现,就是促进“废物”向能量转化,以此达到阴阳平衡。

综上所述,运用现代生物学技术对疾病机体细胞的自噬动态监测,可以掌握机体的整体状况,是邪实还是正虚;虚实夹杂是以虚多实少,还是实多虚少?治疗上是应补益为主还是祛邪为主?是促进细胞自噬还是抑制细胞自噬?这为中医药防治疾病提供细胞层面的微观依据。我们认为,中医补气、宣畅气化可以增强细胞自噬不足状态下的自噬功能,增强细胞对胞体内积聚过多的蛋白、亚细胞器等“自我消化”的“精化气”功能;而促进细胞自噬功能,清除胞体内过多的蛋白、受损的亚细胞器可能是中医化痰祛瘀作用的微观机制。

参考文献

- [1] Klionsky DJ. Autophagy revisited: a conversation with Christian de Duve[J]. *Autophagy*, 2008, 4(6): 740—743.
- [2] 张发仁,许丽艳.自噬的概述[J]. *汕头大学医学院学报*, 2005, 18(4): 250—253.
- [3] Eskelinen EL, Saftig P. Autophagy: a lysosomal degradation pathway with a central role in health and disease[J]. *Biochem Biophys Acta*, 2009, 1793(4): 664—673.
- [4] Fehrenbacher N, Bastholm L, Kirkegaard-Sprengsen T, et al. Sensitization to the lysosomal cell death pathway by oncogene-induced down-regulation of lysosome-associated membrane proteins 1 and 2[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(16): 6623—6633.
- [5] Sandoval H, Thiagarajan P, Dasgupta S K, et al. Essential role for Nix in autophagic maturation of erythroid cells[J]. *Nature*, 2008, 454(7201): 232—235.
- [6] Levine B, Yuan J. Autophagy in cell death: an innocent convict? [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(10): 2679—2688.
- [7] 陈英,彭心昭,朴英杰.自噬分子机制的研究动向[J]. *解剖科学进展*, 2000, 6(4): 312—314.
- [8] Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease[J]. *Cell*, 2008, 132(1): 27—42.
- [9] Yan L, Vatner DE, Kim SJ, et al. Autophagy in chronically ischemic myocardium[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(39): 13807—13812.
- [10] Bergamini E, Del Roso A, Fierabracci V, et al. A new method for the investigation of endocrine-regulated autophagy and protein degradation in rat liver[J]. *Exp Mol Pathol*, 1993, 59(1): 13—26.
- [11] Kuma A, Hatano M, Matsui M, et al. The role of autophagy during the early neonatal starvation period[J]. *Nature*, 2004, 432(7020): 1032—1036.
- [12] Mizushima N, Yamamoto A, Hatano M, et al. Dissection of autophagosome formation using Apg5-deficient mouse embryonic stem cells[J]. *J Cell Biol*, 2001, 152(2): 657—668.
- [13] Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease, *Cell*, 2008, 132(1): 27—42.
- [14] Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword[J]. *Science*, 2004, 306(5698): 990—995.
- [15] Crighton D, Wilkinson S, O'Prey J, et al. DRAM, a p53-induced modulator of autophagy, is critical for apoptosis[J]. *Cell*, 2006, 126(1): 121—134.
- [16] Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion[J]. *Nature*, 2008, 451(7182): 1069—1075.
- [17] Kurz T, Terman A, Brunk UT. Autophagy, ageing and apoptosis: The role of oxidative stress and lysosomal iron[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 462(2): 220—230.
- [18] Hara T, Nakamura K, Matsui M, et al. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice[J]. *Nature*, 2006, 441(7095): 885—889.
- [19] Ebato C, Uchida T, Arakawa M, et al. Autophagy is important in islet homeostasis and compensatory increase of beta cell mass in response to high-fat diet[J]. *Cell Metab*, 2008, 8(4): 325—332.
- [20] Bergamini E, Cavallini G, Donati A, et al. The role of autophagy in aging: its essential part in the anti-aging mechanism of caloric restriction[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1114: 69—78.
- [21] 郑丽娜,韩涛,王宝恩,等.柴胡对肝星形细胞胶原降解作用的体外研究[J]. *天津医药*, 2003, 31(4): 235—237.
- [22] 史海涛,王攀.细胞自噬与抗肿瘤[J]. *生命的化学*, 2009, 29(6): 869—873.

(收稿日期: 2011—04—11; 修回日期: 2011—06—13)

[编辑: 黄健]