

程序性坏死与动脉粥样硬化

阎萌 田芳 综述 田野 审校

(哈尔滨医科大学病理生理学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150086)

【摘要】 动脉粥样硬化作为慢性炎症性疾病, 可导致心肌梗死、脑卒中和外周动脉疾病。程序性坏死是近年来提出的新型细胞死亡形式, 被认为是一种程序化的坏死, 或可调控的非凋亡性细胞死亡方式, 可以介导机体炎症反应的发生, 参与多种炎症性疾病的病理过程。研究表明, 程序性坏死参与了动脉粥样硬化斑块的形成, 且可促进动脉粥样硬化斑块进展。

【关键词】 程序性坏死; 动脉粥样硬化; 炎症

【中图分类号】 R329.2⁺6; R543.5

【文献标志码】 A

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2016.02.000

Necroptosis and Atherosclerosis

YAN Meng, TIAN Fang, TIAN Ye

(Department of Pathophysiology, Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang, China)

【Abstract】 Atherosclerosis is a chronic inflammatory disease of the vasculature that causes myocardial infarction, stroke and peripheral vascular disease. Necroptosis is a newly identified type of cell death that has been considered as a form of programmed necrosis or regulated nonapoptotic cell death which may trigger inflammation and is involved in many inflammatory diseases. Researches have shown that necroptosis contributes to the formation and development of atherosclerosis.

【Key words】 Necroptosis; Atherosclerosis; Inflammation

目前, 心血管疾病仍是导致发达国家和发展中国家人类死亡的首要原因, 而动脉粥样硬化作为一种慢性炎症性疾病, 可导致心肌梗死、脑卒中和周围血管疾病, 具有高发病率、致死率的流行病学特点。在动脉粥样硬化疾病的病理过程中, 巨噬细胞发挥了极其重要的生物学作用, 而其多种死亡方式参与的病理过程对动脉粥样硬化的形成和发展起到关键的影响作用^[1]。随着对细胞死亡形式的不断深入研究, 一种新的死亡方式即程序性坏死 (necroptosis) 被发现参与并促进动脉粥样硬化斑块的形成^[2]。现对程序性坏死参与炎症性疾病的机制及目前程序性坏死在动脉粥样硬化疾病中的研究进展做一综述, 为动脉粥样硬化的防治提供新思路。

1 细胞死亡

细胞死亡是机体发生发展中极为重要的过程, 存活细胞与死亡细胞之间的平衡关系是维持机体稳态的一个重要因素, 通过清除多余或受损细胞来保证组织的完整性, 细胞死亡参与了许多疾病的病理过程,

例如肿瘤、神经退行性病变、自身免疫性疾病和缺血-再灌注损伤等。2012 年细胞死亡命名委员会发表的报告中提出新的细胞死亡形式, 这些细胞死亡形式通过细胞形态、酶学特性、细胞功能和免疫学特征被分类^[3]。到目前为止, 有三种细胞死亡形式因其自身均具有典型特征而被广泛认可: 凋亡、自噬和坏死。

细胞凋亡被称作一型细胞死亡, 早在 1960 年就被认为是一种可调控的细胞死亡方式^[4-5]。凋亡的发生与 caspases 的激活有关, 并与机体的发展和稳态密切相关。

自噬被称作二型细胞死亡, 包含三种形式: 巨自噬 (macroautophagy)、微自噬 (microautophagy) 和分子伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy)。当细胞成分处于不可控的过度降解并引发机体处于病理状态时, 自噬会促进细胞的死亡^[6-7]。

坏死又被称作三型细胞死亡, 以细胞肿胀、细胞器肿胀、胞膜破裂等形态学为特征^[8]。直到现在, 多数人仍认为坏死是机体面对无法抵御的压力做出的

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81371709)

作者简介: 阎萌 (1990—), 在读硕士, 主要从事动脉粥样硬化疾病研究。Email: zixuan016@126.com

通信作者: 田野 (1965—), 教授, 主任医师, 博士, 博士后, 主要从事心血管疾病研究。Email: yetian@ems.hrbmu.edu.cn

“偶然”的不可调控的细胞死亡方式。但近来,越来越多的证据显示在特定的条件下,通过特殊的信号转导机制,坏死也许并没有想象的那么简单。Xu 等^[9]在研究中表明,多聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1 [poly (ADP-ribose) polymerase 1, PARP 1] 介导的线粒体功能障碍且最终引发的细胞死亡与 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK)、受体相互作用蛋白激酶 (receptor interaction protein kinase, RIPK) 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 受体相关因子 2 有关。研究者用基因敲除的方法证明在 PARP 1 高表达细胞中, RIPK 1 和 TNF 受体相关因子 2 是 JNK-1 的上游。过去的几年中已经有研究提出有一种细胞死亡形式同时拥有凋亡和坏死的特点, 现在被称为程序性坏死。

2 程序性坏死

程序性坏死是近几年被关注的一种新型的细胞死亡方式,被认为是一种程序化的坏死或可调控的非凋亡性细胞死亡方式^[10]。程序性坏死的概念在 2005 年由 Degterev 等^[11]提出,然而在之前, Formigli 等^[12]更早的发现了程序性坏死在分子和形态学特征上与凋亡和坏死都极为相似,将这种死亡方式命名为 apoptosis。Degterev 等在研究中提出,向细胞中加入 TNF- α 可以诱导细胞凋亡并激活死亡结构域受体。当存在 caspase 抑制剂 (例如 zVAD.fmk)、caspase 8 突变体或缺乏 Fas 相关死亡结构域 (Fas associated death domain, FADD) 时,细胞会进行坏死或非细胞凋亡性细胞死亡方式。其形态学特点可以与凋亡坏死相区别: 细胞器肿胀、线粒体功能受损、胞膜通透性增加或形态受损但细胞核完整。

目前,对程序性坏死的了解基本来源于对 TNF 信号通路的研究。TNF 是一种多效性的细胞因子,在感染或组织损伤诱导的炎症反应中发挥关键作用,但在某些情况下, TNF 是细胞死亡的潜在诱发因素^[10]。虽然早期有研究证明了 TNF 也诱导了与 RIPK 1 相关的 caspase 非依赖性细胞死亡^[13],但是这些年来更多的研究都将 TNF 诱导的细胞死亡关注在凋亡上。RIPK 1 的特异性抑制剂 necrostatin-1 (Nec-1) 的提出证明了 TNF 诱导的坏死是一个激酶调控的过程即程序性坏死^[14],而 RIPK 3 的发现则是阐明程序性坏死通路的关键点,是 TNF 诱导坏死的关键调控因子^[15]。RIPK 3 与 RIPK 1 通过它们各自的 RIP 家族相互作用序列的部分相互作用,坏死体 (necrosome) 即 RIPK 1 和 RIPK 3 的复合物与程序性坏死的起始密切相关。程序性坏死概念的提出改变了以往人们对坏死是不可调控的认知,且有研究发现其参与了神经退行性病

变、缺血-再灌损伤、心肌梗死和脑卒中等疾病的病理过程^[16]。因此,更多的研究者开始研究程序性坏死在动脉粥样硬化及其他炎症性疾病中起到的作用^[2, 17]。

3 程序性坏死与炎症

虽然细胞死亡过去一直被认为是炎症后的结果,但越来越多的研究者认为细胞死亡也可在炎症反应之前发生^[18-19]。虽然在体内实验中研究细胞死亡方式是非常困难,因为无法清晰的分辨细胞死亡与炎症两者的因果关系,但仍有研究证明了细胞死亡在炎症的发病机理中的作用^[2, 17, 20]。

肿瘤坏死因子受体 1 (TNFR 1) 对多数细胞的刺激没有细胞毒性且可以通过形成膜相关蛋白复合物 (complex) I 直接诱导促炎信号通路。在被激活的细胞中, TNFR 1 通过形成胞内 complex II a 和 II b 诱导了细胞凋亡;而在特定情况下, TNFR 1 也可通过形成 necrosome 执行程序性坏死。RIPK 1 参与了 4 种不同的复合物 (complex I、II a、II b 和 II c/necrosome), 且这些复合物的形成取决于 TNF 与 TNFR 结合的动态过程。TNF 与 TNFR 1 的结合诱导了 complex I 的形成, complex I 由 TNFR 1 相关死亡结构域蛋白 (TNFR 1-associated death domain protein, TRADD)、RIPK 1、TNFR 相关因子 2 (TNF-receptor-associated factor 2, TRAF 2)、细胞凋亡抑制蛋白 (cellular inhibitors of apoptosis, cIAP 1 或 cIAP 2) 与线性泛素链连接起来构成,它参与了促炎信号通路,同时抑制了细胞死亡,激活核转录因子- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶通路^[21]。

当 complex I 不稳定时,胞内就会形成第二种 complex II a, 由 TRADD、FADD 和 caspase 8 构成,此复合物介导了细胞凋亡^[22]。当存在凋亡抑制蛋白 (IAP) 抑制剂或基因敲除 IAP 时,胞内 complex II b 就形成了。Complex II b 由 RIPK 1、RIPK 3、FADD 和 caspase 8 组成,参与 RIPK 1 激酶活性依赖的细胞凋亡。当 RIPK 3 与混合连接激酶结构域样蛋白表达水平很高而 caspase 8 水平降低时, complex II b 可能会形成 necrosome。Caspase 8 可以通过拆分 RIPK 1 和 RIPK 3 而抑制程序性坏死,而头帕肿瘤综合征蛋白 (cylindromatosis, CYLD), 一种去泛素化酶,它也可以通过将泛素链从 RIPK 1 上移除而抑制程序性坏死^[15],但目前,蛋白之间的拆分机制尚不明确。Fas 相关死亡结构域样白介素-1 β 转换酶抑制蛋白 [cellular FADD-like interleukin (IL)-1 β -converting enzyme (FLICE)-inhibitory protein, FLIP_L] 的表达对细胞进行程序性坏死还是凋亡至关重要, FLIP_L 的高表达导致了 complex II 中异源二聚体 caspase 8-FLIP_L 的形成,阻止细胞进行 complex

II a 依赖的凋亡通路^[10]。

在细胞濒死的环境下,走向死亡的细胞可以通过分泌损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)直接介导炎症反应的发生。因为凋亡细胞不产生或只释放少量的 DAMPs,因此凋亡通常被认为是不具有免疫原性的,但程序性坏死却被认为因释放大量的 DAMPs 而直接介导炎症^[23]。白介素(IL)-1 家族(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-18、IL-33、IL-36 和 IL-37)是构成 DAMPs 的重要细胞因子,它们作为介导程序性坏死诱导的炎症反应仍有待在基因敲除的动物模型中被证实。DAMPs 是炎症性疾病例如动脉粥样硬化、缺血-再灌注、阿尔兹海默症等发病机制中的关键因素。已有研究在缺血-再灌注模型中证实,RIPK 1 介导的程序性坏死与多种脏器的损伤都有重要关系,且程序性坏死的特异性抑制剂 Nec-1 可以减缓这种作用^[24]。许多研究应用遗传和坏死化学抑制剂等方法也依次证明了程序性坏死在炎症性疾病中的作用。

4 程序性坏死与动脉粥样硬化

经过大量研究证明,慢性炎症过程中多种细胞的相互作用导致了血管中胆固醇的沉积。简单来说,动脉粥样硬化是由许多危险因素导致的,如高血脂,糖尿病和高血压等。这些危险因素导致血管的内皮层受损,从而促进了内皮表达黏附分子,介导了白细胞的黏附并迁移至内皮下。当白细胞一旦侵入至内皮下,巨噬细胞就会被激活来吞噬脂质颗粒,成为泡沫细胞,并释放大量的细胞因子吸引白细胞。血管平滑肌细胞同时也会被斑块内的白细胞释放的部分因子激活,并迁移进入斑块内,促进纤维帽的形成,这一系列级联反应形成了最终的动脉粥样硬化斑块。炎症细胞和斑块平滑肌细胞分泌基质金属蛋白酶,基质金属蛋白酶可导致纤维帽不稳定及斑块易破裂。破裂的斑块诱导了血栓的形成,若血栓阻塞了心肌组织的血流即引起心肌梗死;阻塞了流向脑组织的血流即引起脑卒中;阻塞了外周血管即引起四肢缺血^[25-26]。

动脉粥样硬化的最初,血液中的单核细胞被募集进入血管内皮下,并分化成为巨噬细胞。在炎症状态下,随着动脉粥样硬化的进展,单核细胞继续进入斑块内分化成为巨噬细胞。巨噬细胞对斑块形态、斑块内坏死核心的形成以及纤维帽的厚度都有很大影响。巨噬细胞的凋亡在动脉粥样硬化疾病中的研究最为广泛,在动脉粥样硬化形成的不同时期,巨噬细胞的凋亡既可以抑制又可以促进动脉粥样硬化的发展^[27]。在动脉粥样硬化早期,有效吞噬仍然有效时,巨噬细胞凋亡可以阻挠动脉粥样硬化的发展;而在进展期斑块中,当凋亡的巨噬细胞不能充分发挥其吞噬作用

时,推测凋亡的巨噬细胞经历凋亡后的坏死,且形成动脉粥样硬化中的坏死核心。坏死核心的形成会导致斑块的破裂以及急性心血管疾病的发生^[1]。

动脉粥样硬化患者病变部位通过透射电镜可以观察到坏死的巨噬细胞形态学的变化,如肿胀的细胞器、细胞容积增加、胞膜破裂且细胞内容物流失。以前,动脉粥样硬化斑块中的巨噬细胞坏死被认为是凋亡后发生的事件,但近期的体外研究表明过多的游离脂质负荷可以导致巨噬细胞坏死,也有研究者证实用脂蛋白孵育后的巨噬细胞经历 caspase 非依赖途径,其存在与坏死、自噬相同的特征,可能成为加重动脉粥样硬化坏死的新途径^[27]。这些实验有力地说明了动脉粥样硬化中的巨噬细胞坏死可以被调控。2013 年 Lin 等^[2]发现动脉粥样硬化斑块中存在可调控的坏死方式即 RIPK 3 依赖的程序性坏死,且 RIPK 3 依赖的程序性坏死占进展期斑块坏死细胞的半数之多,并促进了动脉粥样硬化的进展,对斑块的进展起到了决定性的作用。Lin 等^[2]利用基因敲除小鼠进行了进一步实验,证实了在动脉粥样硬化动物模型 LDLR^{-/-}或 ApoE^{-/-}敲除鼠中,RIPK 3 的缺乏可以缓解进展期动脉粥样硬化斑块中的巨噬细胞程序性坏死。因此证明抑制动脉粥样硬化斑块内细胞的程序性坏死,具有减轻血管内负荷、稳定动脉粥样硬化斑块的作用。

5 结语

程序性坏死作为一种诱导炎症疾病发生的介质,在动脉粥样硬化的发生、发展中发挥了重要作用。因此,虽然对动脉粥样硬化病理过程中程序性坏死的机制依然有待深入研究,但抑制动脉粥样硬化斑块内细胞的程序性坏死很可能成为动脉粥样硬化疾病的新疗法,对程序性坏死信号通路中关键蛋白复合物的干预也可能成为阻止或治疗动脉粥样硬化的潜在靶点。

[参考文献]

- [1] Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010,10(1):36-46.
- [2] Lin J, Li H, Yang M, et al. A role of RIP3-mediated macrophage necrosis in atherosclerosis development[J]. *Cell Rep*, 2013,3(1):200-210.
- [3] Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012[J]. *Cell Death Differ*, 2012,19(1):107-120.
- [4] Suzanne M, Steller H. Shaping organisms with apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2013,20(5):669-675.
- [5] Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008,9(3):231-241.
- [6] Yang YP, Liang ZQ, Gu ZL, et al. Molecular mechanism and regulation of autophagy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2005,26(12):1421-1434.
- [7] Mei Y, Thompson MD, Cohen RA, et al. Autophagy and oxidative stress in cardiovascular diseases[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015,1852(2):243-251.

- [8] Kitanaka C, Kuchino Y. Caspase-independent programmed cell death with necrotic morphology[J]. *Cell Death Differ*, 1999, 6(6):508-515.
- [9] Xu Y, Huang S, Liu ZG, et al. Poly(ADPribose) polymerase-1 signalling to mitochondria in necrotic cell death requires RIP1/TRAF2-mediated JNK1 activation[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(13):8788-8795.
- [10] Vandenabeele P, Galluzzi L, Vanden Berghe T, et al. Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(10):700-714.
- [11] Degtarev A, Huang Z, Boyce M, et al. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury[J]. *Nat Chem Biol*, 2005, 1(2):112-119.
- [12] Formigli L, Papucci L, Tani A, et al. Aponecrosis: morphological and biochemical exploration of a syncratic process of cell death sharing apoptosis and necrosis[J]. *J Cell Physiol*, 2000, 182(1):41-49.
- [13] Vercammen D, Beyaert R, Denecker G, et al. Inhibition of caspases increases the sensitivity of L929 cells to necrosis mediated by tumor necrosis factor[J]. *J Exp Med*, 1998, 187(9):1477-1485.
- [14] Cho YS. Perspectives on the therapeutic modulation of an alternative cell death, programmed necrosis (review)[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(6):1401-1406.
- [15] Khan N, Lawlor KE, Murphy JM, et al. More to life than death: molecular determinants of necroptotic and non-necroptotic RIP3 kinase signaling[J]. *Curr Opin Immunol*, 2014, 26:76-89.
- [16] Zhou W, Yuan J. Necroptosis in health and diseases[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 35:14-23.
- [17] Gao X, Zhang H, Zhuang W, et al. PEDF and PEDF-derived peptide 44mer protect cardiomyocytes against hypoxia-induced apoptosis and necroptosis via anti-oxidative effect[J]. *Sci Rep*, 2014, 4:5637.
- [18] Wallach D, Kang TB, Kovalenko A. Concepts of tissue injury and cell death in inflammation: a historical perspective[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(1):51-59.
- [19] Meng L, Jin W, Wang X. RIP3-mediated necrotic cell death accelerates systematic inflammation and mortality[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(35):11007-11012.
- [20] Pasparakis M, Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation[J]. *Nature*, 2015, 517(7534):311-320.
- [21] Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes[J]. *Cell*, 2003, 114(2):181-190.
- [22] Wang L, Du F, Wang X. TNF- α induces two distinct caspase-8 activation pathways[J]. *Cell*, 2008, 133(4):693-703.
- [23] Kaczmarek A, Vandenabeele P, Krysko DV. Necroptosis: the release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance[J]. *Immunity*, 2013, 38(2):209-223.
- [24] Oerlemans MI, Liu J, Arslan F, et al. Inhibition of RIP1-dependent necrosis prevents adverse cardiac remodeling after myocardial ischemia-reperfusion in vivo[J]. *Basic Res Cardiol*, 2012, 107(4):270.
- [25] Libby P. Inflammation in atherosclerosis[J]. *Nature*, 2002, 420(6917):868-874.
- [26] Koch M, Zernecke A. The hemostatic system as a regulator of inflammation in atherosclerosis[J]. *IUBMB Life*, 2014, 66(11):735-744.
- [27] Bao L, Li Y, Deng SX, et al. Sitosterol-containing lipoproteins trigger free sterol-induced caspase-independent death in ACAT-competent macrophages[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(44):33635-33649.

收稿日期:2015-11-25

心房颤动抗栓治疗研究进展

郑环杰 综述 肖骅 审校

(重庆医科大学附属第一医院心血管内科, 重庆 400016)

【摘要】心房颤动是临床最常见的心律失常之一,同时具有较高血栓栓塞的风险,因此其致残率和致死率高,抗凝治疗能有效预防栓塞,是心房颤动患者的首要治疗。华法林是最经典的口服抗凝药物,其他抗血小板治疗及新型口服抗凝药物为心房颤动抗栓治疗提供了新的思路。而如何平衡抗栓治疗的风险与获益给临床医师带来了挑战,现就心房颤动抗栓治疗研究进展做一综述。

【关键词】心房颤动;抗凝治疗;华法林;抗血小板治疗;新型口服抗凝药

【中图分类号】R541.7⁺5

【文献标志码】A

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2016.02.000

Progress of Antithrombotic Therapy in Patients with Atrial Fibrillation

ZHENG Huanjie, XIAO Hua

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

【Abstract】 Atrial fibrillation is one of the commonest arrhythmia in clinical practice with high mortality, disability and morbidity due to its thromboembolic potential. Nowadays anticoagulant therapy has become the primary treatment in patients with atrial fibrillation. The most

作者简介:郑环杰(1988—),住院医师,在读硕士,主要从事心房颤动治疗相关研究。Email:zhjkammy@163.com

通信作者:肖骅,博士,副教授,硕士生导师,主要从事心房颤动机制及治疗相关研究。Email:xiaohua197408@163.com