

细胞凋亡与冠心病

杨胜利 综述, 何作云, 冯 兵 审校

(第三军医大学新桥医院心血管内科, 重庆市 400037)

[关键词] 内科学; 细胞凋亡是冠心病损伤的一种机制; 综述; 心肌缺血; 动脉粥样硬化

[摘要] 细胞凋亡是不同于细胞坏死的细胞自我解体的过程, 心肌细胞凋亡常见于冠心病, 细胞凋亡的信号通路有两种途径: 死亡受体和线粒体扩大。凋亡由促凋亡和抗凋亡刺激因素、细胞内凋亡信号激活剂和抑制剂所调节。心肌细胞凋亡的治疗靶标为抑制促凋亡因素、破坏凋亡途径、抑制缺血/再灌注损伤、提高心肌细胞内源性保护机制和瓦解凋亡信号。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

细胞凋亡, 又称程序性细胞死亡, 是多细胞生物体细胞自我有效解体的一种过程。自细胞凋亡概念提出之后有许多研究揭示了细胞凋亡的分子机制。细胞凋亡是一种在形态特征上不同于细胞坏死的另一种细胞死亡类型。近年来, 细胞凋亡与冠心病的关系研究成为热点之一。

1 细胞凋亡与坏死的区别及凋亡的检测

凋亡细胞特异性膜磷脂能被标记蛋白所检测, 如磷脂酰丝氨酸被荧光标记的 annexin V 所检测。DNA 断裂成特异性

片段是酶联反应的基础, 如末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记。细胞凋亡时生化信号如特异性半胱天冬蛋白酶的裂解活化可用于细胞和组织样本的检测。检测细胞凋亡的金标准是光镜尤其是电镜下形态学改变, 凋亡主要表现为核染色质浓缩成块, 细胞间连接消失, 细胞固缩、碎裂, 含有核物质和细胞器片段的囊泡形成, 凋亡小体形成, 细胞膜损伤轻微, 溶酶体酶释放少, 炎症反应轻, 细胞器结构和功能一直保持到晚期。坏死主要表现为核染色体非特异性降解, 细胞体积增大, 细胞膜早期破裂, 溶酶体酶释放, 伴炎症反应, 早期细胞器结构和功能丧失。

2 细胞凋亡与冠心病(心肌缺血/梗死)

动脉粥样硬化斑块破裂与覆盖在脂核上的富含血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的纤维帽较薄有关, 尤其在斑块肩部更易发生。凋亡的 VSMC 在包括肩部在内的人成熟斑块中明显存在, 提示 VSMC 凋亡可加速斑块破

[收稿日期] 2002-12-23 [修回日期] 2003-06-05

[基金项目] 国家自然科学基金(30100069)资助

[作者简介] 杨胜利, 男, 1965 年出生, 陕西省岐山县人, 博士后, 副教授, 副主任医师, 研究方向为冠心病临床和基础, E-Mail: yslzh@163.com。何作云, 男, 1941 年出生, 辽宁省大连市人, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病。冯兵, 男, 1967 年出生, 四川省射洪县人, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管疾病基础和临床。

裂。虽然 VSMC 的丧失被认为是促进斑块破裂,但凋亡在成熟动脉粥样硬化中的本质作用还没有直接的证据。在成熟病变的大多数凋亡细胞是紧邻脂核的巨噬细胞^[1]。动脉粥样硬化部位的巨噬细胞丧失可预测斑块的稳定性,因为巨噬细胞能通过直接作用和细胞因子释放促进 VSMC 凋亡。当然,巨噬细胞凋亡是在斑块破裂部位发现的^[2],但还不清楚凋亡是否能直接促进斑块破裂,巨噬细胞是否是破裂部位发现的最常见的细胞类型。事实上,与稳定型心绞痛相比,不稳定型心绞痛 VSMC 凋亡是增加的。

心肌缺血是心肌细胞坏死和凋亡的有力诱导因素。心肌缺血能引起由细胞色素 C 释放及 caspase 3 活化介导的细胞凋亡^[3]。心肌缺血和再灌注均可引起缺血区域的细胞凋亡,但缺血预适应可减轻细胞凋亡^[4,5]。虽然再灌注可减轻缺血引起的细胞凋亡,但再灌注本身引起的氧自由基生成和钙超载可诱导再灌注区域的细胞凋亡。人肥大大心肌细胞对缺氧诱导的细胞凋亡的敏感性明显提高^[6]。

急性心肌梗死表现为细胞死亡和细胞凋亡两种形式,细胞凋亡主要出现于中心坏死区域和存活心肌之间的低灌注边缘区^[7],梗死区域的凋亡率明显高于非梗死区,并与左室长短轴直径明显相关^[8]。虽然梗死后 6~24 h 心肌细胞坏死很常见,但在中央未灌注区域也可表现细胞凋亡,尤其是前 6 h 内。心肌梗死后在较远的非梗死区域的细胞凋亡参与心肌重构和心腔扩大,可作为治疗靶点。转基因小鼠心脏选择性血红素加氧酶-1 的高表达对缺血/再灌注损伤具有心脏保护作用,可能是其抗凋亡作用的结果^[9]。血管成形术时的急性动脉损伤能快速诱导中层细胞凋亡。动物损伤模型可见中层细胞凋亡发生在 30 min 到 6 h^[10],随后外膜和新生内膜细胞凋亡。在人体,血管成形术后再狭窄与 VSMC 凋亡减少有关,但在开始损伤或再狭窄重构过程中 VSMC 凋亡的作用仍需进一步研究。

3 细胞凋亡的调节机制

许多刺激可触发凋亡,在血管疾病中一氧化氮和剪切力的减少、重构等均可触发凋亡。相反,动脉粥样硬化或动脉瘤形成中,VSMC 凋亡可由表达表面死亡配体或分泌促凋亡细胞因子的炎症细胞或氧化型低密度脂蛋白^[11,12]引起。无论什么刺激诱导的凋亡,凋亡信号下游途径是相似的。细胞凋亡的信号通路分为两种途径:死亡受体和线粒体扩大。

3.1 通过死亡受体的细胞凋亡

首先,肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNF-R)家族的膜结合死亡受体,如 Fas (CD95)、TNF-R1、死亡受体(DR)3~6等,结合其三价配体引起受体聚合,随后通过蛋白-蛋白相互作用征集适配蛋白^[13],如 Fas-FADD 和 TNF-R1-TRADD 等。适配子征集半胱氨酸蛋白酶,如 caspase 8 (FLICE) 和 caspase 2 到复合物^[14]。在 Fas、FADD 和 caspase 8 复合物内,caspase 8 通过寡聚活化蛋白分解。这就依次活化承担细胞生存、结构和代谢功能所需的细胞内底物裂解的终末效应器 caspase (caspases 3、6 和 7)。

3.2 通过线粒体扩大的细胞凋亡

除了 caspase 直接活化作用外,caspase 8 活化引起 bcl-2 家族蛋白如 bid 的裂解。bcl-2 家族成员既有促凋亡又有抗凋亡效应。bcl-2 家族促凋亡成员(bax、bid、bad、bik 和 bak)活化,移到线粒体上并与线粒体膜抗凋亡成员(bcl-2 和 bcl-XL)相互作用,使电压依赖性线粒体通道去极化并释放线粒体凋亡介质,如细胞色素 C^[15]和 Smac/DIABLO。细胞色素 C 联合适配子 apaf-1 和 caspase-9 激活 caspase-3 和 caspase 级联反应。Smac/DIABLO 直接拮抗凋亡蛋白抑制剂(inhibitor of apoptosis protein, IAP)促进细胞凋亡。细胞色素 C 活化部分 caspase 级联反应在人终末期心衰中的作用已被证实^[16]。

细胞凋亡能被细胞内表达蛋白,如 FLIP 和 IAP 所阻断。FLIP 主要结构与 caspase-8 相同,但在 G-末端没有活化的 caspase 位点。因此 FLIP 与 caspase-8 结合可阻止它的活化。IAP 抑制向下 caspase 酶的活性,或通过核转录因子 B(nuclear transcription factor- κ B)的活化介导抗凋亡信号途径。

3.3 心肌细胞凋亡的调节

体外内实验发现,缺氧促进心肌细胞凋亡,缺血/再灌注和缺氧/再充氧均与 Fas 表达增加有关,血清(胎牛或小牛血清)和葡萄糖浓度减低(可协同缺氧)触发心肌细胞内细胞色素 C 从线粒体释放,提示缺血(缺氧)引起的凋亡由线粒体扩大介导。缺氧通过线粒体释放细胞色素 C 和 caspase 活化触发途径促进细胞凋亡。

4 细胞凋亡的防治

许多试剂可阻止细胞凋亡的发展但不能阻止细胞死亡。延迟死亡可能没有好处甚至是有害的,尤其是细胞有坏死或伴随炎症时。研究认为,心肌梗死后抑制凋亡可改善心室重构和收缩力^[17]。虽然这种抑制凋亡的机制还不清楚,但临床资料显示可提高心功能。

凋亡能在信号途径的许多点被打断。可从抑制或防止刺激因素以及抑制凋亡途径防止细胞凋亡。抑制凋亡的方法决定于阻断心肌细胞凋亡级联环节中的关键步骤,心肌缺血和心衰时许多信号途径被活化,如果凋亡是多途径的,阻断某一途径并不一定能抑制凋亡,因为还可经其它途径引起凋亡。针对多信号途径的介质可能是抑制凋亡的较好的靶标。当然,许多下游介质是一些细胞有效瓦解和包装所需的酶,也许不仅仅是决定于细胞死亡的某一点。另外,这些分子对许多组织细胞凋亡都很重要。因此,抑制凋亡的刺激因素,尤其在某一时间的某一点对心脏是特异性的,而且更有效。治疗的时间和方法依赖临床情况而定。毫无疑问,在急性情况下如心肌梗死比慢性心力衰竭的治疗更容易短暂地抑制凋亡。

4.1 抑制/预防促凋亡刺激因素

缺血/再灌注、后负荷增加引起的心肌肥厚和心肌梗死后的心肌重构均与心肌细胞凋亡有关,这证明对这些疾病治疗可能已经起到抑制凋亡的作用。对缺血性心脏病患者 β 阻滞剂的有效使用抵消了高儿茶酚胺的促凋亡作用。卡维地洛能抑制缺血/再灌注引起的心肌细胞凋亡,血管紧张素转换酶抑制剂也可保护心脏抑制血管紧张素 Ang II 引起的调

亡。针对减少心肌伸展、氧化应力与改善心肌灌注的方法具有同样的效应。最后,导致细胞凋亡的许多途径由特异性死亡配体触发,不论是凋亡还是疾病本身都表现为死亡受体上调。抑制死亡配体,例如通过可溶性受体或受体拮抗剂清除配体,可减少由这些途径介导的细胞凋亡。当然,需要注意的是除了死亡受体还有其它信号,如在心肌细胞, Fas 活化减小膜电位诱导后去极化,抑制 Fas 诱导的细胞凋亡可使其它 Fas 信号逃逸并促进心律失常的发生。

4.2 预防细胞凋亡

许多分子能保护细胞免遭凋亡,如抗凋亡 bcl-2 家族成员、IAP 和死亡受体的引诱物。虽然这些物质能抑制许多刺激诱导的细胞凋亡并在临床上是有用的,但当前除了基因转到心脏之外并不能选择性控制其表达。更有前途的是在凋亡刺激后可溶性存活因子的使用。许多生长因子,包括胰岛素样生长因子 1(IGF-1)、cardiotrophin-1 和 neuregulins,能抑制体外缺血、无血清培养基和细胞毒性药物所致的细胞凋亡。IGF-1 过度表达减少非梗死区域的细胞凋亡和促进心肌梗死后有利的重构。cardiotrophin-1 受体的活化也可抑制心脏扩大,减少心肌细胞凋亡,改善心功能。这些通过 AKT 和细胞外信号相关激酶(extracellular signal related kinase, ERK)途径的物质信号被认为在许多细胞中具有抗凋亡作用(表 1)。

表 1. 心肌细胞凋亡的信号途径及其潜在的抑制剂

刺激因素	信号途径	潜在的抑制剂
缺血/再灌注	ERK/应激活化蛋白激酶 (stress activated protein kinase, SAPK)	ERK 活化, SAPK 抑制
	ERK/ SAPK	
压力超负荷	ERK/ SAPK	
神经激素因子 (如儿茶酚胺类)	G 结合蛋白	β 阻滞剂
缺血	生长因子	Akt/ERK 途径的活化
	信号缺乏	(如被 IGF-1)
死亡受体配体	适配子/caspase	诱骗受体/
		受体拮抗剂 IAP/ caspase 抑制剂

4.3 防止细胞凋亡的产生

凋亡的执行和细胞的瓦解包括线粒体扩大和 caspase 活化在内的一系列信号途径的活化。内源性 caspase 抑制剂能抑制许多刺激诱导的细胞凋亡。用细胞能透过的分裂位点的药物抑制 caspase 可短期抑制心肌细胞凋亡。研究发现, L-肉碱能抑制 caspase 及降低 TNF α , 从而防止心肌细胞凋亡,可能在冠心病心衰治疗中起到一定的作用^[18]。

总之,死亡(凋亡式细胞死亡)由具有引导或抗凋亡的特殊蛋白所调节。细胞凋亡的敏感性决定于细胞死亡受体和

配体的表达以及受体水平以下的蛋白种类。另外,凋亡敏感性也决定于存活细胞因子、有丝分裂原和局部细胞与基质相互作用的存在和反应以及细胞的生长状态。当前,心肌细胞凋亡在这些疾病发病机理中的确切作用还不知道,抗凋亡治疗的有益作用也还未证实。心肌细胞凋亡的预防涉及到抑制促凋亡因素和抑制细胞内凋亡信号。非心脏特异性的凋亡信号的抑制在短期内对心肌梗死和不稳定型心绞痛比心衰会更有效。

[参考文献]

- [1] Kockx MM. Apoptosis in the atherosclerotic plaque: quantitative and qualitative aspects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, **18**: 1519-522
- [2] Kolodgie FD, Narula J, Burke AP, Haider N, Farb A, Hu-Liang Y, et al. Localization of apoptotic macrophages at the site of plaque rupture in sudden coronary death. *Am J Pathol*, 2000, **157**: 1259-268
- [3] Borutaite V, Budriunaite A, Morkuniene R, Brown GC. Release of mitochondrial cytochrome c and activation of cytosolic caspases induced by myocardial ischaemia. *Biochimica Biophysica Acta*, 2001, **1537** (II): 101-109
- [4] 焦向英, 罗宁, 赵荣瑞. 预缺血对大鼠心肌缺血再灌注凋亡的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (1): 41-44
- [5] 姚震, 陈颜芳, 冯建章, 尹瑞兴, 焦解歌, 翁阳. 实验性家兔缺血预适应减轻心肌细胞凋亡. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (1): 20-23
- [6] Todor A, Sharov VG, Tanhehco EJ, Silverman N, Bernabei A, Sabbah HN. Hypoxia-induced cleavage of caspase-3 and DFF45/ICAD in human failed cardiac myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, **283** (3): H990-995
- [7] Saraste A, Pulkki K, Kallajoki M, Henriksen K, Parvinen M, Voipio-Pulkki LM. Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation*, 1997, **95**: 320-323
- [8] Baldi A, Abbate A, Bussani R, Patti G, Melfi R, Angelini A, et al. Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling. *J Mol Cell Cardiol*, 2002, **34** (2): 165-174
- [9] Vulapalli SR, Chen Z, Chua BH, Wang T, Liang CS. Cardiospecific overexpression of HO-1 prevents I/R-induced cardiac dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, **283** (2): H688-694
- [10] Perlman H, Maillard L, Krasinski K, Walsh K. Evidence for the rapid onset of apoptosis in medial smooth muscle cells after balloon injury. *Circulation*, 1997, **95**: 981-987
- [11] 彭刚艺, 凌文华. 氧化型低密度脂蛋白诱导大鼠血管平滑肌细胞凋亡. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (2): 140-144
- [12] 袁中华, 杨永宗, 杨小毅, 谭健苗, 万毅阳. 氧化型低密度脂蛋白诱导大鼠血管平滑肌细胞凋亡. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (1): 23-25
- [13] Ashkenazi A, Dixit V. Death receptors: signalling and modulation. *Science*, 1998, **281**: 1305-308
- [14] Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J*, 1997, **326**: 1-16
- [15] Shimizu S, Narita M, Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. *Nature*, 1999, **399**: 483-487
- [16] Scheubel RJ, Bartling B, Sinn A, Silber RE, Drogaris K, Danner D, et al. from mitochondria and death receptors without caspase-3 cleavage in failing human myocardium. *J Am Coll Cardiol*, 2002, **39** (3): 481-488
- [17] Li Q, Li B, Wang X, Leri A, Jana KP, Liu Y, et al. Overexpression of insulin-like growth factor 1 in mice protects from myocyte death after infarction, attenuating ventricular dilation, wall stress, and cardiac hypertrophy. *J Clin Invest*, 1997, **100**: 1991-999
- [18] Vescevo G, Ravara B, Gobbo V, Sandri M, Angelini A, Della Barbera M, et al. L-Carnitine: a potential treatment for blocking apoptosis and preventing skeletal muscle myopathy in heart failure. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, **283** (3): C802-810

(此文编辑 文玉珊)