

血红素氧合酶-1在抗心脏移植血管病中的研究进展

孙来龙, 张松林

(三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院, 湖北 宜昌 443002)

【摘要】 心脏移植是治疗终末期心脏病的有效手段,但心脏移植血管病(CAV)限制了心脏移植患者的远期存活率。因此,研究CAV的发病机制,提高心脏移植患者远期存活率,是心脏移植领域一直以来的研究热点。本文旨在综述血红素氧合酶-1(HO-1)在抗CAV中的研究进展。

【关键词】 心脏移植血管病;血红素氧合酶-1;一氧化碳;胆绿素;胆红素

【中图分类号】 R543 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2016)10-1647-03

Research progress of Heme oxygenase-1 in the fight against cardiac allograft vasculopathy. SUN Lai-long, ZHANG Song-lin. The First Clinical Medical College of China Three Gorges University, Central People's Hospital of Yichang, Yichang 443002, Hubei, CHINA

【Abstract】 Heart transplantation is an effective therapy for end-stage heart disease, while cardiac allograft vasculopathy (CAV) limits the long-term survival of heart transplantation patients. Researching the pathogenesis of CAV and improving patients' long-term survival rate is still a hot spot of heart transplantation. The purpose of this paper is to review the research progress of heme oxygenase-1 (HO-1) in the fight against CAV.

【Key words】 Cardiac allograft vasculopathy (CAV); Heme oxygenase-1 (HO-1); Carbon monoxide (CO); Biliverdin; Bilirubin

1967年,世界首例心脏移植术在南非完成,开创了人类心脏移植的先河,然而术后并发症很快导致了患者的死亡。随着心脏移植技术逐渐成熟和免疫抑制治疗的发展,自20世纪80年代开始,心脏移植术已成为治疗终末期心脏病的一种有效、可行的手段,但是由于术后并发症的原因,其总体远期存活率仍较低,而心脏移植血管病(Cardiac allograft vasculopathy, CAV)是限制心脏移植患者存活率的主要并发症。一种有效可行的减缓CAV发生发展、提高移植存活率的新型治疗方法亟需要被研究出来并运用于临床。

1 CAV

心脏移植是治疗终末期心脏病最为有效的手段,但心脏移植术后常出现多种并发症影响移植心脏的功能,如CAV、缺血再灌注损伤、感染等。其中,CAV是影响心脏移植患者远期存活率的最主要的因素,其1年、5年、10年发病率分别为8%、30%、50%^[1]。CAV典型的病理表现是冠状动脉内膜呈弥漫性同心圆样增厚,引起冠状动脉进行性狭窄,最终导致供心供血不足、功能不全。CAV的病因尚不十分清楚,但大量动物及临床实验、流行病学研究认为既有免疫性因素(如急、慢性移植排斥反应等),也有非免疫性因素(如缺血再灌注损伤、血脂异常、高血压、糖尿病等)共同参与CAV的发生及发展过程^[2-3]。CAV常常表现为无症状性进展,临床上一旦患者诊断出CAV时大多处于较严重的阶段^[4-5],多已经出现心律失常、充血性心力衰竭、心肌梗死或者猝死^[4,6],其存活率将显著下降^[7]。由于移植术后供心失去神经支配、心脏解剖位置改变以

及其特殊的病理表现等,使得CAV的早期临床诊断较一般动脉粥样硬化性心脏病困难。目前针对CAV主要采用免疫抑制治疗,但免疫抑制剂不但价格昂贵,而且非特异性地抑制了所有的免疫应答,其效果有限还可导致感染、诱发肿瘤。因此,减少甚至摒弃传统的免疫抑制治疗,研究出新的方法来预防和减缓CAV的发生及进展,成为了心脏移植领域的研究重点。

2 血红素氧合酶-1 (Heme oxygenase-1, HO-1) 的生物学特性及其作用

血红素氧合酶是血红素代谢的起始酶和限速酶,可催化血红素降解为胆绿素、CO和游离Fe²⁺,胆绿素在体内很快又被还原成胆红素^[8]。HO有三种同工酶:HO-1、HO-2和HO-3,分别为不同的基因所编码。HO-1是目前研究最为广泛的血红素代谢酶,也是迄今为止发现的生物体内最容易被诱导产生的抗氧化酶。HO-1为诱导型,其在人体内基础表达量很低,但是多种可造成应激的因素均可诱导HO-1的表达,如血红素、缺血再灌注、缺氧、细胞因子、紫外线、重金属、内毒素、NO等^[9]。HO-1及其代谢产物是机体重要的内源性保护体系之一,它们共同发挥着抗炎、抗氧化、抗凋亡、抗血管平滑肌细胞增殖、调节血管张力、改善组织微循环等功能,在很多疾病的病理过程中发挥着重要保护作用,如败血症、疟疾、内毒素性休克、缺血再灌注损伤、器官移植排斥反应、心肌梗死、II型糖尿病等^[10],并在多个领域中被广泛研究。

3 HO-1及其代谢产物抗CAV的研究进展

1964年,WISE等就在体外实验下证明血红素酶

解后生成了胆绿素^[11]。到1968年Tenhunen等^[12]证实了WISE的论断并进一步发现酶解血红素生成胆绿素的催化酶就是HO。1980年代,HO的诱导型同工酶HO-1逐渐被研究者所认识,并证实HO-1就是热休克蛋白32(HSP32)^[13]。1990年代,Stocker提出HO-1有抗氧化应激、保护细胞的强大作用^[14],这一观点得到许多研究者的认同,很多研究者也开始了HO-1在心脏移植领域的研究,并发现HO-1及其酶解产物在心脏移植后发挥着抗CAV的作用。近些年来,HO-1在抗CAV中的研究在不断深入,并逐渐取得一些进展。

3.1 HO-1 供心在冷保存到移植术后恢复血流的过程中将遭遇缺血再灌注损伤,缺血再灌注损伤主要由大量的活性氧自由基引起,而HO-1酶解血红素反应过程需要消耗3分子O₂,从而减少氧自由基、减轻氧化压力,间接地提供细胞保护作用^[15]。Yet等^[16]在小鼠缺血再灌注实验模型中发现,转基因小鼠由于诱导了HO-1的表达减轻了心肌缺血再灌注损伤,其危险区域梗塞面积为14.7%;而相同条件下,作为对照组的野生型小鼠没有诱导HO-1的表达,其危险区域梗塞面积达56.5%,差异较显著。Schnickel等^[17]的实验通过给小鼠饲喂载脂蛋白A-1模拟肽(apoA-I mimetic peptide) D4-F诱导HO-1的表达,在小鼠异位心脏移植24 d后发现,实验组诱导HO-1表达后显著抑制了心脏移植血管内膜的损伤;而对照组没有诱导HO-1的表达,心脏移植血管内膜较实验组损伤明显严重。提示诱导HO-1的表达可以通过抗缺血再灌注损伤、抗血管内膜损伤、发挥细胞保护等机制,在抗CAV中发挥一定作用。

急、慢性排斥反应是心脏移植患者CAV发生发展的重要因素,而HO-1可以通过介导骨髓间充质干细胞来抑制T细胞的增殖而发挥免疫抑制作用,减轻移植排斥反应^[18],研究发现诱导HO-1的表达也可以通过调节免疫、诱导移植耐受来发挥抗CAV、延长移植存活时间的作用。Shen等^[19]在异种心脏移植实验中通过腹腔注射血红素诱导HO-1高表达后发现HO-1的高表达可以通过抑制移植血管内皮细胞活化、减少分子的粘附、减少炎症因子来抑制排斥反应从而延长移植存活时间。Yamashita等^[20]的研究证实诱导HO-1表达可显著上调在Tregs中占重要地位的Foxp3、TGF- β 、IL-10和CTLA4,从而诱导移植耐受和延长移植存活时间。此外,Araujo等^[21]在HO-1的转基因小鼠心脏移植实验中发现,无论是供心或者受体诱导HO-1表达上调后,均可以通过抑制免疫反应使心脏移植后小鼠的存活时间明显延长,且供心和受体均诱导HO-1表达上调的小鼠存活时间最长。

HO-1可以刺激抑制性因子p21cip1的表达,后者与细胞周期依赖性激酶结合增多,使细胞周期停滞于G₁/S期^[22],从而抑制血管平滑肌增殖。Duckers等^[23]在体外实验和体内实验中均已证实诱导HO-1的高表达可以抑制血管平滑肌增殖、减轻血管狭窄,从而改善

移植植物血液循环。HO-1这种抑制血管平滑肌增殖的作用在减轻移植血管腔狭窄中发挥着重要作用。

3.2 CO 源于HO-1催化血红素降解后产生的内源性CO,是人体内重要的信使分子,其改善微循环、抗炎、抗凋亡的作用在对抗CAV发生及发展过程中占重要地位。

3.2.1 CO改善移植循环 心脏移植后,CAV的发生及进展可导致移植血管进行性狭窄,造成供心的血液循环障碍。而HO-1酶解产物CO通过保护血管内皮细胞、调节血管张力、抗凝、减少微血管内纤维素沉积等作用来改善微循环障碍。CO通过调节有丝分裂原启动的蛋白激酶信号途径,来发挥细胞保护的作用;CO与可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)分子中血红素基团中铁结合使其启动,进而催化三磷酸鸟苷(GTP)生成环鸟苷一磷酸(cGMP),使细胞内cGMP表达增高^[24],升高的cGMP可以抑制内皮素1和血小板衍生因子B等缩血管因子引起血管平滑肌松弛,降低了血管张力;此外,CO可以抑制血小板释放血栓素、抑制纤溶酶原活化因子抑制剂I的表达,具有强大的抗凝功能,可以明显减少微血管内的纤维素沉积。Duckles等^[25]的实验发现HO-1还可以通过CO来阻滞T-Ca²⁺通道进而抑制血管平滑肌增殖。

3.2.2 CO抗炎作用 心脏移植术后趋化因子趋化大量炎症细胞到达移植血管内皮中诱发炎症反应,损伤移植血管。而CO可以通过下调众多炎症介质,如:TNF- α 、IL-1 β 、IL-6环氧合酶等起到明显抗炎作用。

3.2.3 CO的抗凋亡作用 移植器官在冷缺血贮存到移植术完成的过程中,必然会发生细胞凋亡。血管平滑肌细胞的大量凋亡是血管损伤和诱发炎症的一个重要原因,且平滑肌细胞大量凋亡的后期纤维修复可加重CAV。而CO的抗凋亡作用在体外细胞实验和动物实验中已被证实。

3.3 胆绿素和胆红素 胆绿素一直被认为是体内代谢废物,但有研究表明,胆绿素还原成胆红素后在人体内的抗氧化作用不亚于维生素C及维生素E^[26],发挥着抗氧自由基的作用。Foresti等^[27]的实验证明在细胞培养液中加入适量胆红素可以明显增强细胞的抗氧化损伤能力。此外,胆红素通过抗补体、抑制补体系统激活来发挥保护内皮细胞、防止脂质沉积的作用^[28]。Bösch等^[29]在小鼠心脏移植术前用胆红素液清洗供心,再灌注后发现促分裂原活化蛋白激酶(MAPKs)明显被抑制,且明显减轻了心脏移植后缺血再灌注损伤、抑制了细胞凋亡、改善心脏移植存活率。

3.4 Fe²⁺ HO-1降解血红素生成的Fe²⁺可诱导铁蛋白的合成^[30]。而铁蛋白是机体内一种贮存铁的可溶性组织蛋白,参与铁的消化、吸收及贮藏,铁蛋白还能与体内游离铁离子形成复合物而保护内皮细胞及对抗活性氧簇(ROS)导致的细胞损伤^[31]。

4 总 结

研究者在大量的心脏移植动物实验中利用分子生物学途径、物理途径或者化学途径诱导HO-1的高表达,发现其可以通过抗移植排斥反应、抗氧化应激损伤、抗缺血再灌注损伤、改善循环及调节免疫等多种机制控制着CAV的发生及进展,减轻了CAV对心脏移植物的损害,明显提高了心脏移植后的远期存活率。这使得HO-1很可能成为抗人类CAV的新奇的作用靶点,对抗人类CAV的发生及发展具有潜在的价值。但也存在如下几点困难:(1)目前,诱导HO-1高表达发挥抗CAV作用的研究多限于动物实验,如何安全、有效地运用于临床,有待进一步的探讨;(2)HO-1在不同人体内的表达水平及活性存在很大差异,使得其诱导表达水平及活性难以掌控;(3)HO-1的过度表达也带来一些不利影响,如可破坏细胞膜完整性、可导致神经系统的退行性变化等疾病的发生、还可以通过抑制凋亡从而提高了肿瘤细胞的存活能力。因此,只有在不断深入地研究并掌握了HO-1的规律,HO-1可以为人类心脏移植患者抗CAV提供新的思路。

参 考 文 献

- [1] Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirtieth official adult heart transplant report-2013; focus theme: age [J]. *Heart and Lung Transplant*, 2013, 32 (10): 951-964.
- [2] Caforio AL, Tona F, Fortina AB, et al. Immune and nonimmune predictors of cardiac allograft vasculopathy onset and severity: multivariate risk factor analysis and role of immunosuppression [J]. *American Journal of Transplantation*, 2004, 4(6): 962-970.
- [3] Schmauss D, Weis M. Cardiac allograft vasculopathy: recent developments [J]. *Circulation*, 2008, 117(16): 2131-2141.
- [4] Miller CA, Sarma J, Naish JH, et al. Multiparametric cardiovascular magnetic resonance assessment of cardiac allograft vasculopathy [J]. *The American College of Cardiology*, 2014, 63(8): 799-808.
- [5] Benatti RD, Taylor DO. Evolving concepts and treatment strategies for cardiac allograft vasculopathy [J]. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, 2014, 16(1): 278.
- [6] Mittal TK, Panicker MG, Mitchell AG, et al. Cardiac allograft vasculopathy after heart transplantation: electrocardiographically gated cardiac CT angiography for assessment [J]. *Radiology*, 2013, 268(2): 374-381.
- [7] Segura AM, Buja LM. Cardiac allograft vasculopathy: a complex multifactorial sequel of heart transplantation [J]. *Texas Heart Institute*, 2013, 40(4): 400-402.
- [8] Kikuchi G, Yoshida T, Noguchi M. Heme oxygenase and heme degradation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 338(1): 558-567.
- [9] Calay D, Mason JC. The multifunctional role and therapeutic potential of HO-1 in the vascular endothelium [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2014, 20(11): 1789-1809.
- [10] Soares MP, Bach FH. Heme oxygenase-1: from biology to therapeutic potential. *Trends* [J]. *Trends in Molecular Medicine*, 2009, 15(2): 50-58.
- [11] Wise CD, Drabkin DL. Degradation of haemoglobin and heme to biliverdin by a new cell-free system obtained from the hemophagous organ of dog placenta [J]. *Federation Proceedings*, 1964, 23: 323.
- [12] Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase [J]. *Proc Nat Acad Sci, USA*, 1968, 61(2): 748-755.
- [13] Keyse SM, Tyrrell RM. Heme oxygenase is the major 32-kDa stress protein induced in human skin fibroblasts by UV radiation, hydrogen peroxide, and sodium arsenite [J]. *Proc Nat Acad Sci, USA*, 1989, 86 (1): 99-103.
- [14] Stocker R. Induction of heme oxygenase as a defense against oxidative stress [J]. *Free Radical Research*, 1990, 9(2): 101-112.
- [15] Taille C, El-Benna J, Lanone S, et al. Induction of heme oxygenase-1 inhibits NAD(P)H oxidase activity by down-regulating cytochrome b (558) expression via the reduction of heme availability [J]. *Biological Chemistry*, 2004, 279(27): 28681-28688.
- [16] Yet SF, Tian R, Layne MD, et al. Cardiac-specific expression of heme oxygenase-1 protects against ischemia and reperfusion injury in transgenic mice [J]. *Circulation Research*, 2001, 89(2): 168-173.
- [17] Schnickel GT, Hsieh GR, Kachikwu EL, et al. Cytoprotective gene HO-1 and chronic rejection in heart transplantation [J]. *Transplantation Proceedings*, 2006, 38(10): 3259-3262.
- [18] Chabannes D, Hill M, Merieau E, et al. A role for heme oxygenase-1 in the immunosuppressive effect of adult rat and human mesenchymal stem cell [J]. *Blood*, 2007, 110(10): 3691-3694.
- [19] Shen Z, Teng X, Qian X. Immunoregulation effect by overexpression of heme oxygenase-1 on cardiac xenotransplantation [J]. *Transplantation Proceedings*, 2011, 43(5): 1994-1997.
- [20] Yamashita K, Ollinger R, Mc Daid J, et al. Heme oxygenase-1 is essential for and promotes tolerance to transplanted organs [J]. *FASEB*, 2006, 20(2): 776-778.
- [21] Araujo JA, Meng L, Tward AD, et al. Systemic rather than local heme oxygenase-1 overexpression improves cardiac allograft outcomes in a new transgenic mouse [J]. *Immunol*, 2003, 171(3): 1572-1580.
- [22] Peyton KJ, Reyna SV, Chapman GB, et al. Heme oxygenase-1-derived carbon Monoxide is an autocrine inhibitor of vascular smooth muscle cell growth [J]. *Blood*, 2002, 99(12): 4443-4448.
- [23] Duckers HJ, Boehm M, True AL, et al. Heme oxygenase-1 protects against vascular constriction and proliferation [J]. *Nature Medicine*, 2001, 7(6): 693-698.
- [24] Lucas KA, Pitari GM, Kazerounian S, et al. Guanylyl cyclases and signaling by Cyclic GMP [J]. *Pharmacological Reviews*, 2000, 52(3): 375-414.
- [25] Duckles H, Boycott HE, Al-Owais MM, et al. Heme oxygenase-1 regulates cell proliferation via carbon monoxide-mediated inhibition of T-type Ca^{2+} channels [J]. *Pflügers Archiv-European*, 2015, 467(2): 415-427.
- [26] Kapitulnik J. Bilirubin: an endogenous product of heme degradation with both cytotoxic and cytoprotective properties [J]. *Molecular Pharmacology*, 2004, 66(4): 773-779.
- [27] Foresti R, Bains S, Sulc F, et al. The interaction of nitric oxide with distinct hemoglobins differentially amplifies endothelial heme uptake and heme oxygenase-1 expression [J]. *Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2006, 317(3): 1125-1133.
- [28] Jansen T, Hortmann M, Oelze M, et al. Conversion of biliverdin cell protection by heme oxygenase-1 evidence for direct and indirect antioxidant actions of bilirubin [J]. *Molecular and Cellular Cardiology*, 2010, 49(2): 186-195.
- [29] Bösch F, Thomas M, Kogler P, et al. Bilirubin rinse of the graft ameliorates ischemia reperfusion injury in heart transplantation [J]. *Transplant International*, 2014, 27 (5): 504-513.
- [30] Ryter SW, Alam J, Choi AMK. Hemeoxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications [J]. *Physiological Reviews*, 2006, 86(2): 583-650.
- [31] Morita T. Heme oxygenase and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(9): 1786-1795.

(收稿日期:2015-06-11)