

中药抑制血管内皮细胞凋亡的作用机制研究概况

郭晓辰¹ 张军平^{2*}

(1. 天津中医药大学研究生院, 天津市南开区玉泉路 88 号, 300193;

2. 天津中医药大学第一附属医院)

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划资助项目(2007BAI20B073)

* 通讯作者: tjzhtcm@163.com, (022)27432016

[摘要] 血管内皮细胞的异常凋亡与几种严重危害人类健康的心血管疾病有密切的关系, 对其进行合理调控已成为心血管类疾病研究的热点。研究表明, 多种中药可对血管内皮细胞在不同分子水平产生调控作用, 抑制其凋亡, 从而逆转或改变其相应病理状态。就相关文献对中药抑制血管内皮细胞凋亡的作用机制进行综述。

[关键词] 心血管疾病; 血管内皮细胞; 细胞凋亡

细胞凋亡(apoptosis, APO)是由细胞内特定基因操纵、调控的一种生理性或病理性的自杀性细胞死亡方式。细胞凋亡的现象广泛存在于心血管疾病的发生发展过程中, 是细胞损伤的特征性病理生理变化。

血管内皮细胞是影响血管壁通透性的主要屏障, 其在调节心血管功能、维持心血管稳态中发挥重要作用。在心脑血管系统疾病中, 尤其是动脉粥样硬化类疾病中, 普遍存在血管内皮细胞凋亡异常现象, 干预血管内皮细胞凋亡、保护心血管已成为当今心血管药理研究的一个新方向。

近年来大量的实验研究证明, 中药可合理抑制血管内皮细胞的凋亡, 体现了中药的多层次、多靶点、多环节及整体调节的优势, 为中药防治血管性疾病开辟了新的途径。研究中药对于抑制血管内皮细胞凋亡的作用机制有着重要意义。

1 中药抑制血管内皮细胞凋亡的作用机制

1.1 半胱天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase-3)

细胞有多种凋亡途径, Caspase 蛋白家族从细胞内外以至于内质网等多种途径参与了对凋亡的调控^[1]。在各种途径中, Caspase-3 是凋亡发生的中心环节。Caspase-3 属于半胱氨酸蛋白酶, 相当于线虫中的 ced-3, 在破坏细胞骨架结构方面有重要作用, 这些蛋白酶是引起细胞凋亡的关键酶, 一旦被信号途径激活, 能将细胞内的蛋白质降解, 使细胞不可逆的走向死亡。因此, 若能控制该酶的活性对凋亡的结局可产生重要影响。

动物实验发现, 早期动脉粥样硬化模型对照组大鼠较正常对照组大鼠主动脉内皮细胞凋亡率明显升高, 增殖指数明显降低, Caspase-3 的蛋白表达也明显升高。应用乌鸡白凤丸或淡豆豉提取物后, 主动脉内皮细胞 Caspase-3 的蛋白表达下调, 凋亡率

[14] 崔志义, 王磊, 崔健, 等. 论中医心理治疗[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(3): 49-50.

[15] 金明玉. 中医心理疗法浅析[J]. 陕西中医, 2008, 29(4): 512-513.

[16] 赵红, 张平. 合理情绪疗法在心理亚健康护士中的应用研究[J]. 护理学杂志, 2011, 26(11): 61-63.

[17] 朱杉. 浅谈中医与当代心理治疗[J]. 中外健康文摘, 2009, 6(1): 30.

[18] 刘维超, 彭江云. 浅谈中医心理学的发展[J]. 云南中医中药杂志, 2007, 28(1): 48-51.

[19] 邹小娟. 中医心理治疗的方法及特点[J]. 光明中医, 2011, 26(1): 7-9.

[20] 金丽, 张其成. 试论中医心理疗法与现代医学心理疗法

的相通性[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(4): 251-253.

[21] 周少林. 中医心理治疗述要[J]. 江苏中医药, 2009, 41(11): 61-63.

[22] 郑孟姝, 何丽云, 王天芳, 等. 中医养生思想在亚健康状态调摄中的应用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(5): 385-386.

[23] 王策, 董盛. 亚健康状态中医治疗进展[J]. 陕西中医药大学学报, 2009, 32(2): 73-75.

[24] 周登峰, 梁光宇. 亚健康中医学研究概况[J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(7): 910-912.

(收稿日期: 2012-01-16; 修回日期: 2012-06-12)

[编辑: 黄 健]

较模型对照组降低,增殖指数增加^[2-3]。实验结果提示,乌鸡白凤丸和淡豆豉提取物对早期动脉粥样硬化大鼠血管内皮损伤有明显的防治作用,其机制可能与通过下调 Caspase-3 的蛋白表达,调节血管内皮细胞凋亡与增殖的平衡有关。在离体实验方面,氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)和过氧化氢(H₂O₂)均能诱导血管内皮细胞凋亡,其凋亡细胞中 Caspase-3 阳性表达显著增高。有研究报道,葛根素和木犀草素可分别减少 ox-LDL 或 H₂O₂ 诱导的内皮细胞凋亡数量,同时显著抑制 Caspase-3 阳性表达^[4-5]。因此,推测葛根素和木犀草素抑制血管内皮细胞凋亡途径可能涉及 Caspase-3 通路。

1.2 一氧化氮(NO)

血管内皮损伤及功能障碍的特征表现为由内皮细胞产生的 NO 水平降低及所介导的内皮依赖性血管舒张功能受损^[6]。ox-LDL 对血管内皮细胞的损伤是动脉粥样硬化(AS)发病过程中的重要环节,其能够通过多种机制导致内皮细胞 NO 的表达释放量减低,并促进内皮细胞内皮素-1(ET-1)的表达释放,使 NO/ET-1 间平衡失调,并损伤或诱导内皮细胞凋亡^[7],导致血管内皮功能障碍。一些动脉粥样硬化保护因子如雌激素、NO、抗氧化剂等^[8-9]可抑制血管内皮细胞凋亡。

有研究观察脑心通胶囊(黄芪、丹参、当归、川芎、红花等)对 ox-LDL 损伤血管内皮的保护作用及其分子机制,结果表明,中药脑心通可促进内皮细胞 NO 释放,明显减低或抑制人脐静脉内皮细胞(HUVEC)早期凋亡率以及细胞内 Caspase-3 酶活性和乳酸脱氢酶(LDH)释放量的增加,并呈现出一定的剂量依赖趋势,从而对血管内皮产生一定的保护作用^[10]。另有研究报道,脂多糖可以抑制 HUVEC 一氧化氮合酶活性及胞内外 NO 含量,增加胞内氧化应激产物(ROS)水平,促进细胞凋亡,抑制正常细胞周期的进程,而川芎嗪可以恢复脂多糖所致的上述效应,并具有一定的浓度依赖性,因此认为川芎嗪可以通过有效抑制脂多糖诱导的 HUVEC NO、ROS 水平改变所引起的细胞凋亡,从而起到对内皮细胞损伤的保护作用^[11]。

1.3 凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAP)

Caspase 是细胞凋亡的主要参与成分,其中 Caspase-3 是几乎所有途径的下游蛋白,最近的研究发现,又有许多新的蛋白参与 Caspase 诱导途径的

调控,参与着抗凋亡和抑凋亡的作用,其中 IAP 担当了重要角色^[12]。IAP 是唯一内源性 Caspase 效应酶抑制物,具有杆状病毒 IAPBIR(Baculoviral IAP Repeat)结构域,BIR 结构是抑制细胞凋亡的必须的功能区域^[13]。目前已知 8 种 IAP,包括 XIAP、c-IAP-1、c-IAP-2 和 ML-IAP 等等。

研究发现,含中药复方芪丹通脉片(黄芪、丹参、桂枝)血清联合骨髓间充质干细胞(MSC)能通过提高 c-IP-1、c-IP-2 的表达而抑制了 Caspase-3 的活化,逆转了由高同型半胱氨酸(HCY)诱导的 HUVEC 的凋亡,且与芪丹通脉片剂量呈正相关^[14]。

1.4 钙离子(Ca²⁺)

细胞内 Ca²⁺ 是一种重要的第二信使,机体细胞的许多生理活动均依赖于钙的参与^[15]。正常生理机制对细胞内游离 Ca²⁺ 浓度的调控是有一定限度的,超过极限将导致细胞内游离 Ca²⁺ 浓度升高,引起细胞和线粒体钙超载,钙超载可引起线粒体功能障碍及酶的激活,促进膜磷脂酶分解,产生脂肪酸、白三烯、溶血磷脂等对细胞产生毒害作用。有资料表明,细胞内游离 Ca²⁺ 浓度升高可以激活核酸内切酶,使基因组 DNA 产生特征性降解,对细胞凋亡起重要作用^[16]。

有研究通过实验观测到 H₂O₂ 可引起内皮细胞 Ca²⁺ 显著升高,并呈现出时间依赖性;蚤休皂苷干预后,表现为剂量依赖性地降低了其浓度,晚期内皮细胞凋亡量减少。说明蚤休皂苷可以通过稳定氧化损伤的内皮细胞内的 Ca²⁺,抑制其介导的凋亡通路而达到抑制细胞的凋亡作用,以及保护内皮细胞免于氧化损伤,阻止动脉粥样硬化疾病的发生^[17]。

1.5 p22phox 亚基

NADH/NADPH 氧化酶系统是血管 ROS 的重要来源,p22phox 亚基是 NADH/NADPH 酶系统的一个关键组成部分^[18]。研究发现,通心络胶囊(人参、水蛭、全蝎、蜈蚣、蝉蜕、土鳖虫、赤芍、冰片等)在 14 和 28 天时间点明显抑制了 Bax 与 p22phox 基因的表达,使 Bcl-2/Bax 比值在 7、14 和 28 天 3 个时间点均明显高于血管紧张素 II(Ang II)组,显示出对 Ang II 致大鼠内皮损伤模型中血管内皮细胞凋亡的积极抑制作用。因此推测通心络抑制内皮细胞凋亡的作用可能是通过抑制血管 ROS 主要来源的 NADPH 氧化酶的基因表达,进而减少细胞内 ROS 的生成来完成的。

2 小结

从凋亡角度探讨中药干预血管性疾病的发生、发展机制是目前研究的热点之一,研究药物涉及从中药中提取出的单体、有效成分以及单味中药和一些中药的复方制剂。研究人员已经开始从分子基因水平来揭示中药抑制血管内皮细胞凋亡的作用机制,也取得了一些成绩。但中药抑制血管内皮细胞凋亡的分子学机制十分复杂,其药理学基础涉及多个环节,相关研究工作有待深入。例如,凋亡的发生受到一些互为网络的因子的调节,是多种因素相互作用下的结果,而体外实验大多只用一种因素(如 ox-LDL、H₂O₂、HCY 等)进行造模,同时直接用药物培养细胞,不能真正地模拟相应体内病变及中药干预的全面情况,因此,改进造模方式及重视中药血清药理学在研究中的应用能够从更深层次、更本质地揭示中药的作用原理。此外,中药的干预作用常为多途径、多靶点,而目前的研究多仅从中药调控凋亡相关基因的表达入手进行检测与分析,也有一些是将凋亡信号转导通路中某些重要因子及靶点作为测定指标来推测可能机制,实验设计不够细致深入,因此不能得到明确的结论,对中药抑制血管内皮细胞凋亡的具体动态过程尚缺乏全面、系统的认识。如何将已研究并得到初步结论的各个单一因素有机整合,从整体上探索中药对血管内皮细胞凋亡的网络式调控机制是需要研究和完善的重点问题。

中药合理抑制血管内皮细胞凋亡作用确切,具有明显的优势,对其机制进行分子生物学的深入研究,将推动中医理论的发展。

参考文献

- [1] Adams JM. Ways of dying; multiple pathway to apoptosis [J]. *Genes Dev*, 2003, 17(20): 2481-2495.
- [2] 严玉平, 王永红, 李爱英, 等. 乌鸡白凤丸对早期动脉粥样硬化大鼠血管内皮细胞凋亡的影响[J]. *中药药理与临床*, 2008, 24(3): 5-6.
- [3] 白露, 牛丽颖, 刘娇, 等. 淡豆豉防治早期动脉粥样硬化大鼠血管损伤的机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(1): 170-171.
- [4] 高爱社, 沈晓君. 葛根素对 ox-LDL 诱导的血管内皮细胞凋亡的防护作用[J]. *山东中医杂志*, 2008, 27(5): 334-335.
- [5] 何煜舟, 丁美萍. 木犀草素对 H₂O₂ 氧化损伤的血管内皮细胞的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(7): 1285-1288.

the circadian clock gene Per2 alters vascular endothelial function [J]. *Circulation*, 2007, 115(16): 2188-2195.

- [7] Salvayre R, Auge N, Benoist H, et al. Oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1585(2-3): 213-221.
- [8] Sata M, Kakoki M, Nagata D, et al. Adrenomedullin and nitric oxide inhibit human endothelial cell apoptosis via a cyclic GMP-independent mechanism [J]. *Hypertension*, 2000, 36(1): 83-88.
- [9] Rössig L, Hoffmann J, Hugel B, et al. Vitamin C inhibits endothelial cell apoptosis in congestive heart failure [J]. *Circulation*, 2001, 104(18): 2182-2187.
- [10] 刘胜强, 王东琦, 雷新军, 等. 中药脑心通对血管内皮细胞的保护作用[J]. *第四军医大学学报*, 2009, 30(9): 856-859.
- [11] 李文明, 刘洪涛, 李秀英, 等. 川芎嗪对脂多糖诱导的血管内皮细胞损伤的影响[J]. *中国药理学通报*, 2009, 25(11): 1516-1521.
- [12] Zong WX, Thompson CB. Necrotic death as a cell fate [J]. *Genes Dev*, 2006, 20(1): 1-15.
- [13] 李天富, 罗玉敏. 细胞凋亡与 Caspase 机制的调控[J]. *中国临床神经科学*, 2003(11): 313-315.
- [14] 李静, 王文, 王宗仁. 芪丹通脉片联合骨髓间充质干细胞修复损伤内皮细胞 Caspase-3、c-IP1-1 和 c-IP1-2 的表达[J]. *中医药导报*, 2007, 13(2): 9-11.
- [15] Herrera JA, Arevalo-Herrera M, Shahabuddin AK, et al. Calcium and conjugated linoleic acid reduces pregnancy-induced hypertension and decreases intracellular calcium in lymphocytes [J]. *Am J Hypertens*, 2006, 19(4): 381-387.
- [16] Leiba A, Vald A, Peleg E, et al. Does dietary recall adequately assess sodium, potassium, and calcium intake in hypertensive patients [J]. *Nutrition*, 2005, 21(4): 462-466.
- [17] 高琳琳, 李福荣, 康莉, 等. 蚤休皂苷对氧化损伤脐静脉内皮细胞内钙离子变化的影响[J]. *时珍国医国药*, 2009, 20(6): 1439-1441.
- [18] Ushio-Fukai M, Zafari AM, Fukui T, et al. p22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin II-induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(38): 23317-23321.
- [19] 郝颖, 周京敏, 王克强, 等. 通心络对血管紧张素 II 致大鼠内皮损伤的保护作用[J]. *中华中医药杂志*, 2009, 24(7): 855-858.

(收稿日期: 2011-02-21; 修回日期: 2012-06-15)

[编辑: 李 巍]