

血红素加氧酶 1 与经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄

曹伟 综述, 王亚杰 审校

(中国医科大学病理生理学教研室, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 血红素加氧酶 1; 再狭窄; 冠状动脉成形术

[摘要] 血红素加氧酶 1 是组成微粒体酶系统的重要组成部分之一, 它能催化降解血红素生成胆红素、游离铁离子和一氧化碳。血红素加氧酶 1 以其强抗氧化、抗炎、抑制血管平滑肌细胞增殖、抑制血小板聚集、调节血管张力及细胞内信号传递等作用, 在经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄的防治中发挥重要的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

1979 年经皮腔内冠状动脉成形术(percutaneous transluminal coronary angioplast, PTCA) 治疗冠心病获得成功, 然而 PTCA 术后 3~6 个月再狭窄高达 35~50%^[1], 严重影响了其远期疗效。因此防治再狭窄, 已成为 PTCA 术后的首要任务。1998 年 Duckers 等首次报道球囊损伤猪股动脉可诱导血红素加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HO-1) 的表达, 并证实 HO-1 的表达可抑制球囊损伤后新生内膜的形成。2001 年 Tulis 等^[2]研究证实 HO-1 可减轻大鼠颈动脉球囊损伤后血管重塑。最近 Gulesserian 等^[3]从基因角度研究发现, HO-1 启动子等位基因能导致 HO-1 的诱导能力下降, 并认为可将其作为 PTCA 术后再狭窄独立的预测因子。由此可见, HO-1 在 PTCA 术后再狭窄的发生发展中发挥着重要的作用, 对 HO-1 的深入研究, 有望成为 PTCA 术后再狭窄防治新的靶标。

1 经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄概述

1.1 经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄原因

再狭窄是由于 PTCA 手术过程中对血管的机械损伤, 导致损伤处血管过度修复和动脉粥样硬化的继续发展所形成的。具体表现为血栓形成、血管炎症、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC) 的过度增殖和凋亡不足及向内皮下迁移、内皮细胞的凋亡以及氧化损伤等^[1,4,5]。Nikol 等^[6]将血管再狭窄的整个形成过程分为 4 期: 第 1 期为血栓形成期, PTCA 术后几个小时即可诱导血栓形成; 第 2 期为炎症期, 在血栓形成的同时并发炎症反应, 有巨噬细胞、淋巴细胞和粒细胞的活化, 以 PTCA 术后 24 h 最明显; 第 3 期为细胞增殖期, 开始于炎症反应后期, 以细胞增殖为主要特征, PTCA 术后 7 d 达高峰, 可持续 3 周; 第 4 期为基质塑形期, PTCA 术后 2 周, 细胞外基质形成增多, 3~4 周后达到平台水平, 可持续数月甚至数年, 导致狭窄段血管重新塑形。

1.2 经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄的标准

美国国家心、肺和血液研究所 1988 年对 PTCA 后的再狭窄提出标准: 冠状动脉造影随访时发现狭窄程度增加

30%以上; ④PTCA 后狭窄不到 50%, 随访发现狭窄大于 70%; ⑤冠状动脉造影随访时狭窄比 PTCA 前增加不到 10%; PTCA 后的得益血管直径缩窄 50% 以上; PTCA 后狭窄不到 50%, 随访时狭窄 $\geq 50\%$; 随访时最小直径比 PTCA 后减少 0.72 mm 以上。具备以上任何一条者均可诊断再狭窄。

2 血红素加氧酶 1 的生物学特征

血红素加氧酶(HO) 为血红素降解的起始酶和限速酶, HO 有 HO-1、HO-2 和 HO-3 三种同工酶, 分别由不同基因所编码。HO-2 和 HO-3 为结构型, 分布具有组织特异性; HO-1 为诱导型, 广泛分布于脾脏、肝脏、网状内皮系统和骨髓等组织, 生理状态在血管内皮细胞和平滑肌细胞中以低含量表达, 目前对其研究的也最多。HO-1 又称热休克蛋白 32, 是一种微粒体酶, 能降解血红素产生等摩尔的胆绿素、一氧化碳(carbon monoxide, CO) 和游离铁^[7]。其中胆绿素迅速被胆绿素还原酶还原成胆红素, 而铁离子能进一步诱导铁蛋白的合成。CO 是一种具有许多生理功能的细胞信使^[8], 在脑内可作为神经递质, 在脑外可发挥调节血管张力、抑制 VSMC 增殖和抑制血小板聚集及促 VSMC 凋亡等作用。胆红素则作为体内一种天然抗氧化剂, 抑制低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL) 的氧化修饰, 继而在防止动脉粥样硬化形成中发挥效应^[9]。铁蛋白则为抗氧化剂, 有抗氧化应激作用。由于这些代谢产物有抑制 VSMC 增殖、促进 VSMC 凋亡、抗氧化应激和抗炎症损伤等细胞保护作用^[10-13], 且 HO-1 可由色素、金属元素、应激状态、感染、氧化型 LDL(oxidized LDL, ox-LDL) 和缺氧等因素诱导使其表达上调, 这样 HO-1 及其代谢产物一起构成一个强有力的内源性保护系统, 在 PTCA 术后再狭窄防治中发挥重要作用。

3 血红素加氧酶 1 抑制经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄机制

3.1 抑制血栓形成

血红素加氧酶 1(HO-1) 有很强的细胞保护作用, 在循环

[收稿日期] 2007-09-12

[修回日期] 2008-02-29

[作者简介] 曹伟, 硕士研究生, E-mail 为 caowei760077@yahoo.cn。
王亚杰, 教授, 硕士研究生导师。

中不仅有血管解压作用,还能抑制血小板的聚集与活化。其可能机制为HO-1代谢过程中释放CO以及介导鸟苷酸环化酶(GC)的激活,使细胞内环磷酸鸟苷(cGMP)水平增高,抑制血小板的聚集,同时降低VSMC对钙离子(Ca^{2+})的敏感性,使血管扩张,维持血流,从而减少血栓形成^[14-16]。

3.2 抗血管炎症

经皮腔内冠状动脉成形术(PTCA)后炎症反应也是导致再狭窄的原因之一。1996年Roger等^[17]在兔的再狭窄模型中发现:新生内膜形成与血管损伤程度成正相关;④新生内膜形成与炎症反应程度成正相关;⑤炎症反应与血管损伤成正相关。1998年Farb等^[18]对32例病人置入55个支架的冠状动脉进行尸解,发现支架周围可见纤维组织、血小板及急性炎症细胞,并且靠近内膜损伤处出现大量的炎症细胞。2006年Rittersma等^[19]对比气囊血管成形术和支架植入术后再狭窄组织的病理学特征,同样发现两种形式的再狭窄都与炎症反应有关。

血红素加氧酶1(HO-1)可以抑制机体促炎因子,增高抗炎因子^[20]。Shokawa等^[21]将HO-1转基因小鼠暴露于慢性缺氧环境,能抑制低氧诱导的肺部炎症细胞侵入,抑制白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)、IL-6、IL-8、单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)和巨噬细胞炎症蛋白2(macrophage inflammatory protein 2, MIP-2)分泌。Philippidis等^[22]发现,CD163作为血红蛋白特异清道夫受体,其抗炎作用能通过HO-1被间接放大,因而提出了一个新的抗炎途径: Hb/ Hp/CD163/HO-1/CO。其可能机制:炎症过程中,由于白细胞和巨噬细胞的聚集和激活,炎症因子大量释放,刺激HO-1迅速大量表达,通过分解血红素产生CO和胆红素。一方面CO可显著减少肿瘤坏死因子 α 、IL- 1β 、MCP-1和MIP-2等炎症因子的释放,同时上调抗炎因子IL-10^[23];另一方面,胆红素具有抗白细胞滚动与粘附、抑制补体激活与瀑布反应起到抗炎作用,从而达到抗动脉粥样硬化的作用。

3.3 抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移并促进其凋亡

血管平滑肌细胞(VSMC)增殖、迁移以及凋亡不足是血管成形术后再狭窄等疾病中重要的病理改变^[24, 25]。VSMC分为收缩型(分化型)和合成型(未分化型或去分化型)两种表型,物理和化学因素均能促进其由收缩型向合成型转化^[26]。血管损伤后,VSMC转化为增殖性的合成型,合成分泌多种血管活性物质、生长因子及细胞外基质,自身发生肥大、增殖和迁移,导致血管壁增厚、管腔狭窄、血管顺应性降低,发生血管重构^[27]。

血红素加氧酶1(HO-1)及其代谢产物通过抑制VSMC的增殖和迁移,并促进其凋亡,抑制内膜增生等多种效应起到预防、减轻血管再狭窄的作用。Morita等^[28]于1995年研究证实,培养的VSMC表达HO-1,并向条件培养基中释放CO,CO以自分泌方式调节VSMC的cGMP水平。同年Morita等^[29]证实VSMC源性CO能够增加内皮细胞cGMP浓度,抑制内皮素1mRNA的表达,从而减少内皮源性有丝分裂原的产生,抑制VSMC的增殖。Choi等^[30]发现,紫杉醇抗VSMC增殖效应主要也是通过诱导VSMC中HO-1的表达来实现的。最近,

Kronke等^[31]发现,过氧化体增殖物激活型受体配基的抗VSMC增殖效应也是通过上调HO-1的表达来实现的。Peyton等^[10]利用细胞周期分析培养VSMC,表明VSMC源性CO通过调整细胞周期,使细胞停留在G0/G1期,从而抑制其增殖。Ollinger等^[32]还发现胆红素也有抗VSMC增殖作用。

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)系统(如MMP-9)通过降解吸收细胞外基质,在VSMC的迁移过程中起到重要作用。David等^[33]发现MMP的过度表达能增强VSMC的迁移。Galis等^[34]也发现MMP-9基因去除时小鼠平滑肌细胞迁移能力以及胶原合成能力下降。王薇等^[35]利用血红素诱导HO-1过度表达,能减少MMP-9的表达。上述实验表明,HO-1可能通过抑制MMP的表达,减少细胞外基质的降解和胶原合成,从而抑制VSMC的迁移。Li等^[36]还发现胸腺嘧啶脱氧核苷磷酸化酶的过度表达能上调HO-1水平,使培养的VSMC中P27KIP1含量增加,在体内或体外均能抑制VSMC的增殖和迁移。

另外,HO-1系统代谢产物不仅具有抗VSMC增殖和迁移作用,还能诱导VSMC凋亡。Liu等^[37]用腺病毒转染HO-1基因到体外培养的VSMC,发现HO-1基因表达上调,且能促发VSMC凋亡。Chau等^[38]研究发现,HO-1代谢产物CO也能诱导VSMC的凋亡。Silva等^[39]也发现,胆红素也有诱导VSMC凋亡的作用。但Liu等^[40]研究发现不论是外源给予CO还是通过激活HO-1产生内源性CO,均能阻止VSMC凋亡。因此,CO的促凋亡作用尚存在争议,需进一步研究。

3.4 抗氧化应激

各种原因产生的活性氧自由基(ROS),能使LDL发生氧化修饰,转变成ox-LDL。ox-LDL不仅能损伤血管内皮及平滑肌细胞,导致血管炎症,还能引起血小板聚集,促进血栓形成。

血红素加氧酶1(HO-1)是体内重要的抗氧化系统,其抗氧化作用主要通过其代谢产物胆红素、胆绿素和自由铁实现的。胆绿素和胆红素可清除氧自由基和脂质过氧化物等^[41]。近期研究表明,循环中不同类型的胆红素均是有效的抗氧化物质,其抗氧化作用强于VitC和VitE,可以清除超氧自由基。自由铁本身为氧化剂,其生成后能诱导铁蛋白的产生,铁蛋白不仅中和了自由铁的毒性,而且其本身也具有抗氧化性。

4 进展以及展望

经皮腔内冠状动脉成形术(PTCA)后再狭窄是一个多因素病理反应,而机体内也存在多种调节系统。近年来大量研究显示,HO-1在体内分布广泛且具有可诱导性,参与经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄诸多重要病理生理过程。因此,HO-1系统可能是体内PTCA术后再狭窄的重要防御体系之一。近年来,随着对人类HO基因转导以及基因治疗研究成果的不断取得,HO-1系统有望成为PTCA术后再狭窄新的治疗靶点。但其安全性和有效性还需经实验和临床研究进一步验证。

[参考文献]

- [1] Gasterell PJ. Prevention of coronary restenosis [J]. *Cardiovasc*, 1999, **7**: 219-231.
- [2] Tulis DA, Durante W, Peyton KJ. Heme oxygenase-1 attenuates vascular remodeling following balloon injury in rat [J]. *Atherosclerosis*, 2001, **155** (1): 113-122.
- [3] Guleserian T, Wenzel C, Endler G, et al. Clinical restenosis after coronary stent implantation is associated with the heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism and the heme oxygenase-1 + 99G/C variant [J]. *Clin Chem*, 2005, **51** (9): 1 661-665.
- [4] 韦立新. 经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄的病理学机制 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2000, **8**: 1-3.
- [5] Hoffmann R, Mintz GS, Dussault GR, et al. Patterns and mechanisms of intrastent restenosis: a serial intravascular ultrasound study [J]. *Circulation*, 1996, **94** (6): 1 247-254.
- [6] Nikol S, Hoffling B. Regulation of smooth muscle cell proliferation and its possible role in preventing restenosis post-angioplasty [J]. *Wien Klin Wochenschr*, 1995, **107** (13): 379-389.
- [7] Maines MD. The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1997, **37**: 517-554.
- [8] Suematsu M, Ishimura Y. The heme oxygenase-carbon monoxide system: a regulator of hepatobiliary function [J]. *Hepatology*, 2000, **31** (1): 3-6.
- [9] Marilena G. New physiological importance of two classic residual products: carbon monoxide and bilirubin [J]. *Biochem Mol Med*, 1997, **61** (3): 136-142.
- [10] Peyton KJ, Reyna SV, Chapman GB, et al. Heme oxygenase-1 derived carbon monoxide is an autocrine inhibitor of vascular smooth muscle cell growth [J]. *Blood*, 2002, **99** (12): 4 443-448.
- [11] Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, et al. Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses endothelial cell apoptosis [J]. *J Exp Med*, 2000, **192** (7): 1 015-026.
- [12] Tomaro ML, Barile C. Bilirubin: its role in cytoprotection against oxidative stress [J]. *IJBCB*, 2002, **34**: 216-220.
- [13] Lee TS, Chan LY. Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of interleukin-1 in mice [J]. *Nat Med*, 2002, **8**: 240-246.
- [14] Wagner CT, Durante W, Christodoulides N, et al. Hemodynamic forces induce the expression of heme oxygenase in A knowledge cultured vascular smooth muscle cells [J]. *J Clin Invest*, 1997, **100**: 589-596.
- [15] Van der Meer P, Lipsic E, Henning RH, et al. Erythropoietin improves left ventricular function and coronary flow in an experimental model of ischemic reperfusion injury [J]. *Eur J Heart Fail*, 2004, **6** (7): 853-859.
- [16] Christova T, Diankova Z, Setchenska M. Heme oxygenase-2 carbon monoxide signalling pathway as a physiological regulator of vascular smooth muscle cells [J]. *Acta Physiol Pharmacol Bulg*, 2000, **25** (1): 9-17.
- [17] Roger C, Welt FGP, Karnovsky MJ. Monocyte recruitment and neointimal hyperplasia in rabbits: coupled inhibitory effect of heparin [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16** (9): 1 312-318.
- [18] Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans [J]. *Circulation*, 1999, **99** (1): 44-52.
- [19] Rittersma SZ, Meuwissen M, Van der Loos CM. Eosinophilic infiltration in restenotic tissue following coronary stent implantation [J]. *Atherosclerosis*, 2006, **184**: 157-162.
- [20] Ma JL, Yang PY, Rui YC, et al. Hemin modulates cytokine expressions in macrophage-derived foam cells via heme oxygenase-1 induction [J]. *J Pharmacol Sci*, 2007, **103** (3): 261-266.
- [21] Shokawa T, Yoshizumi M, Yamamoto H. Induction of heme oxygenase-1 inhibits monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in U937 cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2006, **100**: 162-166.
- [22] Philippidis P, Mason JC, Evans BJ. Hemoglobin scavenger receptor CD163 mediates interleukin-10 release and heme oxygenase-1 synthesis: anti-inflammatory monocyte-macrophage response in vitro, in resolving skin blisters in vivo, and after cardiopulmonary bypass surgery [J]. *Circ Res*, 2004, **94**: 119-126.
- [23] Otterbein LE, Bach FH, Alam J, et al. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Nat Med*, 2000, **6** (4): 422-428.
- [24] Rose R. Atherosclerosis: an inflammatory disease [J]. *N Eng J Med*, 1999, **340** (2): 115-126.
- [25] Bauriedel G, Schluckebier S, Hurter R. Apoptosis in restenosis versus stable angina atherosclerosis: implications for the pathogenesis of restenosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, **18**: 1 132-139.
- [26] Takahashi M, Hayashi K, Yoshida K, et al. Epiregulin as major autocrine/paracrine factor released from ERK and p38MAPK-activated vascular smooth muscle cells [J]. *Circulation*, 2003, **108**: 2 524-529.
- [27] 苏海霞, 盛净. 血管损伤后平滑肌细胞表型转变及其研究进展 [J]. 国外医学心血管病分册, 2002, **29**: 10-12.
- [28] Morita T, Kourembanas S. Endothelial cell expression of vasoconstrictors and growth factors is regulated by smooth muscle cell-derived carbon monoxide [J]. *J Clin Invest*, 1995, **96** (6): 2 676-682.
- [29] Morita T, Perrella MA, Lee ME, et al. Smooth muscle cell-derived carbon monoxide is a regulator of vascular cGMP [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92** (5): 1 475-479.
- [30] Choi BM, Kim YM, Jeong YR, et al. Induction of heme oxygenase-1 is involved in anti-proliferative effects of paclitaxel on rat vascular smooth muscle cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **321** (1): 132-137.
- [31] Kronke G, Kadl A, Ikonomu E, et al. Expression of heme oxygenase-1 in human vascular cells is regulated by peroxisome proliferator-activated receptors [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27** (6): 1 276-282.
- [32] Ollinger R, Yamashita K, Bilban M, et al. Bilirubin and biliverdin treatment of atherosclerotic diseases [J]. *Cell Cycle*, 2007, **6** (1): 39-43.
- [33] David P, Richard D, Kenagy. Matrix metalloproteinase-9 overexpression enhances vascular smooth muscle cell migration and alters remodeling in the injured rat carotid artery [J]. *Circ Res*, 1999, **85**: 1 179-185.
- [34] Galis ZS, Johnson C, Godin D. Targeted disruption of the matrix metalloproteinase gene impairs smooth muscle cell migration and geometrical arterial remodeling [J]. *Circ Res*, 2002, **91** (9): 852-859.
- [35] 王薇, 李海洲, 夏豪. 血红素氧合酶-1 对动脉粥样硬化大鼠 MDA CD68 及 MMP-9 的影响 [J]. 心血管病杂志, 2006, **25** (4): 222-224.
- [36] Li W, Tanaka K, Morioka K, et al. Thymidine phosphorylase gene transfer inhibits vascular smooth muscle cell proliferation by upregulating heme oxygenase-1 and p27KIP1 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (7): 1 370-375.
- [37] Liu XM, Chapman GB, Peyton KJ, et al. Adenovirus-mediated heme oxygenase-1 gene expression stimulates apoptosis in vascular smooth muscle cells [J]. *Circulation*, 2002, **105** (1): 79-84.
- [38] Chau L-Y, Juan S-H. Induction of apoptosis in vascular smooth muscle cells by heme oxygenase-1 derived carbon monoxide [J]. *Carbon Monoxide FASEB*, 2001, **104** (15): 773-778.
- [39] Silva RF, Rodrigues CM, Brites D. Bilirubin induced apoptosis in cultured rat neural cells is aggravated by chenodeoxycholic acid but prevented by ursodeoxycholic acid [J]. *Hepatology*, 2001, **34** (3): 402-408.
- [40] Liu XM, Chapman GB, Peyton KJ, et al. Carbon monoxide inhibits apoptosis in vascular smooth muscle cells [J]. *Cardiovasc Res*, 2002, **55** (2): 396-405.
- [41] Alcaraz MJ, Fernandez P, Guillen MI. Anti-inflammatory actions of the heme oxygenase-1 pathway [J]. *Curr Pharm Des*, 2003, **9** (30): 2 541-551.

(此文编辑 陈临溪, 许雪梅)