

· 综述 ·

中药调控血管平滑肌细胞凋亡的作用机制研究进展

郭晓辰¹, 张军平^{2*}

(1. 天津中医药大学研究生院, 天津 300193; 2. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193)

[摘要] 目的: 阐明中药调控血管平滑肌细胞凋亡的作用机制研究现状。方法: 查阅国内外近年来相关资料 35 篇并对其进行汇总、分析、综述。结果: 多种中药可对血管平滑肌细胞在基因、蛋白等不同分子水平产生调控作用, 抑制或促进其凋亡, 从而逆转或改变其相应病理状态。结论: 中药合理调控血管平滑肌细胞凋亡作用确切, 具有明显的优势, 对其机制进行分子生物学的深入研究有着广阔的前景。

[关键词] 中药; 血管平滑肌细胞; 凋亡; 作用机制

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0288-04

Research Progress on Mechanism of Regulating Vascular Smooth Muscle Cell Apoptosis by Chinese Materia Medica

GUO Xiao-chen¹, ZHANG Jun-ping^{2*}

(1. College of Postgraduates of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;
2. The First Affiliated Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To clarify the research progress in the mechanism of regulating vascular smooth muscle cell apoptosis by Chinese materia medica. **Method:** Looked through the related literatures from domestic and abroad recent years, analyzed and reviewed on them. **Result:** Many kinds of Chinese materia medica can regulate vascular smooth muscle cell from different molecular level to regulate its abnormal apoptosis, thus to reverse or change the pathologic state accordingly. **Conclusion:** Chinese materia medica can regulate vascular smooth muscle cell apoptosis reasonably, and the molecular biology research of its mechanism has wide perspective.

[Key words] Chinese materia medica; vascular smooth muscle cell; apoptosis; mechanism

细胞凋亡又称程序性细胞死亡, 是由细胞内特定基因操纵、调控的一种生理性或病理性的自杀性细胞死亡方式。细胞凋亡的现象广泛存在于心血管疾病的发生发展过程中, 是细胞损伤的特征性生理变化。

血管平滑肌细胞是构成血管壁的重要成分, 其在病理状

态下增殖与凋亡失衡可引起血管重塑, 干预血管平滑肌细胞凋亡、保护心血管已成为当今心血管药理的一个新的发展方向。大量的实验研究证明, 中药可合理调控血管平滑肌细胞的凋亡, 充分体现了中药的多层次、多靶点、多环节及整体调节的优势, 为中药防治心脑血管性疾病开辟了新的途径。研究中药对血管平滑肌细胞异常凋亡的调控机制, 可以为动脉粥样硬化(AS)及经皮冠状动脉腔内成形术(PTCA)后再狭窄等疾病的防治提供新思路。

1 中药调控血管平滑肌细胞凋亡的作用机制

1.1 Bcl-2 家族 线粒体在细胞凋亡过程中起着“主开关”的作用, 而 Bcl-2 家族蛋白的主要作用位点也就是在线粒体膜上^[1]。在无死亡信号刺激时, Bcl-2 家族的大部分抗凋亡蛋白一般作为细胞器膜(如线粒体、内质网和核膜)的整合膜蛋白被隔离起来, 而促凋亡蛋白则以非活性的形式定位分

[收稿日期] 20110219(006)

[基金项目] “十一五”国家科技支撑计划(2007BAI20B073)

[第一作者] 郭晓辰, 硕士, 从事心脑血管疾病中医药防治, Tel: 13512010902, E-mail: guoxiaochen123@hotmail.com

[通讯作者] * 张军平, 教授, 主任医师, 博士后, 从事心脑血管疾病中医药防治, Tel: 022-27432016, E-mail: tjzhtcm@163.com

布于胞液中或细胞质骨架上。当受到外界刺激时,抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白成员之间协同作用,共同决定细胞是否进入凋亡程序。Bcl-2 是人体的一个正常基因,可直接抑制细胞凋亡,上调其表达引起细胞增生,下调其表达促进细胞凋亡。Bax 表达可抑制 Bcl-2 的作用,Bcl-2 与 Bax 的比例形成一对正、负调控因素,决定细胞是否接受诱导凋亡的外部信号。

近年来多项研究表明,中药能通过从转录水平和翻译水平调节 Bcl-2 和 Bax 基因表达来促进血管平滑肌细胞凋亡,抑制其增殖,进而发挥一定的抗 AS 作用。如:大黄酸可通过线粒体依赖的凋亡途径抑制肿瘤坏死因子(TNF- α)诱导的人血管平滑肌细胞增殖^[2],西洋参叶二萜组皂苷(PQDS)对血管紧张素 II(Ang II)诱导的血管平滑肌细胞增殖有明显促进其凋亡的作用^[3],钩藤碱和异钩藤碱具有诱导血管平滑肌细胞凋亡作用^[4],复元胶囊(黄芪、淫羊藿、川芎、当归、枸杞)促进了气虚血瘀证大鼠的血管平滑肌细胞凋亡^[5]。其可能的作用机制为:经中药干预后,可使 Bax 蛋白表达上调、Bcl-2 蛋白表达下调和 Bax mRNA/Bcl-2 mRNA 升高。然而也有研究发现^[6],丹参有效成分迷迭香酸能够呈浓度依赖性地上调体外培养的血管平滑肌细胞中 Bcl-2 蛋白表达,下调 Bax 蛋白表达,升高 Bcl-2/Bax,减少细胞中 Fas, FasL 的蛋白表达,从而拮抗过氧化氢(H₂O₂)诱导的血管平滑肌细胞凋亡。

1.2 基因 c-myc 许多原癌基因的激活及其表达异常是血管平滑肌细胞增殖和凋亡的内在基础。c-myc 基因对细胞具有促进增殖及诱导凋亡的双重作用,在血清中当生长因子和丝裂原等刺激信号存在时,可通过激活相应的信号转录系统抑制凋亡,促进增殖。反之则促进凋亡,抑制增生。c-myc 可作为转录因子在细胞周期、细胞增殖、分化、凋亡、肿瘤发生、转移等过程中发挥重要作用,它是细胞凋亡的一个潜在诱导剂^[7-8]。c-myc 基因表达的失调有利于凋亡的发生。

多数研究发现,中药可呈剂量依赖性的抑制血管平滑肌细胞增殖,促进其凋亡。如:祛痰泻浊方可通过抑制血小板衍生生长因子(PDGF)、胰岛素生长因子-1(IGF-1)的合成和分泌抑制实验性 AS 家兔的血管平滑肌细胞增殖^[9],川芎嗪(TMP)可抑制早期糖尿病大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞^[10]及颈动脉血管内膜损伤后大鼠血管平滑肌细胞^[11]的增殖,这些实验的部分作用机制是通过下调 c-myc 表达实现的。但也有研究表明^[12],与对照组比较,三七总皂苷(PNS)组的兔血管平滑肌细胞凋亡率及 c-myc 蛋白的表达明显高于对照组,不同浓度 PNS 组之间无明显差异。结果显示 PNS 在诱导血管平滑肌细胞凋亡增加的同时,可促进 c-myc 蛋白的表达,提示 PNS 诱导血管平滑肌细胞凋亡的作用可能是通过促进 c-myc 蛋白的表达而完成的。

1.3 Caspase-3 Caspase 家族是介导细胞凋亡的重要蛋白酶,其中,Caspase-3 发挥十分关键的作用。Caspase-3 是推动细胞凋亡形成的主要因素之一,DNA 损伤等胞内刺激引起线粒体通透性加大可产生氧自由基,将储存的钙离子泵入胞

浆,使胞浆钙离子浓度升高,释放线粒体蛋白到胞浆中激活 Caspase-3,其表达可使细胞发生凋亡。

阿魏酸钠可造成低氧性肺动脉高压(PAH)大鼠肺血管平滑肌细胞 Caspase-3 表达上调及 Bcl-2 表达下调,从而使低氧导致的 PAH 肺动脉平滑肌细胞凋亡增加^[13]。葛根素可显著降低 H₂O₂ 诱导无血清培养的大鼠胸主动脉平滑肌细胞凋亡,减少凋亡细胞 DNA 断裂,对 Caspase-3 的表达有明显抑制作用,故考虑葛根素对 H₂O₂ 诱导血管平滑肌细胞凋亡有保护作用,其机制可能与抑制 Caspase-3 有关^[14]。益肾通脉汤(熟地黄 15 g,补骨脂 15 g,制半夏 10 g,制天南星 10 g,川芎 10 g,三七 10 g 等)可以降低兔 AS 血管平滑肌细胞的促凋亡基因 Caspase-3 的蛋白表达,并使血管平滑肌细胞的凋亡细胞数减少。由此可知,益肾通脉汤可以延缓 AS 的进展,并增加 AS 斑块的稳定性^[15]。

1.4 血管紧张素 II(Ang II) 近年来,人们越来越关注 Ang II 在 AS 中所起的作用。已有许多研究表明,Ang II 与其受体 AT1 结合后,可通过一系列反应引起血管平滑肌细胞的肥大和增殖,并抑制凋亡的发生^[16]。

经实验证实^[17],芎芍胶囊(由川芎、赤芍的有效部位川芎总酚和赤芍总苷组成)对实验性兔 AS 血管平滑肌细胞凋亡有促进作用,其中芎芍胶囊大剂量组可明显降低血浆 Ang II 水平,可能是芎芍胶囊抑制平滑肌细胞增殖并促进其凋亡的作用机制之一,从而抑制 AS 的发生发展。

1.5 JNK 信号通路 现代研究发现,JNK 信号通路是 MAPK 中重要的通路之一,在 MAPK 信号体系中,JNK 通路的激活与细胞凋亡有密切的关系^[18],JNK 通路可以介导紫外线照射、氧化应激、细胞因子等引起细胞凋亡^[19]。

有学者通过实验发现^[20],血府逐瘀汤可以增加 AS 血管平滑肌细胞 MAPK 调节因子 JNK₁ mRNA 阳性颗粒的表达,可能是其抗 AS 血管平滑肌细胞增殖的机制之一。同时,对血府逐瘀汤进行拆方,结果表明血府逐瘀汤及其行气拆方四逆散对平滑肌细胞 JNK₁ 均有升高的作用,而桃红四物汤无升高 JNK₁ 的作用,说明在抗 AS 治疗过程中,血府逐瘀汤及其行气拆方四逆散两者有一致性的作用靶点,行气药物的配伍可能对血府逐瘀汤升高平滑肌细胞 JNK₁ 的功效产生较大影响。血府逐瘀汤与四逆散之间比较无差异,说明行气活血行气联合使用与行气单独使用两种治法在 JNK₁ 作用点上功效比较均衡。

1.6 葡萄糖调节蛋白 78(glucose regulated protein,GRP78)

蛋白在内质网腔形成空间结构由许多分子伴侣蛋白协助,GRP78 是内质网中最重要的分子伴侣之一,作为一种应激反应蛋白,GRP78 在辅助蛋白质折叠、稳定内质网中 Ca²⁺ 水平、调节内质网应激(endoplasmic reticulum stress,ERS)跨膜信号感受器活性方面发挥重要功能,显示出细胞保护的潜在作用^[21]。因此,GRP78 被认为是 ERS 的一种标志蛋白。目前认为早期的 ERS 是一种自身代偿过程,对细胞起到保护作用,而高度的 ERS 则会通过 caspase-12 等途径启动

凋亡^[22]。

通过观察发现中药黄酮类化合物淫羊藿苷可通过上调 ERS 途径标志蛋白 GRP78 基因表达、放大 ERS 信号而启动细胞凋亡通路,令同型半胱氨酸(homocysteinemia, HCY)诱导的过度增殖的血管平滑肌细胞凋亡,从而可对 AS 的治疗产生一定作用^[23]。

1.7 胰岛素样生长因子(IGF-1) 由氧自由基及经氧化修饰的脂蛋白等诱导的细胞凋亡,不仅涉及多种细胞,而且发生于 AS 全过程。在这一过程中有众多生物因子的参与,IGF-1 则是其中之一。几乎所有组织和细胞都能分泌 IGF-1,通过 IGF 受体介导参与细胞周期的调节。大量资料表明 IGF-1 在斑块的发生发展中起重要作用。Okura 等发现它能够改变细胞周期进程,抑制血管平滑肌细胞凋亡,诱导其增殖和迁徙,随着 AS 的进展,IGF-1 及其受体在动脉内膜的表达明显降低,IGF-1 及其受体在动脉内膜的低表达则可能引起血管平滑肌细胞大量凋亡并最终导致 AS 甚至发生急性冠脉综合征^[24]。

经相关实验发现^[25],大黄蛰虫丸可以使 AS 模型大鼠血清中 IGF-1 含量升高,且呈剂量依赖性,从而抑制平滑肌细胞的凋亡,阻止 AS 的形成,具有抗 AS、防止心脑血管疾病发生的作用。

1.8 Fas 和 FasL 死亡因子受体 Fas 又称为 Apo-1, CD95, 是一种属于肿瘤坏死因子受体家族的 I 型膜蛋白,是死亡受体家族的重要成员。其配体(FasL)属于 II 型膜蛋白,组织中表达的 FasL 可与细胞膜表面的相应受体 Fas 结合启动凋亡的信号途径,引起细胞凋亡^[26]。Fas 在大多数组织中表达,而 FasL 仅在活化 T 淋巴细胞及少数免疫特权组织中表达^[27]。Walsh 等检测发现血管平滑肌细胞不表达 FasL 而表达较高水平的 Fas^[28],在 AS 中血管平滑肌细胞广泛表达 Fas 抗原,被激活的 T 淋巴细胞可以产生 FasL^[29],Fas 受体与配体结合传递死亡信号,导致血管平滑肌细胞的凋亡。

用木贼正丁醇提取物^[30]对早期 AS 大鼠血管平滑肌凋亡进行干预研究,结果治疗组平滑肌细胞的凋亡率明显高于模型组,Fas,FasL 表达均高于模型组,主动脉损伤程度减轻。因此可以认为木贼正丁醇提取物通过调控 AS 早期主动脉平滑肌细胞 Fas,FasL 基因表达,促进平滑肌细胞凋亡,阻断 AS 进展。

1.9 基因 p53

1.9.1 突变型 p53 研究表明基因的异常表达直接调控着细胞的增殖与凋亡。突变型 p53 有促进异常细胞增殖,抑制其凋亡的作用^[31]。

用豆豉干预早期 AS 大鼠后,其主动脉平滑肌细胞凋亡率和增殖指数均降低,突变型 p53 的表达下调,Fas 的表达上调。研究结果提示豆豉可能是通过调节突变型 p53 和 Fas 的基因表达,调节血管平滑肌细胞凋亡和增殖的平衡,产生抗 AS 的作用^[32]。

1.9.2 野生型 p53 正常血管平滑肌细胞也表达 p53,野生

型 p53 能抑制细胞增殖,使细胞周期停滞于 G₁ 期^[33],同时也能够诱导血管平滑肌细胞凋亡^[34]。

有研究^[35]观察雷公藤甲素对人冠状动脉平滑肌细胞凋亡的影响,结果表明雷公藤甲素可以显著诱导人冠状动脉平滑肌细胞凋亡,p53 蛋白表达水平呈浓度依赖性表达上调,提示雷公藤甲素可能通过激活野生型 p53 基因表达抑制人冠状动脉平滑肌细胞的生长并诱导其凋亡。

2 问题与展望

从凋亡角度探讨中药干预心脑血管性疾病的发生、发展机制是目前研究的热点之一,研究药物涉及从中药中提取出的单体、有效成分以及单味中药和一些中药的复方制剂。研究人员已经开始从分子基因水平来揭示中药对血管平滑肌细胞凋亡调控的作用机制,也取得了一些成绩,但其分子学机制十分复杂,药理学基础涉及多个环节,相关研究工作有待进一步深入。比如:凋亡的发生受到一些互为网络的因子的调节,是多种因素相互作用下的结果,而体外实验大多只用一种因素(如 Ang II, H₂O₂, HCY 等)进行造模,同时直接用药物培养细胞,不能真正地模拟相应体内病变及中药干预的全面情况,因此改进造模方式及重视中药血清药理学在此类研究中的应用可能能够从更深的层次、更本质地揭示中药的作用原理。此外中药的干预作用常为多途径多靶点,而目前的研究多仅从中药调控凋亡相关基因的表达上入手进行检测与分析,也有一些是将凋亡信号转导通路中某些重要因子及靶点作为测定指标来推测可能机制,实验设计不够细致深入,因此不能得到明确的结论,对中药调控血管平滑肌细胞凋亡的具体动态过程尚缺乏全面、系统的认识。如何将已研究并得到初步结论的各个单一因素有机整合起来,从整体上探索中药对血管平滑肌细胞凋亡的网络式调控机制是日后需要加以研究和完善的重点问题。

中药合理调控血管平滑肌细胞凋亡作用确切,具有明显的优势,对其机制进行分子生物学的深入研究,必将推动中医理论的发展,进一步研究有着广阔的前景。

【参考文献】

- [1] Fan T J, Xia L, Han Y R. Mitochondrion and apoptosis [J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2001, 33(1):7.
- [2] Heo S K, Yun H J, Park W H, et al. Rhein inhibits TNF-alpha-induced human aortic smooth muscle cell proliferation via mitochondrial-dependent apoptosis [J]. J Vasc Res, 2009, 46(4):375.
- [3] 杜键,张治国,李洋,等.西洋参叶二醇组皂苷对血管平滑肌细胞增殖及凋亡的影响[J].中国老年学杂志,2007,27(21):2085.
- [4] 李运伦.钩藤碱和异钩藤碱对血管紧张素 II 致血管平滑肌细胞凋亡的影响及其机制[J].中国动脉硬化杂志,2008,16(9):681.
- [5] 王维,李荣亨,荣晓凤.复元胶囊对气虚血瘀证大鼠血管平滑肌细胞凋亡及凋亡相关基因表达的影响[J].

- 中国新药杂志, 2009, 18(9):839.
- [6] 郭峰,朱炳阳,迟秀玲,等. 迷迭香酸抗过氧化氢诱导血管平滑肌细胞凋亡作用的研究[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(3):365.
- [7] 张卓琦,朱文玲,黄永麟. 三氧化二砷抑制大鼠血管平滑肌细胞增殖并促进细胞凋亡[J]. 基础医学与临床, 2006, 26(4):358.
- [8] Blaschke F, Leppanen O, Takata Y, et al. Liver X receptor agonists suppress vascular smooth muscle cell proliferation and inhibit neointima formation in balloon-injured rat carotid arteries [J]. *Circulat Res*, 2004, 95:110.
- [9] 张丝微,李艳石,杨关林. 祛痰泻浊方对机械损伤兔的血管平滑肌细胞增殖和凋亡机理研究[J]. 辽宁中医杂志, 2007, 34(3):364.
- [10] 农慧,盛庆寿,罗荣敬,等. 川芎嗪对早期糖尿病大鼠胸主动脉 PCNA c-myc Bcl-2 Bax 表达的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(6):207.
- [11] 冯津萍,卢奕,陈星,等. 川芎嗪对血管平滑肌细胞增殖抑制作用的探讨[J]. 中草药, 2007, 38(1):92.
- [12] 张延斌,周永兰,潘德锋,等. 三七总皂甙抑制兔血管平滑肌细胞增殖及促进 C-MYC 基因表达[J]. 基础医学与临床, 2007, 27(12):1398.
- [13] 陈国柱,程德云,聂英. 阿魏酸钠对低氧性肺动脉高压大鼠肺血管平滑肌细胞 Caspase-3, Bcl-2 表达的影响[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(20):2105.
- [14] 黎敏,李健哲,陈颜静,等. 葛根素对过氧化氢诱导平滑肌细胞凋亡的保护作用[J]. 中国医学工程, 2007, 15(3):258.
- [15] 罗陆一,程红. 益肾通脉汤对兔动脉粥样硬化平滑肌细胞凋亡及 Bcl-2 Caspase-3 的影响[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(9):1818.
- [16] 黄震华. 肾素血管紧张素和血管重构[J]. 心血管病进展, 1998, 19(5):288.
- [17] 徐凤芹,徐浩,马鲁波,等. 芍药胶囊对动脉粥样硬化兔血管平滑肌细胞凋亡的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2008, 6(7):794.
- [18] Chen Y R, Wang X, Templeton D, et al. The role of c-Jun N-terminal kinase (JNK) in apoptosis induced by ultraviolet C and gamma irradiation: Duration of JNK activation may determine cell death and proliferation [J]. *Biochem*, 1996, 271:31929.
- [19] 陈良恩,杨志华,吴铭权. JNK 信号转导通路及其在应激中的作用[J]. 国外医学·生理、病理科学与临床分册, 2001, 21:169.
- [20] 谢辉,龙志江,罗尧岳,等. 血府逐瘀汤及拆方对动脉粥样硬化血管平滑肌细胞 JNK₁mRNA 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(10):2089.
- [21] 姜山,谢青. 内质网应激与细胞凋亡[J]. 国外医学·流行病学传染病学分册, 2004, 31(6):33.
- [22] Szegezdi E, Fitzgerald U, Samali A. Caspase-12 and ER stress mediated apoptosis, the story so far [J]. *Ann N Y Acad Sic*, 2003, 1010:186.
- [23] 沈晓君,何航. 淫羊藿苷对 HCY 诱导增殖血管平滑肌细胞 GRP78 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(15):1964.
- [24] Okura Y, Brink M, Zahid A A, et al. Decreased expression of insulin-like growth factor-I and apoptosis of vascular smooth muscle cells in human atherosclerotic plaque [J]. *J Mol Cell Card*, 2001, 33:1777.
- [25] 江玉娟,司秋菊,张艳慧,等. 大黄蛰虫丸对动脉粥样硬化模型大鼠胰岛素样生长因子表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(1):39.
- [26] 葛长江,胡申江,郑霞,等. 冠心病患者血清 sFas 和 sFasL 及 sIL-2R 的水平[J]. 浙江大学学报, 2002, 31(5):337.
- [27] 尹雪莲,王家宁,黄永章,等. Fas Ligand 基因转染对大鼠血管平滑肌细胞凋亡的影响[J]. 临床心血管病杂志, 2002, 18(1):32.
- [28] Sata M, Suhara T, Walsh K. Vascular endothelial cells and smooth muscle cells differing expression of Fas and Fas Ligand and in sensitivity to Fas Ligand induced cell death: Implication for vascular disease and therapy [J]. *Arter Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(2):309.
- [29] 王磊,王柏春,席振山. FAS 系统介导的细胞凋亡与冠心病的关系研究进展[J]. 国外医学·遗传学分册, 2005, 28(3):184.
- [30] 甄艳军,牛丽颖,赵兰英,等. 木贼提取物对早期 AS 大鼠血管平滑肌凋亡及 Fas, FasL 表达的干预[J]. 北京中医药大学学报, 2007, 30(1):45.
- [31] Kockx M M, Knaepen M W. The role of apoptosis in vascular disease [J]. *J Pathology*, 2000, 190(3):267.
- [32] 牛丽颖,田鹏娜,李清,等. 豆豉对早期动脉粥样硬化大鼠主动脉平滑肌细胞凋亡的影响[J]. 大豆科学, 2009, 28(1):156.
- [33] Isner J M, Kearney M, Bortman S, et al. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis [J]. *Circulation*, 1995, 91:2703.
- [34] Bennett M R, Evan G I, Schwartz S M. Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived from normal vessels and coronary atherosclerotic plaques [J]. *Clin Invest*, 1995, 95:2266.
- [35] 罗小平,徐朝军,宋岚,等. 雷公藤甲素诱导人冠状动脉平滑肌细胞凋亡的实验研究[J]. 实用临床医学, 2007, 8(8):6.