

自噬对血管功能的影响及与相关疾病的关联研究进展*

肖凌^{1, 2)} 李兰芳¹⁾ 陈临溪^{1)**}

(¹⁾ 南华大学药物药理研究所, 衡阳 421001; (²⁾ 益阳医学高等专科学校药理学系, 益阳 413000)

摘要 自噬(autophagy)是细胞利用溶酶体降解自身受损的细胞器和大分子物质的过程, 在稳定细胞内环境中发挥着重要作用. 研究发现, 自噬影响血管功能, 与血管疾病的病理生理进程密切相关. 本文从自噬对血管功能的影响, 与血管相关疾病(如动脉粥样硬化、腹主动脉瘤、肺动脉高压、糖尿病血管并发症等)的关系及药物对血管壁细胞自噬的调控进行综述, 希望从自噬的角度来了解血管的功能和病变及一些疾病的发生发展进程, 为治疗血管相关疾病提供新的思路.

关键词 自噬, 血管功能, 血管相关疾病, 药物

学科分类号 R543, Q813

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00623

自噬(autophagy)是细胞利用溶酶体降解细胞内细胞器和大分子物质的一个调节分解代谢的过程.

自噬主要分为三种类型: 巨自噬(macroautophagy), 微自噬(microautophagy), 分子伴侣介导的自噬(chaperon mediated autophagy, CMA), 其中, 研究最广泛的是巨自噬. 细胞内将通过自噬降解产生的氨基酸和其他小分子物质提供给胞浆循环利用或产生能量, 维持细胞生长、发育、内环境稳定、细胞内产物循环利用等, 是细胞在应激状态下从从属器官分配营养物质到重要器官的机制; 自噬在维持细胞生命活动过程中扮演着重要的角色, 自噬被抑制会导致细胞内有害物质堆积, 自噬过度激活则会破坏细胞内重要细胞器及必需蛋白质, 引发自噬性细胞死亡^[1]. 自噬与多种疾病的发生、发展密切相关, 如本课题组综述了自噬参与心脏疾病的调控、自噬与肺部疾病的关系^[2-3]. 现有研究发现, 自噬还可影响血管功能, 而血管功能异常与血管疾病的病理生理进程密切相关. 本文从自噬入手, 总结了自噬对血管新生、血管炎症和血管钙化等的影响. 同时介绍了自噬与一些相关血管疾病(如动脉粥样硬化、腹主动脉瘤、肺动脉高压)的关系, 为研究这些血管疾病的病理生理过程提供新的思路. 另外, 还扼要介绍了药物对血管壁细胞自噬的调控作

用, 为治疗心血管疾病提供新的理论基础和新的治疗思路.

1 自噬对血管功能的影响

1.1 血管内皮细胞自噬调控血管的发生

血管为组织传送养分, 移除废物, 因此在组织修复、机体生长与发育过程中都需要新血管生成(angiogenesis). 研究发现, 一些血管新生的内源性抑制剂可以诱导血管内皮细胞自噬, 发挥抗凋亡作用: 如血管发生的内源性抑制剂内皮抑素(endostatin)孵育内皮细胞后可增加哺乳动物自噬标记蛋白 Beclin 1 水平, 降低凋亡调控因子 Bcl-2、Bcl-xL 和 β -连环蛋白(β -catenin)水平^[4]. 另一种内源性血管发生抑制剂人纤维蛋白溶酶原 Kringle5 (K5)也能促进内皮细胞 Beclin 1 的表达, RNA 干扰 Beclin 1 的表达后能降低 K5 诱导的自噬, 但能增加 K5 诱导的凋亡^[5]. 莱菔硫烷(sulforaphane)是

* 国家自然科学基金(81270420, 30901577)资助项目和湖南省自然科学基金省市联合(衡阳)基金重点项目(12JJ8013).

** 通讯联系人.

Tel: 0734-8282614, E-mail: chenlinxi@tom.com

收稿日期: 2013-06-03, 接受日期: 2013-08-16

异硫氰酸盐的一种, 对肿瘤细胞和肿瘤血管内皮细胞有强促凋亡作用. Nishikawa 等^[6]发现, 莱菔硫烷可诱导人脐静脉内皮细胞自噬, 从而发挥促血管生成作用, 抑制自噬后, 莱菔硫烷表现出促内皮细胞凋亡效应及抗毛细血管样结构形成能力, 说明自噬可以保护细胞免受莱菔硫烷诱导的细胞凋亡, 从而促进血管生成. 单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)为一种炎症因子, 在血管生成中扮演着重要的角色. 据报道, 在人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)中, 单核细胞趋化蛋白诱导蛋白(MCP-induced protein, MCP-1)可以通过诱导氧化应激、内质网应激和自噬促进炎症性血管生成, 并且可能成为治疗血管生成紊乱性疾病的一个治疗靶标^[7]. Sachdev 等^[8]发现缺血缺氧情况下, 高迁移率族蛋白 1(high mobility group box 1, HMGB1)可诱发细胞自噬促血管发生. HMGB1 是一种高度保守的细胞核蛋白, 作为核染色质结合因子, 在 DNA 转录过程及炎症反应中发挥着重要作用. 同样, Du 等^[9]发现, 牛主动脉内皮细胞内过表达自噬相关基因 5(ATG5), 可促进活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生、蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)磷酸化, 从而促进血管发生, 给予自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)及 RNA 干扰 ATG5 抑制营养剥夺诱发的牛主动脉内皮细胞自噬时, 发现 ROS 的产生、PKB 磷酸化显著减少, 通过分析牛主动脉内皮细胞管型形成及细胞迁移发现, 血管发生减少, 提示 ROS 可作为信号分子, 促使 PKB 磷酸化, 诱发细胞自噬, 发挥血管发生的作用. Chemerin 是一种脂肪因子, 通过诱导内皮细胞自噬和 ROS 的产生, 促进血管新生^[10]. 2013 年有研究报道, 促胃液素释放肽通过抑制血管内皮细胞自噬, 促进血管内皮细胞增殖, 从而促进血管新生^[11]. UBR box N-recognin-4(UBR4)是一种 N 端识别因子家族成员, 在血管的发育中扮演着重要的角色, 可以通过降解溶酶体内蛋白质来调节组织特异性的自噬, 参与哺乳动物发育中血管的生成^[12]. 据以上研究推测, 一些内源性因子可以通过诱导自噬而发挥促血管生成, 抑制细胞凋亡的作用, 故采用自噬抑制剂与血管发生抑制剂合用, 通过双重抑制肿瘤血管发生, 诱导肿瘤细胞凋亡, 可能成为肿瘤疾病新的治疗靶点. 但另有研究报道, N-hexanoyl-D-erythro-sphingosine 是一种 C6 神经酰胺抗血管生成因子, 可以通过诱导自噬来抑制血管

内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)诱导的 HUVECs 小管的形成^[13]; 钙离子通道拮抗剂维拉帕米也可以通过增加线粒体损伤和上调自噬而发挥抗血管平滑肌细胞增殖作用^[14]. 故自噬对血管新生的作用还有待进一步研究.

1.2 自噬与血管炎症

研究发现, 血管壁细胞在自噬的过程中往往伴有炎症相关因子的释放. 如 Petrovski 等^[15]发现, 在巨噬细胞吞裹自噬性死亡细胞过程中, 伴有白介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素 8(IL-8)的产生和释放, 引发炎症反应. 在巨噬细胞吞裹发生自噬性死亡的乳腺癌 MCF-7 细胞或人肾上皮 293T 细胞后, ATP 作用于其受体, 阻断钾离子流出, 能增强脂多糖诱导的白介素 1 β (IL-1 β)产生, 激活炎症反应^[16]. Martinet 等^[17]在最近实验中发现, 通过药物手段诱导动脉粥样硬化斑块中巨噬细胞自噬性细胞死亡可触发促炎因子如 IL-6、单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、TNF- α 等释放. 另有研究发现, 在 *atg16L1* 或者 *atg7* 基因缺乏的巨噬细胞中, 给予脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激后, 能增加一些促炎性细胞因子如 IL-1 β 和 IL-18 的分泌, 却不影响 TNF 和 IFN- β 的产生^[18]. 在缺乏 Beclin-1 和 LC3B 的单核细胞和巨噬细胞中, 也可观察到 IL-1 β 和 IL-18 激活的增加, 且其过程与 NOD 样受体(NOD-like receptor, NLR)家族的 NLRP3 炎症复合物途径有关^[19], 其机制主要是通过自噬增加线粒体内 ROS 的产生和增加线粒体膜通透性来维持线粒体稳态, 从而促进 NLRP3 炎症复合物途径的激活^[20]. 这些结果提示自噬过程与炎症反应有关. 自噬激活伴随有炎症因子的释放, 这些炎症因子可能触发粥样斑块中平滑肌细胞死亡, 诱发白细胞炎症浸润, 从而参与动脉粥样硬化疾病的进展.

1.3 自噬与血管钙化

血管钙化(vascular calcification)是高血压、动脉粥样硬化、糖尿病血管病变、慢性肾病、血管损伤、衰老等疾病中普遍存在的病理表现, 主要表现为在相关基因调控下, 骨特异性羟基磷灰石(hydroxyapatite)晶体主动沉积在血管壁, 血管壁顺应性降低. 研究发现氧化低密度脂蛋白(oxidized low densitylipoprotein, ox-LDL)在促血管钙化、上调血管平滑肌细胞成骨分化转录因子如 *cbfa1* 表达的同时, 还能上调自噬调节基因 Beclin 1 的表达, 而用自噬抑制剂 3-MA 后能减轻 ox-LDL 诱导的细

胞钙化,同时下调 *cbfa1* 的表达,实验者认为 ox-LDL 很可能通过上调 *Beclin 1* 基因表达,促使平滑肌细胞发生自噬性细胞死亡,最终导致血管钙化^[21].另有研究报道,磷酸盐诱导的血管平滑肌细胞钙化模型中,自噬的抑制剂丙戊酸可以减少血管钙化,且自噬抑制剂 3-MA 能够促进磷酸盐诱导的基质小泡的释放,这些结果提示自噬很有可能作为一种内源性保护机制,通过减少基质小泡的释放而拮抗磷酸盐所致的血管钙化^[22].

2 自噬在血管疾病中的作用

2.1 自噬和动脉粥样硬化

2.1.1 血管内皮细胞自噬对动脉粥样硬化的影响.

在氧化应激下,基础自噬保护粥样斑块细胞,促进细胞生存.如 Wang 等^[23]发现,2-脱氧-D-葡萄糖(2-deoxy-D-glucose, 2-DG)在内皮细胞上可通过活性氧/腺苷酸活化蛋白激酶(ROS/AMPK)途径触发自噬,增加内皮细胞在应激状态下的生存能力.而与基础自噬相对应,内皮细胞自噬过度激活会导致细胞自噬性死亡,且伴随有促炎因子的释放,以致加剧动脉粥样硬化疾病进程.如有研究报道,氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)可以诱发内皮细胞发生自噬,促进内皮细胞凋亡,从而促进粥样硬化斑块破裂.低密度脂蛋白(low densitylipoprotein, LDL)主要在血管壁的内皮下层被氧化,被血管内皮细胞摄取,形成氧化低密度脂蛋白,可导致脂质蓄积,促炎症反应,促进粥样硬化斑块破裂.Zhang 等^[24]发现,在 EA.hy926 内皮细胞中 ox-LDL 能诱导自噬体和自噬溶酶体形成增加,给予自噬抑制剂 3-MA 可以阻断 ox-LDL 诱导的自噬,自噬诱导剂雷帕霉素(rapamycin)则可以促进 ox-LDL 诱导的自噬.但 Muller 等^[25]发现,高浓度或持续的 ox-LDL 除触发自噬标记蛋白 LC3- II 和 *Beclin 1* 的表达外,还能上调胞浆内钙离子浓度,诱导内质网应激(endoplasmic reticulum stress),活化促凋亡介质 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun NH₂-terminal kinase, JNK)和 C/EBP 同源蛋白(C/EBP homology protein, CHOP),从而诱发内皮细胞凋亡,内皮细胞死亡对斑块的结构不利,容易引起斑块的破裂,导致血栓发生,这是急性冠脉综合征的主要原因.吸食香烟是早期动脉粥样硬化的危险因子,然而,研究发现香烟所致内皮细胞死亡并不具备显著的凋亡或坏死特征.Csordas 等^[26]发现过表达凋亡抑制基因 *Bcl-xL* 对香烟提取物(cigarette smoke extract, CSE)

诱导的细胞死亡没有保护性作用,而自噬抑制剂 3-MA 及敲除自噬相关基因 5(ATG5)却可以显著减少细胞死亡.进一步研究发现, CSE 诱导内质网应激后出现未折叠蛋白的过度聚集,触发随后的未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR),活化自噬,最终导致内皮细胞坏死,从而引起血管内皮细胞功能损害,引发动脉粥样硬化.

2.1.2 血管平滑肌细胞自噬对动脉粥样斑块的影响.

在动脉粥样硬化过程中,除了内皮细胞外,血管平滑肌细胞也发挥着重要的作用.如血管壁受损,这种损伤刺激会打破血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)增殖和凋亡平衡,促使 VSMCs 由收缩表型向合成表型转变,合成型的 VSMCs 增殖并移向内膜,吞噬脂质,形成泡沫细胞,同时,释放生长因子、细胞因子及大量细胞外基质,促使血管内膜增厚,形成动脉粥样硬化斑块纤维帽.粥样斑块纤维帽的形成对维持斑块结构完整、防止斑块破裂及继发血栓形成起重要作用,如果斑块内平滑肌细胞凋亡,纤维帽变薄弱,则容易导致斑块破裂,引发急性冠脉综合征.由上可见,血管平滑肌细胞在动脉粥样硬化各个时期均有重要作用,在动脉粥样硬化早期抑制 VSMCs 增殖可抑制粥样斑块形成,粥样斑块晚期抑制 VSMCs 凋亡则有利于斑块稳定.2006 年, Jia 等^[27-28]发现,在动脉粥样硬化斑块区,由 VSMCs 和细胞外基质(extracellular matrixc, ECM)组成的纤维帽中, VSMCs 的生存和死亡平衡与斑块的稳定性密切相关,低浓度(10~40 mg/L)的 ox-LDL 可以诱导血管平滑肌细胞中自噬性标志蛋白 *beclin-1*、LC3- II / LC3- I、*Atg5* 和凋亡标志性蛋白 *caspase-3*、*Bax*、*Bcl-2*、*Bcl-xL* 的表达.但是高浓度(≥ 60 mg/L)的 ox-LDL 虽然也可促进凋亡,但却降低自噬水平,用 miRNA *hsa-let-7g* 抑制自噬后,可以抑制 ox-LDL 诱导的细胞凋亡、LOX-1 的表达和 ROS 的产生,提示自噬参与了动脉粥样硬化过程中血管平滑肌细胞的凋亡和 ROS 产生途径^[29].本实验室发现, NADPH 氧化酶 4(NADPH oxidase 4, Nox4)来源的活性氧能介导 *apelin-13* 促大鼠血管平滑肌细胞增殖^[30-31],而 Nox4 来源活性氧还可作为第二信使参与细胞内质网应激,调控细胞自噬,促细胞生成^[32]. Hill 等^[33]发现,在疾病或衰老组织中氧化应激下氧化脂来源的乙醛修饰蛋白出现堆积现象,而一些脂质过氧化产物如 4-羟基壬烯醛(4-hydroxynonenal, 4-HNE)及丙烯醛(acrolein)能诱

导大鼠动脉平滑肌细胞自噬, 移除乙醛修饰蛋白, 可促进血管平滑肌细胞生存. 血小板源性生长因子 (PDGF) 可以通过诱导血管平滑肌细胞自噬来减少收缩性表型标志蛋白 calponin 和 α -smooth muscle actin 的表达, 上调成型表型标志蛋白 osteopontin 和 vimentin 的表达, 从而防止血管平滑肌细胞的过度增殖和迁移, 保护血管平滑肌免受一些刺激如氧化应激等引起的损伤^[34]. Xu 等^[35]发现, 血管平滑肌细胞孵育过量游离胆固醇 (free cholesterol, FC) 后, 可能诱导细胞自噬活化, 而自噬通过降解损伤的细胞器如线粒体和内质网, 作为细胞的防御机制, 可能在游离胆固醇超负荷诱导的平滑肌细胞死亡中发挥保护性作用.

2.1.3 巨噬细胞自噬对胆固醇流出的影响. 动脉粥样硬化形成的一个主要的原因是脂质沉积, 而调节胆固醇的转运与流出是治疗动脉粥样硬化的一个重要途径. 脂质代谢和自噬之间具有很多相似的调节因子, 且有研究报道, 自噬参与脂质的平衡与代谢及胆固醇的流出等过程^[36], 巨噬细胞源性泡沫细胞能通过诱导自噬, 以溶酶体依赖方式促胆固醇逆转运. 脂滴是巨噬细胞源性泡沫细胞中胆固醇的主要储存部位, 以胆固醇脂形式储存的胆固醇从细胞器释放, 传送到胆固醇受体. Ouimet 等^[37]发现, 在胆固醇超负荷巨噬细胞中溶酶体在脂滴胆固醇水解中发挥重要作用, 脂滴可通过自噬被转运入溶酶体, 被溶酶体酸性脂肪酶水解, 生成游离胆固醇, 通过三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 依赖途径流出. Wip1 在脂肪沉积和动脉粥样斑块的调控中扮演着重要的角色, 在动脉粥样硬化的过程中, Wip1 缺乏, 可以抑制巨噬细胞向泡沫细胞转化, 预防斑块的形成. 研究发现, Wip1 通过 Atm-mTOR 信号通路参与自噬对胆固醇流出的调节^[38], 从而调控粥样斑块的稳定(图 1).

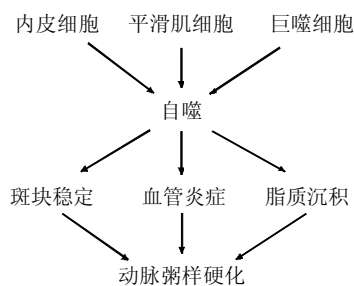


Fig. 1 Autophagy involved in the process of atherosclerosis

图 1 自噬参与动脉粥样硬化发展示意图

2.2 自噬和腹主动脉瘤

腹主动脉瘤(abdominal aortic aneurysm, AAA) 是以腹主动脉局限性扩张为主的血管疾病, 发病机制尚未明确, 多见于 65 岁以上老年人, 死亡率较高. 骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是细胞外基质中一种重要的具有促炎症效应的蛋白, 与腹主动脉瘤的进展相关. 研究发现, 在腹主动脉瘤中层组织中, 骨桥蛋白基因表达增加, 自噬相关蛋白 LC3 和自噬相关基因 ATG4b、Beclin1/ATG6 的表达也明显增高. 同时, 骨桥蛋白处理血管平滑肌细胞后, 能显著增加细胞自噬体的形成、自噬相关基因的表达, 导致细胞死亡, 而抑制整联蛋白 /CD44 及 p38MAPK 信号通路可显著降低骨桥蛋白在平滑肌细胞上的生物学效应. 使用骨桥蛋白抗体也能阻断此通路, 从而显著抑制其诱导的细胞自噬和细胞死亡. 因此, 作者认为骨桥蛋白可能通过整联蛋白 /CD44 及 p38MAPK 通路刺激血管平滑肌细胞自噬^[39].

2.3 自噬和肺动脉高压

肺动脉高压(pulmonary hypertension)表现为肺循环压力增加, 常导致进行性右心功能衰竭, 其血管改变的细胞分子机制尚不清楚. 研究^[40]发现, 与正常组织相比, 肺动脉高压患者及慢性缺氧小鼠肺组织中 LC3B 生成增加, 调控 LC3B 生成的核转录因子 Egr-1 表达增加. LC3B(-/-)或 Egr-1(-/-)小鼠在缺氧状态下肺动脉高压症状明显加剧. 缺氧状态下敲除人肺动脉内皮细胞及平滑肌细胞 LC3B 后, 细胞活性氧产生增加, 缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)稳定表达, 细胞增殖增加^[41], 说明缺氧性肺动脉高压疾病中血管细胞可诱导自噬, 抑制缺氧性细胞增殖, 在缺氧性血管重构及肺动脉高压的病理过程中发挥保护性作用. 同时有研究报道, 17 β -estradiol(E2)可以通过诱发自噬, 调节缺氧的抗增殖作用, 而保护缺氧所引起的肺动脉高压^[42]. 肺动脉血管平滑肌细胞的过度增殖与凋亡抑制是肺动脉高压发生的另一重要特征. 另有研究发现, 在野百合碱(monocrotaline)诱导的大鼠肺动脉高压肺组织中, 伴随有自噬相关蛋白 LC3B- II、ATG5 和 p62 的表达增加, 氯喹和羟化氯喹通过直接抑制自噬来抑制肺动脉血管平滑肌细胞增殖、促进凋亡, 发挥抗肺动脉高压的作用^[43]. 在持续性肺动脉高压内皮细胞(PPHN-PAEC)中, 自噬可以通过增加 NOX 的活性而促进血管新生^[44]. Yang 等^[45]综合了自噬对肺动脉血管平滑肌细胞和内皮细胞的增

殖和凋亡的影响,发现自噬可以调节肺动脉高压中血管平滑肌细胞和内皮细胞的平衡,从而成为治疗肺动脉高压的一个重要靶标。

2.4 自噬和糖尿病血管并发症

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种严重威胁人类健康的疾病,其中,90%以上为2型糖尿病,其主要并发症包括大血管病变如动脉粥样硬化,常导致冠心病、缺血性或出血性脑血管病、肾动脉硬化、肢体动脉硬化等,微血管病变如糖尿病肾病、糖尿病视网膜病变和糖尿病心肌病。慢性高血糖环境下,体内蛋白质等游离氨基与还原糖的醛基经非酶促糖基化反应,生成晚期糖基化终末产物(advanced glycation endproducts, AGEs),AGEs能破坏血管细胞和细胞外基质,直接影响血管壁和基底膜的完整性,还能与细胞膜上的晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)特异性结合,激活氧化应激,促发炎症反应,在糖尿病大血管病变、微血管病变并发症的发生发展中起着重要作用^[46]。研究发现,晚期糖基化终末产物-修饰牛血清蛋白(advanced glycation endproducts -modified bovine serum albumin, AGE-BSA)预孵育人脐静脉内皮细胞(human umbilical vascular endothelial cells, HUVECs)后,自噬活性增加,而使用自噬抑制剂3-MA后加剧了AGE-BSA对内皮细胞的损害,氧化抑制剂 α -维生素E不但抑制了AGE-BSA所诱导的活性氧簇,而且上调了细胞自噬标记蛋白LC3-II水平,证实AGE-BSA能通过产生活性氧诱发自噬,对HUVECs发挥保护性作用。在糖尿病患者体内,观察到糖酵解代谢产物丙酮醛(methylglyoxal, MGO)出现异常增加的现象,MGO可以通过诱导血管内皮细胞和血管平滑肌细胞自噬,减少内皮生长因子2受体(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)的表达,参与糖尿病引起的血管生成障碍^[47]。有趣的是,有实验发现薯蓣属根状茎提取物中的Dispo85E恰能通过诱发细胞自噬,促进AGEs降解。Dispo85E是一种肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)诱导剂,能增强糖尿病小鼠体内肝脏HGF信使RNA水平,降低血浆AGEs水平;在AGEs诱导的糖尿病小鼠模型中,给予Dispo85E后能提高小鼠视网膜功能和肾功能;同时,Dispo85E通过增强HGF水平表达,诱发自噬,能促进小鼠肝非实质细胞(nonparenchymal cells, NPCs)中AGEs的清除与降

解^[48](图2)。

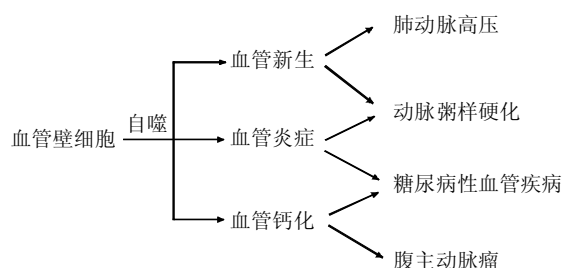


Fig. 2 Autophagy regulated the function of vessel and involved in the vascular disease

图2 自噬调节血管功能及参与血管相关疾病的发展示意图

3 药物对血管壁细胞自噬的调控

自噬对血管的功能及一些相关疾病的调节具有重要作用,并且目前研究发现一些药物具有调节血管壁细胞自噬的作用。

3.1 姜黄素

最近, Han 等^[49]发现预孵育姜黄素(curcumin)能诱导人脐静脉内皮细胞自噬,显著增加过氧化氢处理人脐静脉内皮细胞的生存能力。预孵育姜黄素的内皮细胞在暴露于过氧化氢后,LC3-II水平上调,自噬溶酶体数目增加。进一步研究发现,在氧化应激下,姜黄素能使胞浆中肿瘤抑制因子FOXO1成为活化的乙酰化FOXO1,逆转FOXO1细胞核内定位,活化状态的FOXO1与自噬相关基因7(ATG7)结合,激发细胞自噬过程。用RNA干扰FOXO1的表达,既能抑制姜黄素的保护作用,也能抑制自噬过程。故姜黄素通过活化FOXO1诱导自噬,发挥抗氧化应激,保护血管内皮细胞的作用,有望成为氧化应激相关心血管疾病的潜在治疗药物。

3.2 维拉帕米立体异构体

钙通道阻滞剂(calcium channel blockers, CCB)在高血压和血管限制性再狭窄治疗中有重要作用,此外还能产生抗增殖效应。Salabei 等^[44]发现,在培养的大鼠血管平滑肌细胞中选用无钙通道阻滞活性的维拉帕米立体异构体(verapamil stereoisomers)后,在透射电镜下细胞核周围可见空泡聚集,类似于自噬体和溶酶体,免疫印迹发现LC3-II呈浓度依赖性增加,细胞核周围LC3-GFP自噬标记物增加,证实自噬活性增加,且细胞核周围线粒体密度降

低, 在血管平滑肌细胞中维拉帕米异构体不具有钙通道阻滞活性, 但能通过破坏线粒体、上调自噬发挥抗增殖效应。

3.3 阿托伐他汀

他汀类药物作为一种降胆固醇脂药物在高血压及动脉粥样硬化等治疗中扮演着重要的角色, 已有研究报道, 他汀类药物可以诱导肿瘤细胞自噬, 如阿托伐他汀可以通过激活 LC3 的转录来促进人前列腺癌 PC3 细胞自噬^[50]。近年来, 有研究发现阿托伐他汀还可以通过抑制血管内皮细胞自噬而改善血管内皮功能, 发挥对血管的保护功能。张圣雪等^[51]研究发现, 在饥饿诱导自噬后给予阿托伐他汀刺激大鼠血管内皮细胞, 大鼠血管内皮细胞自噬受到抑制, 而在饥饿诱导前给予阿托伐他汀刺激, 则其抑制自噬的作用减弱。我们推断阿托伐他汀很可能成为一种通过抑制自噬而参与治疗某些刺激引起的心血管损伤的药物。

3.4 依维莫司

依维莫司(everolimus)是一种哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂, 使用含依维莫司药物支架是冠心病患者常用的治疗措施。2007年, Martinet 等^[52]发现依维莫司可以选择性诱导巨噬细胞长寿蛋白降解、LC3 募集、胞浆内空泡形成, 引发细胞死亡。但是依维莫司仅可诱导巨噬细胞出现自噬性死亡, 而对平滑肌细胞自噬和凋亡没有影响, 故依维莫司可清除粥样斑块中的巨噬细胞, 维持斑块纤维帽的稳定, 从而有效减少动脉粥样硬化患者急性冠脉综合征发生及猝死的危险。进一步研究发现, 依维莫司孵育巨噬细胞诱发细胞自噬过程中, 通过活化 p38MAPK 信号通路, 可引起促炎症细胞因子(如 IL-6, TNF α)及趋化因子(如 MCP-1)的释放, 而用 p38MAPK 抑制剂 SB202190 或糖皮质激素氯倍他索(clobetasol)孵育巨噬细胞可抑制这些因子的释放, 联合使用依维莫司药物洗脱支架及氯倍他索后兔动脉粥样斑块中 TNF α 表达减少, 且不影响依维莫司对巨噬细胞的清除作用^[7]。这些结论为临床使用依维莫司洗脱药物支架时应联合使用抗炎药物如糖皮质激素提供了理论依据。

3.5 17 β -雌二醇(E2)

17 β -雌二醇(17beta-estradiol, E2)对缺氧性肺血管收缩及缺氧性肺动脉高压(hypoxia-induced pulmonary hypertension, HPH)具有保护作用。Lahm 等^[42]发现, E2 能抑制缺氧性肺血管重构及右心室重构, 给予 E2 受体拮抗剂后, 可消除 E2 对

缺氧动物肺循环血流动力学的保护作用, 而给予 E2 代谢转化酶抑制剂则无此作用, 说明 E2 保护 HPH 作用并不依赖于其代谢产物甲氧雌二醇或儿茶酚雌二醇。HPH 大鼠给予 E2 后, 肺及右心室中 ERK1/2 活性降低, 细胞周期抑制因子 p27^{Kip1} 表达增加, 自噬增加; 同样, 在缺氧性肺动脉内皮细胞中, E2 可抑制 MAPK/ERK 促增殖信号通路活化, 增加自噬标记物 LC3-II 表达, 减少血管内皮细胞生长因子释放, 抑制细胞增殖。作者认为 E2 可通过 E2 受体依赖性方式刺激肺动脉内皮细胞自噬, 抑制血管细胞增殖, 减少血管重构, 可能为肺动脉高压症治疗提供一种新型的治疗方式。

3.6 表没食子儿茶素没食子酸酯

表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)是绿茶的有效成分, 对心血管疾病有预防作用。Kim 等^[53]发现, EGCG 能通过活化钙调蛋白依赖性蛋白激酶 β , 增加牛主动脉内皮细胞(bovine aortic endothelial cells, BAEC)中 LC3-II 和自噬体的生成。通过脂肪滴和自噬溶酶体共定位发现 EGCG 能显著减少棕榈酸酯所致的脂肪滴堆积, 阻断自噬降解过程则能削弱这一作用, 提示 EGCG 通过有益的自噬潮调节异常脂肪滴堆积, 可能为预防心血管疾病提供潜在治疗靶点。

4 结 语

血管是机体物质运输的纽带, 承载着机体各个器官和组织的营养供应与废物排泄。血管在一些因子或压力负荷等刺激下会发生损伤, 从而引发一些心血管疾病。血管壁细胞是构成血管的基础, 其正常活性直接影响着血管的功能。细胞自噬是细胞自我调节、维持细胞稳定的一个重要的途径, 故血管壁细胞自噬对血管功能及一些相关疾病的调节具有重要作用。本文综述了自噬影响血管的新生和钙化以及血管炎症反应的发生, 探讨了自噬对一些血管相关疾病病理生理学的影响, 为血管相关疾病发生发展的研究提供了新的理论基础, 同时探讨了一些药物对血管壁细胞自噬的调节, 为血管疾病的治疗提供新的思路。但是自噬对血管功能的研究目前还处于初步阶段, 如自噬对血管内皮细胞合成与释放各种细胞因子、血细胞自噬与血细胞功能的关系、自噬对血管通透性的改变、血管重构的影响等尚未见报道, 且多数实验主要是从细胞水平研究自噬对血管壁细胞的影响, 而自噬在整体水平对血管组织的病理形态学变化、血流动力学影响、血管疾病的

转归等报道较少。自噬可看作是细胞对外界环境刺激做出的反应, 如果应激温和, 则通过激活自噬这种适应性反应促细胞生存, 而如果细胞应激过强或持续时间过长, 过度的自噬会导致自噬性细胞死亡。所以在自噬对血管疾病的调控中, 怎样适度地诱导自噬以在不利环境下促细胞修复, 保护细胞, 而不会对细胞产生有害作用, 显得尤为重要。自噬机制的发现为一些血管疾病发病机制、临床常用药物作用机制的解释提供了新的理论依据, 继续深入研究自噬对血管功能、血管疾病的作用机理, 有望为治疗血管疾病提供更多有效的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell*, 2011, **147**(4): 728-741
- [2] 谢 凤, 柳 威, 陈临溪. 自噬参与心脏疾病调控的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2012, **39**(3): 224-233
Xie F, Liu W, Chen L X. *Prog Biochem Biophys*, 2012, **39**(3): 224-233
- [3] 杨 莉, 肖 凌, 陈临溪. 自噬与肺部疾病研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2012, **39**(9): 861-868
Yang L, Xiao L, Chen L X. *Prog Biochem Biophys*, 2012, **39**(9): 861-868
- [4] Nguyen T M, Subramanian I V, Xiao X, *et al.* Endostatin induces autophagy in endothelial cells by modulating Beclin 1 and beta-catenin levels. *J Cell Mol Med*, 2009, **13**(9B): 3687-3698
- [5] Nguyen T M, Subramanian I V, Kelekar A, *et al.* Kringle 5 of human plasminogen, an angiogenesis inhibitor, induces both autophagy and apoptotic death in endothelial cells. *Blood*, 2007, **109**(11): 4793-4802
- [6] Nishikawa T, Tsuno N H, Okaji Y, *et al.* The inhibition of autophagy potentiates anti-angiogenic effects of sulforaphane by inducing apoptosis. *Angiogenesis*, 2010, **13**(3): 227-238
- [7] Roy A, Kolattukudy P E. Monocyte chemotactic protein-induced protein (MCP-1) promotes inflammatory angiogenesis *via* sequential induction of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and autophagy. *Cellular Signalling*, 2012, **24**(11): 2123-2131
- [8] Sachdev U, Cui X, Hong G, *et al.* High mobility group box 1 promotes endothelial cell angiogenic behavior *in vitro* and improves muscle perfusion *in vivo* in response to ischemic injury. *J Vasc Surg*, 2012, **55**(1): 180-191
- [9] Du J, Teng R J, Guan T, *et al.* Role of autophagy in angiogenesis in aortic endothelial cells. *American journal of physiology. Cell Physiology*, 2012, **302**(2): C383-391
- [10] Shen W, Tian C, Chen H, *et al.* Oxidative stress mediates chemerin-induced autophagy in endothelial cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 2013, **55**: 73-82
- [11] Kim K W, Paul P, Qiao J, *et al.* Autophagy mediates paracrine regulation of vascular endothelial cells. *Laboratory Investigation; A J Technical Methods and Pathology*, 2013, **93**(6): 639-645
- [12] Tasaki T, Kim S T, Zakrzewska A, *et al.* UBR box N-recogin-4 (UBR4), an N-recogin of the N-end rule pathway, and its role in yolk sac vascular development and autophagy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(10): 3800-3805
- [13] Bansode R R, Ahmedna M, Svoboda K R, *et al.* Coupling *in vitro* and *in vivo* paradigm reveals a dose dependent inhibition of angiogenesis followed by initiation of autophagy by C6-ceramide. *Int J Biol Sci*, 2011, **7**(5): 629-644
- [14] Salabei J K, Balakumaran A, Frey J C, *et al.* Verapamil stereoisomers induce antiproliferative effects in vascular smooth muscle cells *via* autophagy. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2012, **262**(3): 265-272
- [15] Petrovski G, Zahuczky G, Majai G, *et al.* Phagocytosis of cells dying through autophagy evokes a pro-inflammatory response in macrophages. *Autophagy*, 2007, **3**(5): 509-511
- [16] Petrovski G, Ayna G, Majai G, *et al.* Phagocytosis of cells dying through autophagy induces inflammasome activation and IL-1beta release in human macrophages. *Autophagy*, 2011, **7**(3): 321-330
- [17] Martinet W, Verheye S, De Meyer I, *et al.* Everolimus triggers cytokine release by macrophages: rationale for stents eluting everolimus and a glucocorticoid. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, **32**(5): 1228-1235
- [18] Saitoh T, Fujita N, Jang M H, *et al.* Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1beta production. *Nature*, 2008, **456**(7219): 264-268
- [19] Nakahira K, Haspel J A, Rathinam V A, *et al.* Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nature Immunology*, 2011, **12**(3): 222-230
- [20] Zhou R, Yazdi A S, Menu P, *et al.* A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*, 2011, **469**(7329): 221-225
- [21] 陆立鹤, 颜建云, 于汇民, 等. 自噬参与氧化性低密度脂蛋白诱导的血管平滑肌细胞钙化. *中山大学学报(医学科学版)*, 2010, **31**(6): 772-775
Lu L H, Yan J Y, Yu H M, *et al.* *Journal of Sun Yat-sen University (Medical Sciences)*, 2010, **31**(6): 772-775
- [22] Dai X Y, Zhao M M, Cai Y, *et al.* Phosphate-induced autophagy counteracts vascular calcification by reducing matrix vesicle release. *Kidney International*, 2013, **83**(6): 1042-1051
- [23] Wang Q, Liang B, Shirwany N A, *et al.* 2-Deoxy-D-glucose treatment of endothelial cells induces autophagy by reactive oxygen species-mediated activation of the AMP-activated protein kinase. *PloS One*, 2011, **6**(2): e17234
- [24] Zhang Y L, Cao Y J, Zhang X, *et al.* The autophagy-lysosome pathway: a novel mechanism involved in the processing of oxidized LDL in human vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **394**(2): 377-382
- [25] Muller C, Salvayre R, Negre-Salvayre A, *et al.* HDLs inhibit endoplasmic reticulum stress and autophagic response induced by oxidized LDLs. *Cell Death and Differentiation*, 2011, **18**(5): 817-828

- [26] Csordas A, Kreutmayer S, Ploner C, *et al.* Cigarette smoke extract induces prolonged endoplasmic reticulum stress and autophagic cell death in human umbilical vein endothelial cells. *Cardiovascular Research*, 2011, **92**(1): 141–148
- [27] Jia G, Cheng G, Gangahar D M, *et al.* Insulin-like growth factor-1 and TNF-alpha regulate autophagy through c-jun N-terminal kinase and Akt pathways in human atherosclerotic vascular smooth cells. *Immunology and Cell Biology*, 2006, **84**(5): 448–454
- [28] Jia G, Cheng G, Agrawal D K. Autophagy of vascular smooth muscle cells in atherosclerotic lesions. *Autophagy*, 2007, **3**(1): 63–64
- [29] Ding Z, Wang X, Schnackenberg L, *et al.* Regulation of autophagy and apoptosis in response to ox-LDL in vascular smooth muscle cells, and the modulatory effects of the microRNA hsa-let-7g. *International Journal of Cardiology*, 2013, **168**(2): 1378–1385
- [30] Li L, Li F, Li F, *et al.* NOX4-derived reactive oxygen species drive apelin-13-induced vascular smooth muscle cell proliferation *via* the ERK pathway. *Int J Pept Res Ther*, 2011, **17**(4): 307–315
- [31] Lv D, Li H, Chen L. Apelin and APJ, a novel critical factor and therapeutic target for atherosclerosis. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2013, **45**(7): 527–533
- [32] Yorimitsu T, Nair U, Yang Z, *et al.* Endoplasmic reticulum stress triggers autophagy. *J Biol Chem*, 2006, **281**(40): 30299–30304
- [33] Hill B G, Haberkettl P, Ahmed Y, *et al.* Unsaturated lipid peroxidation-derived aldehydes activate autophagy in vascular smooth-muscle cells. *The Biochemical Journal*, 2008, **410** (3): 525–534
- [34] Salabei J K, Cummins T D, Singh M, *et al.* PDGF-mediated autophagy regulates vascular smooth muscle cell phenotype and resistance to oxidative stress. *The Biochemical Journal*, 2013, **451**(3): 375–388
- [35] Xu K, Yang Y, Yan M, *et al.* Autophagy plays a protective role in free cholesterol overload-induced death of smooth muscle cells. *J Lipid Res*, 2010, **51**(9): 2581–2590
- [36] Christian P, Sacco J, Adeli K. Autophagy: Emerging roles in lipid homeostasis and metabolic control. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013, **1831**(4): 819–824
- [37] Ouimet M, Franklin V, Mak E, *et al.* Autophagy regulates cholesterol efflux from macrophage foam cells *via* lysosomal acid lipase. *Cell Metabolism*, 2011, **13**(6): 655–667
- [38] Le Guezennec X, Brichkina A, Huang Y F, *et al.* Wip1-dependent regulation of autophagy, obesity, and atherosclerosis. *Cell Metab*, 2012, **16**(1): 68–80
- [39] Zheng Y H, Tian C, Meng Y, *et al.* Osteopontin stimulates autophagy *via* integrin/CD44 and p38 MAPK signaling pathways in vascular smooth muscle cells. *J Cell Physiol*, 2012, **227**(1): 127–135
- [40] Lahm T, P I. LC3 as a potential therapeutic target in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Autophagy*, 2012, **8**(7): 1146–1147
- [41] Lee S J, Smith A, Guo L, *et al.* Autophagic protein LC3B confers resistance against hypoxia-induced pulmonary hypertension. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2011, **183**(5): 649–658
- [42] Lahm T, Albrecht M, Fisher A J, *et al.* 17beta-Estradiol attenuates hypoxic pulmonary hypertension *via* estrogen receptor-mediated effects. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2012, **185**(9): 965–980
- [43] Long L, Yang X, Southwood M, *et al.* Chloroquine prevents progression of experimental pulmonary hypertension *via* inhibition of autophagy and lysosomal bone morphogenetic protein type II receptor degradation. *Circulation Research*, 2013, **112** (8): 1159–1170
- [44] Teng R J, D J, Welak S, *et al.* Cross talk between NADPH oxidase and autophagy in pulmonary artery endothelial cells with intrauterine persistent pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, **302**(7): L651–663
- [45] Yang J, Choi A M. Cross talk between autophagy and apoptosis in pulmonary hypertension. *Pulmonary Circulation*, 2012, **2**(4): 407–414
- [46] Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, *et al.* Receptor for advanced glycation end products (RAGE): a novel therapeutic target for diabetic vascular complication. *Curr Pharm Des*, 2008, **14** (5): 487–495
- [47] Liu H, Yu S, Zhang H, *et al.* Angiogenesis impairment in diabetes: role of methylglyoxal-induced receptor for advanced glycation endproducts, autophagy and vascular endothelial growth factor receptor 2. *PloS One*, 2012, **7**(10): e46720
- [48] Peng K Y, Horng L Y, Sung H C, *et al.* Hepatocyte growth factor has a role in the amelioration of diabetic vascular complications *via* autophagic clearance of advanced glycation end products: Dispo85E, an HGF inducer, as a potential botanical drug. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 2011, **60**(6): 888–892
- [49] Han J, Pan X Y, Xu Y, *et al.* Curcumin induces autophagy to protect vascular endothelial cell survival from oxidative stress damage. *Autophagy*, 2012, **8**(5): 812–825
- [50] Toepfer N, Childress C, Parikh A, *et al.* Atorvastatin induces autophagy in prostate cancer PC3 cells through activation of LC3 transcription. *Cancer Biology & Therapy*, 2011, **12**(8): 691–699
- [51] 张圣雪, 邱龄, 肖传实, 等. 阿托伐他汀对血管内皮细胞自噬作用中 Beclin-1 和 Map1lc3 基因 mRNA 表达的影响. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2009, **7**(6): 696–698
- Zhang S X, Qiu L, Xiao C S, *et al.* *Chinese Journal of Integrative Medicine on Cardio-/Cerebrovascular Disease*, 2009, **7** (6): 696–698
- [52] Martinet W, Verheye S, De Meyer G R. Everolimus-induced mTOR inhibition selectively depletes macrophages in atherosclerotic plaques by autophagy. *Autophagy*, 2007, **3**(3): 241–244
- [53] Kim H S, Montana V, Jang H J, *et al.* Epigallocatechin gallate (EGCG) stimulates autophagy in vascular endothelial cells: a potential role for reducing lipid accumulation. *J Biol Chem*, 2013, **288**(31): 22693–22705

Progress on The Autophagy in Vessel Function and Related Diseases*

XIAO Ling^{1,2}, LI Lan-Fang¹, CHEN Lin-Xi¹**

⁽¹⁾ *Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China, Hengyang 421001, China;*

⁽²⁾ *Department of Pharmacy, YiYang Medical College, Yiyang 413000, China)*

Abstract Autophagy which is a process that damaged organelles and cellular proteins are degraded by lysosomes plays a critical role in cellular homeostasis. Previous studies have demonstrated that autophagy influenced the vascular function, even involved in the pathophysiology of vascular diseases. In this review we focus on the effect of autophagy on the vascular function and vascular diseases such as atherosclerosis, abdominal aortic aneurysm, pulmonary hypertension and diabetes mellitus. Moreover, we try to provide a new way of vascular diseases treatment from the point of autophagy.

Key words autophagy, vascular function, vascular diseases, drug

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2012.00623

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China(81270420, 30901577) and Heng Yang Joint Funds of Hunan Provincial Natural Science Foundation of China (12JJ8013).

**Corresponding author.

Tel: 86-734-8282614, E-mail: chenlinxi@tom.com

Received: June 3, 2013 Accepted: August 16, 2013