

从脾论治冠心病线粒体自噬调控铁死亡机制研究^{*}

赵英惠¹ 姜钧文^{2△}

摘要:“从脾论治”冠心病理论最早可见于《黄帝内经》,动脉粥样硬化的发生主要源于脾脏功能不足,无法有效地输送食物化生的精微营养,养分积聚而为痰浊,痰瘀交阻于血脉,造成血管阻塞。铁死亡是一个特定的细胞凋亡过程,与氧化应激有着紧密联系,其特征是在其中产生了活性氧(ROS)和脂质过氧化。线粒体作为一种重要的生物分子,能够影响铁元素、氧化应激、脂质和能量代谢等因素来调控铁死亡的进程,同时也能起到激活或抑制的作用。线粒体自噬-铁死亡机制共同影响了冠状动脉粥样硬化进程。此文探索线粒体自噬-铁死亡机制在脾虚痰瘀所致脉道不利中的作用,为临床治疗冠心病提供新思路。

关键词: 胸痹; 冠心病; 从脾论治; 铁死亡; 线粒体自噬

doi: 10.3969/j.issn.1003-8914.2024.06.021

文章编号: 1003-8914(2024)-06-1111-03

中国 2021 年的心血管健康与疾病的相关报告显示,心血管疾病患者总数已超过了 3.3 亿,同时心血管疾病导致的死亡人数居国内城乡人口死亡人数首位^[1]。心血管疾病已严重危害患者健康甚至造成患者死亡。冠状动脉粥样硬化性心脏病(Coronary heart disease, CHD)即冠心病,是由冠状动脉出现粥样硬化性病变,引起心脏血管狭窄或阻塞,供血供氧不足,造成心肌缺血、坏死而导致的心血管疾病^[2]。CHD 属于中医学“胸痹、真心痛”范畴,从脾论治冠心病是近年来中医界比较认可的观点之一。冠状动脉粥样硬化的显著特点在于动脉斑块的生成。这些斑块主要由脂质、炎症细胞和其他物质组成。既往研究已证实,氧化应激炎症反应、异常脂质能量代谢、线粒体损伤及铁(特别是二价铁)超载导致细胞死亡等是斑块形成、管腔狭窄、血栓形成所致心血管疾病的重要因素。本文旨在研究从脾论治冠心病线粒体自噬-铁死亡的机制,现报道如下。

1 铁死亡与动脉粥样硬化的形成

一种新的程序性细胞死亡形式——铁死亡(Regulated cell death, RCD),该死亡最主要的特点是完整的细胞膜脂质过氧化,从而导致致死量的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)沉积。铁死亡在形态学上的特点主要是线粒体缩小、脂质和细胞器肿胀、质膜破裂和双囊的形成。从分子生物学角度来看,铁死亡的具体表征则是在谷胱甘肽过氧化物酶 4(Glutathione peroxidase, GPX4)含量明显降低的同时伴随谷氨酸-胱氨酸反向转运系统(XC-)的活性和表达减少^[3]。总体

来说,铁死亡的机制主要包括氨基酸抗氧化系统的失衡和破坏^[4]、铁离子代谢紊乱及正反馈调节参与铁死亡的发生等^[5]。

铁蛋白水平的异常升高促进氧化应激,内皮细胞内的铁浓度升高导致还原剂谷胱甘肽消耗以及低密度脂蛋白的形成,进一步促进氧化应激以及细胞内脂质过氧化物(Lipid peroxide, LPO)的积累。此外,铁超载还可以通过 ROS 和环氧化酶通路而导致内皮细胞中线粒体损伤,影响巨噬细胞的炎症表型^[6],进而促进早期动脉硬化的形成。研究表明,铁还可以通过影响体外和体内的 LPO 参与动脉粥样硬化病变的发展^[7-8]。氧化的多不饱和脂肪酸被认为是最主要的 LPO 来源之一,它可以引起内皮的 ROS 含量上升及 NO 水平降低;同时也会触发巨噬细胞的慢性炎症和泡沫细胞形成等病理变化现象的发生从而诱导冠状动脉粥样硬化的形成^[9]。Bai 等^[10]发现铁死亡抑制剂铁抑素-1 可以缓解动脉粥样硬化病变和脂质过氧化。还有研究证实,内皮细胞分泌的细胞外囊泡转移 microRNA-199a-3p 以抑制特异性蛋白 1,从而抑制内皮细胞铁死亡来延缓动脉粥样硬化的形成^[11]。综上所述,铁死亡通过诸多环节参与动脉粥样硬化的形成,通过抑制血管内皮细胞的铁死亡,延缓动脉粥样硬化形成,抑制铁死亡可能成为治疗冠心病的新策略。

2 线粒体自噬与动脉粥样硬化的形成

线粒体自噬的现象由 Lemasters^[12]于 2005 年首次提出,其概念为细胞利用自噬活动的选择性,将衰老、损伤或功能障碍的线粒体特异性地包裹进自噬体并且与溶酶体融合,完成线粒体的降解,从而控制细胞内线粒体的质量和数量。当线粒体受损时,线粒体内膜去极化,稳定线粒体外膜上的 PTEN 诱导假定激酶 1(PTEN induced putative kinase 1, PINK1)。然后 PINK1 磷酸化线粒体融合素基因-2(Mitofusin-2, Mfn-2)和泛

^{*} 基金项目: 辽宁省自然科学基金指导计划项目(No. 2019-zd-0438)

作者单位: 1. 辽宁中医药大学硕士研究生 2021 级(辽宁 沈阳 110847); 2. 辽宁中医药大学附属医院心血管内科(辽宁 沈阳 110032)

△通信作者: E-mail: 1731646437@qq.com

素,从而将 Parkin 招募到线粒体外膜上。Parkin 可以泛素化特定的底物,并被泛素结合蛋白视神经蛋白 (Optineurin, OPTN)、隔离体蛋白 1 (p62/Sequestosome-1, p62/SQSTM1)、核点蛋白 52 (Calcium-binding and coiled-coil domain-containing protein 2, NDO52) 和自噬受体 NBR1 识别,进而将线粒体招募到自噬体中,促进线粒体自噬的发生^[13]。此外,一些受体也可介导线粒体自噬。

在血管平滑肌细胞中,PINK/Parkin 的表达增加导致介导线粒体自噬的增强,从而减缓动脉粥样硬化的形成,是动脉粥样硬化病变的保护因素^[14]。巨噬细胞中功能失调线粒体的积累导致产生的 ROS 大量积累,从而引发斑块中巨噬细胞的凋亡,导致 AS 斑块中坏死核心的形成^[15]。线粒体外膜蛋白 Nix 介导的线粒体自噬被高蛋白饮食阻断也会加剧 AS 斑块中巨噬细胞的凋亡^[16]。研究发现,巨噬细胞中的脂质可触发真核细胞起始因子 2 α (eIF2 α) 反应,同时也会引发线粒体蛋白酶 Lonp1 破坏 PINK1 并阻止 Parkin 介导的线粒体自噬,导致线粒体氧化应激、激活炎症并分泌白细胞介素-1 β (IL-1 β),最终促进动脉粥样硬化进程^[17]。一旦出现血小板微血栓或微血管闭塞形成的情况,就会缺氧激活 FUNDC1 介导的线粒体自噬过程,这样可以有效地消除大量线粒体,减少血小板聚集、扩散、降低黏附分子的激活,因此可以有效减慢动脉粥样硬化的发展趋势^[18]。总之,线粒体自噬是影响动脉粥样硬化发展的重要环节之一——它能起到调控该疾病发展的效果,可能是一个新的潜在目标方向。

3 从脾论治冠心病与线粒体自噬调控铁死亡机制

3.1 从脾论治冠心病的研究 早期的医学典籍,如《黄帝内经》已经阐述过“寒厥入胃,则内生心痛”。而在《金匱要略·胸痹心痛短气病脉证并治》里详细描述“胸痹,心中痞,留气结在胸,胸满,胁下逆抢心,枳实薤白桂枝汤主之,人参汤亦主之”,这标志着从脾胃论治心胸疾病开始成为一种新趋势。此外孙思邈的《备急千金要方》强调说“心劳病者,补脾气以益之,脾旺则感于心矣”,明确指出从脾论治心病。李果烈认为胸痹的病机与心瘀脾痰密切相关,主张调脾以护心^[19]。张会永等^[20]提出胸痹的发病机制心脉痹阻是由于“脾病脉道不利”所致,因而胸痹与脾关系密切。孙兰军教授认为心脉功能受脾胃影响,从脾胃方面调治冠心病,疗效确切^[21]。黄丽娟教授认为心血管的致病因素是脾胃失和与气血阴阳的失调,并提出治疗冠心病之理脾六法^[22]。动脉粥样硬化的形成,多由脾虚导致水谷精微运化无力而聚生痰浊,痰瘀互结伏于血

脉,最终形成脉道不利。因此,动脉粥样硬化以脾虚为本,痰瘀互结为标。由此可见,脾的运化失职是引起动脉粥样硬化形成的重要因素,“从脾论治”治疗冠心病具有坚实的中医理论基础,故通过探讨冠状动脉粥样硬化形成与发展的影响因素对于从脾论治冠心病而言具有重要意义。

3.2 线粒体自噬调控铁死亡机制研究近况 铁死亡涉及氧化应激,它以生成 ROS 和脂质过氧化特征而著名。从线粒体的角度来看,它能调节铁、氧化应激、脂质和能量代谢等方面,从而对铁死亡的过程起到调控作用^[23]。许多研究都揭示了线粒体功能在铁死亡中的重要地位^[24]。

3.2.1 线粒体对铁死亡的促进作用 ①电压依赖性阴离子通道 (Voltage-dependent anion channel, VDAC): VDAC 是位于线粒体和细胞质之间的通道,可在 RAS-RAF-MEK 通路的作用下上调,导致线粒体功能障碍和 ROS 积累^[25]。药物可用于改变 VDAC 的通透性,从而导致线粒体代谢紊乱,大量物质进入线粒体而产生过多的 ROS,促进铁死亡的发生。②心磷脂 (Cardiolipin, CL): CL 是线粒体内膜的重要磷脂成分,与细胞色素 c (Cytochrome c, Cytc) 紧密结合形成复合物。有研究表明,CL 的酰基链一旦被过氧化,其疏水性就会减弱,并发生构象变化,CL 的过氧化反应可能会破坏细胞色素 C 和内膜的结构,从而导致细胞色素 C 释放出来参与线粒体中的呼吸链,从而产生大量的 ROS^[26-27],促进细胞铁死亡的发生。③酰基辅酶 A 合成酶长链家族 4 (Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4): ACSL4 是一种位于线粒体外膜的长链家族蛋白。有研究证明,ACSL4 主要选择不饱和脂肪酸催化脂肪酸酰辅酶 A 的形成,从而激活相应的脂肪酸用于脂肪酸氧化或脂质生物合成^[28],诱导铁死亡发生。

3.2.2 线粒体对铁死亡的抑制作用 ①CDGSH 铁硫结构域 1 (CDGSH iron sulfur domain 1, Cisd1): Cisd1 是锚定在线粒体外膜上的一种蛋白质,具有调节线粒体呼吸和铁吸收的功能。研究发现,用 RNAi 转染细胞后,线粒体 Cisd1 受到抑制,细胞对铁死亡诱导剂 Erastin 的敏感性增加。研究人员使用了多种铁死亡抑制剂来抑制因 Cisd1 缺乏而导致的铁死亡,证明了 Cisd1 对 Erastin 诱导的铁死亡有抑制作用^[29]。②XJB-5-431: XJB-5-431 作为线粒体中心磷脂氧化的抑制剂,能够通过抑制心磷脂介导的脂质过氧化来抑制细胞内铁的死亡。③线粒体铁蛋白 (Mitochondrial ferritin, FtMt): FtMt 是一种位于线粒体中的铁储存蛋白,它能够调控线粒体中的铁代谢过程。研究结果表明,相较于对照组,用 Erastin 处理的细胞

内游离铁含量显著提升,然而,在加入 FtMt 蛋白后,细胞内的游离铁含量却有所下降,这说明 FtMt 可以通过调控铁代谢来影响细胞中的铁死亡。

4 结语

笔者已经在前面提到多个线粒体中参与调控铁死亡的蛋白,这表明线粒体在铁死亡过程中起着重要作用。从线粒体出发,当线粒体进行选择性的自噬后,会对铁死亡产生相应效果,并最终影响动脉粥样硬化的发展。综上所述,在动脉粥样硬化发病过程中,线粒体通过正负调控铁死亡的发生,从而影响线粒体自噬调控铁死亡之间的关系。近年来,线粒体自噬、铁死亡对冠心病的影响引起了研究人员的广泛关注,大量研究报告表明,这 2 种机制参与了大量的代谢途径和信号通路,但这 2 种机制之间的相互协调方式仍难以厘清。通过从脾论治冠心病出发,与线粒体自噬调控铁死亡机制联系,有望为临床治疗冠心病的预防、诊断与治疗提供更多可能性。

参考文献

- [1] 《中国心血管健康与疾病报告 2021》编写组.《中国心血管健康与疾病报告 2021》要点解读[J].中国心血管杂志,2022,27(4):305-318.
- [2] 陆再英,钟南山.内科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008:274.
- [3] AYDIN FS, HUKKAM B, BUDAK H. Coaction of hepatic thioredoxin and glutathione systems in iron overload-induced oxidative stress[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2021, 35(4): e22704.
- [4] STOCKWELL BR, FRIEDMANN ANGELI JP, BAYIR H, et al. Ferroptosis: A regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology and disease[J]. Cell, 2017, 171(2): 273-285.
- [5] GAO H, BAI YS, JIA YY, et al. Ferroptosis is a lysosomal cell death process [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(3): 1550-1556.
- [6] CHEN ZZ, YAN YY, QI C, et al. The role of ferroptosis in cardiovascular disease and its therapeutic significance [J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 733229.
- [7] DABBAGH AJ, MANNION T, LYNCH SM, et al. The effect of iron overload on rat plasma and liver oxidant status *in vivo* [J]. Biochem J, 1994, 300(Pt 3): 799-803.
- [8] SWAIN J, GUTTERIDGE JM. Prooxidant iron and copper, with ferroxidase and xanthine oxidase activities in human atherosclerotic material[J]. FEBS Lett, 1995, 368(3): 513-515.
- [9] YU Y, YAN Y, NIU FL, et al. Ferroptosis: A cell death connecting oxidative stress, inflammation and cardiovascular diseases [J]. Cell Death Discov, 2021, 7(1): 193.
- [10] BAI T, LI MX, LIU YF, et al. Inhibition of ferroptosis alleviates atherosclerosis through attenuating lipid peroxidation and endothelial dysfunction in mouse aortic endothelial cell [J]. Free Radic Biol Med, 2020, 160: 92-102.
- [11] LI L, WANG HN, ZHANG J, et al. Effect of endothelial progenitor cell-derived extracellular vesicles on endothelial cell ferroptosis and atherosclerotic vascular endothelial injury [J]. Cell Death Discov, 2021, 7(1): 235.
- [12] LEMASTERS JJ. Selective mitochondrial autophagy or mitophagy as a targeted defense against oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and aging [J]. Rejuvenation Res, 2005, 8(1): 3-5.
- [13] PICKLES S, VIGIÉ P, YOULE RJ. Mitophagy and quality control mechanisms in mitochondrial maintenance [J]. Curr Biol, 2018, 28(4): R170-R185.
- [14] DIKALOV SI, DIKALOVA AE. Crosstalk between mitochondrial hyperacetylation and oxidative stress in vascular dysfunction and hypertension [J]. Antioxid Redox Signal, 2019, 31(10): 710-721.
- [15] ZHANG XY, SERGIN I, EVANS TD, et al. High-protein diets increase cardiovascular risk by activating macrophage mTOR to suppress mitophagy [J]. Nat Metab, 2020, 2(1): 110-125.
- [16] PENG X, CHEN HM, LI YY, et al. Effects of NIX-mediated mitophagy on ox-LDL-induced macrophage pyroptosis in atherosclerosis [J]. Cell Biol Int, 2020, 44(7): 1481-1490.
- [17] ONAT UI, YILDIRIM AD, TUFANLI Ö, et al. Intercepting the lipid-induced integrated stress response reduces atherosclerosis [J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 73(10): 1149-1169.
- [18] ZHANG WL, CHEN CY, WANG J, et al. Mitophagy in cardiomyocytes and in platelets: A major mechanism of cardioprotection against ischemia/reperfusion injury [J]. Physiology, 2018, 33(2): 86-98.
- [19] 汪静, 李果烈教授从脾论治胸痹 [J]. 吉林中医药, 2013, 33(10): 994-995.
- [20] 张会永, 崔家鹏, 杨关林. 从《内经》脾病“脉道不利”探讨“从脾论治”冠心病 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2013, 19(11): 1256-1258.
- [21] 寇子祥, 孙兰军, 赵英强. 孙兰军从脾胃论治冠心病经验 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2008, 6(4): 472-473.
- [22] 安海英, 郭玉红, 王振裕. 黄丽娟教授理脾调肝法在心血管疾病治疗中的应用 [J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(8): 645-647.
- [23] WANG H, LIU C, ZHAO YX, et al. Mitochondria regulation in ferroptosis [J]. Eur J Cell Biol, 2020, 99(1): 151058.
- [24] GAO MH, YI JM, ZHU JJ, et al. Role of mitochondria in ferroptosis [J]. Mol Cell, 2019, 73(2): 354-363. e3.
- [25] ZHAO YC, LI YQ, ZHANG RF, et al. The role of erastin in ferroptosis and its prospects in cancer therapy [J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 5429-5441.
- [26] OTT M, ROBERTSON JD, GOGVADZE V, et al. Cytochrome c release from mitochondria proceeds by a two-step process [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(3): 1259-1263.
- [27] SHIDOJI Y, HAYASHI K, KOMURA S, et al. Loss of molecular interaction between cytochrome c and cardiolipin due to lipid peroxidation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 264(2): 343-347.
- [28] YUAN H, LI XM, ZHANG XY, et al. Identification of ACS1A as a biomarker and contributor of ferroptosis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 478(3): 1338-1343.
- [29] YUAN H, LI X, ZHANG X, et al. CIST1 inhibits ferroptosis by protection against mitochondrial lipid peroxidation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 478(2): 838-844.