

氧化应激和肺动脉高压血管重构

刘斌 综述, 彭军 审校

(中南大学药学院药理学系, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 氧化应激; 血管重构; 肺动脉高压; 平滑肌细胞; 内皮损伤

[摘要] 氧化应激可通过促进肺动脉血管平滑肌细胞增殖、加重血管内皮功能损伤和促进血管外基质增生等多条途径参与肺动脉血管重构, 加速肺动脉高压的发生发展进程。近来研究发现, 针对氧化应激进行的抗氧化治疗可有效地抑制肺动脉血管重构及肺动脉高压的发生, 进一步证明了氧化应激在肺动脉血管重构乃至肺动脉高压中的重要作用。阐明病理条件下氧化还原信号途径, 寻找抗氧化治疗的特异性药物, 是肺动脉高压抗氧化治疗的基础和研究方向。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Oxidative Stress and Vascular Remodeling in Pulmonary Hypertension

LIU Bin and PENG Jun

(Department of Pharmacology, School of Pharmaceutical Science, Central South University, Changsha, Hunan 410078, China)

[KEY WORDS] Oxidative Stress; Vascular Remodeling; Pulmonary Hypertension; Smooth Muscle Cells; Endothelial Dysfunction

[ABSTRACT] Oxidative stress is involved in vascular remodeling and development of pulmonary hypertension (PH) through multiple pathways such as promoting pulmonary arterial vascular smooth muscle cells proliferation, enhancing endothelial dysfunction and accelerating extracellular matrix deposition. Recent studies have indicated that antioxidant therapy can effectively inhibit pulmonary vascular remodeling and the progress of PH, which provides further evidence that oxidative stress plays an important role in pulmonary vascular remodeling as well as in PH. It is the basis of antioxidant therapy and the research direction for PH to clarify the redox signaling pathway under pathological conditions and to seek specific drugs for antioxidant therapy.

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 是由于肺动脉阻力增加引起肺循环压力进行性增加, 最终导致右心衰竭的一组临床综合症。肺动脉血管重构是 PAH 基本病理特征, 涉及实质细胞 (如内皮细胞、平滑肌细胞) 和血管间质 (如细胞外基质) 的改变, 表现为血管平滑肌细胞增殖肥大、内皮细胞功能紊乱和细胞外基质沉积等。肺动脉血管重构的机制非常复杂, 涉及神经、内分泌、免疫炎症等多个系统。新近研究表明, 氧化应激可能在肺动脉高压血管重构中发挥重要作用, 抗氧化治疗被证明能有效抑制肺动脉血管重构, 减轻和改善肺动脉高压症状。因此, 阐明氧化应激与 PAH 发生发展的关系, 对于 PAH 的防治具有重要指导意义。

1 氧化应激与 PAH 血管平滑肌细胞增殖

肺动脉平滑肌细胞 (pulmonary artery smooth muscle cells, PASMC) 是肺动脉血管中膜的主要成分, 在肺血管重构中发挥主要作用^[1, 2]。PASMC 的异常增殖表现为平滑肌细胞的收缩、增生、分化和基质的分泌, 引起肺动脉血管中膜明显增厚。多种因素 (如缺氧、炎症反应、血管异常机械力) 可引起 PASMC 的增殖。近年来的研究表明氧化应激与 PASMC 的异常增殖密切相关^[3, 4]。氧化应激是指机体活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 产生过多和/或抗氧化能力降低, 使得 ROS 在细胞内大量蓄积而引起的氧化损伤过程。ROS 主要包括超氧阴离

[收稿日期] 2011-01-24

[作者简介] 刘斌, 硕士研究生, 主要从事心血管药理学研究, Email 为 liubin0714@yahoo.com.cn。通讯作者彭军, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管药理学研究, Email 为 junpeng168@yahoo.com 和 junpeng@csu.edu.cn。

子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基($OH\cdot$)、次氯酸($HOCl$)、一氧化氮(NO)以及过氧化亚硝酸盐($ONOO^-$)等。生理水平的 ROS 具有抗炎、抵御外来病原体的入侵等作用,对于维持血管正常功能具有积极意义^[15]。但病理条件下,机体内 ROS 的积聚过多,则会引起氧化应激反应,对组织和细胞直接造成氧化损伤和(或)启动氧化还原信号途径,促进肺动脉血管重构^[6]。

研究表明低氧是导致肺血管重构和 PAH 发生的重要原因^[17],低氧条件下培养 PASMC 可诱导增殖反应,这与 ROS 含量增加有关^[18],PASMC 中 ROS 主要来源于 NADPH。多种因素如转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、凝血酶、血管紧张素 Ⅱ、血小板衍生生长因子、肿瘤坏死因子 α 、血管切应力等均可激活该酶,引起血管内 ROS 含量上升,诱发平滑肌细胞的增殖反应。低氧条件下,加入 TGF- β_1 (1 $\mu g/L$)培养 48 h 后,ROS 含量显著增高,平滑肌细胞的增殖更明显。而加入 NADPH 氧化酶抑制剂联二亚苯碘锚后,ROS 含量下降,伴随着 PASMC 增殖反应减弱,提示 TGF- β_1 促 ROS 生成可能与 NADPH 途径有关。利用 RNA 干扰技术沉默 Nox 4 基因表达后,ROS 含量明显降低,表明 TGF- β_1 可特异性调节 Nox 4 表达,诱导 ROS 生成促进 PASMC 的异常增殖^[9]。此外,凝血酶可诱导 ROS 的生成增加,进而导致血管中膜肥大以及血管重构的发生,在肺循环和体循环高血压以及动脉粥样硬化等血管性疾病的发生发展过程中起着重要作用^[10]。近年来的研究发现,其机制可能与促进 PASMC 中低氧诱导因子 2 α 表达上调,进而引起平滑肌细胞的增殖反应有关^[11]。

最近我们实验室在对野百合碱(monocrotaline, MCT)诱导的 PAH 大鼠研究中发现,肺动脉血管重构与血浆中一氧化氮合酶(NOS)抑制剂非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)水平的变化呈正相关。进一步研究发现,ADMA 促 PASMC 增殖作用不依赖于 NO 水平的变化,而与诱导氧化应激进而激活 Rho 激酶途径密切相关^[12]。

2 氧化应激与 PAH 血管内皮损伤

肺动脉内皮损伤是导致 PAH 血管重构的重要机制之一。肺血管内皮位于血液和组织之间,可分泌多种血管活性物质,如 NO、前列腺素、内皮素 1、血管紧张素 Ⅱ、血栓素 A_2 和血管内皮生长因子等。

生理条件下,这些物质水平处于平衡状态,在维持正常血管张力,调节血管平滑肌细胞增殖和迁移、血小板黏附与聚集等方面发挥重要作用。病理条件下,血管活性物质水平失衡,则易造成血管内皮功能损伤,进而引起血管平滑肌细胞过度增殖和迁移,促进血管重构。

eNOS 源性 NO 的合成受阻和(或)其活性降低是血管内皮功能受损的重要因素之一。氧化应激可抑制 eNOS 活性,降低血管中 NO 含量,影响肺血管内皮功能,引起平滑肌细胞和内皮细胞的异常增殖,进而促进肺血管重构和肺动脉高压的发生^[13-16]。有研究发现过表达 eNOS 可阻止低氧诱导的肺血管重构的发生^[17],而 eNOS 缺乏小鼠在低氧条件下更易引发肺血管重构和 PAH^[18]。Wunderlich 等^[16]发现血管内皮 eNOS 正常功能的发挥受 Caveolin-1 调控,在 Caveolin-1 基因敲除小鼠, eNOS 失去 Caveolin-1 的调节作用后可导致其解偶联,使电子流向氧分子进而形成 ROS 而 ROS 又可抑制 eNOS 使 NO 的合成进一步减少,加重血管内皮损伤,促进血管平滑肌细胞增殖和迁移,加速血管重构。

利用新生羊 PAH 模型, Teng 等^[19]检测了肺动脉内皮细胞增殖、凋亡情况和 ROS 含量,发现羊 PAH 血管内皮细胞增殖减弱,凋亡增加伴随 ROS 生成增加。进一步的研究发现,ROS 生成增加与 NADPH 表达上调密切相关,应用 NADPH 抑制剂夹竹桃麻素(apocynin, Apo)或抗氧化物 N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC),可有效降低羊 PAH 内皮细胞凋亡数,提示新生羊 PAH 血管内皮功能紊乱与氧化应激水平升高有关, NADPH 表达上调是导致氧化应激水平升高的重要原因。

3 氧化应激与细胞外基质沉积

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)主要由胶原、纤连蛋白和弹性蛋白等组成,在细胞增殖、分化、代谢及组织损伤后的修复过程中发挥了重要作用。肺动脉高压时,胶原蛋白和弹性蛋白等 ECM 的沉积是肺血管重构主要形态学特征之一^[20-21]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)在调节 ECM 合成和降解的动态平衡中起着至关重要的作用。研究表明,超氧化物、 H_2O_2 以及 $ONOO^-$ 等均可激活 MMP,即 ROS 可调节该酶的活性^[22]。进一步研究证明, MMP 的活性与肺血管重构密切相关^[23],其中 MMP-2 是引起缺氧性和 MCT 诱导的肺

血管重构的重要原因之一^[24]。新近的临床研究发现,在 PAH 患者中,血浆 MMP-2 水平显著升高,推测 MMP-2 有可能作为一种生物标志物用于临床评估 PAH 的严重程度^[25]。

4 抗氧化治疗与 PAH 血管重构

氧化应激在肺动脉血管重构和 PAH 发生发展过程中发挥着重要作用,因此抗氧化治疗已成为 PAH 防治的新思路。中药白藜芦醇在体循环和肺循环中具有抗氧化、抗炎和抗细胞增殖作用,可清除体内积存的过量的 ROS 抑制氧化应激的发生,用于 PAH 的治疗。研究报道^[26],白藜芦醇可增加内皮源性 NO 的生成,下调肺小动脉 NADPH 的表达,降低氧化应激程度,抑制肺动脉平滑肌细胞的异常增殖,改善肺小动脉内皮功能,有效对抗 MCT 诱导的肺动脉血管重构和 PAH。

罗格列酮是过氧化物增殖物激活型受体 γ (PPAR γ) 的激动剂。PPAR γ 在免疫细胞、血管内皮、血管平滑肌以及肺组织中均有表达,PPAR γ 的激活可降低 NADPH 的表达及其活性,同时还能增加 Cu/Zn-SOD 的表达及其活性。研究表明,罗格列酮可有效对抗低氧诱导的大鼠肺动脉血管重构,其机制与抑制平滑肌细胞的增殖,降低胶原蛋白和弹性蛋白的沉积以及增加 MMP-2 的活性有关^[27]。

他汀类药物作为羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂,可通过竞争性抑制内源性 HMG-CoA 还原酶,抑制胆固醇的合成,已广泛应用于高脂血症的治疗。新近的研究发现,罗舒伐他汀^[28]、阿托伐他汀^[29]等他汀类药物可用于 PAH 的治疗,其机制可能与修复血管壁内皮细胞和平滑肌细胞的功能,抑制平滑肌细胞的增殖、氧化应激和炎症的发生有关。

此外,通过采用基因治疗手段使肺动脉血管内的抗氧化酶过表达,可有效地清除机体内 ROS 蓄积,进而逆转肺血管重构和改善 PAH 症状。利用 EC-SOD 基因过表达小鼠, Nozaki-Grayck 等^[30]发现,EC-SOD 可抑制肺血管壁上细胞的异常增殖、肺小血管的肌化以及胶原蛋白的沉积,有效延缓缺氧引起的 PAH 以及肺血管重构的发生,其机制可能与转录因子早期生长反应因子 (early growth response-1, Egr-1) 及其下游靶基因组织因子的下调有关。EC-SOD 的过表达还可有效延缓 MCT 诱导的 PAH,抑制血管重构以及平滑肌细胞的增殖^[31]。

5 结 语

肺动脉血管重构是 PAH 的重要发病机制,而氧化应激在肺动脉血管重构的发生发展中起重要作用。虽然有关氧化应激与 PAH 的研究很多,但详细机制并未阐明,特别是对氧化还原信号途径了解不够。目前 PAH 的抗氧化治疗主要用于动物实验,临床研究尚少,且大多是广谱抗氧化治疗,缺乏特异性疗效。随着人们对氧化应激机制特别是氧化还原信号途径认识的不断深入,特异性抗氧化治疗有望成为防治 PAH 的一项新策略。

[参考文献]

- [1] Chen B, Calvert AE, Cui H, et al. Hypoxia promotes human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation through induction of arginase [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009; 297 (6): L1 151-159.
- [2] Morrell NW, Adnot S, Archer SL, et al. Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension [J]. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54 (1 Suppl): S20-31.
- [3] Sanders KA, Hoidal JR. The NOX on pulmonary hypertension [J]. *Circ Res* 2007; 101 (3): 224-226.
- [4] Perez-Vizcaino F, Cogolludo A, Moreno L. Reactive oxygen species signaling in pulmonary vascular smooth muscle [J]. *Respir Physiol Neurobiol* 2010; 174 (3): 212-220.
- [5] Heistad DD, Wakisaka Y, Miller J, et al. Novel aspects of oxidative stress in cardiovascular diseases [J]. *Circ J* 2009; 73 (2): 201-207.
- [6] DeMarco VG, Habibi J, Whaley-Connell AT, et al. Oxidative stress contributes to pulmonary hypertension in the transgenic (mRen2) 27 rat [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 294 (6): H2 659-668.
- [7] Fuchs B, Dietrich A, Gudermann T, et al. The role of classical transient receptor potential channels in the regulation of hypoxic pulmonary vasoconstriction [J]. *Adv Exp Med Biol* 2010; 661: 187-200.
- [8] Zhao JP, Zhou ZG, Hu HL, et al. The relationships among reactive oxygen species, hypoxia-inducible factor 1 α and cell proliferation in rat pulmonary arterial smooth muscle cells under hypoxia [J]. *Sheng Li Xue Bao* 2007; 59 (3): 319-324.
- [9] Sturrock A, Cahill B, Norman K, et al. Transforming growth factor-beta 1 induces Nox4 NAD(P)H oxidase and reactive oxygen species-dependent proliferation in human pulmonary artery smooth muscle cells [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290 (4): L661-673.
- [10] Herkert O, Djordjevic T, BeAliba RS, et al. Insights into the redox control of blood coagulation: role of vascular

- NADPH oxidase-derived reactive oxygen species in the thrombogenic cycle [J]. *Antioxid Redox Signal* 2004, 6 (4): 765-776
- [11] Diebold I, Flugel D, Becht S, et al. The hypoxia-inducible factor-2 α is stabilized by oxidative stress involving NOX4 [J]. *Antioxid Redox Signal* 2010, 13 (4): 425-436
- [12] Li XH, Peng J, Tan N, et al. Involvement of asymmetric dimethylarginine and Rho kinase in the vascular remodeling in monocrotaline-induced pulmonary hypertension [J]. *Vasc Pharmacol* 2010, 53 (5-6): 223-229
- [13] Demarco VG, Whaley-Connell AT, Sowers JR, et al. Contribution of oxidative stress to pulmonary arterial hypertension [J]. *World J Cardiol* 2010, 2 (10): 316-324
- [14] Yen CH, Leu S, Lin YC, et al. Sildenafil limits monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats through suppression of pulmonary vascular remodeling [J]. *J Cardiovasc Pharmacol* 2010, 55 (6): 574-584
- [15] Grobe AC, Wells SM, Benavidez E, et al. Increased oxidative stress in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension: role of NADPH oxidase and endothelial NO synthase [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006, 290 (6): L1069-077.
- [16] Wunderlich C, Schmeisser A, Heenwagen C, et al. Chronic NOS inhibition prevents adverse lung remodeling and pulmonary arterial hypertension in caveolin-1 knockout mice [J]. *Pulm Pharmacol Ther* 2008, 21 (3): 507-515
- [17] Ozaki M, Kawashima S, Yamashita T, et al. Reduced hypoxic pulmonary vascular remodeling by nitric oxide from the endothelium [J]. *Hypertension* 2001, 37 (2): 322-327.
- [18] Steudel W, Scherrer-Crosbie M, Bloch KD, et al. Sustained pulmonary hypertension and right ventricular hypertrophy after chronic hypoxia in mice with congenital deficiency of nitric oxide synthase 3 [J]. *J Clin Invest* 1998, 101 (11): 2468-477.
- [19] Teng RJ, Eis A, Bakhtashvili I, et al. Increased superoxide production contributes to the impaired angiogenesis of fetal pulmonary arteries with in utero pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009, 297 (1): L184-195.
- [20] Xu MH, Gong YS, Su MS, et al. Absence of the adenosine A_{2A} receptor confers pulmonary arterial hypertension and increased pulmonary vascular remodeling in mice [J]. *J Vasc Res* 2010, 48 (2): 171-183
- [21] Estrada KD, Chesler NC. Collagen-related gene and protein expression changes in the lung in response to chronic hypoxia [J]. *Biomech Model Mechanobiol* 2009, 8 (4): 263-272
- [22] Dasgupta J, Kar S, Liu R, et al. Reactive oxygen species control senescence-associated matrix metalloproteinase-1 through c-Jun-N-terminal kinase [J]. *J Cell Physiol* 2010, 225 (1): 52-62
- [23] Herget I, Novotna I, Bibova I, et al. Metalloproteinase inhibition by Batimastat attenuates pulmonary hypertension in chronically hypoxic rats [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003, 285 (1): L199-208
- [24] Fridal E, Gest V, Vieillard-Baron A, et al. Gelatinase expression in pulmonary arteries during experimental pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J* 2001, 18 (5): 838-845
- [25] Schumann C, Lepper PM, Frank H, et al. Circulating biomarkers of tissue remodeling in pulmonary hypertension [J]. *Biomarkers* 2010, 15 (6): 523-532
- [26] Csiszar A, Labinskyy N, Olson S, et al. Resveratrol prevents monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats [J]. *Hypertension* 2009, 54 (3): 668-675
- [27] Crossno Jr J, Garat CV, Reusch JE, et al. Rosiglitazone attenuates hypoxia-induced pulmonary arterial remodeling [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007, 292 (4): L885-897.
- [28] Demarco VG, Habibi J, Whaley-Connell AT, et al. Rosuvastatin ameliorates the development of pulmonary arterial hypertension in the transgenic (mRen2) 27 rat [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009, 297 (3): H1128-139
- [29] Jiang BH, Tardif JC, Sauvageau S, et al. Beneficial effects of atorvastatin on lung structural remodeling and function in ischemic heart failure [J]. *J Card Fail* 2010, 16 (8): 679-688
- [30] Nozik-Rayck E, Sulman HB, Majka S, et al. Lung EC-SOD overexpression attenuates hypoxic induction of Egr-1 and chronic hypoxic pulmonary vascular remodeling [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008, 295 (3): L422-430
- [31] Kamezaki F, Tasaki H, Yamashita K, et al. Gene transfer of extracellular superoxide dismutase ameliorates pulmonary hypertension in rats [J]. *Am J Respir Crit Care Med* 2008, 177 (2): 219-226

(此文编辑 文玉珊)