

丹参酮 II_A 对缺血性心脏病中细胞凋亡与自噬的调控机制研究进展

冯 帅¹, 沙 爽^{2#}, 常 庆^{3*}, 陈颖敏^{1*}

1. 上海健康医学院附属嘉定区中心医院 心血管内科, 上海 201800

2. 上海健康医学院 分子影像学重点实验室, 上海 201318

3. 上海健康医学院附属嘉定区中心医院 临床科研中心, 上海 201800

摘 要: 缺血性心脏病是全球发病率和致死率最高的疾病, 严重地威胁着人类健康。丹参酮 II_A 是从丹参的根部提取的主要亲脂性成分, 研究表明, 丹参酮 II_A 具有多种抗心血管疾病的作用, 其作用机制与调节心肌细胞的凋亡和自噬有关。论述了缺血性心脏病中细胞凋亡和自噬相关的信号通路及其相互关系, 总结了近年来丹参酮 II_A 通过调控细胞凋亡和自噬治疗缺血性心脏病的研究进展, 探讨了其通过调控细胞凋亡和自噬从而产生心血管保护作用的机制, 为深入研究缺血性心脏病以及药物的开发利用提供依据。

关键词: 缺血性心脏病; 细胞凋亡; 自噬; 丹参酮 II_A; 调控机制

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)19-4670-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.030

Research progress on regulation mechanism of tanshinone II_A on cell apoptosis and autophagy in ischemic heart diseases

FENG Shuai¹, SHA Shuang², CHANG Qing³, CHEN Ying-min¹

1. Department of Cardiovascular Medicine, Jiading District Central Hospital Affiliated Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201800, China

2. Shanghai Key Laboratory for Molecular Imaging, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201318, China

3. Clinical Research Center, Jiading District Central Hospital Affiliated Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201800, China

Abstract: Ischemic heart disease is a leading cause of morbidity and mortality throughout the world which is a serious threat to human health. Tanshinone II_A is a major lipophilic component extracted from the roots of *Salvia miltiorrhiza*. Studies have shown that tanshinone II_A has a variety of anti-cardiovascular diseases, and its mechanism is related to the regulation of myocardial cell apoptosis and autophagy. This article discusses the signaling pathways and their correlations related to apoptosis and autophagy in ischemic heart disease. The recent advances about the regulation of apoptosis and autophagy in the treatment to ischemia heart disease by tanshinone II_A were summarized. The mechanism of regulating apoptosis and autophagy to produce cardiovascular protection was discussed. This paper will provide a basis for in-depth study of ischemic heart disease and the development and utilization of drugs.

Key words: ischemia heart disease; cell apoptosis; autophagy; tanshinone II_A; regulation mechanism

目前, 心血管疾病严重威胁着人类的健康。据统计, 我国每年约有 350 万人死于心血管疾病, 其中缺血性心脏病患者占比超过 30%^[1]。缺血性心脏病会导致心肌细胞丢失, 进一步导致心肌重构, 最终造成心力衰竭^[2]。当前针对缺血性心脏病的治疗

手段主要是常规的强化药物治疗、生活方式干预、外科手术治疗以及经皮冠状动脉介入术等^[3]。然而, 目前的临床治疗无法逆转心肌细胞丢失的问题^[4], 因此, 深入研究缺血性心脏病、寻找并开发抗心肌细胞损伤和死亡的药物具有重要意义。

收稿日期: 2018-04-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81670968); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81702284)

作者简介: 冯 帅 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为心血管疾病的中西医结合治疗。Tel: 18702749828 E-mail: 18702749828@163.com

*通信作者 常 庆, 硕士生导师, 主要研究中药提取物调控发育的分子机制。E-mail: jd_changq@sumhs.edu.cn

陈颖敏, 硕士生导师, 主要研究难治性心血管疾病。E-mail: 13681980901@139.com

#并列第一作者 沙 爽

研究表明,细胞凋亡^[5-6]和自噬^[7]在多种心血管疾病中发挥着重要的作用。凋亡和自噬可单独发生^[8],细胞因子产生^[9-10]、氧化应激的增加^[11]以及 DNA 的损伤^[12]都会引起心肌细胞凋亡,而在正常心肌组织中,自噬信号通路的破坏也会发生左心室扩张和严重的收缩功能障碍^[13];二者也可以同时或相继发生,研究表明激活自噬可以抑制或促进细胞凋亡^[14],具有心脏保护作用,而细胞凋亡的基本调节因子如 Bcl-2 家族也可调节自噬^[15]。以上实验结果表明凋亡和自噬之间存在着紧密的联系,如何调控凋亡与自噬对心血管疾病的研究和治疗有着重要意义。

目前,具有活血化瘀、宁心安神、凉血消痈作用的丹参,已在心血管疾病的治疗中有了广泛的应用,临床上常用于调节血脂、保护血管内皮细胞、治疗冠心病和心梗等心脑血管疾病^[16]。丹参是唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎,其有效成分由脂溶性成分和水溶性成分组成^[17]。丹参酮 II_A (tanshinone II_A) 是其最主要的脂溶性成分,其在丹参药材中质量分数为 0.1%~0.9%,也是丹参药材和丹参注射液定性定量的质量控制指标之一^[17],其化学结构见图 1。现代医学和药理学研究表明,丹参酮 II_A 具有抗心肌缺血、抗动脉粥样硬化、增加冠状动脉血流量、抗心律失常、抗菌、抗炎和抗肿瘤等作用^[16]。尤其在抗心血管疾病方面,越来越多的文献报道了丹参酮 II_A 如何参与调节细胞凋亡与自噬。

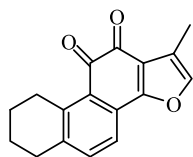


图 1 丹参酮 II_A 化学结构

Fig. 1 Chemical structure of tanshinone II_A

本文对近年来细胞凋亡和自噬参与缺血性心脏病病理过程以及丹参酮 II_A 通过调控细胞凋亡或自噬治疗缺血性心脏病的研究进展进行综述,为进一步深入研究缺血性心脏病及其药物开发提供依据。

1 细胞凋亡

凋亡是由基因调控的、细胞自主的程序性死亡,不会引起邻近组织的炎症^[18]。随着对细胞死亡分子机制研究的深入,细胞死亡命名委员会 (Nomenclature Committee on Cell Death, NCCD) 根

据不同的生化特征定义了不同类型的细胞死亡方式,其中细胞凋亡被定义为一种基因调控的、依赖半胱氨酸蛋白酶 (caspase) 调节的细胞死亡方式^[19]。经典的细胞凋亡途径主要分为 3 种,包括外源性(死亡受体介导凋亡)信号通路、内源性(细胞线粒体介导凋亡)信号通路以及穿孔素/颗粒酶介导的信号通路(图 2)。

2 细胞自噬

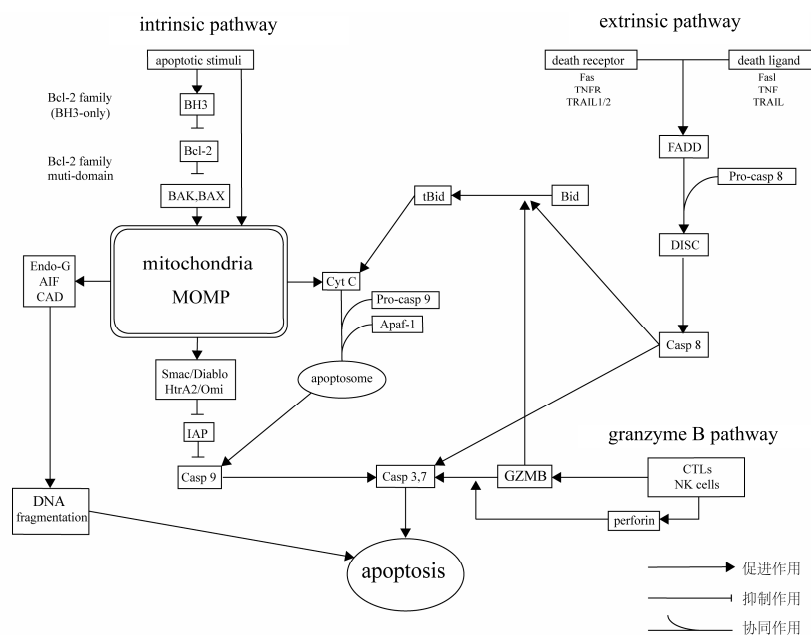
Christian de Duve 首次发现了溶酶体,他认为溶酶体是细胞废物处理系统,并且将溶酶体利用废物材料制造新分子的过程命名为“自噬”。自噬是一种溶酶体降解废物的过程,长期存在或错误折叠的蛋白质和受损的细胞器会通过这个过程被隔离、降解、随后回收利用^[20]。生理性自噬对维持细胞内的稳态具有重要意义^[21-22],而过度自噬可能降解细胞内的必需蛋白质或者导致代谢应激等,从而造成细胞死亡^[23-24]。目前发现的自噬分为 3 种类型:巨自噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬。其中,巨自噬是主要形式。自噬信号通路(图 3)中有多个关键位点,自噬相关基因 (Atg) 是其核心基因^[25]。

3 细胞凋亡和自噬

细胞凋亡和自噬是 2 个既相互独立又相互联系的生物学过程。从形态学角度看,当细胞发生凋亡时,在其早期细胞骨架降解,细胞器一直存在至晚期。而当细胞发生自噬时,在其早期细胞器降解,细胞骨架存在至晚期。从分子机制角度看,Bcl-2 家族和调控自噬的相关基因 Beclin1 是凋亡与自噬信号通路的共同蛋白和基因。Bax 决定细胞是否凋亡,当其与另一个 Bax 蛋白形成同源二聚体时促进细胞凋亡,而与 Bcl-2 形成异源二聚体时则抗细胞凋亡^[26]。Bcl-2/Bcl-xL 与 Beclin1 竞争性结合,可通过死亡相关蛋白上调自噬^[27]。而在衰老的需要被清除的细胞中,抗凋亡的 Bcl-2 家族蛋白和自噬小体组装蛋白 Beclin1 结合后阻止自噬小体的组装,从而下调自噬^[28-29]。在自噬发生过程中的特异性基因 Atg5,当有细胞死亡的刺激存在时,calpain 剪切 Atg5,形成一个 N 端相对分子质量为 2.4×10^4 的片段,该片段会被从胞浆转运到线粒体膜上与 Bcl-xL 作用,加快 Bax-Bax 复合物形成,刺激细胞色素 C 释放和 caspase 活化,促进了线粒体途径的细胞凋亡^[30]。因此,细胞凋亡和自噬之间可能存在着一种平衡。

4 缺血性心脏病与细胞凋亡和自噬的关系

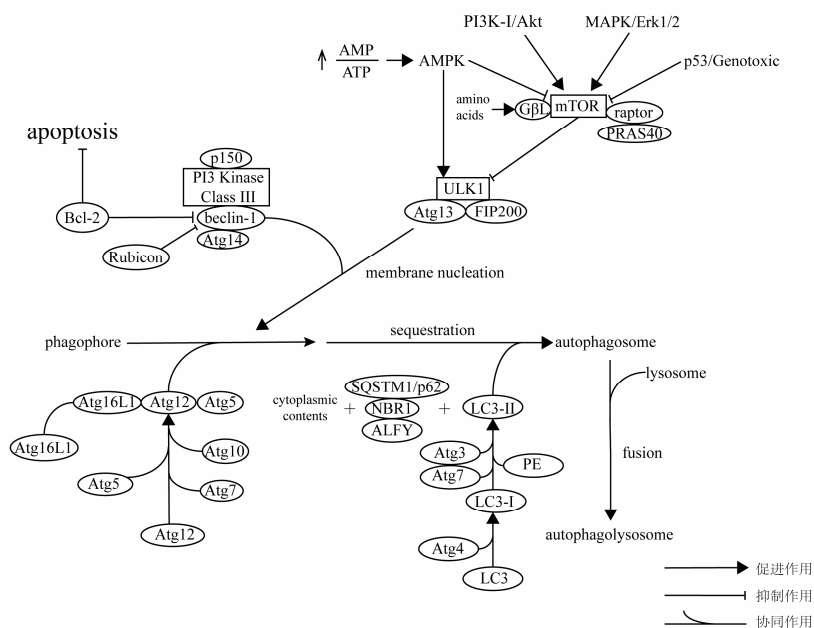
缺血性心脏病又称冠心病,是由于血清脂质类



MOMP-线粒体膜上通透性转换孔 Cyt C-细胞色素C Apaf-1-凋亡蛋白酶活化因子1 Smac/Diablo-第2个线粒体衍生的半胱氨酸蛋白酶激活剂/低等电点的 IAP 直接结合蛋白 IAP-凋亡蛋白抑制剂 HtrA2/Omi-丝氨酸蛋白酶 AIF-凋亡诱导因子 Endo G-限制性内切核酸酶 G CAD-核酸内切酶 FADD-与死亡结构域蛋白相关联的 Fas DISC-死亡诱导信号复合物 GZMB-颗粒酶 B CTLs-NK 细胞

MOMP-mitochondrial permeability transition pore Cyt C-cytochrome C Apaf-1-apoptotic protease activating factor 1 Smac/Diablo-second mitochondrial activator of caspases/direct IAP binding protein with low PI IAP-inhibitor of apoptosis protein HtrA2/Omi-serine protease AIF-apoptosis inducing factor Endo G-restriction endonuclease G CAD-caspase activated endonuclease FADD-Fas-associated with death domain protein DISC-death-inducing signaling complex GZMB-granzyme B

图 2 细胞凋亡的信号通路示意图
Fig. 2 Cell apoptosis signaling pathway



mTOR-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 ULK1-哺乳动物自噬起始激酶 PRAS40-富含脯氨酸的相对分子质量 4×10^4 的 Akt 底物 GβL-类 G 蛋白 β 亚基蛋白 Raptor-相对分子质量 4×10^4 的调控相关 Akt 底物 FIP200-相对分子质量 2×10^5 的黏着斑激酶家族相互作用蛋白 p62/SQSTM1-多功能接头蛋白 NBR1-受体蛋白 ALFY-自噬相关蛋白 FYVE LC3-微管相关蛋白 1 轻链 3

mTOR-mammalian target protein of rapamycin ULK1-unc-51 like autophagy activating kinase 1 PRAS40-proline-rich Akt substrate of 4×10^4 GβL-G like proteins β subunit protein Raptor-regulation-associated Akt substrate of 4×10^4 FIP200-focal adhesion kinase family interacting protein of 2×10^5 Atg-autophagy associated gene p62/SQSTM1-sequestosome 1 NBR1-neighbor of BRCA1 gene protein ALFY-autophagy linked FYVE protein LC3-microtubule-associated protein 1 light chain 3

图 3 细胞自噬的信号通路示意图
Fig. 3 Cell autophagy signaling pathway

物质沉积在冠状动脉表面形成斑块,使管腔狭窄或者阻塞,由于冠状动脉功能异常导致心肌缺血缺氧甚至坏死而引起的心脏疾病。导致缺血性心脏病的原因包括:动脉粥样硬化、抗心肌缺血/再灌注损伤和抗心肌细胞缺氧等,动脉粥样硬化和缺血再灌注是缺血性心脏病中 2 个重要的病理过程,本文将主要探讨这 2 个过程中的细胞凋亡和自噬。

4.1 动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是缺血性心脏病发病的最主要原因^[31],目前有多种学说阐明其发病机制。高脂血症是可以单独造成动脉粥样硬化的高危因素,氧化型胆固醇水平偏高可诱发氧化应激反应,Caspase-3 和蛋白激酶 C 的参与促使红细胞过度凋亡,造成免疫细胞和内皮细胞的炎症改变,加速了动脉粥样硬化的发展^[32]。血管内皮细胞的增殖是动脉粥样硬化的经典发病机制之一。近年来的研究表明,血管内皮细胞的老化也会促进粥样斑块的形成,与端粒结合蛋白(TRF2)的丢失有关^[33]。肿瘤坏死因子、内毒素、自由基、氧化修饰低密度脂蛋白及血小板的异常表达、激活,诱导了血管内皮细胞发生凋亡^[34]。研究表明,引发衰老的、损伤的内皮细胞发生自噬从而被清除是防治动脉粥样硬化的有效手段^[35]。此外,动脉粥样硬化斑块的破裂是急性冠脉综合征发生的主要因素。在不稳定的动脉粥样硬化斑块中,巨噬细胞和平滑肌细胞发生凋亡会导致斑块破裂和血栓形成^[36],使冠状动脉狭窄甚至闭塞,减少了心肌的血液供应从而发生心肌梗死甚至可能导致死亡。

4.2 缺血/再灌注

再灌注是治疗急性心肌梗死的方法,但恢复氧供应可能会加重组织损伤,这一过程称为再灌注损伤^[37]。心肌缺血时会导致心肌细胞死亡,但氧和葡萄糖的迅速恢复(再灌注)也与细胞死亡有关^[38]。早期研究认为,细胞凋亡是心肌梗死后再灌注过程中细胞死亡的主要形式,这是由于细胞凋亡是一个 ATP 依赖的过程,需要氧和葡萄糖的供应^[39]。所以调节线粒体及其能量代谢对调控细胞凋亡和自噬有着重大意义。p53 可以抑制 Parkin 蛋白介导的线粒体自噬,重塑梗死区的心脏结构,促进心肌细胞凋亡,加重心肌梗死,而在 p53 敲除小鼠的心梗区域的心肌重塑和细胞凋亡被抑制^[40]。在心肌缺血缺氧和再灌注损伤中发现线粒体跨膜电位的突然降低、线粒体孔道开放以及细胞色素 C、AIF、Caspase-2、Caspase-3、Caspase-9 的释放参与了细胞凋亡过程。

在心肌组织缺血再灌注损伤后,p53 基因及其产物表达量增加并与缺血再灌注呈相关性,而抑制 p53 蛋白的阳性表达可以抑制细胞凋亡,从而发挥保护作用^[41]。Yan 等^[42]认为慢性心肌缺血引起的自噬是对细胞凋亡的保护性反应。研究表明自噬的上调在短时间缺血再灌注过程中可能对心肌细胞有着潜在的保护作用^[43],而 Hariharan 等^[44]发现由于缺血再灌注的氧化应激自噬加重了心肌损伤。自噬的功能转化在缺血再灌注中有具体体现,其在缺血阶段对细胞有保护作用,而在再灌注阶段对细胞有害^[45]。在一项关于自噬机制的研究中,Matsui 等^[46]发现,自噬可能通过腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)在急性缺血期发挥保护作用,而在再灌注期未涉及 AMPK 通路时产生有害影响。此外,一项研究发现,在大鼠冠状动脉结扎模型中,与正常心脏相比,梗死区中心自噬缺乏,梗死区周围区域自噬明显减少^[47]。自噬对心肌细胞的这些矛盾作用可能与不同的缺血时间、病理模型及心脏病变区相关。此外,自噬的保护作用与凋亡的心肌细胞及其相关基因(如 Bcl-2)有关,同样与信号转导和转录激活因子 1(STAT1)、FoxO 转录因子也有关(如 FoxO1、FoxO3)^[48-50]。

5 丹参酮 II_A 对缺血性心脏病的细胞凋亡和自噬的干预

丹参广泛用于治疗心血管疾病,丹参酮是其主要的亲脂性提取物,Wang 等^[51]研究表明丹参酮在心肌缺血性损伤后的早期作用主要是通过降低细胞内钙水平和细胞黏附反应,减轻细胞损伤。丹参酮 II_A 是丹参酮中的一个单体成分,研究表明丹参酮 II_A 能通过调节凋亡与(或)自噬的相关信号通路来发挥治疗缺血性心脏病的作用。丹参酮 II_A 调控缺血性心脏病中细胞凋亡与自噬的作用机制见表 1。

在动脉粥样硬化的病理过程中,内皮细胞凋亡为主要的细胞死亡方式^[34]。丹参酮 II_A 可通过抑制自噬效应蛋白 Beclin1 从而抑制氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEs)自噬^[54]。也可以通过抑制 Akt/mTOR 信号通路进一步促进 HUVEs 的自噬,从而抑制晚期糖基化产物(AGEs)诱导的内皮细胞凋亡^[58]。上述实验结果看似不同,但丹参酮 II_A 均发挥了促内皮细胞生长抗动脉粥样硬化的作用,丹参酮 II_A 通过调控 HUVEs 自噬抗凋亡,而其机制还不是很清楚。丹参酮 II_A 在不同种细胞,如心肌细胞和内皮细胞对 PI3K/Akt/mTOR 的信号通路发挥的作用不同。在内

表 1 丹参酮 II_A 调控缺血性心脏病中细胞凋亡与自噬的作用机制Table 1 Mechanism of tanshinone II_A on cell apoptosis and autophagy in ischemic heart disease

药理作用	作用机制	结果	参考文献
抗动脉粥样硬化	激活 Nrf2, 上调抗氧化基因	抗人脐静脉融合细胞 EA.hy926 凋亡	52
	清除自由基, 防止脂质过氧化, 上调 Bcl-2/Bax	抗大鼠心肌细胞凋亡	53
	抑制自噬效应蛋白 Beclin1 的表达	抗 ox-LDL 诱导的 HUVECs 过度自噬	54
	抑制 PI3K/Akt/mTOR, 促进自噬, 在 12 h 自噬效应最强	促进 EA.hy926 细胞自噬, 抗 ox-LDL 诱导的损伤	55-56
	调节 EA.hy926 自噬小体形成 Atg12-Atg5 和 LC3-PE 信号通路	促进 EA.hy926 细胞自噬, 抗氧化应激损伤	57
	抑制 Akt/mTOR 及晚期糖基化产物 (AGEs) 诱导的内皮细胞凋亡	促进 HUVECs 自噬而抑制凋亡	58
	抑制 JAK2/STAT3	保护心肌细胞 H9C2 而抗凋亡	59
抗心肌缺血/再灌注损伤	上调 PI3K/Akt/mTOR	减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤	60
	降低高迁移率蛋白 B1 (HMGB-1) 水平, 升高 LC3B/LC3A 值, 上调 Beclin-1 表达, 下调 Bax 和 Casapase-3, 上调 Bcl-2 水平	改善缺血再灌注引起的心肌损伤, 通过减少炎症介质和细胞凋亡改善心脏功能, 增强自噬	61
	上调 Akt/FOXO3A/Bim	减少大鼠心肌梗面积, 改善心功能	62
	抑制核转录因子- κ B (NF- κ B)/肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 上调 PI3K/Akt, 抑制 JNK	抑制低氧-糖剥夺/恢复诱导的大鼠心肌细胞凋亡	63
	上调 PI3K/Akt	降低糖尿病大鼠缺血再灌注后的梗死面积, 改善心功能, 减少心肌细胞凋亡, 降低炎症反应	64
	抑制 JNK	减少大鼠心肌梗面积, 抑制心肌细胞凋亡	65
	抑制 Cyt C 及 Caspase 活性, 平衡 Bcl-2 家族抗凋亡蛋白和促凋亡蛋白的平衡	抑制慢性缺氧诱导的心肌细胞凋亡	66
抗心肌细胞缺氧	抑制丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK), 激活 PI3K/Akt	抗心肌细胞凋亡	67
	激活 MAPK、ERK1/2 上调 miR-133 的表达	增强心肌细胞抗缺氧能力而抗凋亡	68
	降低 p62、LC3II 和 Beclin-1 的表达, 增强抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达, 激活 mTOR	抑制过度自噬, 减轻心肌细胞缺氧复氧损伤	69

皮细胞中, 丹参酮 II_A 通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 的表达, 进一步促进内皮细胞的自噬, 显著地减少内皮细胞的凋亡, 从而改善动脉粥样硬化^[55-58]。而在心肌缺血再灌注损伤的研究中, 丹参酮 II_A 可以上调心肌细胞中的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的表达, 进一步抑制因缺血缺氧导致的心肌细胞自噬, 从而发挥抗心肌缺血缺氧的作用^[60,62-64]。丹参酮 II_A 还可以通过抑制 MAPK 并上调 PI3K/Akt 抗心肌细胞缺氧^[67]。综上, 丹参酮 II_A 可以通过调节细胞凋亡和 (或) 自噬发挥抗缺血性心脏病的作用。

6 结语

凋亡和自噬是 2 个既独立又相关的生物学过程。从形态学上看, 在细胞凋亡的早期, 细胞骨架降解, 细胞器仍然存在; 而在细胞自噬的早期, 细胞器降解, 细胞骨架一直存在。凋亡和自噬之间有

正和负的联系, 2 个过程之间存在广泛的信号“交换”。当营养缺乏时, 自噬具有促进细胞存活的功能, 但是过度自噬又会导致自噬性细胞死亡。一些促进细胞凋亡的信号, 如 TNF、TRAIL 和 FADD, 同样会诱导自噬。另外, Bcl-2 能抑制 Beclin1 依赖的自噬, 因此其既具有促进生存的功能又具有抑制自噬的功能。

细胞凋亡和自噬在各种心血管疾病的发病机制中起着重要的作用。细胞凋亡是一个高度调控的过程, 因此其是一个用以治疗疾病的重要干预目标。目前的研究证明, 使用转基因小鼠、基因敲除、重组蛋白质和药物抑制剂在内的新型技术可以抑制心肌细胞的凋亡, 但几乎没有抗凋亡药物可以用于临床研究。同样, 在调节自噬的药物用于临床治疗之前, 还有许多问题需要解决。首先, 自噬在各种心

血管疾病中的确切作用尚未完全了解,如果在错误的时间抑制或增强自噬可能会导致心肌损伤的加重。其次,目前尚无研究表明调节自噬的药物可以特异性或非特异性地调节自噬,而是激活或抑制自噬信号的上游途径,还可能调节其他的信号通路甚至产生副作用。综上,凋亡和自噬间存在着心血管保护作用的平衡点^[70]。在缺血性心脏病中,自噬可以抑制细胞发生凋亡,而当抑制了自噬的信号或者过度自噬时,细胞会发生凋亡^[71]。

丹参酮 II_A 是丹参中主要的脂溶性成分,研究表明其具有抗菌、抗炎、抗肿瘤及心脑血管保护等药理作用。其对心血管系统的作用明显,有一定抗氧化应激、改善心肌缺血再灌注损伤、保护心脏的功能。丹参酮 II_A 可以激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,从而缓解大鼠的心肌细胞缺血再灌注损伤^[60]。丹参酮 II_A 也有调节血管内皮的功能,防止内皮细胞动脉粥样硬化引发细胞损伤。丹参酮 II_A 可通过抑制^[54]或促进^[58]HUVEs 自噬抗凋亡从而发挥抗动脉粥样硬化的作用,其调控内皮细胞自噬抗凋亡的机制有待进一步的研究。有研究者发现,丹参酮 II_A 可以抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,诱导 EA.hy926 细胞产生自噬反应,适度的自噬可以防止其由于外部氧化应激导致引起动脉粥样硬化损伤^[57]。研究表明丹参酮 II_A 可以通过上调 PI3K/Akt 降低糖尿病大鼠缺血再灌注后的心肌梗死面积,改善心功能,减少心肌细胞凋亡,降低炎症反应^[64]。丹参酮 II_A 对于不同细胞的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的作用不同,原因可能是由于不同浓度的丹参酮 II_A 诱导自噬的作用不同,也可能是还有其他信号通路同时参与这个过程。丹参酮 II_A 对病理状态下内皮细胞或心肌细胞的作用是明确的,但仅仅通过对相关蛋白表达量的检测不足以阐明其机制。丹参酮 II_A 与内皮细胞、心肌细胞中信号通路的作用需要更深入的研究,还要继续寻找可能存在的受体或靶点。在缺血性心脏病的病理过程中,细胞凋亡与自噬对疾病进展的影响是不同的,如缺血再灌注损伤中,在缺血阶段,自噬有利于细胞生存,而在再灌注阶段,自噬会加重细胞的损伤^[45]。因此,需要更多的实验来证明如何选择丹参酮 II_A 的作用时间点对缺血性再灌注损伤进行治疗。

细胞凋亡与自噬在缺血性心脏病的发生发展中有着重要的影响。丹参酮 II_A 作为具有多功能、多靶点的中药单体成分,现阶段的研究已报道其在疾

病中可以通过调节心肌细胞凋亡与自噬从而发挥对心脏的保护作用。将我国传统中医药学与现代医学相结合,深入研究缺血性心脏病中细胞凋亡与自噬的信号通路,探寻产生心血管保护作用的平衡点,并从丹参酮 II_A 出发进一步研究,为缺血性心脏病药物的开发利用提供依据。

参考文献

- [1] Yang G, Wang Y, Zeng Y, *et al.* Rapid health transition in China, 1990—2010: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2013, 381(9882): 1987-2015.
- [2] Wang W E, Li L, Xia X, *et al.* Dedifferentiation, proliferation and redifferentiation of adult mammalian cardiomyocytes after ischemic injury [J]. *Circulation*, 2017, 136(9): 834-848.
- [3] 王 俐, 覃韦苇, 蔡博丞, 等. 丹参酮 II_A 对冠心病的药理作用及其机制的研究进展 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2017(2): 143-146.
- [4] Lin Z, Pu W T. Strategies for cardiac regeneration and repair [J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(239): 239rv1.
- [5] Zodwa D, Tshidino S C, Rodney H. Abnormalities in alternative splicing of apoptotic genes and cardiovascular diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 27171-27190.
- [6] Lee Y, Gustafsson A B. Role of apoptosis in cardiovascular disease [J]. *Apoptosis*, 2009, 14(4): 536-548.
- [7] Schiattarella G G, Hill J A. Therapeutic targeting of autophagy in cardiovascular disease [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 95: 86-93.
- [8] Eisenberglerner A, Bialik S, Simon H U, *et al.* Life and death partners: Apoptosis, autophagy and the cross-talk between them [J]. *Cell Death Different*, 2009, 16(7): 966-975.
- [9] Kubota T, Mctiernan C F, Frye C S, *et al.* Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor- α [J]. *Circul Res*, 1997, 81(4): 627-635.
- [10] Bryant D, Becker L, Richardson J, *et al.* Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor- α [J]. *Circulation*, 1998, 97(14): 1375-1381.
- [11] Sayen M R, Gustafsson A B, Sussman M A, *et al.* Calcineurin transgenic mice have mitochondrial dysfunction and elevated superoxide production [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 284(2): 562-570.
- [12] Wang J, Silva J P, Gustafsson C M, *et al.* Increased *in vivo* apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA gene expression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(7): 4038-4043.
- [13] Nakai A, Yamaguchi O, Takeda T, *et al.* The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress [J]. *Nat Med*, 2007, 13(5): 619-624.

- [14] Maiuri M C, Zalckvar E, Kimchi A, *et al.* Self-eating and self-killing: Crosstalk between autophagy and apoptosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(9): 741-752.
- [15] Levine B, Sinha S, Kroemer G. Bcl-2 family members: Dual regulators of apoptosis and autophagy [J]. *Autophagy*, 2008, 4(5): 600-606.
- [16] 侯文书, 张 力. 丹参酮 II_A 对心血管系统的药理作用及剂型研究进展 [J]. *神经药理学报*, 2016, 6(4): 24-30.
- [17] 叶 勇. 丹参有效成分分离的研究进展 [J]. *药品评价*, 2005, 2(2): 146-148.
- [18] Fuchs Y, Steller H. Programmed cell death in animal development and disease [J]. *Cell*, 2011, 147(4): 742-758.
- [19] Galluzzi L, Pedro B S, Vitale I, *et al.* Essential versus accessory aspects of cell death: Recommendations of the NCCD 2015 [J]. *Cell Death Different*, 2015, 22(1): 58-73.
- [20] Hashemzaei M, Entezari H R, Rezaee R, *et al.* Regulation of autophagy by some natural products as a potential therapeutic strategy for cardiovascular disorders [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 802: 44-51.
- [21] Li X, Wang S, Chen Y, *et al.* MiR-22 targets the 3' UTR of HMGB1 and inhibits the HMGB1-associated autophagy in osteosarcoma cells during chemotherapy [J]. *Tum Biol J Int Soc Oncodev Biol Med*, 2014, 35(6): 6021-6028.
- [22] Vos K E V D, Eliasson P, Proikascezanne T, *et al.* Modulation of glutamine metabolism by the PI (3) K-PKB-FOXO network regulates autophagy [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(12): 829-837.
- [23] Maejima Y, Kyo S, Zhai P, *et al.* Mst1 inhibits autophagy by promoting the interaction between Beclin1 and Bcl-2 [J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1478-1488.
- [24] Koukourakis M I, Giatromanolaki A, Sivridis E, *et al.* Beclin 1 over-and underexpression in colorectal cancer: distinct patterns relate to prognosis and tumour hypoxia [J]. *Br J Cancer*, 2010, 103(8): 1209-1214.
- [25] Ohsumi Y. Historical landmarks of autophagy research [J]. *Cell Res*, 2014, 24(1): 9-23.
- [26] Brooks C, Dong Z. Regulation of mitochondrial morphological dynamics during apoptosis by Bcl-2 family proteins: A key in Bak? [J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(24): 3043-3047.
- [27] Høyer-Hansen M, Bastholm L, Szyniarowski P, *et al.* Control of macroautophagy by calcium, calmodulin-dependent kinase kinase-beta, and Bcl-2 [J]. *Molecular Cell*, 2007, 25(26): 193-205.
- [28] Ichimura Y, Komatsu M. Pathophysiological role of autophagy: Lesson from autophagy-deficient mouse models [J]. *Exp Anim*, 2011, 60(4): 329-345.
- [29] Rubinsztein D C, Mariño G, Kroemer G. Autophagy and aging [J]. *Cell*, 2011, 146(5): 682-695.
- [30] Furuya D, Tsuji N, Yagihashi A, *et al.* Beclin 1 augmented *cis*-diamminedichloroplatinum induced apoptosis via enhancing caspase-9 activity [J]. *Exp Cell Res*, 2005, 307(1): 26-40.
- [31] Pepine C J, Douglas P S. Rethinking stable ischemic heart disease: Is this the beginning of a new era? [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 60(11): 957-959.
- [32] 李奇恒, 苏继源, 吴宗贵. 红细胞凋亡在心血管相关疾病中的研究进展 [J]. *疑难病杂志*, 2017, 16(2): 203-206.
- [33] Uryga A, Wang J, Reinhold J, *et al.* Vascular smooth muscle cell senescence promotes atherosclerosis and features of plaque vulnerability [J]. *Circulation*, 2015, 132(20): 1909-1919.
- [34] 聂园园, 仇小强. 心肌细胞凋亡与心血管疾病关系的研究进展 [J]. *实用医学杂志*, 2012, 28(2): 324-326.
- [35] Grootaert M O, Martins P A D C, Bitsch N, *et al.* Defective autophagy in vascular smooth muscle cells accelerates senescence and promotes neointima formation and atherogenesis [J]. *Autophagy*, 2015, 11(11): 2014-2032.
- [36] Kockx M M, De Meyer G R, Muhring J, *et al.* Apoptosis and related proteins in different stages of human atherosclerotic plaques [J]. *Circulation*, 1998, 97(23): 2307-2315.
- [37] Matsumura K, Jeremy R W, Schaper J, *et al.* Progression of myocardial necrosis during reperfusion of ischemic myocardium [J]. *Circulation*, 1998, 97(8): 795-804.
- [38] Gill C, Mestrl R, Samali A. Losing heart: The role of apoptosis in heart disease-A novel therapeutic target? [J]. *Faseb J*, 2002, 16(2): 135-146.
- [39] Gottlieb R A, Burleson K O, Kloner R A, *et al.* Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes [J]. *J Clin Investig*, 1994, 94(4): 1621-1628.
- [40] Hoshino A, Mita Y, Okawa Y, *et al.* Cytosolic p53 inhibits Parkin-mediated mitophagy and promotes mitochondrial dysfunction in the mouse heart [J]. *Nat Commun*, 2013, 4(2308): 2308.
- [41] 武冬梅, 马小亚, 李 明, 等. 左旋四氢巴马汀对局灶性脑缺血再灌注大鼠凋亡蛋白 P53、HSP70 表达的影响 [J]. *中国药师*, 2010, 13(6): 786-790.
- [42] Yan L, Sadoshima J, Vatner D E, *et al.* Autophagy: A novel protective mechanism in chronic ischemia [J]. *Cell Cycle*, 2006, 5(11): 1175-1177.
- [43] Hamacherbrady A, Brady N R, Gottlieb R A. Enhancing macroautophagy protects against ischemia/reperfusion injury in cardiac myocytes [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(40): 29776-29787.
- [44] Hariharan N, Zhai P, Sadoshima J. Oxidative stress stimulates autophagic flux during ischemia/reperfusion [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(11): 2179-2190.
- [45] Vacek T P, Vacek J C, Tyagi N, *et al.* Autophagy and heart failure: A possible role for homocysteine [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2012, 62(1): 1-11.
- [46] Matsui Y, Takagi H, Qu X, *et al.* Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion roles of AMP-activated protein kinase and beclin 1 in mediating autophagy [J]. *Circulat Res*, 2007, 100(6): 914-922.

- [47] French C J, Taatjes D J, Sobel B E. Autophagy in myocardium of murine hearts subjected to ischemia followed by reperfusion [J]. *Histochem Cell Biol*, 2010, 134(5): 519-526.
- [48] Gurusamy N, Lekli I, Gorbunov N V, et al. Cardioprotection by adaptation to ischaemia augments autophagy in association with BAG-1 protein [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(2): 373-387.
- [49] McCormick J, Suleman N, Scarabelli T M, et al. STAT1 deficiency in the heart protects against myocardial infarction by enhancing autophagy [J]. *J Cell Mol Med*, 2012, 16(2): 386-393.
- [50] Sengupta A, Molkentin J D, Paik J H, et al. FoxO transcription factors promote cardiomyocyte survival upon induction of oxidative stress [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(9): 7468-7478.
- [51] Wang X, Wang Y, Jiang M, et al. Differential cardioprotective effects of salvianolic acid and tanshinone on acute myocardial infarction are mediated by unique signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135(3): 662-671.
- [52] Bi X, Zhang K, He L, et al. Synthesis and biological evaluation of tanshinone II_A derivatives as novel endothelial protective agents [J]. *Future Med Chem*, 2017, 9(10): 1073-1085.
- [53] Fu J, Huang H, Liu J, et al. Tanshinone II_A protects cardiac myocytes against oxidative stress-triggered damage and apoptosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 568(1/3): 213-221.
- [54] 郝国强, 邢壮杰, 郑新, 等. 丹参酮 II_A 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.
- [55] 曹慧敏, 宋囡, 张妮, 等. 丹参酮 II_A 通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控自噬抗内皮细胞氧化应激损伤研究 [J]. *北京中医药大学学报*, 2017, 40(11): 933-939.
- [56] 曹慧敏, 宋囡, 张妮, 等. 丹参酮 II_A 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.
- [57] 张妮, 曹慧敏, 宋囡, 等. 丹参酮 II_A 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.
- [58] 胡鹏飞, 陆明, 黄抒伟. 丹参酮 II_A 通过增强自噬抑制 AGEs 诱导内皮细胞凋亡 [J]. *中国现代医生*, 2017, 55(21): 28-32.
- [59] Zhang M Q, Tu J F, Chen H, et al. Janus kinase/signal transducer and activator of transcription inhibitors enhance the protective effect mediated by tanshinone II_A from hypoxic/ischemic injury in cardiac myocytes [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(4): 3115-3121.
- [60] Li Q, Shen L, Wang Z, et al. Tanshinone II_A protects against myocardial ischemia reperfusion injury by activating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 84: 106-114.
- [61] Pan Y, Qian J X, Lu S Q, et al. Protective effects of tanshinone II_A sodium sulfonate on ischemia-reperfusion-induced myocardial injury in rats [J]. *Iranian J Basic Med Sci*, 2017, 20(3): 308-315.
- [62] Zhang M Q, Zheng Y L, Chen H, et al. Sodium tanshinone II_A sulfonate protects rat myocardium against ischemia-reperfusion injury via activation of PI3K/Akt/FOXO3A/Bim pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34(11): 1386-1396.
- [63] Wu W Y, Wang W Y, Ma Y L, et al. Sodium tanshinone II_A silicate inhibits oxygen-glucose deprivation/recovery-induced cardiomyocyte apoptosis via suppression of the NF- κ B/TNF- α pathway [J]. *British J Pharmacol*, 2013, 169(5): 1058-1071.
- [64] Zhang Y, Wei L, Sun D, et al. Tanshinone II_A pretreatment protects myocardium against ischaemia/reperfusion injury through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway in diabetic rats [J]. *DiabObesity Metab*, 2010, 12(4): 316-322.
- [65] Yang R, Liu A, Ma X, et al. Sodium tanshinone II_A sulfonate protects cardiomyocytes against oxidative stress-mediated apoptosis through inhibiting JNK activation [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2008, 51(4): 396-401.
- [66] Jin H J, Xie X L, Ye J M, et al. Tanshinone II_A and cryptotanshinone protect against hypoxia-induced mitochondrial apoptosis in H9c2 cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e51720.
- [67] Wang D, Liu Y, Zhong G, et al. Compatibility of tanshinone II_A and astragaloside IV in attenuating hypoxia-induced cardiomyocytes injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 204: 67-76.
- [68] Zhang L, Wu Y, Li Y, et al. Tanshinone II_A improves miR-133 expression through MAPK ERK1/2 pathway in hypoxic cardiac myocytes [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2012, 30(4): 843-852.
- [69] 于佳慧, 王玲燕, 李妍妍, 等. 丹参酮 II_A 抑制过度自噬减轻心肌细胞缺氧/复氧损伤 [A] // 全国中医药博士生学术论坛论文集 [C]. 合肥: 中华中医药学会, 2016.
- [70] Norman J M, Cohen G M, Bampton E T. The *in vitro* cleavage of the hAtg proteins by cell death proteases [J]. *Autophagy*, 2010, 6(8): 1042-1056.
- [71] Cuervo A M. Autophagy and aging: Keeping that old broom working [J]. *Trends Genetics*, 2008, 24(12): 604-612.