

血管平滑肌细胞凋亡与动脉粥样硬化及其中药防治

荆涛¹综述, 王绿娅², 王伟¹审校

(1. 北京中医药大学东直门医院内科重点实验室, 北京市 100700; 2. 北京市心肺血管疾病研究所, 北京市 100029)

[关键词] 中药学; 中药对血管平滑肌细胞凋亡与动脉粥样硬化的防治作用; 综述; 细胞凋亡; 动脉粥样硬化

[摘要] 细胞凋亡在动脉粥样硬化形成的发病和治疗中具有重要意义。随着对动脉粥样硬化研究的深入, 发现血管平滑肌细胞增生是其中重要因素。本文着重论述血管平滑肌细胞凋亡在动脉粥样硬化疾病中的作用, 以及目前应用中药单体及中药复方调节血管平滑肌细胞凋亡的研究进展, 同时对中医药防治动脉粥样硬化的前景进行展望。

[中图分类号] R28

[文献标识码] A

细胞凋亡 (apoptosis) 是指细胞基因调控的一种自主性自杀现象, 是在一定的生理或病理条件下, 遵循自身的程序, 自我结束生命的死亡方式。细胞凋亡和细胞分化一样, 是普遍存在的一种生物现象, 是贯穿于机体整个生命活动过程的基本生理机制, 它调节着机体细胞增殖与更新间的平衡, 维持组织器官正常生理功能及细胞数量的稳定。动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 病变中, 血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 异常增殖是血管壁增厚的主要原因。

1 动脉粥样硬化中血管平滑肌细胞凋亡

血管平滑肌细胞过度增殖是 As 形成的重要步骤, 它与两种因素有关: 增殖和 (或) 凋亡率下降。最近发现在正常血管和 As 各个阶段的 VSMC 都存在细胞凋亡^[1]。但在正常血管和早期 As 的 VSMC 中仅有极少量细胞发生凋亡, 而晚期则有大量细胞凋亡。有实验研究表明, 在相关凋亡基因参与 As 细胞凋亡过程中, 在 As 病变初期, 血管壁细胞数量增多、内膜增厚、管腔变窄, 除了与 VSMC 过度增殖有关, 还与凋亡率下降导致细胞累积、数量增多密切相关。因此在病变初期调节 VSMC 凋亡可能成为抗 As 的一种途径。此外, VSMC 是细胞因子的重要来源之一, 在维持和放大炎症增殖反应中起着重要的作用。由于凋亡可以避免细胞内容物散出所引起的周围组织炎症反应, 所以从这一角度而言诱导 VSMC 凋亡对于抗 As 也颇具意义^[2]。

近年研究认为, 细胞凋亡可能是 As 病变中细胞死亡的主要方式, VSMC 凋亡失调和凋亡小体清除不足可能是加剧

As 发展的重要因素。纤维帽中细胞凋亡增加可降低斑块稳定性而致急性临床事件发生^[3]。Han 等^[4]观察了 35 例 As 冠状动脉标本, 其中 25 例观察到凋亡细胞, 并发现凋亡主要来自于巨噬细胞和平滑肌细胞。Bennett 和 Schwatz 等^[5]发现, 体外培养人 As 标本中的 VSMC 比正常动脉的 VSMC 具有更高的凋亡率。离体培养正常动脉的 VSMC, 仅在去除血清生长因子后发生凋亡, 而 As 斑块中的 VSMC 在高血清状态下也发生凋亡, 去除血清后则凋亡加剧。Heggi 等^[6]发现, 人粥样病变的脂质核心周边有泡沫细胞坏死和凋亡, 脂质核心内有凋亡细胞核残余物, 某些 TUNEL 阳性细胞还显示有增殖细胞核抗原, 提示 As 发病中某些细胞的增殖和凋亡活性均增高。原发性 As 病变中细胞数量较少而凋亡小体较多, 提示脂质核心的形成可能是细胞凋亡活性大于增殖活性的结果。Diane 等^[7]在血管钙化模型中发现, VSMC 细胞凋亡先于钙化发生, 并且 VSMC 产生的凋亡小体可能形成钙化结晶的核心结构。

2 中医药治疗动脉粥样硬化的研究

近年来, 中医药在治疗 As 方面, 尤其是中医药对 VSMC 凋亡影响的研究有了一定进展。As 的发生机理十分复杂, 其中高脂血症通过损伤血管内皮细胞, 促进 VSMC 异常增殖而成为导致 As 病变的重要致病因素。目前中医药防治 As 的研究重点包括抑制 VSMC 过度增生和促进细胞凋亡, 防止血管内皮细胞受损和抗血栓形成等。

2.1 中药有效部位及有效成分与血管平滑肌细胞凋亡

2.1.1 三七总皂甙 三七总皂甙可呈浓度依赖性地抑制 VSMC 的增殖并可抑制高脂血清对 VSMC 的促增殖作用。提示三七总皂甙的抗 As 作用可能是通过抑制 VSMC 异常增殖实现的^[8]。亦有研究指出: 三七总皂甙可减少 VSMC 对 Ca^{2+} 的摄入, 而细胞内钙离子是细胞增殖的强烈刺激剂。三七总皂甙抑制 VSMC 增殖的部分原因可能是由于减少钙内流的结果。

2.1.2 黄酮类化合物 淫羊藿总黄酮可使 VSMC 的 DNA

[收稿日期] 2002-07-27 [修回日期] 2003-04-05

[作者简介] 荆涛, 女, 1976 年出生, 北京市人, 硕士研究生, 北京中医药大学东直门医院内科重点实验室; 电话: 010-84013137, E-mail: jthl008@sohu.com。王伟, 男, 1964 年出生, 北京市人, 教授, 北京中医药大学东直门医院内科重点实验室。王绿娅, 女, 1953 年出生, 北京市人, 副研究员, 北京心肺血管疾病研究所动脉硬化研究室; 为本文通信作者, 电话: 010-64412431-2436, 邮编: 100029, E-mail: wangluya@sina.com。

降解为寡聚核小体,诱导 VSMC 凋亡,有实验研究以此为主要成分的藜酮胶囊抑制 VSMC 增殖的过程分两个阶段:先使细胞停留在 G₀/G₁ 期;④诱导细胞产生凋亡^[9]。另外淫羊藿甙可以扩张血管,具有抑制血管平滑肌细胞外 Ca²⁺ 内流作用^[10]。亦有报道对 5 种主要心血管活性成分中药黄酮(葛根素、陈皮甙、黄芩甙、淫羊藿甙、香蒲新甙等)进行单体药理交互作用的观察,其中葛根素与淫羊藿甙在低浓度下($\leq 10^{-7}$ mol/L)均可促进 VSMC 凋亡,且与浓度关系不大,与时间成正相关,最大凋亡率达 17.7%;葛根素与淫羊藿甙合用,可能有协同促进 VSMC 凋亡的作用^[11]。

2.1.3 雷公藤甲素 观察雷公藤甲素(T₁₀)对 VSMC 周期进程的影响和诱导凋亡作用。T₁₀作用后,光镜下 VSMC 出现凋亡的形态学改变:细胞皱缩,核染色质固缩、聚集至核膜下,凋亡小体形成。PI/FCM 检测,药物作用后指数增殖期 VSMC 凋亡峰增高。抗 CD95 抗体标记 VSMC,发现在凋亡峰升高前,CD95 表达有明显的一过性增高。从形态学、细胞学和免疫化学几个方面提供的证据表明,T₁₀可以诱导指数增殖期 VSMC 凋亡。T₁₀诱导 VSMC 凋亡可能与促进凋亡分子 Fas 表达有关^[12]。

2.1.4 川芎嗪 有报道经皮冠状动脉腔内成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA)或 PTCA 加支架治疗后,口服川芎嗪治疗的患者术后再狭窄率显著下降。细胞学实验证实,川芎嗪能明显抑制原代培养 VSMC 前胶原 $\alpha 1$ (iv) 基因的转录^[13],使细胞外基质合成和沉积减少,同时使血小板聚集下降,抑制 VSMC 过度增殖^[14]。

2.1.5 水蛭素 在兔髂动脉球囊扩张损伤后短期给予重组水蛭素,对比应用肝素组,可以明显减少术后 2 周和 4 周动脉管腔的狭窄,并明显抑制动脉内膜增殖和平滑肌细胞增生^[15],其机理可能是由于抑制血小板和凝血酶活化,进而抑制其介导平滑肌细胞增殖和迁移。

2.1.6 大蒜素 李自成等^[16]观察大蒜素对培养的兔主动脉 VSMC 增殖细胞核抗原表达的影响,同时测定培养液中超氧化物歧化酶、乳过氧化物酶、磷酸葡萄糖异构酶 2 及 cAMP 的含量。结果表明,大蒜素能增加超氧化物歧化酶活性,降低乳过氧化物酶,升高磷酸葡萄糖异构酶 2 和 cAMP 水平,抑制 VSMC 的增殖细胞核抗原表达,从而起到抑制 VSMC 增殖的作用。

2.1.7 活血化瘀中药 近期对活血化瘀中药观察,红花、郁金提取液可有效地抑制体外高糖血清培养的 VSMC 表型转变和增殖^[17],并发现丹参对 VSMC 的增生和迁移具有显著抑制作用。Northern 杂交结果表明丹参可抑制与细胞迁移相关的骨桥蛋白基因表达^[18],而国外报道骨桥蛋白基因缺乏的大鼠 VSMC 中胶原质黏附作用下降并且细胞凋亡率上升^[19],提示丹参可能是通过抑制骨桥蛋白基因表达而使 VSMC 凋亡的。

2.2 中药复方与血管平滑肌细胞凋亡的研究

目前对中药复方的药理学研究既是一个热点,也是一个难点。中医理论指导下的中药复方,临床上疗效确切,对 As 治疗的临床观察和动物实验均有大量报道。但由于中药复

方的成分复杂,针对疾病呈多靶点的治疗,在细胞和分子学实验中难以达到中药单体药理研究的水平。

2.2.1 消痰片 有实验观察消痰片(丹参水提物和山楂醇提物按一定比例混合组成的纯中药制剂)对 As 兔血管壁组织中内皮素、一氧化氮(nitric oxide, NO)、一氧化氮合酶活性和细胞凋亡的影响,发现服用消痰片后的兔 As 血管壁组织中内皮素含量降低,NO 含量增加,凋亡细胞阳性反应颗粒所占的面积和积分吸光度值减少,提示消痰片可通过降低血管壁中的内皮素而抑制平滑肌细胞的增生,通过增加血管壁中的 NO 诱导细胞凋亡及加强对凋亡细胞的清除^[20]。

2.2.2 补阳还五汤 另有报道补阳还五汤(黄芪 40 g,川芎 15 g,当归 15 g,赤芍 15 g,桃仁 12 g,红花 12 g,地龙 10 g)治疗 As 可抑制病变内膜增厚,管腔狭窄明显改善^[21]。其机制除降血脂,减轻高血脂对内皮细胞的氧化损伤外,也与其促进内皮细胞合成与分泌磷酸葡萄糖异构酶 2 和 NO 等生物活性物质,进而促进中层 VSMC 凋亡有关。

2.2.3 血府逐瘀浓缩丸 史大卓等^[22]研究表明,血府逐瘀浓缩丸可使家兔 VSMC 内细胞器减少,含有肌丝,分化较好,而空白对照组与美降脂组细胞内细胞器多,处于增殖状态。另有研究表明,血府逐瘀汤抑制 VSMC 增殖的机理可能与促进 VSMC 由合成表型向收缩表型转变和(或)抑制 VSMC 从收缩表型向合成表型转变,以及影响血管壁血小板衍生生长因子 A、血小板衍生生长因子 B 的 mRNA 表达有关^[23]。

3 中医药防治动脉粥样硬化的展望

目前有人研究天然酪氨酸蛋白激酶抑制剂,如从高良姜、侧柏叶、款冬花、银杏等提取出的槲皮素(quercetin)能阻断细胞的 G₁ 晚期或使细胞聚积在 G₂ ~ M 期,抑制突变型 P53 的表达,通过信号传导机制使细胞凋亡^[24]。有报道槲皮素黄酮苷可能捕获了线粒体膜上的不饱和脂肪酸产生的脂类分子自由基,阻止了自由基链反应的进行,从而有效地抑制膜中过氧化脂质的形成,减少了过氧化脂质及其分解产物对膜性脂质的损伤,因此抑制了线粒体膜流动性下降和细胞色素 C 氧化酶活力的降低,使线粒体的功能得到了保护。当线粒体 Ca²⁺ 升高时,如果只是线粒体通透性转换孔的短暂开放,且线粒体能够维持细胞能量供应,细胞不会立即坏死,但线粒体可释放出细胞色素 C 与凋亡诱导因子,两者均可导致细胞的凋亡^[25]。合成的酪氨酸蛋白激酶抑制剂的基本结构为苯乙烯,拟似脱氢酪氨酸模拟物,属于黄酮或异黄酮类,其结构特点可能作为研究合成新药的基础。

现在对细胞凋亡的研究集中在肿瘤细胞凋亡方面,而且细胞凋亡的基因研究亦源自对肿瘤的治疗。As 和肿瘤发病机理有共同性,均是细胞的异常增殖上升和细胞凋亡下降的结果。药理学研究表明,许多放化疗治疗能诱导 VSMC 凋亡。近期有报道,应用中药抗肿瘤药物紫杉醇包被支架治疗术后动脉再狭窄有明显疗效。因此中药抗肿瘤药物可能对 As 的机理研究和治疗产生一定作用,值得进一步研究。

[参考文献]

- [1] Mayr M, Xu Q. Smooth muscle cell apoptosis in arteriosclerosis. *Exp Gerontol*, 2001, **36** (7): 969-987
- [2] 覃军, 何作云. 冠状动脉粥样硬化斑块破裂的细胞与分子生物学研究进展. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (1): 79-81
- [3] Alain Tedgui. Apoptosis as a determinant of atherothrombosis. *Thromb Haemost*, 2001, **86**: 420-426
- [4] Han DK, Haudenschild CC, Hong MK. Evidence for apoptosis in human atherogenesis and in a rat vascular injury model. *Am J Pathol*, 1995, **147** (2): 267-277
- [5] Bennett MR, Evan GI, Schwartz SM. Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived from normal vessels and coronary atherosclerotic plaque. *J Clin Invest*, 1995, **95** (9): 2 266-272
- [6] Heggi L, Skepper JN, Cary NR. Foam cell apoptosis and the development of the lipid core of human atherosclerosis. *Am J Pathol*, 1996, **18** (4): 423-429
- [7] Diane Proudfoot, Jeremy N. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro. *Circ Res*, 2000, **87**: 1 055
- [8] 周晓霞, 苏佩清, 杨鹤梅. 三七总皂甙对人高脂血清诱发的胎儿血管平滑肌细胞增殖的抑制作用. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (1): 43-45
- [9] 周亚伟, 陈可冀. 藜酮胶囊诱导人体血管平滑肌细胞凋亡的实验研究. *中国中西医结合杂志*, 1998, **18** (11): 680-683
- [10] 韩冰, 杨峻山. 淫羊藿药理作用研究概况. *中草药*, 2000, **31** (11): 873-875
- [11] 王伟, 张涛, 赵明镜. 5 种中药黄酮对血管平滑肌细胞凋亡的交互作用. *北京中医药大学学报*, 2000, **23** (4): 18-21
- [12] 李玫, 吴宗贵, 陈金明. 雷公藤甲素诱导大鼠主动脉平滑肌细胞凋亡的实验研究. *中国药理学通报*, 2000, **16** (1): 49-51
- [13] 唐利龙, 汪丽惠, 张均华. 川芎嗪对原代培养血管平滑肌细胞胶原基因表达的影响. *中国中西医结合杂志*, 1995, **15** (11): 666-668
- [14] 张敏州, 李新梅, 李松. 中医药防治冠状动脉成形术后狭窄研究进展. *广州中医药大学学报*, 2001, **18** (2): 178-180
- [15] 田建伟, 陈宏. 重组水蛭素对兔髂总动脉球囊损伤后内膜增殖影响的实验研究. *心脏杂志*, 2000, **3** (12): 174-176
- [16] 李自成, 李庚山, 黄从新. 大蒜素对血管平滑肌细胞增殖细胞核抗原的影响. *中国中西医结合杂志*, 1997, **17** (10): 614-615
- [17] 段文卓, 宫海民. 红花、郁金对血管平滑肌细胞表型及增殖变化的影响. *中国病理生理杂志*, 2000, **16** (10): 979
- [18] 周小明, 陆再英, 汪道文. 丹参防治实验性动脉再狭窄及其机制的初步研究. *中国中西医结合杂志*, 1996, **16** (8): 480-482
- [19] Andrea S Weintraub. Osteopontin deficiency in rat vascular smooth muscle cells is associated with an inability to adhere to collagen and increased apoptosis. *Lab Invest*, 2000, **80**: 1 603-615
- [20] 谢梅林, 顾振纶, 陈可冀. 消痰片对粥样硬化兔血管壁组织中 ET、NO 及细胞凋亡的影响. *中国现代应用药学*, 2000, **17** (6): 434-436
- [21] 刘发益, 文志斌, 周春生. 补阳还五汤抗家兔动脉粥样硬化形成的实验研究. *湖南医科大学学报*, 2000, **1** (25): 33-35
- [22] 史大卓, 徐凤芹, 马晓昌. 血府逐瘀浓缩丸防治家兔经皮血管腔内成形术后再狭窄的研究. *中医杂志*, 1997, **38** (11): 685-687
- [23] 李静, 陈可冀. 中药对血管平滑肌细胞增殖及相关基因表达的影响. *北京医科大学学报*, 1994, **26** (增刊): 243
- [24] 刘俊达, 张靖莲. 细胞凋亡研究促进新药开发的展望. *中国新药杂志*, 1999, **5** (8): 298-301
- [25] Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J*, 1999, **341**: 233-249

(此文编辑 曾学清)

• 读者• 作者• 编者•

关于汉字文稿中名词术语使用英语缩写的规定

当一个多汉字的名词术语在汉字文稿中反复出现时, 作者往往喜欢用一个英语缩写来代替; 这样做, 既节省篇幅, 又避免繁琐重复, 为多数期刊所称颂, 本刊亦不例外。然而我们在编辑工作中发现, 由于受作者层次和参考文献种类等因素的影响, 在使用名词术语的英语缩写时存在以下问题:

同一个英语名词术语, 译成汉语时却不同, 如 derived 这个词, 有的译成源性, 有的译为衍化, 还有的译成衍生; ④名词术语的英语缩写不规范, 字母的大小写不一致, 如载脂蛋白 (apolipoprotein), 缩写为 apo 已不规范, 而它却有 Apo 和 apo 两种写法; ⑤用法不当, 有的用在文题中, 有的用作关键词, 有的名词术语仅两三个汉字, 为图方便, 个别作者也用英语缩写代替; 而且, 第一次出现时, 没有汉英对照, 只有缩写, 这是极不应该的。有鉴于此, 为求统一, 本刊对汉字文稿中名词术语使用英语缩写作如下规定。

- 1 名词术语在 3 个 (含 3 个) 汉字内, 一律使用汉语; 多于 3 个汉字的, 可使用英语缩写; 如胆固醇、脂蛋白、内皮素、高血压、糖尿病、再狭窄等, 都只能用汉字。
- 2 文题、摘要和关键词中的名词术语, 不得使用英语缩写来代替。
- 3 正文中的各级标题、图题和表题中的名词术语, 不得用缩写来代替; 段首的名词术语也不得用缩写来代替。
- 4 第一次使用英语缩写来代替名词术语时, 必须按照下列格式来写: 汉语全称 (英语全称, 缩写)。如极低密度脂蛋白胆固醇 (very low density lipoprotein cholesterol, VLDLC)、动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 等, 以下行文, 可只写缩写, 不必注

释汉语。

5 用来代替汉语名词术语的英语缩写, 在汉字文稿中不用复数。

6 书写时缩写字母之间不用连字符; 若词末有数字, 可在数字与左邻字母之间加连字符 (用半字线), 如 II-1。

7 名词术语的英语缩写不移行。

8 汉字文稿中不宜过多使用英语缩写, 本刊规定一篇文献综述可使用 4 个, 其它文稿限 3 个内。

9 名词术语的缩写原则

9.1 由两个或两个以上的词构成的名词术语, 缩写时一律取实词首字母, 全大写; 如总胆固醇 (total cholesterol, TC)。但相沿成习的写法例外, 如氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)。

9.2 由主干词加前缀构成的单词名词术语缩写时, 不论主干词和前缀之间是否有连字符, 一律取前缀和主干词的首字母, 全大写, 如去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE)。

9.3 组合法构成的单词名词术语, 其间若没有连字符, 缩写时取首字母和另 1~2 个字母, 首字母大写, 余小写, 如动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As), 但相沿成习的写法例外, 如动脉硬化 (arteriosclerosis, AS)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、白细胞介素 (interleukin, IL) 等。

9.4 组合法构成的名词术语, 其间有连字符的, 缩写时按照上述第 9.1 条原则执行。

以上规定, 请广大作者自觉遵照执行

(胡必利起草、修订)