

本文引用: 乔莞宁, 陈虹印, 张 扬. 氧化应激与动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(4): 312-321. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.04.005.

· 氧化应激与动脉粥样硬化专栏 ·

[文章编号] 1007-3949(2023)31-04-0312-10

氧化应激与动脉粥样硬化

乔莞宁, 陈虹印, 张 扬

(中山大学公共卫生学院(深圳), 广东省深圳市 518000)

[摘 要] 动脉粥样硬化是一种以脂质沉积推动、以粥样斑块在动脉壁堆积进而造成动脉狭窄为主要病理过程的一种慢性心血管疾病,是导致患者高死亡率和高致残率的重要因素。粥样斑块的形成发展涉及多种细胞和分子,是机制复杂的慢性退化过程。氧化应激是机体活性氧成分与抗氧化系统之间失衡时引起的一系列适应性反应,被认为是动脉粥样硬化形成和发展的关键机制之一。本综述将从机体内活性氧的不同来源出发,总结氧化应激与动脉粥样硬化之间的关系,归纳动脉粥样硬化中氧化应激对不同生物分子及生物过程的影响,并简要介绍抗氧化药物在动脉粥样硬化治疗中的研究和应用。

[关键词] 动脉粥样硬化; 氧化应激; 活性氧; 抗氧化治疗

[中图分类号] R363;R589

[文献标识码] A

Oxidative stress and atherosclerosis

QIAO Wanning, CHEN Hongyin, ZHANG Yang

(School of Public Health (Shenzhen), Sun Yat-sen University, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

[ABSTRACT] Atherosclerosis is a complicated pathophysiological process characterized by the accumulation of atheromatous plaque in the arterial wall and subsequent narrowing of the arteries, and it is one of the major causes of the high mortality and disability in cardiovascular disease. The initiation and progression of atherosclerosis is a chronic degenerative process with complicated mechanisms involving multiple cells and molecules. Oxidative stress, a series of adaptive responses caused by the imbalance between reactive oxygen species and antioxidant system, is considered as one of the crucial mechanisms in the development of atherosclerosis. This review presents the relationship between oxidative stress and atherosclerosis from the perspective of the different sources of reactive oxygen species in the organism, summarizes the effects of oxidative stress on different cells, biomolecules and biological processes in atherosclerosis, and briefly describes the clinical research and applications of antioxidant agents in the treatment of atherosclerosis.

[KEY WORDS] atherosclerosis; oxidative stress; reactive oxygen species; antioxidant therapy

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)是人类的主要死因之一,发病率逐年上升,约是40%中国人口死亡的原因,对个人健康和社会发展危害巨大^[1]。动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是冠状动脉疾病、脑卒中和外周动脉疾病等最为常见的CVD的重要病理过程。As是一种缓慢进展的大、中动脉慢性疾病,以动脉内壁斑块的形成为主要特征,即脂质、胆固醇、钙、血栓、炎症细胞、平滑肌细胞和坏死细胞碎片等在血管内皮细胞(endothelial cells, EC)下方的内膜空间中的积累和转化。该过程迁延

时间长,涉及病理过程多,发生原因和分子机制至今尚不完全明确。近年来大量的证据表明,氧化应激在As的形成和发展中起着至关重要的作用。

氧化应激是指在机体面对各种风险因子的刺激时,细胞内氧化物的产生与抗氧化作用之间产生的不平衡,最终损伤机体生物系统。具体而言,氧化物主要指活性氧(reactive oxygen species, ROS),一般情况下由机体正常代谢产生,可杀死体内有害微生物、参与机体免疫过程,还可作为胞内第二信使参与信号转导,维持组织细胞的正常功能。然而

[收稿日期] 2022-08-09

[修回日期] 2022-12-28

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(82000462)

[作者简介] 乔莞宁,硕士研究生,研究方向为脂质代谢和内皮细胞功能, E-mail: qiaogn@mail2.sysu.edu.cn。通信作者张 扬,副教授,硕士研究生导师,研究方向为血管与代谢生物学的分子机制, E-mail: zhangy2293@mail.sysu.edu.cn。

当其的生成速率大于清除速率时,过量或持续的 ROS 在体内蓄积并引起各种不良生物反应,进而导致疾病的发生。ROS 的致病机制主要分为两种类型:一种是直接氧化生物大分子,如膜脂、酶和结构蛋白等,导致细胞功能异常甚至死亡;另一种是氧化还原信号传导异常,如非生理性产生的氧化剂[如过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)]浓度达到

毒性水平时可使其第二信使功能失效。在 As 中,两种氧化应激机制并存,斑块中脂质过氧化物和氧化应激标志物浓度较正常大幅增加,ROS 同时参与了斑块形成中血管细胞迁移、增殖等多条信号通路的传导^[2]。基于此,本文就目前氧化应激在 As 发展中的作用和分子机制的研究进展进行归纳总结(图 1)。

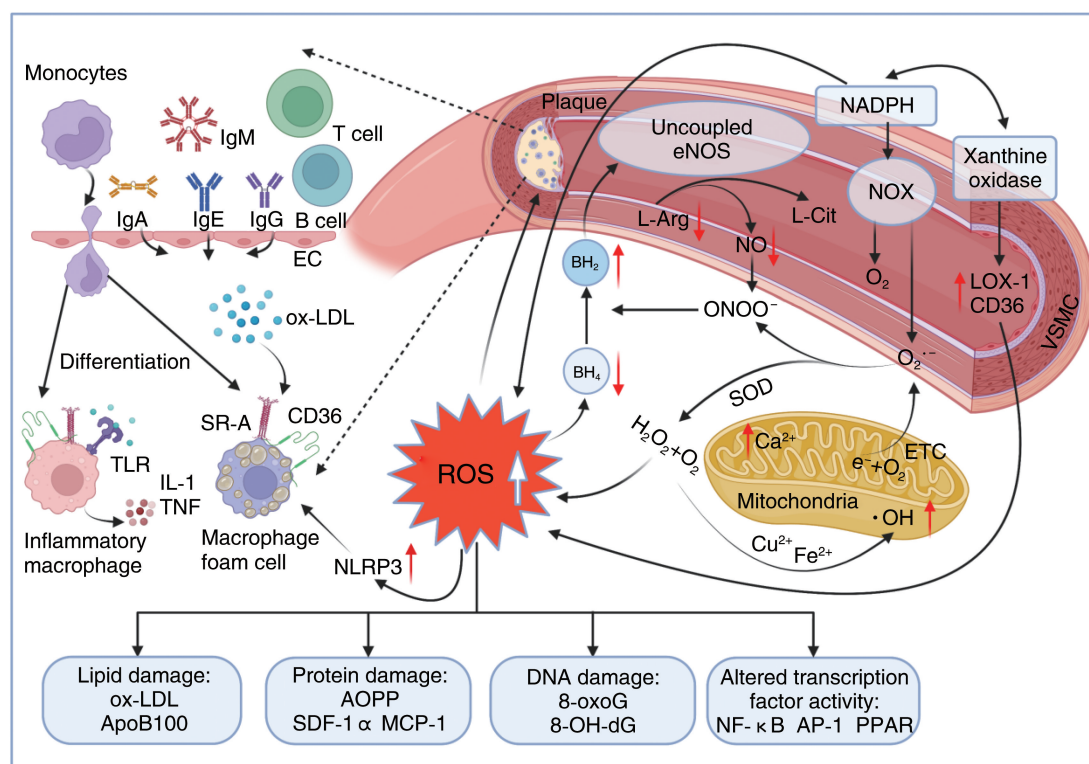


图 1. 动脉粥样硬化中氧化应激的来源和作用

Figure 1. The role of oxidative stress in atherosclerosis

1 As 中 ROS 的来源

ROS 是一系列分子氧衍生物的统称,在体内以酶或非酶方式由氧分子单电子转移还原形成,主要分为自由基和非自由基 ROS,其中自由基 ROS 包括超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$)、过氧自由基($ROO\cdot$)和烷氧基自由基($RO\cdot$),非自由基 ROS 包括 H_2O_2 、有机氢过氧化物、单线态分子氧、电子激发羰基、臭氧、次氯酸和次溴酸。细胞内 ROS 的来源可分为内源性和外源性,其中内源性 ROS 由线粒体系统和非线粒体系统产生。在大、中动脉血管壁中,线粒体系统产生的 ROS 主要是通过氧化磷酸化过程中线粒体内膜的电子传递链(复合物 I~V),而非线粒体 ROS 产生酶,主要包括烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶[nicotinamide adenine

dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase, NOX]、黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO)、解偶联的内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)等。某些条件下,非线粒体产生的 ROS 也可以刺激线粒体 ROS 的产生。

1.1 NOX

血管中 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的主要来源是 NOX 系统。NOX 是具有转移电子功能的多亚基跨膜氧化酶超家族,沿着其催化亚基中包含的电子传递链向氧分子转移电子,从而产生超氧化物。NOX 均含有至少 6 个跨膜结构域及胞质黄素腺嘌呤二核苷酸和 NADPH 结合结构域。在哺乳动物细胞中,NOX 有 7 种亚型: NOX1、NOX2、NOX3、NOX4、NOX5 和双重氧化酶 DUOX1 和 DUOX2,其中 NOX1、NOX2、NOX4 和 NOX5 主要在心血管组织中表达^[3]。

NOX1 在生理条件下表达水平较低,产生较低水平的 $O_2^{\cdot-}$,As 中 NOX1 表达升高^[4]。此外,NOX1 还参与血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 的迁移和增殖、细胞外基质的产生和损伤后新生内膜的形成。NOX2 的激活需要蛋白激酶 C ζ (protein kinase C ζ , PKC ζ) 介导的 p67^{phox} 膜转位,这一过程有助于内皮细胞中血栓素 A2 受体激活后 $O_2^{\cdot-}$ 生成增加,且血管 NOX2 在 As 和动脉损伤模型中表达上调^[5]。NOX4 主要产生 H_2O_2 ,受血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II)、缺氧诱导因子 1 α 、血小板源性生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) 等调节,也影响血管扩张能力、内皮细胞的增殖和功能调节。NOX4 的遗传缺失可增加低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR) 敲除小鼠模型中 As 斑块负担^[6]。值得一提的是,NOX4 在 As 进程中可以作为炎症和血管重塑的负调节剂,对心血管系统起到一定的保护效应^[7]。此外,高表达的 NOX4 通过 eNOS 介导促进血管生成和缺血后的血流恢复。NOX5 存在于内皮细胞的核周内质网及 VSMC 质膜上,与其他血管 NOX 不同,NOX5 具有独特的氨基末端钙调素样结构域,可与 Ca^{2+} 结合,故以 Ca^{2+} 敏感方式介导 ROS 的产生来调节血管功能。有研究表明,冠心病患者冠状动脉 NOX5 的蛋白和 mRNA 水平较正常人显著增加,且血管膜 ROS 的产生量和 As 的严重程度与 NOX5 的表达显著相关,反映其在 As 的氧化应激中发挥重要作用^[8]。此外,NOX-ROS 还可以激活激酶 RhoA,调节心肌素相关转录因子的释放和血清反应因子的激活,从而激活平滑肌 α 肌动蛋白,诱导 VSMC 分化,加快 As 进程。

1.2 XO

XO 主要存在于内皮细胞和血浆中,属于黄嘌呤氧化还原酶家族,其主要通过肝脏合成的黄嘌呤脱氢酶水解转化形成,也有证据表明内皮细胞本身可以表达黄嘌呤脱氢酶 (后转化为 XO),且随着内皮 NOX 活性的增加而增加。XO 先催化次黄嘌呤转化为黄嘌呤,后者进一步转化为尿酸,在此过程中,XO 可将电子转移到 O_2 ,生成 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 ,是病理生理学条件下血管氧化应激的另一个主要来源^[9]。

XO 活性与氧化应激过程中 ROS 表达是否过量息息相关。Ang II 可上调内皮细胞 XO 的蛋白表达及相关的超氧化物歧化产物增加,低 pH 值、低氧张力和嘌呤浓度则有利于 H_2O_2 的产生。有研究表明,XO 的高表达和活性增加可导致链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠骨骼肌中 ROS 产生增加^[10]。

不少证据表明 XO 在 As 中的重要作用。在 As 斑块中,XO 的表达水平升高^[11]。XO 刺激巨噬细胞和 VSMC 上的凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 (lectine like oxidized low density lipoprotein receptor-1, LOX-1) 和 CD36 表达,增加 ROS 的产生,并通过 LOX-1/NLRP3 途径诱导泡沫细胞形成。XO 的竞争性抑制剂别嘌呤醇在小鼠中可降低运动诱导的氧化应激并改善骨骼肌功能,在人群中可减轻吸烟者的内皮功能障碍,也可在降低冠状动脉疾病风险方面发挥作用^[12]。而 XO 的另一种抑制剂非布索坦可抑制载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 敲除小鼠 As 斑块形成,降低血管 ROS 水平。此外,高尿酸血症在青年人群中被认为是 As 发生的独立危险因素,而 XO 活性与高尿酸血症的发生相关^[13]。

1.3 解偶联的 eNOS

eNOS 是一氧化氮合酶的一种亚型,通过转移电子以激活分子氧并将 L-精氨酸氧化成 L-瓜氨酸和一氧化氮 (nitric oxide, NO)。NO 作为内源性血管扩张剂,可减少 ROS 和脂质过氧化的产生,是参与抑制 As 斑块形成的关键因子。eNOS 解偶联的特征在于电子从还原酶结构域中的转运链中泄漏并转移到分子氧,产生 $O_2^{\cdot-}$ 而非 NO,导致 NO 生物利用度降低和氧化应激增加,从而引起或加重内皮功能障碍,这与 As 发病息息相关。

eNOS 解偶联最具特征的触发因素是辅助因子四氢生物蝶呤 (tetrahydrobiopterin, BH₄) 的氧化。BH₄ 作为 eNOS 中“氧化还原开关”,其生物合成在 As 疾病中受到氧化应激的负面影响。ROS 能够将 BH₄ 氧化为 BH₂,抑制二氢叶酸还原酶将 BH₂ 还原为 BH₄,从而不断消耗 BH₄ 并促进 eNOS 解偶联。除此之外,超氧阴离子还直接清除 NO,降低其生物利用度并形成过氧亚硝酸盐 (peroxynitrite, ONOO⁻)。ONOO⁻ 可氧化 BH₄ 和 eNOS 蛋白对底物 L-精氨酸的结合位点,且速率常数较直接反应更高,致使 eNOS 进一步解偶联。此外,BH₄ 合成的限速酶三磷酸鸟苷环水解酶 1 也是重要的 eNOS 功能调节因子,其表达水平若与 eNOS 不匹配也将导致解偶联发生。解偶联的发生又促进了 ROS 的产生释放,从而陷入恶性循环。eNOS 解偶联的机制还包括 eNOS 蛋白还原酶结构域的一个或多个半胱氨酸残基的 S-谷胱甘肽酰化,eNOS Thr495 和 Tyr657 处的磷酸化干扰 Ca^{2+} /CaM 的结合^[14],细胞内非对称性二甲基精氨酸水平升高和 L-精氨酸利用度降低等。

1.4 线粒体电子传递链

线粒体被认为是多数细胞中 ROS 产生的主要

细胞器,主要通过位于线粒体膜内电子传递链(electron transport chain,ETC)的中间代谢产物氧化磷酸化产生。在生理条件下,该途径受到严格的调控,以避免细胞氧化损伤,但 ETC 中的一小部分电子不遵循常规转移,而是直接从 ETC 中跳出还原 O_2 形成 $O_2^{\cdot-}$,或再经线粒体和细胞质基质中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)催化,歧化为 H_2O_2 和 O_2 。 H_2O_2 本身的活性不足以对生物分子造成破坏,但它可以穿过生物膜,通过与过渡金属离子如 Fe^{2+} 或 Cu^{2+} 的相互作用而形成极具破坏性的 $\cdot OH$,与碳水化合物、脂质、蛋白质和核酸反应。关于 ROS 生成的确切位点及各自相对贡献度仍未完全明确,但已有 11 个参与氧化和电子传递的位点被鉴定为哺乳动物线粒体中的 ROS 生产者,复合物 I(NADH-泛醌氧化还原酶)、复合物 II(琥珀酸泛醌氧化还原酶)、复合物 III(泛醇-细胞色素 c 氧化还原酶)和各种线粒体酶促组分以及呼吸链组分均有报道^[15]。其中,复合物 I 依赖性超氧化物仅释放到基质中,且几乎不从完整的线粒体中逸出。而复合物 III 可向线粒体内膜的两侧释放超氧化物。还有一些非呼吸链酶(甘油-3-磷酸脱氢酶、p66^{shc})可在线粒体中产生超氧化物,然而其贡献度有待商榷。

线粒体 ROS(mitochondrial ROS,mtROS)的水平取决于线粒体的呼吸活动、代谢水平和功能运转,其调节受多方因素影响。与常规缺氧状态下细胞代谢减弱相反,缺氧反而导致 mtROS 生成增加,其原因可能是复合物 III 运输电子或参与氧化磷酸化的能力不是生理状态下所必需的,但在缺氧期间能够衍生 ROS 并稳定缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor,HIF)以帮助细胞适应缺氧^[16]。mtROS 水平的“微调”还与 ROS 诱导的 ROS 释放(ROS-induced ROS release,RIRR)机制密切相关。由于缺氧、缺血等多种原因导致线粒体内/外 ROS 的基础生成提高,可激活线粒体膜通透性转换孔和/或内膜阴离子通道,如果不适时调整则可能点燃 RIRR 造成级联放大,从而引起恶性循环。

mtROS 通常作为心脏肾素-Ang II-醛固酮系统的信号分子,该系统的过度激活有助于募集炎症细胞,触发内皮功能障碍。Ang II 在 As 初期可诱导斑块形成,是 As 发生的最关键因素之一。线粒体靶向抗氧化剂 MitoQ 可引起 As 形成相关重要生理过程的改变,包括但不限于降低 ApoE^{-/-}小鼠模型中斑块内的巨噬细胞含量和细胞增殖,逆转老年小鼠体内主动脉硬度,引起抗血小板作用等^[17]。线粒体还可以与其他来源的 ROS 相互作用,协同促进 ROS 的

产生。有研究表明人白细胞中 mtROS 可诱导 NOX 活化,导致 NOX 和 XO 系统产生更有效的胞质 ROS,线粒体靶向抗氧化剂 MitoQ10 也可减少 NOX 衍生的 ROS 产生^[18]。

2 As 中氧化应激对生物分子及生物过程的变化

氧化应激时生成的 ROS 不仅对生物大分子如脂质、蛋白质、核酸等产生氧化作用,还可作为第二信使参与细胞信号传导,从多个角度影响 As 的发生发展。

2.1 氧化应激对脂质的损害

细胞膜或细胞器膜上许多不饱和脂肪酸对 ROS 极其敏感,容易受到损伤而导致“脂质过氧化”,最为典型的为低密度脂蛋白(low density lipoprotein,LDL)的氧化修饰产物,即氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein,ox-LDL)。有研究对近年观察性研究的系统评价和荟萃分析显示,循环 ox-LDL 的增加与临床动脉粥样硬化性 CVD 相关^[19]。最初,微氧化的 LDL 只有脂类(主要是磷脂)被氧化修饰,通过刺激内皮细胞释放更多的趋化因子和细胞因子来诱导炎症变化,从而导致氧化程度增加,并促进白细胞的募集、迁移。当 LDL 被进一步氧化时,载脂蛋白 B100 也被修饰,ox-LDL 不再被 LDLR 识别,而是与清道夫受体(scavenger receptor,SR)产生高度的亲和力,且这一过程无负反馈机制,导致巨噬细胞中胆固醇酯大量聚积,形成泡沫细胞。此外,在 LDL 的氧化过程中可产生 H_2O_2 并形成醛类产物,如 4-HNE、丙二醛等,这些产物进一步与载脂蛋白 B100 的氨基反应形成共价加合物,从而促进 As 斑块的形成。

清道夫受体中,SR-A I 型和 II 型、CD36 和 LOX-1 被认为发挥重要作用,特别是 LOX-1 的上调。LOX-1 的激活不仅作用于 ox-LDL 的摄取和泡沫细胞的形成,还可促进内皮功能障碍、加速内皮细胞凋亡、增加单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein-1,MCP-1)的表达、降低 eNOS 活性。在晚期斑块中,LOX-1 表达更高,加剧了斑块的不稳定性甚至破裂。与 LOX-1 类似,CD36 在摄取 ox-LDL 和刺激单核/巨噬细胞迁移、泡沫细胞形成中的作用已有多项研究报道^[20],其更多参与调节内皮硬度,也识别在调节内皮生物力学特性中起重要作用的其他配体(如黏附性糖蛋白、凝血酶原蛋白和胶原等)^[21]。

高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)的主要蛋白质成分为载脂蛋白 A I,在其被氧化修饰后, HDL 介导的胆固醇从外周组织细胞向肝肠反向转运能力降低,抗炎特性下降,从而减弱了 HDL 在 As 发生发展中的保护作用^[22]。除此之外,氧化型 HDL 还可通过激活 NADPH 氧化酶诱导 VSMC 增殖和迁移,激活 CD36 受体和丝裂原活化蛋白激酶通路,导致进一步的氧化应激和细胞毒性。

2.2 氧化应激对蛋白质的影响

高级氧化蛋白产物(advanced oxidative protein product, AOPP)是蛋白质氧化损伤的新型生物标志物,也是一类新型炎症介质,多由髓过氧化物酶形成的 HOCL 氧化白蛋白产生。AOPP 的形成是不可逆的,不能被蛋白水解酶轻易水解或被维生素 C 和谷胱甘肽等抗氧化剂还原。颈动脉内膜中膜厚度与 AOPP 水平呈正相关,提示 AOPP 水平升高可能表明存在早期 As 改变。综合其他研究结果,血浆 AOPP 水平也与 As 的发展阶段密切相关,可用作 As 的早期标志物和独立强预测因子。

AOPP 通过多种机制参与 As 的形成。首先, AOPP 的氧化代谢可能引起超氧化物如 O_2^- 、 H_2O_2 和 OH^- 的产生,诱导内皮功能障碍;同时 ROS 可以促使白蛋白氧化成 AOPP,导致氧化应激的爆发,而使用抗氧化剂对 AOPP 诱导的氧化损伤和细胞活性降低起到了一定的保护作用。其次, AOPP 可以诱导炎症细胞因子的合成,刺激趋化因子(如 SDF-1 α 和 MCP-1)表达,以促进细胞黏附。最后, AOPP 还可以加剧代谢紊乱干预 As 的进程。例如, AOPP 通过下调 ATP 结合盒转运蛋白(ATP-binding cassette protein, ABC)A1 和 G1 在高脂饮食的 ApoE-KO 小鼠中的表达,增加脂质积累并促进 As 发展^[23];以及通过抑制 SR-B I 介导的高密度脂蛋白胆固醇逆向转运,导致代谢紊乱。

此外,蛋白质羰基化是一种常见的非酶氧化翻译后修饰,被认为是氧化应激的生物标志物之一。在许多组织中,急/慢性的氧化应激均可使蛋白质羰基化的发生增高。脂肪细胞中,线粒体 GSH-S 转移酶的沉默导致与三羧酸循环代谢、ETC 功能和支链氨基酸代谢相关的酶和蛋白质的羰基化增加,从而导致呼吸受损、膜电位降低和超氧化物产生增加,其中 ROS 导致线粒体蛋白羰基化,进一步引起 ROS 升高。

总之,在冠状动脉疾病患者中,蛋白质氧化标志物水平都显著高于健康对照人群,提示 AOPP 的形成和蛋白质羰基化等蛋白质氧化改变是氧化应

激引起 As 的重要步骤之一。

2.3 氧化应激对 DNA 的影响

DNA 损伤也是氧化应激与 As 相关的重要改变之一。DNA 损伤表现为多种形式,包括单链断裂、双链断裂、碱基修饰和错配等,其中碱基修饰特别容易由 ROS 介导的氧化反应诱导。鸟嘌呤的低氧化还原电势使这一碱基特别脆弱,当被 ROS 自由基攻击其第 8 位碳原子时,产生 8-二氢-8-氧代鸟嘌呤(8-dihydro-8-oxyguanine, 8-oxoG)、8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OH-dG)等加合物,被认为是氧化性 DNA 损伤的典型指标^[24]。与健康受试者相比, CVD 患者的 8-OH-dG 水平较高,且与 CVD 之间存在显著正相关^[25]。高脂喂养 24 周后,雄性新西兰白兔 As 斑块显示 DNA 损伤标志物 8-oxoG 水平升高,并产生多于生理状态的 DNA 链断裂,这可在降低膳食脂质含量 4 周后恢复正常,氧化性 DNA 损伤大大降低^[26]。

DNA 氧化损伤表现为胞嘧啶碱基中甲基化修饰和突变升高。ROS 通过 DNA 损伤和 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)1 活性的变化引起 DNA 甲基化的变化。有研究证明胞嘧啶的羟基化可导致其甲基化降低 90%。同时, DNA 氧化损伤标志物 8-OH-dG 可对 DNA 的甲基化状态产生负面影响,并影响 DNMT 的功能。而 DNMT 活性的变化主要由 H_2O_2 诱导,其能够改变 DNA 的甲基化模式。在 As 病变的情况下,通过 DNMT1 与染色质的结合, H_2O_2 可以改变胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(cytosine-phosphate-guanine, CpG)位点的甲基化状态。此外, SOD2 基因通过抑制 DNA 甲基化引起 VSMC 增殖,与 As 相关。

除此之外,线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 缺乏组蛋白且更易产生复制错误和有害突变,与呼吸链功能障碍和 ROS 产生密切相关。有研究证明外源性 ROS 以剂量依赖性方式引起 mtDNA 损伤并减少 mtDNA 编码的基因转录^[27]。对 As 患者白细胞 mtDNA 的研究显示,某些 mtDNA 突变与 As 之间存在正相关,其原因可能是当巨噬细胞含有与线粒体自噬缺陷相关的 mtDNA 突变时,修饰过的 LDL 颗粒引起的巨噬细胞促炎反应不会消退,而是继续进行脂质积累刺激循环加剧^[28],动脉管壁最终形成慢性局部炎症并伴有不受控的脂质积聚,导致 As 病变。

2.4 氧化应激对转录因子活性的影响

在 As 过程中,氧化应激致使转录因子活性改变起到了重要作用,包括 ROS 直接进行氧化修饰和通

过磷酸化/去磷酸化修饰。其中核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 和活化蛋白 1 (activator protein-1, AP-1) 是受氧化应激影响的主要转录因子。ROS 可以直接氧化 NF- κ B 的特异性半胱氨酸以抑制其 DNA 结合能力,并伴随部分 NF- κ B 谷胱甘肽化从而降低转录活性,外源性 H_2O_2 也可以部分通过 I κ B α 的磷酸化来实现 NF- κ B 活化调节,因此 ROS 对 NF- κ B 的调节具有双向性。NF- κ B 可促进内皮细胞中多个促炎和促黏附基因 [如血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、MCP-1 和 E-选择素] 的表达。AP-1 是由 c-Fos、c-Jun 和活化转录因子家族组成的异源二聚体,可通过调控多种基因的表达参与细胞的炎症反应、组织损伤和生长控制。内皮细胞特异性抑制 NF- κ B 可减少和稳定 ApoE^{-/-} 小鼠的 As 斑块,其机制与黏附分子、促炎细胞因子/趋化因子的表达下降致使巨噬细胞募集减少有关^[29]。

过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 由核激素受体超家族的转录因子组成,参与配体依赖的转录因子活性的调节,在脂类和葡萄糖代谢中起关键作用。最近的报道表明,血管细胞中的 PPAR 可被氧化修饰的脂肪酸选择性激活,说明 PPAR 是血管中氧化还原敏感转录因子,并参与 As 及血管再狭窄发生发展的炎症反应过程。

3 As 相关细胞中的氧化应激作用

3.1 氧化应激对血管内皮细胞的影响

血管内皮功能障碍通常被认为是 As 形成的关键环节。血管内皮细胞形成的单细胞层通过紧密连接将血液与血管壁分开,当这一屏障变得“渗漏”,血浆 LDL 和富含甘油三酯的脂蛋白摄取增多,引起内皮细胞对氧化应激的响应,导致 P-选择素、E-选择素、VCAM-1 和细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 等黏附因子表达增高,从而促进单核细胞、其他白细胞和趋化因子 (如 CCR2 和 CCR5) 的黏附,导致斑块形成。

内皮功能障碍的主要原因是 NO 的生物利用度受损。NO 是一种有效的内源性血管扩张剂,可以防止血小板黏附和聚集,还可以阻止促炎分子 (如 NF- κ B)、黏附分子 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达。如前所述,eNOS 系统解偶联减少了 NO 的产生。这些作用可导致血管舒张反应减弱甚至消失,增加血小板聚集,诱导增强内皮促凝作用,并促进 VSMC 的增

殖和迁移,从而促进血栓形成。与此同时,NOX 与 NO 相互作用产生的氧化剂 ONOO⁻ 具有高反应性,可以轻易与生物大分子相互作用,如氧化血红素蛋白和含铁硫酶 (如 eNOS),诱导其失活,还与半胱氨酸反应放大氧化应激效应。

ox-LDL 在 As 发生的早期阶段具有重要意义,其受体 LOX-1 介导的精氨酸酶 II 参与细胞中精氨酸/鸟氨酸浓度的调节,由于能竞争共同的底物 L-精氨酸,进而下调 eNOS,促进内皮氧化应激^[30]。ox-LDL 还参与 NF- κ B 的转录,增加内皮细胞中黏附分子的表达,从而导致内皮功能障碍。ox-LDL 也增加了 MCP-1 的表达,这有助于单核细胞募集,加速 As 进程。

氧化应激还可以间接诱导内皮损伤,例如,降低 PPAR γ 活性或脂联素水平。对大鼠微血管内皮细胞进行 ox-LDL 刺激,观察到 PPAR γ 激动剂西格列酮可通过调节 eNOS 活性和 LOX-1 信号传导保护内皮细胞免受 ox-LDL 侵害^[31]。此外,AMP 活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 可在包括血管细胞的几种细胞中激活 NOX^[32],在预防血管氧化损伤以及内皮功能障碍方面具有重要作用,故一些 AMPK 激活剂 (如他汀类药物) 可改善内皮功能并在一定程度上抗 As。

脂联素主要由脂肪细胞产生,作为一种胰岛素超敏化激素可通过其增敏作用、抗炎、抗氧化特性在心血管稳态中起重要作用,已有研究观察到较低水平的脂联素可以显著增加 As 风险。循环脂联素水平与炎症、氧化应激呈负相关。在内皮细胞中,脂联素可以通过抑制肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor- α , TNF- α) 介导的 NF- κ B 活化来下调黏附分子 (如 ICAM-1) 的表达,还可以通过 AMPK 增加 ser1177 处 eNOS 的磷酸化增强 eNOS 活性。以上研究表明,高水平的脂联素在预防 As 中发挥重要作用。

3.2 氧化应激对血管平滑肌细胞的影响

血管损伤时,VSMC 从“收缩”表型去分化成为高度“合成”表型,迁移到内膜空间,增殖能力增加并分泌细胞外基质产生保护性纤维帽,是 As 等许多 CVD 的特征。研究表明,ROS 可促进 VSMC 增殖,且可介导激素和生长因子对 VSMC 产生增殖作用。例如, H_2O_2 促进缓激肽、Ang II 等的增长,而 O_2^- 介导纤溶酶原尿激酶诱导的 VSMC 增殖。ROS 的增殖作用可以通过激活不同的信号通路来实现。 O_2^- 通过 ERK1/2 快速 PKC 依赖性活化刺激 VSMC 增殖^[33]。亲环蛋白 A 是一种为响应氧化应激而分泌

的分子伴侣,在 H_2O_2 对 VSMC 的增殖上起到了决定性作用。此外,ROS 的浓度和来源均有可能影响 VSMC 增殖; H_2O_2 在 200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下诱导 VSMC 增殖,但在 100 $\mu\text{mol/L}$ 时则起反效果^[34]。涉及血管重塑的心血管病变常伴有 NOX 亚基的上调,其抑制剂载血素可减少 VSMC 迁移,提示 NOX 是 VSMC 迁移信号通路中的重要介质,其中 NOX1 促进 PDGF 刺激下 H_2O_2 介导的 VSMC 迁移^[35],或许通过 NOX-AKT-SVV 轴来激活诱导。

此外,ROS 在 VSMC 的细胞周期中也起到重要作用,如细胞衰老/凋亡,而细胞衰老/凋亡增加会促进 As 斑块破裂。研究表明,ROS 在 NO 诱导的 VSMC 凋亡中是关键媒介,通过上调 Sestrin 2 介导的 ROS 清除降低 VSMC 凋亡,白藜芦醇也可通过抑制 ROS 影响细胞周期来减弱 VSMC 的过度增殖^[36]。但这一结果仍受到质疑,如过氧化氢酶的过表达以至于对基础 ROS 产生抑制会触发主动脉平滑肌细胞的凋亡,使用抗氧化剂吡咯烷二硫代氨基甲酸酯降低 ROS 水平也获得了类似的结果。但这些抗氧化剂已被用于预防其他细胞(如淋巴细胞、神经元和血管内皮细胞)的凋亡,提示 ROS 的作用可能存在细胞特异性。总而言之,这些结果突出了抑制 VSMC ROS 在 As 环境中的潜在益处。

3.3 氧化应激对免疫细胞的影响

先天免疫机制是 As 发生的核心,涉及信号模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)的激活和炎症过程的诱导。巨噬细胞和树突状细胞存在于动脉外膜和新内膜中,并被 PRR 中 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)配体和清道夫受体激活,在 As 的发生发展中起着重要作用。其中,清道夫受体可内化 ox-LDL 颗粒,例如 SR-AI 和 SR-AII、MARCO、LOX-1 和 CD36 等,还可内化微生物并协助抗原呈递和黏附。巨噬细胞广泛表达的 TLR 包括 TLR1、TLR2、TLR4、TLR5 及 TLR7 等,MyD88 作为多数 TLR 信号级联反应中的关键蛋白参与前 As,也介导白细胞介素 1 和 18 受体下游的信号转导。有研究表明,血流紊乱引起 TLR4 在人内皮细胞中表达活化并促进单核细胞-内皮细胞黏附可能是 As 发生的关键起始步骤^[37]。ox-LDL 及其组分也可以连接 TLR,触发胞内信号级联反应,导致编码促炎分子的一系列基因的表达,包括细胞因子、趋化因子、共刺激分子等,加速 As 进程。此外,巨噬细胞凋亡一定程度可能是由 NOX2 增强引起的过度氧化引起,氧化应激导致的 JNK 持续活化,从而开启细胞凋亡程序。IgE 免疫球蛋白水平升高也可刺激巨噬细胞的

促炎反应,与 As 增加显著相关。各种 As 斑块的成分可增强巨噬细胞氧化,形成泡沫细胞从而加速 As 的发展。中性粒细胞虽然在病变中很少见,但似乎通过中性粒细胞胞外陷阱和基质金属蛋白酶的分泌促进内皮侵蚀^[38],而氧化脂质可促进中性粒细胞胞外陷阱的形成,并加速小鼠颈动脉血栓形成^[39]。

此外,在 As 中自身抗体、T 细胞和 B 细胞都被证明对疾病进展有所影响,且斑块中同时存在 B 细胞和 T 细胞,这提示 As 与自身免疫反应相关。最近一些研究发现,线粒体来源的 ROS 在自身反应性 T 细胞分化中可能是 T 细胞介导的自身免疫性疾病的潜在靶标^[40],而 mtROS 又是 As 中 ROS 的主要来源,这为氧化应激与 As 引起免疫反应的关系提供了一种新的思路。

4 抗氧化与 As 的防治研究

机体内抗氧化系统包括 HDL、抗氧化剂、抗氧化酶等,起到“中和”或阻断氧化应激对机体的损伤。这种防御通常包含两种形式^[41],一是清除自由基,主要由内源性酶发挥作用;二是捕获有害自由基,主要由外源性抗氧化剂实现。前者的内源性酶包括过氧化氢酶、SOD、过氧化物氧化还原酶(peroxidase, Prx)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)等。Prx 是具有半胱氨酸残基的蛋白质,可减少体内过氧化物、脂质氢过氧化物和过氧亚硝酸盐,以调节机体内细胞氧化还原稳态。Prx1 缺失可加重 ApoE^{-/-}小鼠的 As^[42]。此外,GPx 可将谷胱甘肽转化为谷胱甘肽二硫化物,并将脂质过氧化物还原为水,是重要的细胞清除自由基机制之一。后者的外源性抗氧化剂主要包括维生素 C、维生素 E、尿酸、胆红素等。维生素 E 是一种脂溶性抗氧化剂,通过提供氢离子将自由基转化为反应性较低的形式以助于中和自由基防止脂质过氧化,还可抑制 CD36、SR-B I 和蛋白激酶 C 的表达,以逆转泡沫细胞形成和 VSMC 增殖。胆红素则通过清除氧化剂抑制蛋白质氧化,改善内皮功能障碍和 VSMC 增殖,从而延缓 As 进程。此外,参与 DNA 修复的核酶可被视为抵御氧自由基引起氧化损伤的防御系统内一员。

目前临床上用以改善 As 的治疗方法,仍以降脂治疗为主,分为他汀类和非他汀类降脂药物(如胆汁酸螯合剂依折麦布、PCSK9 抑制剂和 omega-3 补充剂)。除此之外,抗血小板药物(如阿司匹林)和

抗炎剂(如卡那单抗和秋水仙碱)也用于 As 治疗。以上几类药物往往也影响机体氧化应激,如抗血小板药物可以通过影响血小板活化和血小板上 NOX2 表达以作用于氧化应激反应。他汀类药物除了减少低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)和降低胆固醇沉积外,还可增加 eNOS 表达以减少 ROS 产生,改善血管内皮舒张功能。故抑制机体氧化应激和减少 ROS 生成以增强机体抗氧化能力成为目前 As 治疗的一大方向。

除他汀类药物外,血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI)及 Ang II 受体阻滞剂(angiotensin II receptor blocker, ARB)可以阻断 Ang II 的合成和活性,上调 SOD,从而抑制其介导的氧化应激作用。抗氧化维生素(如维生素 C、E)可清除自由基并抑制 LDL 过氧化。普罗布酮可明显降低高密度脂蛋白胆固醇、增强胆固醇的逆向转运从而发挥抗 As 作用。人群研究也显示,在阿司匹林或西洛他唑中加用普罗布酮可降低心血管事件的发生率^[43]。但这些传统抗氧化剂、补充剂在一些大规模前瞻性临床试验中大多未表现出对 CVD 有明显的预防效果。他汀类药物、AT1 拮抗剂和 ACEI 则常出现多效性抗氧化作用。因此,目前对抗 As 的抗氧化治疗方法主要分为:①针对性解决局部氧化应激;②可长期使用的天然抗氧化化合物。

mtROS 可能在 As 进展中起关键作用,目前正在研究以 mtROS 为靶点的新型 ROS 清除剂,以减少自由基的形成而不影响线粒体的氧化磷酸化为目的,已被证明可以减少斑块内巨噬细胞的含量和增殖,并抑制小鼠模型中代谢综合征的多种特征^[44]。另外,使用纳米技术的药物输送系统也正在被研究以改善内皮功能。水包脂纳米乳剂已被证明能够选择性地使 17 β -雌二醇输送到 As 斑块中,增加 NO 的产生,减少促炎分子的表达,并缩小斑块。目前也有将 DNA 寡核苷酸连接到聚乙二醇涂层的超顺磁性氧化铁纳米颗粒(superparamagnetic iron oxide nanoparticle, SPION)制备成“DNA-SPION”,该纳米颗粒可通过静脉注射有效地积聚在 ApoE^{-/-}小鼠 As 斑块的巨噬细胞中,展示了 DNA 纳米结构治疗 As 的前景^[45]。

此外,许多天然化合物具有抗氧化和抗炎特性,如谷胱甘肽、类黄酮化合物和多酚的抗氧化前体,以及含有这些物质的食品和膳食补充剂,如红茶和绿茶、红葡萄酒和特级初榨橄榄油。多酚作为抗氧化剂通过与 ROS 相互作用直接抗氧化,也可以

通过螯合金属离子参与 H₂O₂ 的转化,还可以阻断一些酶产生超氧自由基,例如 XO 和蛋白激酶 C,并激活抗氧化酶。被认为最具有潜在抗 As 活性的多酚化合物是白藜芦醇,其可以通过一系列分子机制应对高氧化应激:通过 SIRT1/FOXO 轴上调抗氧化基因,包括过氧化氢酶、SOD 和硫氧还蛋白 1 等^[46];降低衰老 C57BL/6 小鼠的主动脉肾素-血管紧张素系统活性及 ROS 水平;诱导 AMPK 下游靶标蛋白解偶联蛋白 2(uncoupling protein 2, UCP2)活化,从而降低线粒体膜电位以抑制 ROS 积累。此外,白藜芦醇通过下调促炎细胞因子谱在临床前期和临床期发挥抗炎作用,还抑制单核细胞到巨噬细胞的分化,间接保护心血管功能以抗 As。类黄酮化合物槲皮素可通过上调内皮细胞自噬抗氧化和影响脂质代谢。用槲皮素治疗高脂喂养的 ApoE^{-/-}小鼠可增强逆向胆固醇转运,高胆固醇饮食喂养的 As 大鼠炎症介质(如 NOS 和 CRP)产生减少,对 As 有积极的治疗意义^[47]。柴胡皂苷 A 可减轻 H₂O₂ 诱导的内皮细胞氧化应激损伤,也有可能成为防治 As 药物的新选择^[48]。此外,褪黑素可以通过巨噬细胞内部的线粒体自噬促进 ROS 清除,从而延缓高脂喂养的 ApoE^{-/-}小鼠 As 进展^[49]。姜黄素被证明可降低原代人单核细胞中促 As 细胞因子(包括 MCP-1、IL-1 β 和 TNF- α)的表达,并减小高脂肪喂养的 ApoE^{-/-}小鼠和兔的脂肪条纹,适当补充姜黄素可改善人体内皮功能,降低 CVD 的发生风险^[50]。

5 结 语

氧化应激学说是 As 形成学说的重要组成部分,开展血管系统中氧化应激的上下游分子机制的研究,对于阐明 As 的成因和发展机制具有重要意义。抗氧化剂的发现与应用也逐渐成为 As 防治的新策略。然而,目前大型临床流行病学试验数据显示,抗氧化剂(如维生素 A、C、E)的血浆浓度与 CVD 结局的关联性仍存在争议,很多大型干预试验最终未能显示明显的益处。其原因首先可能是研究中心血管事件的发生与 As 负荷的相关性不确定;其次,外源性膳食抗氧化剂的作用终不及内源性抗氧化系统的调控,大量外源驱动可能反而有害;再次,抗氧化剂在体内的代谢也值得重视,可能其最终作用形式的浓度无法直接影响抗氧化能力,改变代谢途径或使用其代谢物来驱动内源性抗氧化机制更为有效。因此,与传统抗氧化剂相比,通过线粒体膜电位改变线粒体氧化系统的抗氧化剂在理论上具

有更好的效果,线粒体膜电位也可使靶向亲脂阳离子成为可能。综上所述,联合抗氧化疗法,选择性靶向 As 中氧化应激并结合生活方式的干预,通过抑制 ROS 过量生成、改善系统抗氧化能力、减少脂质氧化和沉积等多种机制的联合作用,是未来治疗 As 的重要策略和方向。

[参考文献]

- [1] ZHAO D, LIU J, WANG M, et al. Epidemiology of cardiovascular disease in China: current features and implications [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(4): 203-212.
- [2] FORRESTER S J, KIKUCHI D S, HERNANDES M S, et al. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling[J]. *Circ Res*, 2018, 122(6): 877-902.
- [3] TAYLOR J P, TSE H M. The role of NADPH oxidases in infectious and inflammatory diseases [J]. *Redox Biol*, 2021, 48: 102159.
- [4] BUCHMANN G K, SCHÜRMANN C, WARWICK T, et al. Deletion of NoxO1 limits atherosclerosis development in female mice[J]. *Redox Biol*, 2020, 37: 101713.
- [5] VIOLI F, CARNEVALE R, LOFFREDO L, et al. NADPH oxidase-2 and atherothrombosis: insight from chronic granulomatous disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(2): 218-225.
- [6] LANGBEIN H, BRUNSEN C, HOFMANN A, et al. NADPH oxidase 4 protects against development of endothelial dysfunction and atherosclerosis in LDL receptor deficient mice[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(22): 1753-1761.
- [7] GRAY S P, DI MARCO E, KENNEDY K, et al. Reactive oxygen species can provide atheroprotection via NOX4-dependent inhibition of inflammation and vascular remodeling [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(2): 295-307.
- [8] TOUYZ R M, ANAGNOSTOPOULOU A, CAMARGO L L, et al. Vascular biology of superoxide-generating NADPH oxidase 5-implications in hypertension and cardiovascular disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 30(7): 1027-1040.
- [9] BORTOLOTTI M, POLITO L, BATTELLI M G. Xanthine oxidoreductase: one enzyme for multiple physiological tasks [J]. *Redox Biol*, 2021: 101882.
- [10] NOMURA J, BUSSO N, IVES A, et al. Xanthine oxidase inhibition by febuxostat attenuates experimental atherosclerosis in mice[J]. *Sci Rep*, 2014, 4(1): 4554.
- [11] GANJI M, NARDI V, PRASAD M, et al. Carotid plaques from symptomatic patients are characterized by local increase in xanthine oxidase expression[J]. *Stroke*, 2021, 52(9): 2792-2801.
- [12] OKAFOR O N, FARRINGTON K, GOROG D A. Allopurinol as a therapeutic option in cardiovascular disease [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 172: 139-150.
- [13] JAYACHANDRAN M, QU S. Harnessing hyperuricemia to atherosclerosis and understanding its mechanistic dependence[J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(1): 616-629.
- [14] DAIBER A, XIA N, STEVEN S, et al. New therapeutic implications of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) function/dysfunction in cardiovascular disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(1): 187.
- [15] ZHAO R Z, JIANG S, ZHANG L, et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(1): 3-15.
- [16] LEE P, CHANDEL N S, SIMON M C. Cellular adaptation to hypoxia through hypoxia inducible factors and beyond[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(5): 268-283.
- [17] MÉNDEZ D, ARAUNA D, FUENTES F, et al. Mitoquinone (MitoQ) inhibits platelet activation steps by reducing ROS levels[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): 6192.
- [18] DAI D F, CHEN T, SZETO H, et al. Mitochondrial targeted antioxidant peptide ameliorates hypertensive cardiomyopathy[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2011, 58(1): 73-82.
- [19] GAO S, ZHAO D, WANG M, et al. Association between circulating oxidized LDL and atherosclerotic cardiovascular disease: a Meta-analysis of observational studies[J]. *Can J Cardiol*, 2017, 33(12): 1624-1632.
- [20] ROY P, ORECCHIONI M, LEY K. How the immune system shapes atherosclerosis: roles of innate and adaptive immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(4): 251-265.
- [21] LE MASTER E, HUANG R T, ZHANG C X, et al. Proatherogenic flow increases endothelial stiffness via enhanced CD36-mediated uptake of oxidized low-density lipoproteins[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(1): 64-75.
- [22] GIANAZZA E, BRIOSCHI M, FERNANDEZ A M. Lipoxidation in cardiovascular diseases [J]. *Redox Biol*, 2019: 101119.
- [23] MO Z C, XIAO J, TANG S L, et al. Advanced oxidation protein products exacerbates lipid accumulation and atherosclerosis through downregulation of ATP-binding cassette transporter A1 and G1 expression in apolipoprotein E knockout mice[J]. *Circ J*, 2014, 78(11): 2760-2770.
- [24] CHIORCEA-PAQUIM A M, OLIVEIRA-BRETT A M. Nanostructured material-based electrochemical sensing of oxidative DNA damage biomarkers 8-oxoguanine and 8-oxodeoxyguanosine: a comprehensive review[J]. *Mikrochim Acta*, 2021, 188(2): 58.
- [25] DI MINNO A, TURNU L, PORRO B, et al. 8-Hydroxy-2-deoxyguanosine levels and cardiovascular disease: a systematic review and Meta-analysis of the literature[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 24(10): 548-555.
- [26] MARTINET W, KNAAPEN M W, DE MEYER G R, et al. Oxidative DNA damage and repair in experimental ath-

- erosclerosis are reversed by dietary lipid lowering[J]. *Circ Res*, 2001, 88(7): 733-739.
- [27] BALLINGER S W, PATTERSON C, YAN C N, et al. Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells[J]. *Circ Res*, 2000, 86(9): 960-966.
- [28] OREKHOV A N, POZNYAK A V, SOBENIN I A, et al. Mitochondrion as a selective target for the treatment of atherosclerosis: role of mitochondrial DNA mutations and defective mitophagy in the pathogenesis of atherosclerosis and chronic inflammation[J]. *Curr Neuroparmacol*, 2020, 18(11): 1064-1075.
- [29] SONG D M, FANG G Q, MAO S Z, et al. Selective inhibition of endothelial NF- κ B signaling attenuates chronic intermittent hypoxia-induced atherosclerosis in mice[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 270: 68-75.
- [30] YUAN T, YANG T, CHEN H, et al. New insights into oxidative stress and inflammation during diabetes mellitus-accelerated atherosclerosis[J]. *Redox Biol*, 2019, 20: 247-260.
- [31] XU L, WANG S J, LI B Y, et al. A protective role of ciglitazone in ox-LDL-induced rat microvascular endothelial cells via modulating PPAR γ -dependent AMPK/eNOS pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(1): 92-102.
- [32] ZHOU J, LI X Y, LIU Y J, et al. Full-coverage regulations of autophagy by ROS: from induction to maturation[J]. *Autophagy*, 2022, 18(6): 1240-1255.
- [33] HUYNH D T N, JIN Y J, VAN NGUYEN D, et al. Ginsenoside Rh1 inhibits angiotensin II-induced vascular smooth muscle cell migration and proliferation through suppression of the ROS-mediated ERK1/2/p90RSK/KLF4 signaling pathway[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(4): 643.
- [34] NICKENIG G, BAUDLER S, MÜLLER C, et al. Redox-sensitive vascular smooth muscle cell proliferation is mediated by GSKF and Id3 *in vitro* and *in vivo*[J]. *FASEB J*, 2002, 16(9): 1077-1086.
- [35] SHEN Y, CHEN X F, CHI C L, et al. Smooth muscle cell-specific knockout of FBW7 exacerbates intracranial atherosclerotic stenosis[J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 132: 104584.
- [36] ALMAJDOOB S, HOSSAIN E, ANAND-SRIVASTAVA M B. Resveratrol attenuates hyperproliferation of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats: role of ROS and ROS-mediated cell signaling[J]. *Vascul Pharmacol*, 2018, 101: 48-56.
- [37] QU D, WANG L, HUO M Y, et al. Focal TLR4 activation mediates disturbed flow-induced endothelial inflammation[J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(1): 226-236.
- [38] LIBBY P. The changing landscape of atherosclerosis[J]. *Nature*, 2021, 592(7855): 524-533.
- [39] DOU H J, KOTINI A, LIU W L, et al. Oxidized phospholipids promote NETosis and arterial thrombosis in LNK (SH2B3) deficiency[J]. *Circulation*, 2021, 144(24): 1940-1954.
- [40] CHÁVEZ M D, TSE H M. Targeting mitochondrial-derived reactive oxygen species in T cell-mediated autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 703972.
- [41] GOSZCZ K, DEAKIN S J, DUTHIE G G, et al. Antioxidants in cardiovascular therapy: panacea or false hope?[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2015, 2: 29.
- [42] KISUCKA J, CHAUHAN A K, PATTEN I S, et al. Peroxiredoxin 1 prevents excessive endothelial activation and early atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2008, 103(6): 598-605.
- [43] KIM B J, LEE E J, KWON S U, et al. Prevention of cardiovascular events in Asian patients with ischaemic stroke at high risk of cerebral haemorrhage (PICASSO): a multicentre, randomised controlled trial[J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17(6): 509-518.
- [44] JIANG Q, YIN J, CHEN J S, et al. Mitochondria-targeted antioxidants: a step towards disease treatment[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8837893.
- [45] ZHANG L, TIAN X Y, CHAN C K W, et al. Promoting the delivery of nanoparticles to atherosclerotic plaques by DNA coating[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(15): 13888-13904.
- [46] CHENG C K, LUO J Y, LAU C W, et al. Pharmacological basis and new insights of resveratrol action in the cardiovascular system[J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(6): 1258-1277.
- [47] CUI Y J, HOU P B, LI F H, et al. Quercetin improves macrophage reverse cholesterol transport in apolipoprotein E-deficient mice fed a high-fat diet[J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16(1): 9.
- [48] 黄紫霞, 吴明月, 许峰, 等. 柴胡皂苷 A 通过抑制氧化应激和铁死亡减轻过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞损伤[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(1): 43-48.
- HUANG Z X, WU M Y, XU F, et al. Saikosaponin A inhibits oxidative stress and ferroptosis and reduces the injury of human umbilical vein endothelial cells induced by hydrogen peroxide[J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(1): 43-48.
- [49] MA S, CHEN J W, FENG J, et al. Melatonin ameliorates the progression of atherosclerosis via mitophagy activation and NLRP3 inflammasome inhibition[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 9286458.
- [50] SINGH L, SHARMA S, XU S W, et al. Curcumin as a natural remedy for atherosclerosis: a pharmacological review[J]. *Molecules*, 2021, 26(13): 4036.

(此文编辑 文玉珊)