

· 理论探讨与文献研究 ·

中医药调控细胞焦亡稳定动脉粥样硬化易损斑块研究现状与述评

余锋¹, 黄娜², 卢建辉², 信梦雪¹, 洪永敦¹, 刘南¹

(1. 广州中医药大学第一附属医院, 广东广州 510405; 2. 广州中医药大学, 广东广州 510405)

摘要: 综述细胞焦亡在动脉粥样硬化(AS)易损斑块形成机制中的作用及中医药通过干预细胞焦亡从而稳定AS的研究现状, 探讨今后中医药干预AS易损斑块的研究思路。抑制炎性小体或 caspase-1 细胞焦亡信号通路已成为近年来防治AS易损斑块新的干预靶点。中医药干预细胞焦亡稳定AS及易损斑块的研究涉及中药单体如灯盏花乙素、二氢杨梅素、雷公藤红素、大黄素, 单味中药如菝葜, 以及中药复方化痰祛瘀方、清心解瘀方等; 干预的靶细胞多为巨噬细胞与内皮细胞; 涉及的分子标志物主要有炎性小体 NLRP3、炎症因子白细胞介素(IL)1 β 与IL-18、蛋白质 caspase-1等; 干预机制可能与抑制以上分子标志物有关。中医药调控细胞焦亡稳定AS易损斑块的研究取得一定进展, 但尚停留在细胞水平和动物实验层面, 相关的临床研究未见报道。今后有关中医药稳定AS易损斑块的研究应发挥中医整体调节的优势, 调控而非单纯抑制炎症小体与炎症因子, 以期为进一步提高中医药防治AS易损斑块的疗效提供思路。

关键词: 细胞焦亡; 动脉粥样硬化; 易损斑块; 炎性小体; 炎症因子; 灯盏花乙素; 文献综述

中图分类号: R256.2; R543.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)12-2785-05

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.12.039

Research Status and Review of Chinese Medicine in Stabilizing the Atherosclerotic Vulnerable Plaque Through Regulating the Pyroptosis

YU Feng¹, HUANG Na², LU Jian-Hui², XIN Meng-Xue¹,
HONG Yong-Dun¹, LIU Nan¹

(1. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China;

2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: The role of pyroptosis in the pathogenesis of atherosclerosis (AS) and the research status of Chinese medicine in stabilizing the atherosclerotic vulnerable plaque through regulating the pyroptosis were reviewed, and the thoughts of Chinese medicine in intervening the atherosclerotic vulnerable plaque were also explored. Inhibition of inflammasome or caspase-1 pyroptosis related signal pathway has become a new intervention target for the prevention and treatment of atherosclerosis in recent years. Chinese medicine in stabilizing the AS and atherosclerotic vulnerable plaque through regulating the pyroptosis included monomers of scutellarein, dihydromyricetin, tripterine, and emodin, herb of *Rhizoma Smilacis Chinensis*, and complex prescriptions of *Huayu Qutan* Recipe, *Qingxin Jieyu* Recipe, etc.. The target cells of intervention of pyroptosis with Chinese medicine were usually related with the macrophages and endothelial cells, and the molecular markers of intervention of pyroptosis with Chinese medicine were mostly involved in inflammasome NLRP3, inflammatory factors of interleukin 1 β (IL-1 β) and interleukin 18 (IL-18), and protein caspase-1. The mechanism of intervention of pyroptosis with Chinese medicine was probably related with the inhibition of the above molecular markers. The research of Chinese medicine in stabilizing the atherosclerotic vulnerable plaque through regulating

收稿日期: 2021-02-14

作者简介: 余锋(1982-), 男, 博士, 副主任医师; E-mail: doctoryufeng@126.com

基金项目: 广东省医学科研基金项目(编号: A2020498); 创新强院青年科研基金项目(编号: 2019QN19)

the pyroptosis has made certain progress in recent years, but the research is still on the cellular level and through the animal experiment, and the related clinical trials have not been reported yet. In the future research of Chinese medicine in stabilizing the atherosclerotic vulnerable plaque through regulating the pyroptosis, the advantages of Chinese medicine in regulating not only the inflammasome and inflammatory factors, but also the holism should be taken into account, thus to provide thoughts for enhancing the therapeutic effect of Chinese medicine for the prevention and treatment of atherosclerotic vulnerable plaque.

Keywords: pyroptosis; atherosclerosis; vulnerable plaque; inflammasome; inflammatory factors; scutellarein; review

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是多种心脑血管疾病的重要危险因素。目前AS的患病率正日益上升,且发病呈现年轻化趋势。据《中国心血管病报告2018》报道,中国心血管病患者人数已达2.9亿,心血管病死亡率高于肿瘤及其他疾病,故积极探索有效防治策略刻不容缓^[1]。研究表明,抑制炎性小体或caspase-1可能成为预防和治疗AS新的治疗方法。中医药治疗AS具有一定的特色和优势,尤其在通过干预细胞焦亡从而稳定AS易损斑块方面近年来取得较大进展。以下综述细胞焦亡在AS易损斑块形成机制中的作用、中医药通过干预细胞焦亡从而稳定AS研究现状,并探讨今后中医药干预AS可能的研究思路,以期为进一步提高中医药防治AS易损斑块的疗效提供参考。

1 细胞焦亡在AS及易损斑块形成机制中的作用

细胞焦亡是近年来新发现的一种不同于细胞凋亡与坏死的新型炎性细胞死亡方式。细胞焦亡由含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase-1)介导,随着gasdermin D蛋白(GSDMD)N-端功能域聚集到细胞膜并介导细胞膜孔形成,细胞膜的完整性被破坏,细胞内容物和炎性因子如白细胞介素1 β (IL-1 β)和白细胞介素18(IL-18)等被释放到细胞外,诱发级联放大的炎症反应并引起细胞死亡。在AS的发展过程中常伴随血管细胞的死亡,但大多数AS斑块中死亡细胞的超微结构及细胞溶解方式不同于细胞凋亡,尤为重要是靶向敲除caspase-3或p53诱导凋亡并未改善AS病变^[2]。最新研究表明,含NLR家族Pyrin域蛋白3(NLRP3)炎性小体和caspase-1是细胞焦亡信号通路的主要组成部分,是AS相关的炎性标志物,并在AS进展

中扮演重要角色。细胞焦亡、细胞凋亡和细胞自噬共同构成细胞程序性死亡的3种表现形式^[3]。细胞焦亡可发生在血管内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞,这些细胞的焦亡可促进血管炎症和斑块不稳定^[3]。其中内皮细胞焦亡可促进AS早期病变中的单核细胞向内膜和血管炎症处募集,平滑肌细胞焦亡能增加斑块中纤维帽的不稳定性,而巨噬细胞焦亡可促进AS晚期病变中坏死核心形成和斑块不稳定性增加^[4-5]。巨噬细胞被认为是IL-1 β 和IL-18的主要来源,二者是caspase-1的两个主要底物,负责caspase-1介导的AS炎症,在刺激因子的作用下,炎性小体、caspase-1和炎症因子不同程度地参与了心血管疾病的发生与发展,尤其与AS的发展密切相关^[6]。

2 基于细胞焦亡探讨中医药干预AS及易损斑块现状

目前有关中医药(包含中药单体和中药复方)干预AS的研究中,均有从细胞焦亡角度探讨其对AS干预的机制。从干预靶点来看,目前的研究多集中在巨噬细胞及内皮细胞的焦亡,有关中医药干预AS从平滑肌细胞焦亡方面进行机制探讨的研究尚未见报道。基于细胞焦亡探讨中医药干预AS易损斑块研究中所采用的检测方法及分子标志物主要如下:酶联免疫吸附法检测IL-1 β 和IL-18,蛋白印迹法检测NLRP3、caspase-1及GSDMD;干预靶点多为巨噬细胞焦亡与内皮细胞焦亡;干预机制可能与抑制炎性小体NLRP3、caspase-1、IL-18等有关。中医药从细胞焦亡角度干预AS及易损斑块相关研究的AS建模方式及实验效应指标及机制等见表1。

表1 中医药从细胞焦亡角度干预AS及易损斑块的相关研究情况

Table 1 Reports of research for Chinese medicine in intervening AS and vulnerable plaques from the perspective of pyroptosis

施加因素	样本来源	模型建立方式	干预靶点	检测分子	实验效应	机制	参考文献
灯盏花乙素	J774A.1巨噬细胞	LPS/ATP诱导	巨噬细胞焦亡	NLRP3、caspase-1、IL-1 β 、HMGB1蛋白	可明显抑制NLRP3炎症小体活化与细胞焦亡	可能由CAMP/PKA信号通路介导	景艳芸等 ^[7]
二氢杨梅素	人血管内皮细胞株 EA.hy926	不同浓度棕榈酸处理	内皮细胞焦亡	caspase-1、IL-1 β 、LDH、ICAM-1	二氢杨梅素预处理后,细胞活力明显增加,LDH、IL-1 β 、caspase-1及ICAM-1表达水平明显降低	抑制caspase-1激活进而抑制内皮细胞焦亡	胡琴等 ^[8]
雷公藤红素	小鼠巨噬细胞 RAW264.7	LPS/ATP诱导	巨噬细胞焦亡	caspase-1、IL-1 β 及细胞增殖能力	雷公藤红素抑制LPS与ATP诱导的细胞焦亡	可能与抑制IL-1 β 及caspase-1有关	辛文好等 ^[9]
大黄素	人脐静脉内皮细胞(HUVEC)	LPS/ATP诱导	内皮细胞焦亡	NLRP3、caspase-1、IL-1 β 、IL-18、LDH、ROS	大黄素可抑制细胞焦亡,减轻细胞损伤	可能与大黄素抑制细胞内ROS的作用有关	吴树宁等 ^[10]
大黄素	HUVEC	缺氧诱导	内皮细胞焦亡	NLRP3、caspase-1、IL-1 β 、ROS	大黄素可抑制细胞焦亡,减轻细胞损伤	可能与大黄素抑制细胞内ROS的作用有关	王凯等 ^[11]
菝葜	大鼠	高脂喂养结合注射VitD3法	内皮细胞功能	NLRP3、caspase-1、IL-1 β 、IL-18、AIM2	菝葜具有抗炎、抗氧化、调节血脂及保护内皮功能等	可能与调控NLRP3炎症小体信号通路有关	蒋思怡 ^[12]
化痰祛瘀方	新西兰兔	高脂喂养结合免疫损伤	肝组织细胞焦亡	NLRP3、caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18、AIM2	AS家兔肝脏脂质沉积得到改善	可能通过调控NLRP3/caspase-1通路	陈宁等 ^[13]
清心解瘀方	ApoE ^{-/-} 小鼠及J774A.1巨噬细胞	高脂喂养或LPS/ATP诱导	巨噬细胞焦亡	NLRP3、caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18	该方可调控LPS和ATP联合诱导的J774A.1巨噬细胞焦亡	与抑制NLRP3炎症小体活化有关	鞠建庆 ^[14]

LPS/ATP: 脂多糖(lipopolysaccharide)与腺嘌呤核苷三磷酸(adenosine triphosphate); HMGB1: 高迁移率族蛋白1; LDH: 乳酸脱氢酶; ICAM-1: 细胞间黏附分子1; ROS: 活性氧; AIM2: 黑素瘤缺乏因子2

3 从细胞焦亡角度探讨中医药稳定AS易损斑块的研究思路

3.1 从细胞焦亡角度阐释AS中医病机 理、法、方、药是中医学临床诊治疾病规范的四大核心要素。“理”居于首位,是指根据中医学理论对病证的病变机制做出的合理解释,理、法是方、药之据,方、药是理、法之体现^[15]。中医学并无AS这一病名,但据其受累部位及临床表现,多将其归属于“眩晕”“中风”“胸痹”“脉痹”等病证。其病机多与脏腑功能失调导致气血津液输布障碍,从而形成痰浊和瘀血等病理产物密切相关;病机以气血亏虚为本,痰凝血瘀为标。《金匮要略》曰:“阳微阴弦即胸痹而痛,所以然者,责其极虚也”。痰瘀互结在AS发病中的地位已得到公认,或因瘀致痰,或因痰致瘀,痰瘀互结郁久成毒,痹阻血脉,进而形成AS。临床上痰、瘀、毒3种病理因素常夹杂而至^[16]。痰浊可表现为现代医学的高脂血症和高凝状态,而血脂异常和血流状态改变正是AS形成的最重要危险因素^[17]。血管内皮损伤是形成AS的始动因素,此过程引起血小板及单核细胞迁移至受损部位,并黏附于暴露的结缔组织。血小板通过释放血小板源生长因子,

促进肌细胞向血管内膜移动,进而形成AS。这一机制与中医学瘀血阻滞病机基本相符。在AS的疾病进展中,炎症被认为是启动AS的主要因素,而炎症与中医学毒邪有类似之处,且毒邪可转化为痰浊及瘀血,进而导致痰瘀互结,形成AS。有学者从“痰瘀毒”病机立论,认为细胞焦亡通过调控炎症小体而促进AS形成的过程与毒邪转化为痰浊和瘀血从而形成AS的过程相符合^[18]。

3.2 基于细胞焦亡拓展中医药稳定AS易损斑块的研究 探讨中医药调控AS易损斑块的机制除与炎症因子IL-1 β 、肿瘤坏死因子(TNF)等相关外,还与细胞焦亡信号通路的主要组成部分的NLRP3炎症小体有关,可拓宽中医药稳定AS易损斑块机制研究的思路。动脉血管炎症是AS形成的标志,对这种炎症的适当调控已成为心血管疾病患者的主要治疗靶点。当前诸多证据表明,干预IL-1 β 、TNF和IL-17是减少心血管疾病进展的有效靶标;Williams J W等^[19]认为康纳单抗(Canakinumab)可抗炎及抗血栓形成,其机制为中和IL-1 β 的抗体,从而减少二级预防中的复发性心血管事件。然而炎症小体依赖性细胞凋亡是一种炎症细胞死亡,可独立于IL-1 β 和IL-18而释放损伤相关模式识别信

号分子以诱导更多的炎症反应^[20]。因此抑制炎症小体可为AS诸多慢性炎症性疾病提供更广阔的治疗前景。但炎症小体及细胞焦亡是双刃剑,对其进行调控可能优于单纯抑制。炎症是一种保护性免疫反应,是先天免疫系统对有害刺激如病原体、坏死细胞或刺激性物质的一种应答,并受到宿主的严格调控。炎症反应不足会导致病原体持续感染,而过度炎症则导致慢性或系统性炎症性疾病。炎症小体的激活对于宿主防御微生物病原体的侵袭及对疫苗佐剂的适当反应至关重要,正常的NLRP3炎症小体的活化是机体固有免疫防线的重要组成部分,而其异常活化则与多种炎症性疾病的发生密切相关,是治疗相关疾病的重要药物靶标^[21-22]。因此并非所有的炎症小体活化都被认为是有害的,抑制该途径的激活必须权衡利弊,过度抑制可能带来潜在感染风险增加等不利的一面。

信号转导通路是一个精细且复杂的网路系统,涉及复杂的正负反馈调控和上下游联系,仅抑制一种信号通路并不能得出对该信号转导系统有特异作用的结论。目前IL-1 β 水平和细胞焦亡之间的关系尚存在争议:在ApoE缺陷AS小鼠模型中,IL-1 β 低表达可反映AS病变面积的减少,若阻断IL-1 β 则可抑制AS斑块的形成^[23],但其他研究未能得出NLRP3和IL-1 β 与AS密切相关的结论,而仅发现IL-1 α 在小鼠AS形成和进展中起着至关重要的作用^[24],因此需要进一步的研究来阐明IL-1 α 和IL-1 β 对AS的作用。NOD样受体(NLR)家族是目前已确定的炎症小体的两个核心家族成分之一,且NLR家族成员包括NLRP1、NLRP2、NLRP3、NLRP6、NLRC4以及可能的NLRP12。现有的研究仅针对NLRP3,对其余家族成员在AS中的具体作用尚知之甚少。NLRP3如何被活化及其具体的上游及下游调节反馈机制仍需进一步明确。

中医学认为五脏相关,人体是一个有机的整体,临床疗效为中医药防治疾病的最重要的结局指标。中医科研的目的是为了更好地发展中医,提高临床疗效,使中医药在攻克西医疗效欠缺的重大疾病中发挥作用,而不是一旦现代医学有新观点新观点就不考虑实际情况,直接搬来硬套中医理论。现有的关于中医药干预AS的研究均为离体细胞实验或动物实验,其结果能否直接适用于AS患者尚需实践检验。中医基本理论和临床实践

反映的是人的系统特征和规律,具有不可还原性,用现代医学还原论思维指导中医科研,背离中医理论,其结果可能成为无源之水。故以中医理论为指导,加强探索中医症状关联性的系统研究,建立中医科研客观评价尤为必要^[25]。今后有关中医药稳定AS易损斑块的研究若能发挥中医整体调节的优势,调控而非单纯抑制炎症小体与炎症因子,则有望给AS易损斑块的防治带来新思路。

4 小结

近年来,AS易损斑块的研究已成为心血管病研究领域的热点。细胞焦亡作为一种新的程序性细胞死亡方式现已逐步被人们认识,但其复杂的分子机制及其在AS发生及发展过程中的确切作用机制仍有待深入研究。迄今针对中医药调控细胞焦亡稳定AS易损斑块的研究尚停留在细胞水平和动物实验层面,相关的临床研究未见报道。尽管相关中医药研究现已取得一定成果,仍有一些重要问题需要解决:如针对毒邪偏盛的AS患者实施解毒(拮抗炎症因子)治疗能否取得更为理想的结局;中医药干预的远期疗效及安全性、药物的成本效益的评估等。有研究表明中药可明显抑制IL-1 β 的分泌,具有一定的浓度依赖性,但其发挥治疗作用的最佳的浓度是多少?是否通过调控NLRP3信号通路进而影响IL-1 β 分泌发挥作用?细胞自噬、DNA甲基化等对AS斑块进展既有促进作用,又有抑制作用,二者与细胞焦亡的关系如何,等等。诸多问题折射出AS发生发展的复杂性。在中医药防治AS的研究中,应持整体观念看待信号通路上下游信号分子互相协调发挥作用,同时也应采用辨证论治的思维思考个体化医疗,即对于哪一类AS患者使用该药物或方剂更为合适。进一步阐明细胞焦亡促进AS易损斑块进展的机制及相关靶向药物的研发,同时进行中西医结合优势互补,有望为AS易损斑块的治疗带来突破。

参考文献:

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告2018》概要[J].中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [2] CHANG W, LIN J, DONG J, et al. Pyroptosis: an inflammatory cell death implicates in atherosclerosis[J]. Med Hypotheses, 2013, 81(3): 484-486.
- [3] ZENG Z L, LI G H, WANG S Y, et al. Role of pyroptosis in

- cardiovascular disease[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2): e12563.
- [4] HOSEINI Z, SEPAHVAND F, RASHIDI B, et al. NLRP3 inflammasome: its regulation and involvement in atherosclerosis [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(3): 2116-2132.
- [5] AFRASYAB A, QU P, ZHAO Y, et al. Correlation of NLRP3 with severity and prognosis of coronary atherosclerosis in acute coronary syndrome patients [J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(8): 1218-1229.
- [6] 李秀珍, 黄孝天, 符民桂. 细胞焦亡在动脉粥样硬化中的作用 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(1): 1-6.
- [7] 景艳芸, 李陈广, 颜亮, 等. 灯盏花乙素对J774A.1巨噬细胞中ATP诱导的炎症小体活化和细胞焦亡的影响[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(2): 174-180.
- [8] 胡琴, 张婷, 易龙, 等. 二氢杨梅素抑制棕榈酸诱导的血管内皮细胞焦亡[J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(5): 448-454.
- [9] 辛文好, 韦珍妮, 张颖, 等. 雷公藤红素对巨噬细胞焦亡的影响[J]. *中草药*, 2018, 49(5): 1087-1091.
- [10] 吴树宁, 王凯, 施思, 等. 大黄素预处理对LPS/ATP诱导的人脐静脉内皮细胞焦亡的影响[J]. *山西医科大学学报*, 2019, 50(4): 410-414.
- [11] 王凯, 施思, 雷少青, 等. 大黄素对缺氧条件下人脐静脉内皮细胞焦亡的影响[J]. *中国中医急症*, 2018, 27(12): 2076-2078, 2088.
- [12] 蒋思怡. 菝葜抗动脉粥样硬化作用及机制研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.
- [13] 陈宁, 贾连群, 宋囡, 等. 化痰祛痰方对动脉粥样硬化家兔肝脏脂质沉积的影响[J]. *中医杂志*, 2019, 60(20): 1755-1759.
- [14] 鞠建庆. 清心解瘀方调控巨噬细胞焦亡稳定动脉粥样硬化易损斑块的机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [15] 孙喜灵, 姜伟伟, 刘琳, 等. 论中医理法方药知识创新的基础与支点[J]. *中医杂志*, 2013, 54(4): 277-279.
- [16] 余锋, 信梦雪, 刘南, 等. 温阳活血解毒方治疗急性冠脉综合征临床疗效的 meta 分析[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(16): 2415-2419.
- [17] 田立俊, 仲爱芹, 王爱迪, 等. 从“心-脾-肾三脏一体”论治动脉粥样硬化[J]. *中华中医药学刊*, 2016, 34(8): 1843-1845.
- [18] 于宁, 贾连群, 宋囡, 等. 基于“痰瘀毒”病机探讨细胞焦亡与动脉粥样硬化的关系[J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(9): 2186-2188.
- [19] WILLIAMS J W, HUANG L H, RANDOLPH G J. Cytokine circuits in cardiovascular disease [J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 941-954.
- [20] BRYDGES S D, BRODERICK L, MCGEOUGH M D, et al. Divergence of IL-1, IL-18, and cell death in NLRP3 inflammasomopathies [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(11): 4695-4705.
- [21] STROWIG T, HENAO-MEJIA J, ELINAV E, et al. Inflammasomes in health and diseases [J]. *Nature*, 2012, 481(7381): 278-286.
- [22] GUOH, CALLAWAY J B, TING J P. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics [J]. *Nat Med*, 2015, 21(7): 677-687.
- [23] BHASKAR V, YIN J, MIRZA A M, et al. Monoclonal antibodies targeting IL-1 beta reduce biomarkers of atherosclerosis in vitro and inhibit atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 216(2): 313-320.
- [24] FREIGANG S, AMPENBERGER F, WEISS A, et al. Fatty acid-induced mitochondrial uncoupling elicits inflammasome-independent IL-1 α and sterile vascular inflammation in atherosclerosis [J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(10): 1045-1053.
- [25] 曹传东, 唐农, 胡跃强, 等. 中医科研实例评析及研究方向与思路[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(2): 595-597.

【责任编辑: 贺小英】