

内皮细胞线粒体的研究进展

孙旦芹 何伟春 杨俊伟

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

内皮细胞是血管壁的重要组成部分,衬覆于血管内壁,与血流相接触,因此可以直接感受血流对血管壁动力等机械性刺激和血液生化的信息并释放血管活性物质对信息做出综合反应。其功能主要包括减少血管通透性,调节组织与血液的物质交换,通过平衡抗凝血、抗凝与纤溶系统以及抗血小板功能维持血液的流动性,通过释放血管收缩和舒张因子调节血管收缩舒张功能等。已有的研究表明,内皮细胞功能障碍是多种心血管疾病发病的始动因素或促进因素^[1]。越来越多的研究结果显示,线粒体在维持内皮细胞功能中扮演了重要的角色^[1,2]。本文主要就内皮细胞中线粒体的特征,包括含量、亚细胞定位、生成、动力学以及 ROS 水平,线粒体异常状态对内皮细胞功能的影响,以及针对线粒体的改善内细胞功能的相关治疗做一综述。

一、内皮细胞线粒体的特点

1. 内皮细胞线粒体的含量和亚细胞定位:线粒体是由内外两层膜套叠而成的囊状结构,外膜光滑,内膜粗糙形成嵴。它是一类高度活跃的细胞器,是真核细胞进行呼吸作用和能量代谢的细胞器。线粒体内膜上富含呼吸链-氧化磷酸化系统的酶复合体,可通过电子传递和氧化磷酸化合成 ATP,参与细胞生长、增殖、细胞内信号转导和凋亡等过程。线粒体的基质具备一套完整的转录和翻译体系,包括线粒体 DNA、70S 型核糖体、tRNAs、rRNA、DNA 聚合酶、氨基酸活化酶等,说明线粒体拥有独立的遗传体系,能够独立进行复制、转录和翻译^[3]。

大多数真核细胞都含有线粒体,但它们各自拥有的线粒体在大小、数量及形态等方面都有所不同。内皮细胞中线粒体的能量需求比较低,糖酵解是其 ATP 产生的主要来源,体外培养的猪内皮细胞发现,至少

75% 的 ATP 合成是依靠糖酵解,仅有少部分是依靠线粒体生成^[4,5]。因此,与线粒体含量丰富的心肌细胞相比,线粒体约占心肌细胞质容积的 32%,内皮细胞中线粒体含量仅占细胞质容积的 2%~6%^[6],它的含量与血管床有关,比如血脑屏障处内皮细胞功能比较活跃,故其含量高达 8%~11%。此外,有部分文献报道,线粒体在内皮细胞中分布能够影响线粒体的信号转导。2012 年 Al-Mehdi 等^[7]学者报道,低氧引起的线粒体核周聚集会导致线粒体 ROS 产生的累积,影响大鼠肺动脉内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)基因的转录水平。

2. 内皮细胞线粒体的生成以及 PGC-1α 的作用:线粒体生成是细胞实现自我更新和调控的过程,受多种关键因子调控。线粒体生物合成是机体需求的表现,当机体处于运动、寒冷、氧化应激等条件下,线粒体会进行分裂、更新以及分化等^[8]。过氧化物酶体增殖激活受体 γ 辅激活因子-1α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator, PGC-1α) 是线粒体生成的关键调控因子之一,可激活下游的核呼吸因子、线粒体转录因子 A 和活化雌激素相关受体等转录因子,促进线粒体生物合成、葡萄糖利用以及脂肪酸氧化等生理过程。

虽然内皮细胞中线粒体含量低,但 PGC-1α 在内皮细胞中仍丰富表达,能参与线粒体的生成过程,此外它在内皮细胞中还发挥抗凋亡、抑制炎症、改善 NO 的生物利用率等功能。过表达 PGC-1α 可以增加解偶联蛋白 (uncoupling protein 2, UCP2) 和线粒体抗氧化酶的表达包括锰超氧化物歧化酶 (manganese superoxide dismutase, MnSOD)、过氧化氢酶等,这对血管内皮细胞线粒体维持和修复氧化损伤过程发挥关键作用^[9]。有流行病学研究报道,高血压、动脉粥样硬化等血管疾病患者中 PGC-1α 呈多态性,但这种观察性实验不能证明减少内皮组织中的线粒体聚集或者改善线粒体功能就一定能够改善这疾病^[10]。总

作者单位:210003 南京医科大学第二附属医院肾脏病研究中心

通讯作者:杨俊伟,教授,博士生导师,电子信箱:jwyang_nj1980@hotmail.com

之,线粒体功能障碍与心血管疾病关系密切,而线粒体生成障碍又会影响线粒体功能障碍,PGC-1 α 是线粒体生成的关键调控因子,因此认为通过激活PGC-1 α 以及适当增加线粒体生成能够保护心血管疾病,为今后的防治提供理论基础。

3. 内皮细胞线粒体的动力学:线粒体是一种高度动态变化的细胞器,通过不断地融合-分裂维持线粒体网络的稳态,线粒体融合和分裂的动态过程称为线粒体动力学。线粒体融合的主要调控蛋白为线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, Mfn1)、Mfn2和视神经萎缩症蛋白1(optic atrophy1, Opa1)。分裂的主要调控蛋白有动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1, Drp1)和线粒体分裂蛋白1(mitochondrial fission protein1, hFis1)。正常生理状态,分裂和融合处于动态平衡,线粒体动力学对心肌细胞正常的能量代谢比较关键,融合和分裂异常可以造成线粒体受损和心肌细胞能量代谢障碍,容易引起扩张型心肌病、缺血-再灌注损伤、心力衰竭等疾病^[11,12]。

最近研究报道,线粒体的动力学与内皮细胞功能有关,在生理条件下,内皮细胞的线粒体动力学处于稳定动态平衡状态。但体外研究发现,人脐静脉内皮细胞受长期或者短暂的氧化应激后,线粒体融合分裂出现频繁以及融合分裂相关因子的mRNA水平发生改变,继而影响内皮细胞功能^[13]。沉默Mfn1基因能够降低线粒体对VEGF和Akt依赖的内皮NO合酶的效应,抑制线粒体融合后影响血管生成^[14]。如果体外分离糖尿病患者血管内皮细胞,内皮细胞表达的分裂蛋白1增加,相反,在高糖环境下,沉默这两个基因后能够维持eNOS活性以及其生物效率,具体机制可能是降低线粒体ROS水平。线粒体动力学这些调控蛋白不仅在糖尿病中会发生改变,在心血管疾病中比如高血压、冠心病等Opa1和Mfn2表达也会受影响^[15,16]。这些研究进一步证实了线粒体动力学和血管疾病中内皮细胞功能紊乱相关,但具体机制仍需要进一步研究。

4. 内皮细胞线粒体中的活性氧自由基:活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)指比O₂化学性质更为活跃的O₂代谢产物及其衍生的含氧物质的统称,包括超氧阴离子(O₂⁻)、自由基(超氧化物、羟基自由基)和过氧化物(过氧化氢)等。线粒体是细胞的动力工厂,在细胞多种生理病理过程中发挥着重要作用。同时线粒体氧化呼吸链的电子漏又是机体ROS的最主要来源,在正常生理状态下,适量的ROS

能作为一种信号分子参与增殖、分化、凋亡等相关信号转导发挥着重要的生理功能,线粒体可以通过有效的抗氧化系统(包括超氧化物歧化酶和过氧化物酶等)清除过量的ROS。但随着年龄增加或在病理状态下,细胞抗氧化能力降低或ROS生成速度超过细胞清除速度,ROS在细胞中增多并积累,可以使DNA突变、蛋白、脂质过氧化以及线粒体膜通道的开放,最终造成细胞损伤并参与一些疾病的发生进展。所以ROS产生和降解平衡的维持对于细胞发挥正常生理功能具有非常重要的意义^[2,17]。

内皮细胞中线粒体ROS的来源除了线粒体氧化磷酸化系统酶复合体I、II、III产生外,复合体I、III产生的比较少,仅占0.1%~2.0%,还有内皮细胞中高度表达的NADPH氧化酶、单胺氧化酶(MAO)产生等。NADPH氧化酶合成时会产生线粒体ROS,但其更重要的作用是能作为ROS信号的第二信使促进内皮细胞老化、迁移、血管生成等^[18]。MAO位于线粒体外膜,在儿茶酚胺分解代谢时容易使其产生ROS。体外研究发现,MAO产生的线粒体ROS能够使去甲肾上腺素处理的心肌细胞肥大并凋亡,动物实验表明线粒体ROS会诱发小鼠心力衰竭并影响心肌重塑过程。MAO产生的H₂O₂还会引起血管平滑肌细胞收缩,虽然已有报道内皮细胞表达MAO,但具体机制还不清楚^[19,20]。

北京大学分子医学研究所程和平研究组最新研究发现,线粒体ROS不仅仅来源于线粒体的氧化磷酸化过程,还来源于一种新的细胞超氧生成事件,并命名为“超氧炫”(superoxide flashes)。超氧炫是细胞内单个线粒体中超氧信号的瞬时爆发现象,这是首次在活体细胞中观测到局部、间歇性、量子化超氧的产生,是线粒体膜通透性转运孔道(mPTP)开放所触发。具体触发mPTP并随后导致超氧炫的具体机制还不清楚。上述发现是基于发明了一种实时、原位探测线粒体定位的超氧荧光探针,大大提高了亚细胞ROS信号检测的时空精确性,此项研究已经在心肌特异性表达超氧荧光指示剂的转基因小鼠中得到证实。超氧炫为认识ROS信号、细胞代谢等开启了新的研究方向,但超氧炫在内皮细胞中的研究还比较缺乏,有待于进一步研究。

二、内皮细胞线粒体功能的防治

1. 白藜芦醇:白藜芦醇是一种非黄酮类多酚化合物,主要来源于植物虎杖和葡萄。它能够激活SIRT1和AMPK信号途径,能够增加有氧代谢能力,提高胰

岛素敏感度,增加线粒体生成,防治代谢性疾病以及心血管疾病等多种生物学功效。

白藜芦醇能通过激活内皮细胞中 SIRT - 1 和 eNOS 信号诱导编码与氧化磷酸化和线粒体生成有关蛋白 PGC - 1 α 和核呼吸因子的表达。此外白藜芦醇处理体外培养的内皮细胞时增加 MnSOD 的表达并减少过氧化氢的生成,具有抗氧化作用。进一步研究提示,白藜芦醇能够上调 Bcl - 2 改善氧化应激所引起的细胞凋亡具有细胞保护作用。已有临床研究报道,肥胖人群口服白藜芦醇后能改善血管舒张功能,有益于心血管疾病。但代谢性以及心血管疾病终末事件的大规模临床研究还在进行,长期服用白藜芦醇对血管功能、线粒体功能的具体作用还不清楚。

2. Sirtuins: Sirtuins 是在研究酵母菌转录沉默时发现的广泛存在于物种的基因,在 DNA 损伤修复、染色质稳定以及延长寿命中起重要作用,其家族包括 SIRT1 - 7,其中 SIRT1、SIRT6、SIRT7 主要位于细胞核,SIRT2 表达于细胞质,而 SIRT3、SIRT4、SIRT5 表达于线粒体。SIRT1 以 NAD⁺作为反应底物,将组蛋白去乙酰化,也能使其他非组蛋白如肿瘤抑制因子(p53),过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR γ)及 PGC - 1 α 等脱乙酰基,调节细胞的分化、衰老、凋亡和代谢。在内皮细胞中,SIRT1 也能够脱乙酰基以及激活 eNOS 从而调节血管的再生。分离老年人肱动脉内皮细胞培养后,SIRT 的表达降低能够影响内皮细胞所依赖的血管舒张功能。但对线粒体中 SIRT3 的研究还比较少,不过已有的证据表明,SIRT3 对内皮细胞有保护作用,具体机制还不知。在体内研究有报道,内皮细胞特异的 NF - κ B 抑制后能够减少炎症、改善胰岛素抵抗、增加线粒体的生成,改善微循环并延长寿命等,在这些小鼠血管中 SIRT3 都是上调的。因此 SIRT1 和 SIRT3 的激动剂能够有益于代谢性疾病以及心血管疾病。

3. 线粒体抗氧化剂:一个功能受损的线粒体可能诱发相邻的线粒体释放大量 ROS 及膜电位大量减少,这就是“ROS 诱导 ROS”,即使在生理情况下,这种过多 ROS 会引起瀑布反应进一步放大 ROS 信号从而导致内皮细胞功能紊乱。因此,适当的清除 ROS 水平对组织细胞有一定保护作用。其中线粒体抗氧化剂辅酶 Q,有效的抗氧化剂和自由基清除剂,它作为线粒体呼吸链的组成部分包埋在线粒体内膜脂质双分子中,从线粒体复合体 I 或复合体 II 接受 2 个电子后变成醇式,再将电子传递给复合体 III,可以独立

或协同维生素 E 发挥抗氧化剂的作用。辅酶 Q 能够抑制体外培养的内皮细胞中氧化应激损伤所引起的细胞凋亡,缓解高血压大鼠的内皮细胞功能从而降低血压。但现在临床研究已经证实辅酶 Q 能够改善帕金森病和慢性丙型肝炎,但临幊上还不清楚辅酶 Q 或者其他线粒体抗氧化剂能否改善内皮细胞功能以及防治心血管疾病。

综上所述,随着对血管内皮细胞功能紊乱的深入研究发现,内皮细胞功能障碍是导致多种心血管疾病发病的始动因素或促进因素,而线粒体异常在内皮功能紊乱中发挥重要作用。线粒体异常包括了多方面,如线粒体的亚细胞定位、生成、动力学、ROS 水平等都会影响内皮细胞的功能。深入研究内皮细胞中线粒体的分子调控机制有望为心血管疾病的防治策略提供新的思路。

参考文献

- 1 Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, et al. The clinical implications of endothelial dysfunction [J]. J Am Coll Cardiol, 2003, 42(7):1149 - 1160
- 2 Darley - Usman V. The powerhouse takes control of the cell; the role of mitochondria in signal transduction [J]. Free Radic Biol Med, 2004, 37(6):753 - 754
- 3 Forman DS, Lynch KJ, Smith RS. Organelle dynamics in lobster axons: anterograde, retrograde and stationary mitochondria [J]. Brain Res, 1987, 412(1):96 - 106
- 4 Oldendorf WH, Cornford ME, Brown WJ. The large apparent work capability of the blood - brain barrier: a study of the mitochondrial content of capillary endothelial cells in brain and other tissues of the rat [J]. Ann Neurol, 1977, 1(5):409 - 417
- 5 Culic O, Gruwel ML, Schrader J. Energy turnover of vascular endothelial cells [J]. Am J Physiol, 1997, 273(1):C205 - C213
- 6 Barth E, Stammel G, Speiser B, et al. Ultrastructural quantitation of mitochondria and myofilaments in cardiac muscle from 10 different animal species including man [J]. J Mol Cell Cardiol, 1992, 24(7):669 - 681
- 7 Al - Mehdi AB, Pastukh VM, Swiger BM, et al. Perinuclear mitochondrial clustering creates an oxidant - rich nuclear domain required for hypoxia - induced transcription [J]. Sci Signal, 2012, 5(231):ra47
- 8 Sebastiani M, Giordano C, Nediani C, et al. Induction of mitochondrial biogenesis is a maladaptive mechanism in mitochondrial cardiomyopathies [J]. J Am Coll Cardiol, 2007, 50(14):1362 - 1369
- 9 Valle I, Alvarez - Barrientos A, Arza E, et al. PGC - 1alpha regulates the mitochondrial antioxidant defense system in vascular endothelial cells [J]. Cardiovasc Res, 2005, 66(3):562 - 573
- 10 Zhang Y, Xu W, Li X, et al. Association between PPARGC1A gene polymorphisms and coronary artery disease in a Chinese population [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2008, 35(10):1172 - 1177

(下转第 37 页)