

过表达 ACE2 基因的骨髓间充质干细胞 对肺动脉高压大鼠的干预作用*

王俊贤¹ 马倍² 刘珍君² 肖梦媛² 余丽琴²
彭子健² 魏文燕² 姚峰² 陈建英²

【摘要】 目的:探讨过表达血管紧张素转化酶 2(ACE2)的大鼠骨髓间充质干细胞(BM-MSCs)对野百合碱(MCT)诱导的肺动脉高压(PAH)大鼠模型的干预作用。方法:原代提取 BM-MSCs 并进行纯化、鉴定,使用携带 ACE2 基因的慢病毒载体感染 MSC 制备 ACE2-MSC,并检测 ACE2 的基因与蛋白表达水平;实验动物选用健康、雄性、8 周龄的 SD 大鼠,随机分为正常对照组(Control 组)、MCT 诱导的肺动脉高压组(PAH 组)、转导 ACE2 的间充质干细胞组(ACE2-MSCs 组)以及空病毒载体的间充质干细胞组(null-MSCs 组)。于造模后第 4 周(28 d)测定各组大鼠平均肺动脉压力(mPAP)及右心室肥厚指数(RV/LV+S);肺组织标本作 HE 染色并计算肺动脉管壁厚度指数(TD)及面积指数(AI);Western Blot 检测肺组织中 ACE2、ACE 蛋白表达水平。结果:成功制备能在体外稳定过表达 ACE2 的 ACE2-MSCs;造模后第 4 周(28 d),ACE2-MSCs 组的 mPAP、RV/LV+S、TI、AI 均较 PAH 组及 null-MSCs 组有所下降($P<0.05$),但仍高于 Control 组($P<0.05$);造模后第 4 周(28 d),ACE2-MSCs 组肺组织中 ACE2、ACE2/ACE 蛋白表达水平较 PAH 组及 null-MSCs 组有所升高($P<0.05$),但仍低于 Control 组($P<0.05$)。结论:过表达 ACE2 的大鼠 BM-MSCs 能有效降低 PAH 大鼠平均肺动脉压力,改善肺血管与右心室重构,抑制肺部炎症及调节 RAS 平衡。

【关键词】 间充质干细胞;血管紧张素转化酶 2;肺动脉高压

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2018.04.020

[中图分类号] R543.2 [文献标志码] A

Therapeutic effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells overexpressing angiotensin-converting enzyme 2 on rat models of pulmonary arterial hypertension

WANG Junxian¹ MA Bei² LIU Zhenjun² XIAO Mengyuan² YU Liqin²
PENG Zijian² WEI Wenyan² YAO Feng² CHEN Jianyin²

(¹Department of Geriatrics, ²Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong, 524001, China)

Corresponding author: CHEN Jianyin, E-mail: jychen271@126.com

Abstract Objective: To investigate the intervention effect of rat bone marrow derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) overexpressing angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) on pulmonary arterial hypertension (PAH) induced by monocrotaline (MCT) in rats. **Method:** BM-MSCs were infected with lentivirus vector carrying ACE2 gene in order to prepare the ACE2-MSC. Besides, the expression level of ACE2 was detected as well. The male SD rats were divided randomly into normal control group, MCT induced pulmonary hypertension group (PAH group), ACE2 transduction of mesenchymal stem cells group (ACE2-MSCs group) and empty vector mesenchymal stem cells group (null-MSCs group). The mean pulmonary artery pressure of rats (mPAP) and right ventricular hypertrophy index (RV/LV+S) were determined in the fourth week after the modeling; The lung tissue specimens were stained with HE and the pulmonary arterial wall thickness index (TI) as well as area index (AI) were also calculated; The expression levels of ACE2 and ACE in lung tissue were detected by Western blotting analysis. **Result:** ACE2-MSCs models were successfully established in vitro. The mPAP, RV/LV+S, TI, AI detected in ACE2-MSCs group in the fourth week after the modeling were lower than those in PAH group and null-MSCs group (both $P<0.05$), but still higher than those in normal control group ($P<0.05$). The expression levels of ACE2 and ACE2/ACE in the fourth week after the modeling in lung tissue in ACE2-MSCs group were higher than those in PAH group and null-MSCs group (both $P<0.05$), but still lower than those in normal control group ($P<$

* 基金项目:国家自然科学基金项目(N0:81370242);广东省医学科研基金项目(N0:A 2015278)

¹ 广东医科大学附属医院老年病科(广东湛江,524001)

² 广东医科大学附属医院心内科

通信作者:陈建英, E-mail: jychen271@126.com

0.05)。Conclusion: ACE2 overexpression in rat BM-MSCs can effectively reduce mPAP in PAH rats, improve pulmonary vascular remodeling and right ventricular remodeling, inhibit the inflammation in lung, and regulate the homeostasis of RAS.

Key words mesenchymal stem cells; angiotensin-converting enzyme 2; pulmonary arterial hypertension

肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)是一组由不同原因引起的以肺血管阻力进行性增加为特征的临床病理生理综合征,最终可发展为右心功能衰竭而导致死亡。PAH的主要病理特征为肺小血管增生病变、肺血管重构及阻力增加。既往研究发现,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)对 PAH 有较好的治疗效果。MSC 作为具有自我更新和多向分化潜能的非造血干细胞,其发挥保护作用的机制可能是通过旁分泌某些生长因子、分化因子、免疫抑制因子等从而调控炎症反应,促进损伤修复。与此同时,肾素-血管紧张素系统(RAS)亦被证实在血管内皮功能受损及病理性重构中发挥着重要的作用。作为新近发现的调控 RAS 的另一个关键酶,血管紧张素转化酶 2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)可通过作用于 MAS 受体从而发挥抗炎、抗纤维化、抗增殖、抗氧化应激等作用。本研究采用 ACE2 慢病毒载体感染 MSCs,制备出能稳定过表达 ACE2 的 ACE2-MSCs,旨在观察其对野百合碱(MCT)诱导的 PAH 大鼠的干预作用,为 PAH 的临床治疗提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

α -MEM 培养基、胎牛血清(Gibco 公司);小鼠抗大鼠 CD29-PE、CD31-PE、CD45-FITC、CD44-FITC(BD, U. S. A);慢病毒原液(苏州吉玛基因股份有限公司);MCT(Sigma, U. S. A);RNAiso Plus、荧光定量 PCR 试剂盒、逆转录试剂盒(TaKaRa)。

1.2 骨髓间充质干细胞的培养与鉴定

骨髓间充质干细胞(BM-MSCs)的培养与鉴定方法同本课题组既往研究^[1]。选取 4 周龄的健康 SD 大鼠(50~80 g),采用全骨髓贴壁法分离培养 BM-MSCs,纯化培养至第 3 代,采用流式细胞仪对 BM-MSCs 表面抗原标记物(CD29、CD31、CD44H、CD45)进行鉴定。使用 MSC 成骨、成脂诱导分化培养基进行诱导分化功能的鉴定。

1.3 制备过表达 ACE2 的 BM-MSCs

携带大鼠 ACE2 基因的慢病毒 LV5(EF1a-GFP/puro)d ACE2 基因载体(吉玛公司),滴度为 2×10^8 ;选取第 3 代生长状态良好的 BM-MSCs,在 6 孔板中与携带慢病毒的 MSC 培养基共培养 24 h,48~72 h 后在荧光显微镜下观察绿色荧光蛋白的分布情况,确定最佳感染复数及

转染效率,并使用嘌呤霉素筛选表达抗性基因的 BM-MSCs。

1.4 检测 BM-MSCs 中 ACE2 基因与蛋白表达水平

使用 RT-PCR 检测携带 ACE2 基因的慢病毒载体感染 BM-MSCs 后, BM-MSCs 中 ACE2 基因的表达水平。提取 BM-MSCs 总 RNA 并逆转录成 cDNA,进行实时反向转录酶聚合酶链反应。ACE2 引物序列: F: CTATTGGTCTTCTGCCATCCA; R: CCATCCACCTCCACTTCTCT。选择 β -actin 作为内参。使用裂解液提取 BM-MSCs 的总蛋白并进行 BCA 定量, ACE2 抗体(1 : 1 000)孵育过夜,选择 β -actin(1 : 2 000)作为内参。

1.5 实验动物分组与处理

SPF 级健康、雄性 SD 大鼠共 20 只,8 周龄,体重 250~300 g。实验动物由广东省医学实验动物中心提供(许可证号:SCXK 粤 2008-0002)。按随机数字表法分为 4 组,每组 5 只:空白对照组(Control 组)、MCT 诱导的 PAH 组(PAH 组)、转染 ACE2 的 MSC 组(ACE2-MSCs 组)以及空病毒载体的 MSC 组(null-MSCs 组)。由广东医科大学实验动物中心提供饲料并进行饲养与观察。大鼠自由进食,饮用自来水,保持垫料干燥。室温(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,恒定湿度(55 ± 5)%,自然光线下饲养,室内设置白天和夜间各 12 h。PAH 组、ACE2-MSCs 组、null-MSCs 组分别腹腔注射 MCT 构建 PAH 模型;ACE2-MSCs 组与 null-MSCs 组于第 3、10、17 天分别予以尾静脉注射 0.5 ml 生理盐水溶解的已成功转染 ACE2 的 BM-MSCs 及空病毒载体感染的 BM-MSCs(1×10^6 个);PAH 组与 Control 组则在造模后第 3、10、17 天予以尾静脉注射 0.5 ml 生理盐水。

1.6 各组大鼠平均肺动脉压力及右心室肥厚指数测定

按本课题组既往研究所采用的方法^[1],经右颈静脉采用右心导管检测各组大鼠肺动脉压力(PAP)。处死大鼠,分离出右心室(RV)及左心室+室间隔(LV+S),电子天平分别称重,计算出右心室肥厚指数(RVHI = RV/LV+S)。然后将右心室置于 10% 甲醛溶液中固定 24 h,用于后续 HE 染色。

1.7 各组大鼠肺组织标本 HE 染色

10% 的甲醛固定、石蜡包埋、切片、HE 染色,光镜观察肺组织血管分布,利用计算机图像分析系统(光镜, $\times 200$ 倍)定量测量 100 μm 左右的肺小动

脉壁厚度指数(thickness index, TI)及管腔面积指数(area index, AI)(每张切片随机选取 5 个横断面) $TI=1-\text{血管内径}/\text{血管外径}$, $AI=1-\text{管腔面积}/\text{血管总面积}$ 。

1.8 Western blot 检测各组大鼠肺组织中 ACE2 与 ACE 蛋白表达水平

使用裂解液提取大鼠肺组织的总蛋白并进行 BCA 定量。ACE2 抗体(1 : 1 000), ACE 抗体(1 : 1 000)孵育过夜。选择 β -actin(1 : 2 000)作为内参。

1.9 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,多个样品均数采用单因素方差分析 One-Way ANOVA,方差齐采用 LSD 方法进行检验,方差不齐采用 Tamhane 法进行检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

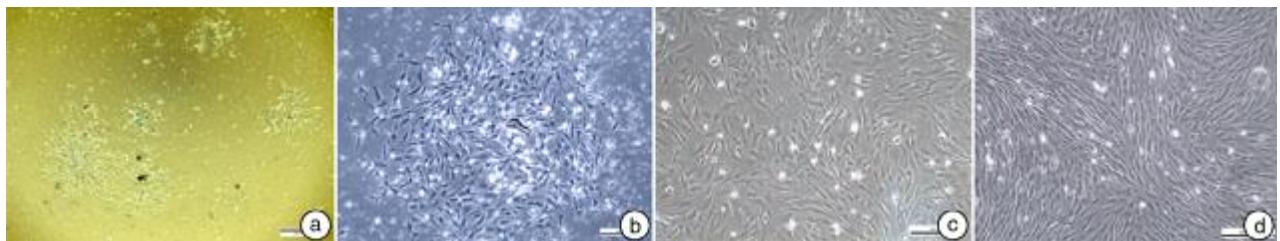
2 结果

2.1 BM-MSCs 的形态学观察

原代培养的 BM-MSCs 第 3 天形态不均一,呈类圆形或椭圆形(图 1a,b);原代细胞培养至第 8~10 天(细胞融合度达 80%~90%)时,形态较为均一,呈长梭形,分布无明显规律(图 1c);细胞培养至第 3 代时,为均一的纺锤形或纤维细胞样,排列稍紧密,呈辐辏样、漩涡状集落排列生长(图 1d)。

2.2 BM-MSCs 表面抗原流式鉴定结果

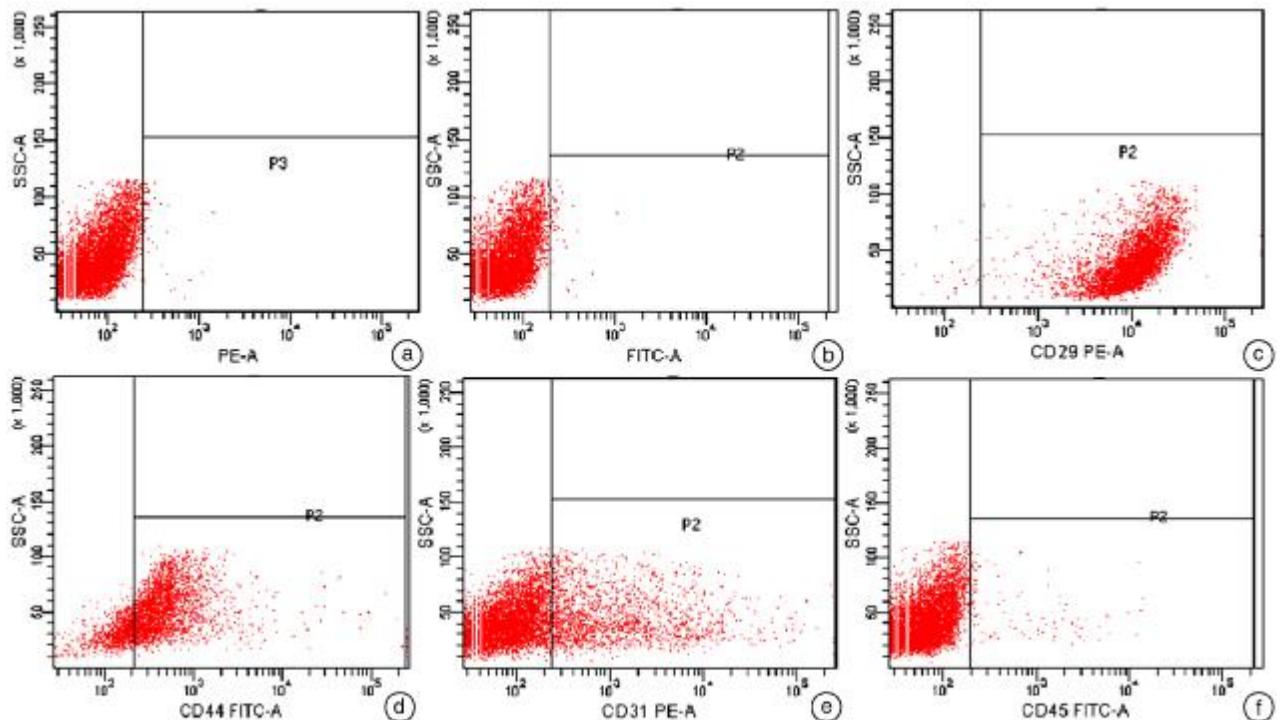
FACS Calibur 流式细胞仪检测 BM-MSCs 表面抗原表达情况结果显示:第 3 代 BM-MSCs 阳性表达 CD29 (99.01 ± 1.03)%、CD44H (80.25 ± 2.33)%(图 2c,d);阴性表达 CD31 (4.33 ± 0.88)%、CD45 (0.99 ± 1.05)%(图 2e,f)。流式结果基本符合国际细胞治疗协会制定的关于 BM-MSCs 的表型特点。



a,c,d: $\times 40$ 倍; b: $\times 100$ 倍;

图 1 SD 大鼠 BM-MSCs 不同生长阶段的形态学变化及特征

Figure 1 Morphological changes and characteristics of BM-MSCs from SD rats



a,b 为阴性对照, c,d,e,f 分别为 CD29、CD44、CD31、CD45 的表达率。

图 2 BM-MSCs 表面抗原流式鉴定结果

Figure 2 Identification results of surface antigen in BM-MSCs

2.3 BM-MSCs 诱导分化功能鉴定结果

经成脂诱导及油红 O 染色后,在细胞胞质内可见红色脂肪液滴形成(图 3a),而未经诱导的对照组则无脂肪液滴形成(图 3b)。经成骨诱导及茜素红染色后,在细胞外基质可见橘红色钙结节沉积形成(图 3c),而未经诱导的对照组则无钙结节形成(图 3d)。

2.4 转染 ACE2 的 BM-MSCs 绿色荧光蛋白分布情况

分别使用 MOI=50、20、10 的慢病毒原液感染 MSC 12 h、48~72 h 后荧光显微镜下可见绿色荧光蛋白表达情况。结合绿色荧光蛋白表达分布情况,确定感染 MSC 的最适 MOI=10(图 4)。

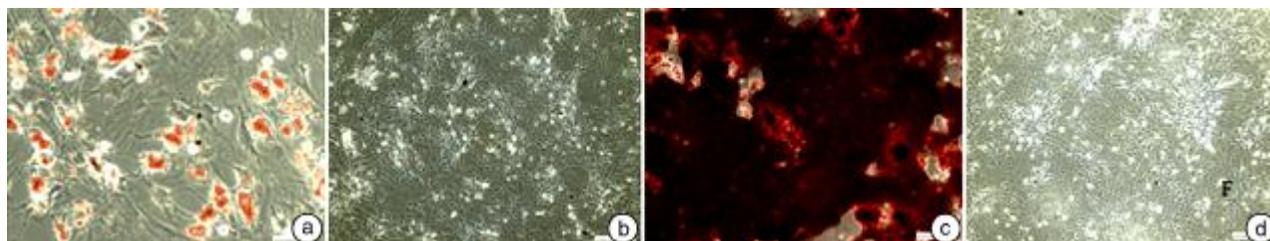
2.5 RT-PCR 及 Western Blot 检测 ACE2 转染情况

RT-PCR 结果显示:与 null-MSC 组比较,

ACE2-MSCs 组 ACE2 mRNA 相对表达量明显升高($P<0.0001$)。Western Blot 结果显示:与 null-MSCs 组比较,ACE2-MSCs 组 ACE2 蛋白表达水平明显升高($P<0.0001$)。

2.6 各组大鼠 mPAP 及 RV/LV+S 检测结果

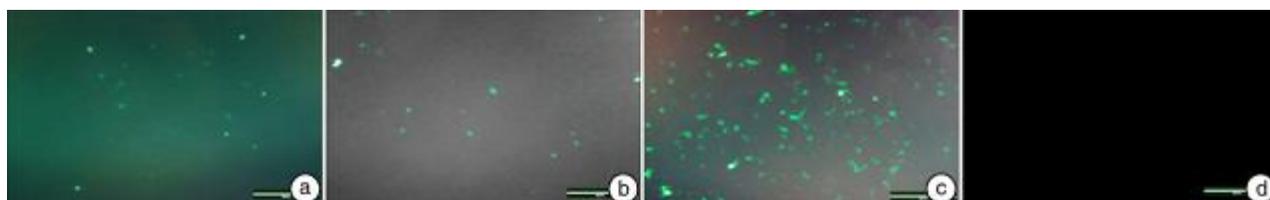
与 Control 组比较,PAH 组的 mPAP、RV/LV+S 显著升高($P<0.05$);与 PAH 组比较,ACE2-MSCs 组及 null-MSCs 组的 mPAP、RV/LV+S 均明显下降($P<0.05$),而与 Control 组比较,ACE2-MSCs 组及 null-MSCs 组的 mPAP、RV/LV+S 则有所升高($P<0.05$);与 null-MSCs 组比较,ACE2-MSCs 组的 mPAP、RV/LV+S 均有所下降($P<0.05$)。见图 5。



a:BM-MSCs 成脂诱导分化后油红 O 染色;b:空白对照组;c:BM-MSCs 成骨诱导分化茜素红染色;d:空白对照组。

图 3 BM-MSCs 诱导分化功能鉴定结果($\times 40$)

Figure 3 Identification results of induced differentiation function in BM-MSCs ($\times 40$)



a,b,c,d 分别为 MOI=50、20、10、空病毒载体组。

图 4 转染 ACE2 的 BM-MSCs 绿色荧光蛋白表达情况

Figure 4 The expression of green fluorescent protein of ACE2-BMMSCs

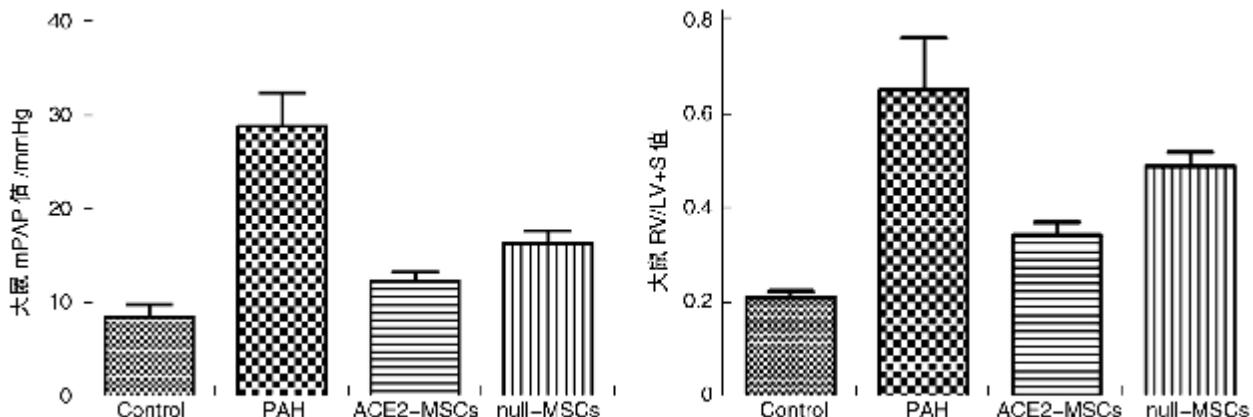


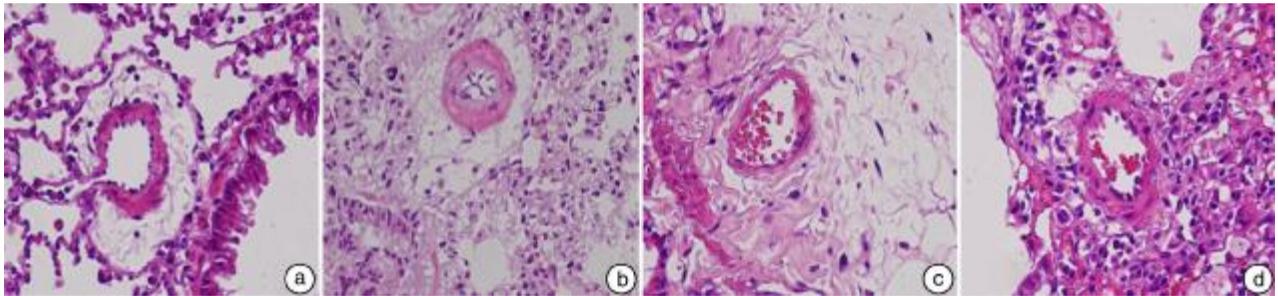
图 5 各组大鼠 mPAP 及 RV/LV+S 比较

Figure 5 mPAP and RV/LV+S of four groups of rats

2.7 大鼠肺组织标本 HE 染色镜下观察情况

与 Control 组比较,PAH 组炎症浸润明显,肺泡塌陷,肺泡实质化,肺小动脉壁明显增厚,管腔明显狭窄,TI、AI 均明显上升($P < 0.05$);与 PAH 组比较,ACE2-MSCs 组及 null-MSCs 组炎症浸润明显减少,肺泡增加,肺小动脉管壁厚度明显减轻,管

腔增大,TI、AI 均有所下降($P < 0.05$),但与 Control 组比较,ACE2-MSCs 组及 null-MSCs 组的 TI、AI 仍有所上升($P < 0.05$);而与 null-MSCs 组比较,ACE2-MSCs 组的 TI、AI 则有所下降($P < 0.05$)。见图 6、7。



a、b、c、d 分别为 Control 组、PAH 组、ACE2-MSCs 组、null-MSCs 组。

图 6 大鼠肺组织标本 HE 染色($\times 400$)

Figure 6 Stained sections of four groups of rats ($\times 400$)

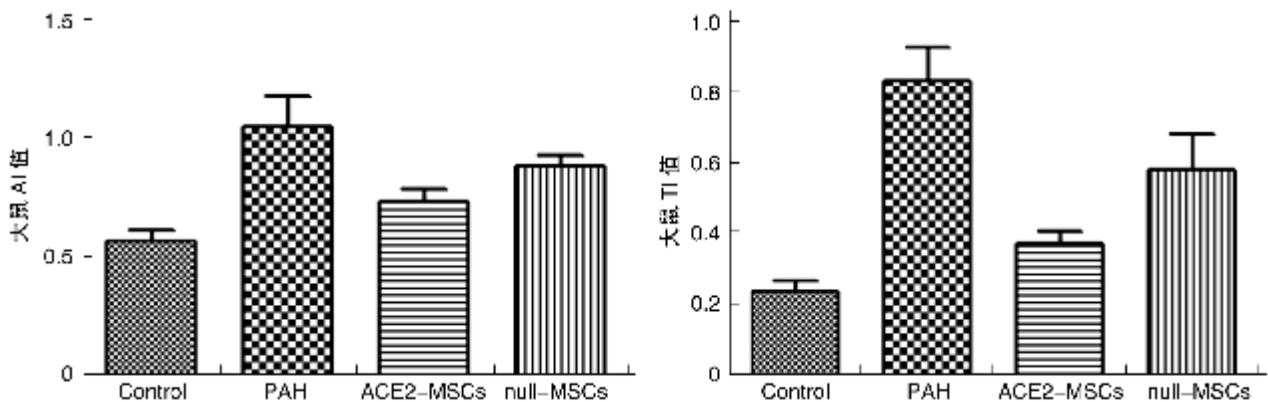


图 7 大鼠肺组织 AI 与 TI 值

Figure 7 AI and TI of four groups of rats

2.8 大鼠肺组织中 ACE2、ACE 蛋白表达水平

与 Control 组比较,PAH 组的 ACE2、ACE2/ACE 明显降低,ACE 蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$);与 PAH 组比较,ACE2-MSCs 组及 null-MSCs 组的 ACE2、ACE2/ACE 有所升高,ACE 蛋白表达水平有所降低($P < 0.05$);而与 Control 组比较,ACE2-MSCs 组及 null-MSCs 组的 ACE2、ACE2/ACE 仍有所下降,ACE 蛋白表达水平仍有所升高($P < 0.05$);与 null-MSCs 组比较,ACE2-MSCs 组的 ACE2、ACE2/ACE 则有所升高,ACE 蛋白表达水平则有所下降($P < 0.05$)。见图 8、9。

3 讨论

PAH 是一种多病因、难治性的肺血管病变,其中内皮功能障碍被认为是 PAH 的起始环节,其主要病理特征为肺血管重构、收缩及原位血栓形成^[2]。研究发现,MSC 能改善 MCT 诱导的 PAH

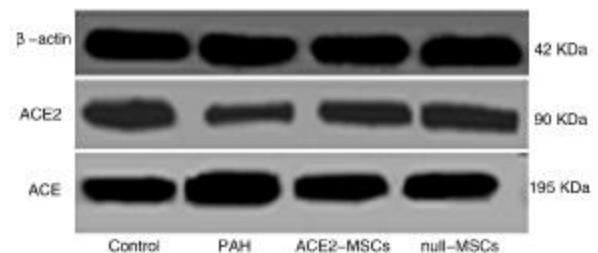


图 8 各组大鼠肺组织 Western blot 检测结果

Figure 8 Results of Western blot in lung tissues

大鼠的右心室功能,减少肺动脉壁厚度与面积,改善肺血管抵抗^[3]。其保护作用可能是通过干细胞旁分泌生长因子、分化因子、免疫因子等调控免疫反应,促进损伤修复^[4]。本研究证实,ACE2-MSCs 组及 null-MSCs 组均能有效降低 PAH 大鼠

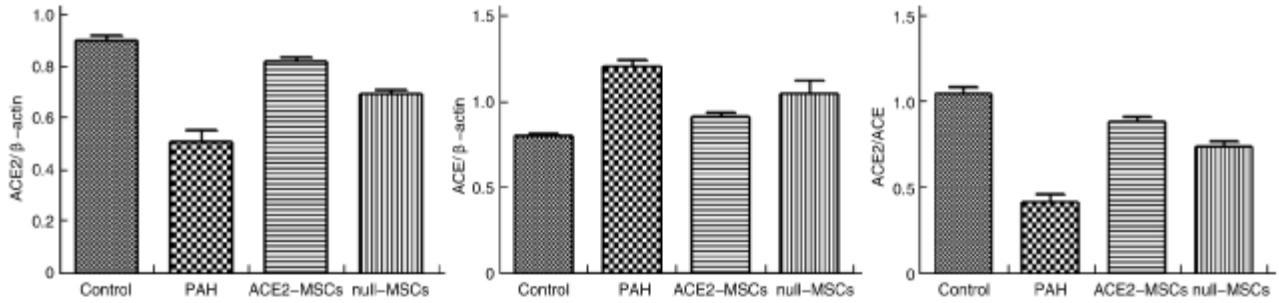


图9 各组大鼠肺组织 ACE2 与 ACE 蛋白表达情况

Figure 9 The protein expression of ACE2 and ACE in lung tissues

mPAP,改善肺血管及右心室重构,减轻肺组织炎症浸润,其保护作用与文献报道相符。

在对吸烟诱导的 PAH 大鼠的研究中发现,ACE2 活性下降,而使用 ACE2 激活剂进行干预则能改善心脏功能,逆转心室肥厚与外周血管纤维化^[5-6]。ACE2 表达水平升高所起的保护作用,可能是通过增加具有血管保护作用及抗增殖作用的血管紧张素 1-7(Ang1-7)的合成,同时降低血管紧张素 II(Ang- II)的表达水平,减少其血管收缩与促增殖反应实现的^[7]。本研究中,与 Control 组比较,PAH 组大鼠肺组织 ACE2 蛋白表达水平下降,ACE 蛋白表达水平升高,ACE2/ACE 明显下降,提示在 PAH 发生发展过程中,RAS 调节失衡可能是诱发肺血管重构,造成肺血管一系列病理生理改变,进而导致 PAH 形成的重要因素之一。另外,与 PAH 组比较,ACE2-MSCs 组大鼠肺组织 ACE2 蛋白表达水平升高,ACE 蛋白表达水平下降,ACE2/ACE 明显升高,且大鼠 mPAP、RV/LV+S、TI 及 AI 均较 PAH 组明显下降,提示在 PAH 发展过程中,通过增加 ACE2 的表达不仅可促使 RAS 调节恢复平衡,而且还能有效改善 PAH 的预后。

既往报道将过表达 ACE2 的慢病毒颗粒通过小鼠气管内注射的方式以预防 MCT 诱导的 PAH^[8]。但病毒颗粒的注射可能会引起不良的免疫应答,且此种方式的外源基因定向表达能力并不理想,存在致癌的风险。在随后的研究中发现,MSC 能稳定、高效地表达外源基因^[9-11]。

基于此,本研究构建过表达 ACE2 的 MSCs 用于干预 PAH 的发展,并推测 MSC 一方面能发挥其旁分泌的保护作用,改善肺血管重构,抑制炎症形成;另一方面,外源性基因 ACE2 能借助于干细胞载体,更好地在大鼠体内稳定表达,从而上调 ACE2 蛋白水平,调节 RAS 平衡,最终发挥相应的心血管保护作用。值得注意的是,本研究中,ACE2-MSCs 组与 null-MSCs 组均能有效改善 PAH 大鼠的预后,且 ACE2-MSCs 组保护作用优于 null-MSCs 组,提示通过增加 ACE2 蛋白水平,

促进 RAS 平衡将有助于 PAH 的预后。此外,ACE2-MSCs 组与 Control 组比较差异显著,表明 ACE2 虽可改善 PAH 预后,但仍无法完全逆转其病理过程,提示仍有其他机制参与到 PAH 的发生发展过程中。本研究中,过表达 ACE2 基因的 BM-MSC 干预 PAH 大鼠的效果明显,但其具体作用机制、信号通路仍未明确,有待更深入的研究。

参考文献

- [1] Chen JY,Ran AN,LIU ZJ, et al. Therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived microvesicles on pulmonary arterial hypertension in rats[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*,2014,35(9):1121-1128.
- [2] Budhiraja R, Tuder RM, Hassoun PM. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension circulation[J]. *Circulation*,2004,109(2):159-165.
- [3] Lee H, Lee JC, Kwon JH, et al. The effect of umbilical cord blood derived mesenchymal stem cells in monocrotaline-induced pulmonary artery hypertension rats [J]. *J Korean Med Sci*,2015,30(5):576-585.
- [4] Wang Y, Chen XD, Cao W, et al. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: pathological and therapeutic implications[J]. *Nat Immunol*,2014,15(11):1009-1016.
- [5] Yuan YM, Luo L, Guo Z, et al. Activation of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) in the lung of smoking-induced pulmonary arterial hypertension (PAH) rats [J]. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*,2015,16(2):249-253.
- [6] Qi YF, Zhang J, Cole-Jeffrey CT, et al. Diminazene aceturate enhances ACE2 activity and attenuates ischemia-induced cardiac pathophysiology [J]. *Hypertension*,2013,62(4):746-752.
- [7] Haga S, Tsuchiya H, Hirai T, et al. A novel ACE2 activator reduces monocrotaline-induced pulmonary hypertension by suppressing the JAK/STAT and TGF-β cascades with restored caveolin-1 expression [J]. *Exp Lung Res*,2015,41(1):21-31.
- [8] Shenoy V, Ferreira AJ, Qi Y, et al. Prevention of monocrotaline-induced pulmonary hypertension by lentiviral mediated gene delivery of Angiotensin-(1-7) [J]. *Circ Res*,2008,103:1493-1501.

• 继续教育 •

自噬与氧化应激在心血管疾病中的研究进展

刘德敏¹ 贾宏宇¹ 柴文静¹ 呼海娟¹ 崔炜¹

[摘要] 自噬作为一种高度保守的自我保护机制在多种心血管疾病特别是动脉粥样硬化、心肌缺血再灌注损伤、心力衰竭中发挥重要作用,并与内质网和线粒体产生的活性氧簇(ROS)相互作用,全面了解二者间关系可能为预防和治疗心血管疾病提供新的策略。

[关键词] 自噬;氧化应激;心血管疾病

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2018.04.021

[中图分类号] R34 **[文献标志码]** A

The progress of autophagy and oxidative stress in cardiovascular diseases

LIU Demin JIA Hongyu CHAI Wenjing HU Haijuan CUI Wei

(Department of Cardiology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, 050000, China)

Corresponding author: CUI Wei, E-mail: cuiwei21c@163.com

Summary Autophagy, as a highly conserved mechanism of self-protection, plays an important role in many cardiovascular diseases, especially in atherosclerosis, myocardial ischemia reperfusion injury and heart failure. With the endoplasmic reticulum and mitochondria (ROS) interaction, a comprehensive understanding of the relationship between the two may provide a new strategy for the prevention and treatment of cardiovascular disease.

Key words autophagy; oxidative stress; cardiovascular diseases

自噬是一种普遍存在于真核细胞中的生命现象,是在进化上高度保守的自我保护机制,在实现细胞内物质循环再利用和维持细胞稳态方面发挥重要作用。自噬参与了细胞的生长发育、衰老死亡等诸多生理过程,也与肿瘤、神经退行性疾病、病原体感染、心血管疾病等病理状态密切相关,目前已成为生物学领域的研究热点之一^[1]。氧化应激是指活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成过多超过其清除能力,使氧化和抗氧化系统失衡,导致细胞组织损伤的病理过程。既往研究显示,自噬在多种心血管疾病特别是在动脉粥样硬化、心肌缺血再灌注损伤、心力衰竭中发挥重要作用,并与内质网和线粒体产生的活性氧簇(ROS)相互作用,全面了解二者间关系可能为预防和治疗心血管疾病提供新的策略。本文重点就自噬与氧化应激在心血管疾病中的研究进展做一综述。

1 概述

自噬一词源于希腊语的 auto(自我)和 phagein(吞噬),由 de Duve 于 1966 年提出,是指细胞依赖溶酶体途径主动对自身错误折叠的蛋白和受损的细胞器降解并将产生的物质和能量循环利用的过程^[2]。自噬在营养缺乏、氧化应激等条件下激活,帮助细胞渡过难关。然而,自噬过度激活可能是有害的,甚至导致自噬性细胞死亡,Clark 等将其称为 II 型程序性细胞死亡,有别于细胞凋亡和坏死。一般情况下自噬对降解底物无选择性,特定情况下自噬可针对某一物质或细胞器,例如线粒体自噬、内质网自噬、脂噬等。通常所说的自噬即指大自噬,主要分为 4 个阶段:①起始:来源不明的双层膜结构形成囊泡,称为自噬泡;②延伸:自噬泡弯曲延伸呈杯状,将受损的胞质蛋白和细胞器包裹封闭,形成自噬体;③融合:自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体;④降解:溶酶体酶将细胞成分降解,降解产生的氨基酸、脂肪酸等小分子物质参与合成和

¹河北医科大学第二医院心内科
通信作者:崔炜, E-mail: cuiwei21c@163.com

[9] Liao JC. Cell Therapy using bone marrow-derived stem cell overexpressing BMP-7 for degenerative discs in a rat tail disc model [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(2). doi:10.3390/ijms17020147.
[10] Chen H, Yang H, Yue H, et al. Mesenchymal stem cells expressing eNOS and a Cav1 mutant inhibit vascular smooth muscle cell proliferation in a rat model

of pulmonary hypertension [J]. Heart Lung Circ, 2016(5):509-518.
[11] Chen L, Yuan Z, Tao L, et al. Mesenchymal stem cells with eNOS over-expression enhance cardiac repair in rats with myocardial infarction [J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2017, 31(1):9-18.

(收稿日期:2017-08-22)