

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.22.003

# 基于脾虚生痰理论探讨巨噬细胞自噬与动脉粥样硬化的关系

高晓宇<sup>1</sup>, 张哲<sup>2</sup>, 王洋<sup>2</sup>, 刘悦<sup>2</sup>, 孔德昭<sup>2</sup>, 孟繁丽<sup>2</sup>,  
潘嘉祥<sup>2</sup>, 唐晶<sup>2</sup>, 李佳<sup>2</sup>, 尹妮<sup>2</sup>, 杨关林<sup>\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁省沈阳市皇姑区崇山东路 79 号, 110847; 2. 辽宁中医药大学附属医院)

**[摘要]** 从中医病因病机角度而言, 细胞自噬机制与中医气的防御功能相一致。脾为后天之本, 脾虚则会生痰, 在脾失健运、脂质代谢异常状态下, 巨噬细胞自噬乏力, 胆固醇逆转运受阻, 进而影响血管内皮功能, 导致动脉粥样硬化性疾病的发生。从中医理论出发, 深入探讨巨噬细胞自噬机制, 或许会揭示从脾论治动脉粥样硬化相关疾病的微观本质, 为临床从脾论治动脉粥样硬化性疾病提供依据。

**[关键词]** 动脉粥样硬化; 巨噬细胞自噬; 脾虚; 痰浊

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 相关性心血管疾病是引发全球死亡率的主要原因之一。巨噬细胞是影响动脉粥样硬化斑块进展的关键因素, 巨噬细胞自噬作为动脉粥样硬化新的参与者也获得普遍共识。中医学认为, 脾为后天之本, 若脾气不足, 精微滞留蓄积而为痰浊, 弥漫于脉道之中, 随着时间的积累, 产生痰浊沉积于脉道, 最终导致动脉粥样硬化。巨噬细胞自噬参与的抗动脉粥样硬化进程似乎与中医的“脾气”息息相关。深入探讨巨噬细胞自噬及其机制, 或许会揭示中医从脾论治动脉粥样硬化相关疾病的微观本质。

## 1 脾虚生痰与 AS

AS 是心血管系统疾病中最常见的疾病, 也是危害人类健康的常见病。传统中医理论中没有 AS 这一病名, 但基于疾病的临床表现, 可将其归属到眩晕、头痛、中风、胸痹、真心痛等疾病范畴。AS 病理变化多以痰浊、血瘀为主, 疾病特点多为本虚标实。在传统中医学理论中脾为后天之本, 主运化水谷精微。现代许多不合理的饮食及生活习惯使得人体内易生湿浊, 日久致脾胃虚弱, 脾失健运, 水谷难以化生精微滋养脉道, 脉道失养就会导致痰浊等病理产物的积聚, 易形成粥样斑块, 最终导致冠心病的发生。与冠心病相关的病因病机早在

《黄帝内经》中就有记载, 曰“岁太阴在泉, ……民病饮积心痛”, 这可能是中医文献中最早把“心痛”与脾联系起来的记载。在《肘后备急方》中亦有最早应用补气化痰法治疗胸痹心痛的案例。《格致余论·涩脉论》亦有“或因忧郁, 或因厚味, ……气腾血沸, 清化为浊, 老痰宿饮, 胶固杂糅, 脉道阻塞, 不能自行”的说法。自 20 世纪 70 年代以来, 学术界在强调冠心病的主要病机为“血瘀”的同时, 也有学者<sup>[1]</sup>提出“痰浊”亦是冠心病的重要病机, 并提出冠心病心绞痛痰瘀互结一证, 临证主张活血化痰与化痰祛瘀并重。近年来动物实验也证实了“从脾论治”可以改善胆固醇逆转运<sup>[2]</sup>, 调节血脂、调控肝组织胆固醇代谢相关基因<sup>[3]</sup>, 干预肝脏 SREBP-2 信号通路<sup>[4]</sup>, 激活肝脏自噬小体形成信号通路相关基因<sup>[5]</sup>, 改善心肌内皮素受体 (ETAR) 及血管紧张素受体 (AT1R) 的表达<sup>[6]</sup>, 改善血清代谢物<sup>[7]</sup>等, 从而改善 AS 进展, 达到治疗冠心病的目的。

## 2 脾虚与自噬的关系

自噬在遗传进化中是高度保守的代谢过程, 当细胞发生营养缺乏、氧化应激、细胞器功能紊乱等情况时自噬通过溶酶体依赖的途径降解毒性物质, 维持细胞稳态<sup>[8]</sup>。从中医理论来看, 自噬则是对机体正虚邪实作出的一种自我调节方式, 即机体转化和消除内生实邪的过程<sup>[9]</sup>, 而自噬在清除机体内垃圾产物、保护受损细胞的机制上与中医气的防

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973” 计划) (2013CB531700)

\* 通讯作者: yangguanlin945@163.com

御功能相一致。当正气不足或邪气亢盛时,气的防御功能异常,细胞抗邪能力下降即出现自噬不足而导致细胞的病变。脾为后天之本,气血生化之源,若脾气不足,则精微滞留蓄积而为痰浊。这种内生的痰浊之邪可以通过自噬方式及时清除,维持细胞的稳态,保持阴阳的平衡。而健脾祛痰法可以激活自噬,通过溶酶体途径降解这些病理性代谢产物——痰浊,给邪气以出路<sup>[10]</sup>。脂肪酸等可回收产物被输送到胞浆中,供细胞重新利用,而残渣或被排出细胞外或滞留在胞浆中。细胞自噬是机体重新利用自身废物的机制,从中医角度来看,这种细胞自噬可能是脾气化功能的微观体现,即促进痰浊向能量转化<sup>[11]</sup>。而健脾祛痰法即是运用药物的偏性纠正人体的偏性,恢复机体的自组织能力,使脾藏象系统在内外环境涨落的推动下维持在一个有序的稳态中,即阴平阳秘的状态<sup>[12-13]</sup>。

### 3 巨噬细胞自噬与 AS 的关系

动脉粥样硬化斑块内含大量巨噬细胞来源的泡沫细胞,参与斑块形成与破裂的各个阶段。脂质过载的泡沫细胞是导致炎症环境和斑块进展的主要原因,自噬溶酶体系统已成为介导胆固醇流出的重要途径。AS 的早期阶段,巨噬细胞自噬促进胆固醇逆转运,减少泡沫细胞的积累,从而抑制斑块形成发展,对治疗有积极作用<sup>[14]</sup>。自噬溶酶体可将脂质水解为胆固醇流出细胞,起到缓解炎症环境及稳定斑块的作用;巨噬细胞自噬不足使泡沫细胞大量聚集,并导致脂噬缺陷,减少胆固醇的流出,加速 AS 进程<sup>[15]</sup>。另有研究发现,自噬还可以减少炎症的激活和炎症体的形成<sup>[16-17]</sup>。故巨噬细胞适度自噬可增强对细胞的保护作用<sup>[18]</sup>,诱导巨噬细胞自噬可作为治疗靶点,用以保护血管内皮、稳定动脉粥样硬化斑块。

#### 3.1 巨噬细胞自噬与炎症反应

巨噬细胞具有极化性,并可以根据理化环境的改变而改变其生理特性。M1 型巨噬细胞通过分泌以白细胞介素 6 (IL-6) 为代表的炎症因子和趋化因子发挥促炎作用,M2 型巨噬细胞可分泌转化生长因子等产生抗炎修复作用<sup>[19]</sup>。在早期 AS 斑块内,巨噬细胞主要以 M2 型占据主导,而随着斑块的进展,巨噬细胞随之发生转换,逐渐以 M1 型为主,产生氧化应激,凋亡增多,形成脂质和坏死组织的核心,加快 AS 进程<sup>[20]</sup>。同时巨噬细胞自噬能够促进蛋白质聚集体及损伤细胞器的降解,降低细

胞内的毒性效应<sup>[21]</sup>。自噬可以调节巨噬细胞的这种极化性,促进 M1 型巨噬细胞向 M2 型巨噬细胞型转化<sup>[22]</sup>;同时抑制磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) /Akt/雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路,巨噬细胞自噬增加,炎症因子减少,斑块破裂发生率较低,斑块负荷减少,脆弱指数降低<sup>[23]</sup>。

#### 3.2 巨噬细胞自噬与脂质代谢

巨噬细胞通过吞噬脂质而变成富含甘油三酯及胆固醇的泡沫细胞,最终导致 AS 的发生。位于细胞膜上的三磷酸腺苷 (ATP) 结合转运盒 A1 (ABCA1) 参与胆固醇逆转运,负责将游离胆固醇转运到细胞外与高密度脂蛋白 (HDL) 结合,然后运至肝脏代谢成胆汁酸排出。上述过程可减缓动脉粥样硬化的进程,在整个环节中胆固醇流出是第一步,也是最关键的一步。自噬可促进胆固醇的流出,实验证实,敲除巨噬细胞自噬基因 5 (Atg5) 等基因后,胆固醇逆转运过程受阻,脂质蓄积增多,形成恶性循环,恶化斑块环境<sup>[24]</sup>。

### 4 中医药对巨噬细胞自噬的干预

典型的自噬始于双层膜结构的形成,称为吞噬泡。吞噬泡包裹细胞内需要降解的蛋白聚集体、脂滴、细胞器,并逐步延伸、成熟,形成自噬体,之后与溶酶体融合形成自噬溶酶体。自噬体外膜与溶酶体膜融合后,溶酶体水解酶降解自噬体内膜及底物,生成可被细胞循环利用的代谢产物<sup>[25]</sup>。大隅良典阐述了微管相关蛋白 LC3 在自噬体膜表面的定位及其相关功能<sup>[26]</sup>,先后发现了与自噬基因 (Atg) 相关的 30 多种编码的蛋白,这些蛋白参与吞噬泡的成熟、延伸以及自噬体与溶酶体的融合,包括 Beclin1、Atg3-Atg16 复合物以及微管相关蛋白 (LC3) II-磷脂酰乙醇胺复合物等<sup>[27-28]</sup>。关于自噬的调控机制非常复杂,目前已明确的信号调控通路主要是哺乳动物 mTOR 途径和 PI3K 途径等。中医药可通过调控上述通路并改善基因蛋白的表达干预 AS 过程。

近年来中医药在自噬方面的研究也逐渐深入,如张妮等<sup>[29]</sup>发现,化痰祛瘀方改善高脂血症大鼠肝脏脂质损伤的机制可能是通过调节肝脏自噬小体形成信号通路的相关基因 Atg1611、Atg3、Atg4c、Atg5 的 mRNA 的表达来实现的。通过进一步的药物单体研究发现,丹参酮 II<sub>A</sub> 可能通过调节 EA.hy926 细胞 Atg12-Atg5 通路和 LC3-PE 通路相关蛋白,即自噬小体形成相关信号通路以发挥其保护细

胞抗氧化应激损伤的生物学活性的作用,进而防治动脉粥样硬化的发生发展<sup>[30]</sup>。郝国强等<sup>[31]</sup>发现,丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>通过抑制 ox-LDL 诱导的人脐静脉内皮细胞自噬,从而起到保护内皮细胞的作用。曹慧敏等<sup>[32]</sup>发现,丹参酮Ⅱ<sub>A</sub>还可以保护上述 EA<sub>h</sub>926 细胞氧化应激损伤,上调自噬效应蛋白 LC3A/B 的表达。孙艳梅等<sup>[33]</sup>发现,化痰祛痰方可上调 LC3A/B 蛋白表达,同时调控 AMPK 通路以增强高脂血症大鼠肝脏的自噬,改善肝脏脂质损伤。另有研究发现,白藜芦醇可通过 AMPK/SIRT1 信号通路上调自噬,减轻氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)造成的氧化损伤,保护内皮细胞<sup>[34]</sup>。姜黄素可以在氧化应激损伤条件下,通过引发人脐静脉内皮细胞自噬过程起到对细胞的保护作用<sup>[35]</sup>。艾灸可增加小鼠巨噬细胞胞质中 LC3 颗粒的含量,激活自噬,同时干预 mTOR/Akt 通路<sup>[36]</sup>。百合固金汤对结核杆菌感染后的巨噬细胞自噬功能具有调节作用,用药组自噬特异性蛋白 LC3-II 表达量显著增高,Atg 5、Atg 7、Atg 8、Atg 12 表达亦不同程度增高<sup>[37]</sup>。黄连解毒汤含药血清可抑制 mTOR 表达,诱导 RAW264.7 巨噬细胞自噬相关基因 Beclin1 的表达,从而起到抗动脉粥样硬化的作用<sup>[38]</sup>。

## 5 小结

自噬可以清除体内废物,维持体内环境稳定,与中医阴阳自和理论相符。脾为后天之本,脾虚则痰浊内生,久之则痰瘀内结。从脾论治可祛除体内的痰浊之邪,改善痰瘀状态,减缓动脉粥样硬化进程,其机制或许与巨噬细胞自噬相关。从中医病因病机角度而言,细胞自噬机制与气的防御功能相一致。脾作为后天之本,或许会对细胞自噬有辅助作用。在脾失健运脂质代谢异常状态下,巨噬细胞自噬乏力,炎症反应增加、胆固醇逆转运(RCT)受阻,进而会影响血管内皮功能,导致动脉粥样硬化性疾病的发生发展。深入探讨巨噬细胞自噬及其机制,或许会揭示从脾论治动脉粥样硬化相关疾病的微观本质。

## 参考文献

[1]田嘉禾. 中医对冠心病的认识与辨证论治[J]. 辽宁中

[J]. 辽宁中医杂志 2014 41(8):1753-1755,1790.

- [4]冷雪,贾连群,杨关林,等. 化痰祛痰方对脾虚型高脂血症大鼠肝脏 SREBP-2 信号通路的干预作用[J]. 中国中西医结合杂志 2015 35(3):320-326.
- [5]张妮,贾连群,杨关林,等. 化痰祛痰方对高脂血症大鼠肝脏自噬小体形成信号通路相关基因的影响[J]. 中医杂志 2016 57(22):1959-1963.
- [6]吴瑾,宋囡,李宁,等. 香砂六君子丸对脾虚痰浊证大鼠心肌内皮素受体及血管紧张素Ⅱ受体表达的影响[J]. 中华中医药学刊 2015 33(8):1868-1871.
- [7]贾连群,甄毕贤,徐荧,等. 应用液质联用技术研究脾虚大鼠血清代谢物谱群特征[J]. 中国中西医结合杂志, 2016 36(3):359-365.
- [8]许秋莲,杨阳,田野. 巨噬细胞自噬在动脉粥样硬化中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志 2016 24(1):97-100.
- [9]黄贵华,纪云西,吴大力,等. 细胞自噬与中医气虚痰瘀关系探讨[J]. 中医杂志 2011 52(20):1717-1719.
- [10]马艺鑫,张妮,贾连群,等. 基于“痰浊血瘀”病机探讨自噬与动脉粥样硬化的关系[J]. 时珍国医国药, 2016 27(9):2240-2242.
- [11]刘杰民,纪云西,蒋历,等. 细胞自噬是探索中医药微观机制的新思路[J]. 时珍国医国药 2013 24(2):425-426.
- [12]高晓宇,张哲,杨关林. 从系统论角度阐释脾藏象理论[J]. 中医杂志 2016 57(19):1621-1625.
- [13]王志丹,贾连群,宋囡,等. 从阴阳自和角度论肝脏脂质代谢与细胞自噬的关系[J]. 时珍国医国药 2017, 28(4):924-925.
- [14]VINDIS C. Autophagy: an emerging therapeutic target in vascular diseases [J]. Br J Pharmacol, 2015, 172(9): 2167-2178.
- [15]KOU JY, LI Y, ZHONG ZY, et al. Berberine-sonodynamic therapy induces auto-phagy and lipid unloading in macrophage [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(1): e2558. doi: 10. 1038/cddis. 2016. 354.
- [16]LI R, JI Z, QIN H, et al. Interference in autophagosome fusion by rare earth nanoparticles disrupts autophagic flux and regulation of an interleukin-1 $\beta$  producing inflammatory [J]. ACS Nano 2014 8(10):10280-10292.
- [17]RAZANI B, FENG C, COLEMAN T, et al. Autophagy links inflammasomes to atherosclerotic progression [J]. Cell Metab 2012 15(4):534-544.
- [18]王俊岩,郑思成,王丹,等. 巨噬细胞与动脉粥样硬化及中医药干预作用研究进展[J]. 辽宁中医杂志, 2017 44(1):214-217.
- [19]MOSSER DM, EDWARDS IP. Exploring the full spectrum of macrophage activation [J]. Nat Rev Immunol, 2008 8(12):958-969.

- [20] LIU YC , ZOU XB , CHAI YF , et al. Macrophage polarization in inflammatory diseases [J]. *Int J Biol Sci* , 2014 , 10 ( 5 ) : 520-529.
- [21] 陈季武 , 王帮正 , 高秀霞 , 等. 自噬系统和蛋白酶体系统之间的相互联系 [J]. *生物化学与生物物理进展* , 2013 , 40 ( 3 ) : 199-208.
- [22] CHANG CP , SU YC , LEE PH , et al. Targeting NF $\kappa$ B by autophagy to polarize hepatoma-associated macrophage differentiation [J]. *Autophagy* , 2013 , 9 ( 4 ) : 619-621.
- [23] ZHAI C , CHENG J , MUJAHID H , et al. Selective inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway regulates autophagy of macrophage and vulnerability of atherosclerotic plaque [J]. *PLoS One* , 2014 , 9 ( 3 ) : e90563. doi: 10.1371/journal.pone.0090563. eCollection 2014.
- [24] SINGH R , KAUSHIK S , WANG Y , et al. Autophagy regulates lipid metabolism [J]. *Nature* , 2009 , 458 ( 7242 ) : 1131-1135.
- [25] BOYA P , REGGIORI F , CODOGNO P. Emerging regulation and functions of autophagy [J]. *Nat Cell Biol* , 2013 , 15 ( 7 ) : 713-720.
- [26] KABEYA Y , MIZUSHIMA N , UENO T , et al. LC 3 , a mammalian homologue of yeast Apg8p , is localized in autophagosome membranes after processing [J]. *EMBO J* , 2000 , 19 ( 21 ) : 5720-5728.
- [27] 金寿恒. 去泛素化酶 USP19 通过对 Beclin-1 去泛素化调控细胞自噬和抗病毒反应 [D]. 广州: 中山大学 , 2016.
- [28] 许秋莲 , 杨阳 , 田野. 巨噬细胞自噬在动脉粥样硬化中的作用 [J]. *中国动脉硬化杂志* 2016 , 24 ( 1 ) : 97-100.
- [29] 张妮 , 曹慧敏 , 宋囡 , 等. 丹参酮 II<sub>A</sub> 通过调节自噬小体对 ox-LDL 诱导内皮细胞氧化应激损伤的保护作用 [J]. *中国动脉硬化杂志* 2017 , 25 ( 3 ) : 244-249.
- [30] 张妮 , 贾连群 , 杨关林 , 等. 化痰祛痰方对高脂血症大鼠肝脏自噬小体形成信号通路相关基因的影响 [J]. *中医杂志* 2016 , 57 ( 22 ) : 1959-1963.
- [31] 郝国强 , 邢壮杰 , 郑新 , 等. 丹参酮 II<sub>A</sub> 对 ox-LDL 诱导血管内皮细胞自噬效应蛋白 Beclin1 表达的影响 [J]. *安徽医药* 2015 , 19 ( 12 ) : 2393-2396.
- [32] 曹慧敏 , 宋囡 , 张妮 , 等. 丹参酮 II<sub>A</sub> 对 EA. Hy926 氧化应激细胞模型自噬的影响及其时效关系的研究 [J]. *临床心血管病杂志* 2017 , 33 ( 2 ) : 183-187.
- [33] 孙艳梅 , 贾连群 , 张妮 , 等. 化痰祛痰方调控 AMPK 介导自噬对高脂血症大鼠肝脏脂质损伤的影响 [J]. *中国煤炭工业医学杂志* 2017 , 20 ( 3 ) : 312-316.
- [34] GUO H , CHEN Y , LIAO L , et al. Resveratrol protects HUVECs from oxidized-LDL induced oxidative damage by autophagy upregulation via the AMPK/SIRT1 pathway [J]. *Cardiovasc Drugs Ther* , 2013 , 27 ( 3 ) : 189-198.
- [35] HAN J , PAN XY , XU Y , et al. Curcumin induces autophagy to protect vascular endothelial cell survival from oxidative stress damage [J]. *Autophagy* , 2012 , 8 ( 5 ) : 812-825.
- [36] 李晓娟 , 孔立红 , 孙国杰. 艾灸对小鼠活性巨噬细胞自噬作用的影响研究 [J]. *湖北中医杂志* 2014 , 36 ( 5 ) : 19-20.
- [37] 王莉新 , 冯梅 , 吴文斌 , 等. 百合固金汤对结核杆菌感染后巨噬细胞自噬功能的调节作用 [J]. *免疫学杂志* , 2013 , 29 ( 9 ) : 764-768.
- [38] 于红红 , 吴玛莉 , 张智伟 , 等. 黄连解毒汤含药血清对巨噬细胞自噬相关基因表达的影响 [J]. *中国免疫学杂志* 2016 , 32 ( 8 ) : 1150-1152 , 1164.

## Exploring the Relationship between Macrophage Autophagy and Atherosclerosis Based on the Theory of Spleen Deficiency Generating Phlegm

GAO Xiaoyu<sup>1</sup> , ZHANG Zhe<sup>2</sup> , WANG Yang<sup>2</sup> , LIU Yue<sup>2</sup> , KONG Dezhao<sup>2</sup> , MENG Fanli<sup>2</sup> , PAN Jiaxiang<sup>2</sup> , TANG Jing<sup>2</sup> , LI Jia<sup>2</sup> , YIN Ni<sup>2</sup> , YANG Guanlin<sup>1</sup>

( 1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine , Shenyang , 110847; 2. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine )

**ABSTRACT** From the aspect of Chinese medicine etiology and pathogenesis , the mechanism of autophagy is in accord with defending function of Qi in Chinese medicine. Spleen is the foundation of acquired constitution. Spleen deficiency leads to phlegm generating. Under the condition of dysfunction of spleen in transportation and abnormal lipids metabolism , macrophage is weak to autophagy. Reverse cholesterol transport is obstructed. Then vascular endothelial function is affected and atherosclerotic diseases occur. From the aspect of Chinese medicine theory , the authors explore the mechanism of macrophage autophagy in depth , which might reveal the micro-essence of treating atherosclerosis ( AS ) related diseases from spleen , to provide reference for clinical treatment.

**Keywords** atherosclerosis; macrophage autophagy; spleen deficiency; phlegm-turbid

( 收稿日期: 2017 -06 -29; 修回日期: 2017 -08 -05 )

[编辑: 黄 健]