文章编号：1001-6325(2023)05-0848-04

短篇综述

内质网应激在低氧性肺动脉高压中作用的研究进展

刘幸幸，王威威*，袁好鑫

哈尔滨医科大学附属第二医院 麻醉科，黑龙江 哈尔滨 150086

摘要：低氧性肺动脉高压(HPH)是长期低氧导致的血管持续性收缩和血管不可逆重塑的严重肺部并发症。低氧可干扰内质网腔内蛋白质折叠过程，激活内质网应激(ERS)。ERS 作为细胞应激的核心反应，与 HPH 的发生发展关系密切。

关键词：低氧性肺动脉高压；内质网应激；未折叠蛋白反应

中图分类号：R54 **文献标志码：**A

DOI：10.16352/j.issn.1001-6325.2023.05.0848

Research progress of endoplasmic reticulum stress of hypoxic pulmonary hypertension

LIU Xingxing, WANG Weiwei*, YUAN Haoxin

Department of Anesthesiology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China

Abstract: Hypoxic pulmonary hypertension (HPH) is a serious complication caused by long-term hypoxia, which is characterized by persistent vasoconstriction and irreversible vascular remodeling. The hypoxia may destroy protein folding process in endoplasmic reticulum and activate endoplasmic reticulum stress(ERS). As the core response of cell stress, ERS is closely related to the development of HPH.

Key words: hypoxic pulmonary hypertension; endoplasmic reticulum stress; unfolded protein response

肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)，是指由众多原因引起的肺动脉压力≥25 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)的一种病理状态，严重者出现右心衰竭，死亡率高。低氧性肺动脉高压(hypoxic pulmonary hypertension, HPH)是 PAH 中的第三大类，慢性低氧刺激肺动脉内皮细胞(pulmonary arterial endothelial cell, PAEC)功能障碍、肺动脉平滑肌细胞(pulmonary arterial smooth muscle cell, PASMC)异常增殖，是众多慢性低氧性疾病的不可逆并发症，预后极差。

低氧、炎性反应、氧化应激及其他干扰因素均可导致内质网内蛋白质错误折叠率升高，蛋白质负荷增加，诱发内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)，参与肺动脉压力的恶化过程。现就 HPH 的 ERS 相关研究进展作一简要综述。

1 内质网应激概述

细胞受到一些外界刺激时，内质网稳态失衡，腔内错误折叠的蛋白质聚集，为缓解上述应激状态，细胞通过激活 3 种跨膜蛋白—蛋白激酶 R 样内质网激

收稿日期：2022-04-20 **修回日期：**2022-06-29

* **通信作者(corresponding author)：**wangweiwei_1980@126.com

酶(proteinkinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、转录激活因子6(activating transcription factor6, ATF6)和肌醇依赖酶1α(inositol-requiring enzyme1α, IRE1α),来启动未折叠蛋白质反应(unfolded protein response, UPR)。增加分子伴侣的表达,降低蛋白合成速度,加速错误折叠蛋白降解。正常状态3种跨膜蛋白同葡萄糖调节蛋白(glucose regulated protein, GRP)78结合无活性,ERS时与GRP78迅速分离并聚集、磷酸化,激活下游信号。在ERS早期阶段,PERK-真核起始因子2α(eukaryotic initiation factor 2α, eIF2α)、ATF6-神经生长抑制因子(neurite outgrowth inhibitor, Nogo)和IRE1-X盒结合蛋白1(X-box binding protein 1, XBP1)这3条通路协同作用,通过降低蛋白合成、加速错误折叠蛋白降解、增加ERS分子伴侣的表达和对抗氧化应激来保护细胞。刺激持续或过强时则共同诱导转录因子CHOP的表达上调,促进细胞凋亡。

2　内质网应激在HPH发病机制中作用的研究进展

2.1　内质网应激参与HPH

低氧诱发的肺血管过度收缩和异常重塑是HPH的重要发病机制,肺血管重塑是HPH持续恶化和不可逆转的重要原因。长期低氧刺激PAEC的功能损伤和凋亡增加是肺血管重塑的起始环节,PASMC的增殖、迁移和凋亡抵抗是肺血管重塑的关键因素,其中涉及ERS的过度激活。在低氧高二氧化碳环境,ERS标志蛋白GRP78和ERS相关凋亡蛋白JNK、caspase-12和CHOP的表达都明显升高应用ERS抑制剂后,这些蛋白质的表达相应降低,应用ERS激动剂衣霉素后,凋亡蛋白的表达水平升高,GRP78的表达无明显改变[1]。ERS抑制剂4-苯基丁酸对PAH兼有预防和治疗作用[2]。外源性给予H_2S供体可降低HPH大鼠的mPAP和右心室肥厚指数,抑制低氧诱导的PASMC增殖,这与抑制ERS相关蛋白(GRP78、ATF6和P-PERK)的表达相关[3]。二十二碳六烯酸通过抑制ERS可改善野百合碱诱导的的肺血管重塑[4]。

2.2　内质网应激与PAEC

低氧可导致PAEC功能损伤和凋亡增加,是肺血管损伤的起始环节,与HPH的发生发展密切相关。PAEC功能损伤表现为血管舒缩因子异常分泌,内皮素-1(endothelin-1, ET-1)生成增加而内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)合成的NO减少。低氧是PERK通路的有效激活因子,低氧通过活化PERK进一步磷酸化eIF2α使蛋白合成减少,P-eIF2α可选择性上调ATF4的表达,有利于细胞存活。适度的ERS起到内皮细胞保护作用,刺激持续时间过重时引起内皮细胞功能损伤并触发凋亡途径。低氧刺激的PAEC的凋亡增加同样有ERS的参与。HPH大鼠肺组织内caspase-12和GRP78、GRP94表达上调,且主要位于PAEC,而PASMC凋亡不明显[5]。低氧的内皮细胞(endothelial cell,EC)中,GRP78、P-PERK/PERK、CHOP等表达上调,与对照组相比,低氧EC凋亡数量增加[6-7]。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是血管生成的重要调节剂,PERK和ATF6通路的激活对于VEGF介导的促进内皮细胞存活和血管生成作用非常重要[8]。ATF6途径上调Nogo-B蛋白,Nogo蛋白家族负责调节内质网管状结构,有3种类型(Nogo-A、Nogo-B和Nogo-C),其中Nogo-B在肺血管上特异性表达[9]。Nogo-B可调节PAEC的运动和黏附,Nogo-B通过激活eNOS可介导PAEC的血管生成反应[10]。

ERS可诱导PAEC向间质细胞转化,这可能是ERS参与PAH的机制之一[11]。在Sugen5416复合HPH大鼠模型中,高达5%的肺动脉内皮细胞表达α平滑肌肌动蛋白[12]。此时,PAEC向间质细胞转化,表现为EC增殖迁移能力增强,开始表达α平滑肌肌动蛋白和波形蛋白,炎性因子分泌增加。

2.3　内质网应激与PASMC

肺血管壁增厚主要是PASMC增殖的结果,ERS参与的PASMC增殖活跃和凋亡减少是诱发HPH恶化的重要因素。位于血管腔与血管壁之间的PAEC,其屏障功能遭到破坏时,PASMC的功能紊乱,加速HPH的血管重塑。EC分泌的过多的ET-1通过激活ERS(主要是ATF6和IRE1α途径),促进PASMC释放炎性因子,参与肺血管重塑。EC释放的转录生长因子-β1和VEGF等血管活性因子也有促PASMC增殖效应[13]。低氧刺激的PASMC中,ATF6、IRE1α和PERK途径

均被激活且能被 ERS 抑制剂抑制,通过抑制 ERS 可以改善 HPH 大鼠模型的肺动脉压力和肺血管重塑[14]。

低氧诱导 PASMC 中 Nogo-B 的表达,Nogo-B 的升高标志着 PASMC 的增殖。Nogo-B 在 PAH 患者的 PASMC 中表达,Nogo-B 敲除的小鼠对 HPH 有抵抗力[15]。ERS 抑制剂 4-苯基丁酸通过抑制 ATF6 途径来抑制低氧诱导的 PASMC 的增殖并诱导凋亡[16]。Nogo-B 受体的表达上调也参与 PASMC 增殖,与破坏线粒体相关膜,钙转运受阻,抑制线粒体相关凋亡途径等有关[17]。

低氧刺激的 PASMC 的增殖和迁移还涉及到 PERK-eIF2α 通路的激活。PERK 抑制剂可改善 Sugen5416 复合 HPH 模型的肺血管重构[18]。*eIF2α* 敲除可低氧刺激的 PASMC 增殖[19]。PERK 通路的过度激活导致细胞凋亡。PERK 通路的激活参与慢性间歇性低氧大鼠的肺组织的细胞凋亡和纤维化,GRP78、PERK 和凋亡蛋白 CHOP、caspase3、caspase12 表达增加[20]。

IRE1-XBP1s 通路同样参与低氧性肺血管重塑。IRE1 具有核糖核酸酶活性,通过剪切 XBP1 的 mRNA,形成活性 XBP1s。过表达的 XBP1s 通过激活下游 P-JNK 通路参与低氧诱导的 PASMC 的增殖、存活、迁移和凋亡抑制[21]。XBP1s 表达受限的 PASMC 表现为增殖和迁移抑制而凋亡数量增加,*Xbp1s* 敲除的大鼠表现为低右室收缩压、低肺血管管阻力、右室肥厚指数和远端肌化肺小动脉的血管壁厚度减轻[22]。

低氧诱导肺动脉平滑肌细胞表型转化,由收缩活性向增殖活性转化,其发生早于细胞增殖和迁移。低氧同时诱导 PASMC 的 ERS,GRP78 的表达在低氧刺激 12 h 即达到峰值,表型转化标志物在低氧刺激 48 h 后发生明显改变,内质网应激的发生早于表型转化[23]。ERS 激活剂衣霉素可促进 PASMC 的表型转化,表现为收缩型标志蛋白表达减少,分泌细胞外基质增加,参与肺动脉高压的形成,ERS 抑制剂 4-苯基丁酸起相反作用[24]。细胞实验证实敲低 *ATF6* 可抑制 PASMC 的表型转化,低氧诱导的 α 平滑肌肌动蛋白表达下降[25]。

3 问题与展望

HPH 是临床上众多心肺血管疾病的不可逆并发症,目前尚无有效治疗手段来逆转 PAH,针对 HPH 的发病机制及药物治疗仍有待深入研究。目前,针对 HPH 发病机制中分子机制、信号通路等逐渐成为研究热点。作为一种稳定的细胞自我保护机制,ERS 广泛参与包括 HPH 在内的众多低氧相关性疾病的发病机制,以 ERS 为靶标的治疗药物和治疗手段的研发具有广阔前景,干预 ERS 可能是治疗 HPH 的新方向。

参考文献:

[1] 张晶晶,CHEN Jun-hao,赵美平,等.内质网应激在大鼠低氧高二氧化碳性肺动脉高压中的作用[J].中国应用生理学杂志,2018,4:327-333+387.

[2] Aierken A, Li MY, Li Q, *et al*. 4-phenylbutyric acid induces protection against pulmonary arterial hypertension in rats[J]. PLoS One, 2016, 11:e0157538. doi:10.1371/journal.pone.0157538.

[3] Wu J, Pan W, Wang C, *et al*. H2S attenuates endo-plasmic reticulum stress in hypoxia-induced pulmonary artery hypertension[J]. Biosci Rep, 2019, 39:BSR20190304. doi:10.1042/BSR20190304.

[4] Chen R, Zhong W, Shao C, *et al*. Docosahexaenoic acid inhibits monocrotaline-induced pulmonary hypertension via attenuating endoplasmic reticulum stress and inflammation [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018, 314: L243-L255.

[5] 范小芳,李文娟,陈兆琴,等.慢性低氧性肺动脉高压大鼠肺组织内质网应激介导的凋亡的变化[J].中国应用生理学杂志,2011,27: 270-274.

[6] Naiel S, Tat V, Padwal M, *et al*. Protein misfolding and endoplasmic reticulum stress in chronic lung disease: will cell-specific targeting be the key to the cure[J]. Chest, 2020, 157:1207-1220.

[7] Chen A, Liu J, Zhu J, *et al*. FGF21 attenuates hypoxia induced dysfunction and apoptosis in HPAECs through alleviating endoplasmic reticulum stress[J]. Int J Mol Med,

2018, 42:1684-1694.

[8] Karali E, Bellou S, Stellas D, *et al*. VEGF signals through ATF6 and PERK to promote endothelial cell survival and angiogenesis in the absence of ER stress[J]. Mol Cell, 2014, 54:559-572.

[9] Shanahan CM, Furmanik M. Endoplasmic reticulum stress in arterial smooth muscle cells: a novel regulator of vascular disease[J]. Curr Cardiol Rev, 2017, 13:94-105.

[10] Teng RJ, Rana U, Afolayan AJ, *et al*. Nogo-B receptor modulates angiogenesis response of pulmonary artery endothelial cells through eNOS coupling[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 51:169-177.

[11] Ying R, Wang XQ, Yang Y, *et al*. Hydrogen sulfide suppresses endoplasmic reticulum stress-induced endothelial-to-mesenchymal transition through Src pathway[J]. Life Sci, 2016, 144:208-217.

[12] Good RB, Gilbane AJ, Trinder SL, *et al*. Endothelial to mesenchymal transition contributes to endothelial dysfunction in pulmonary arterial hypertension[J]. Am J Pathol, 2015,185:1850-1858.

[13] Yeager ME, Belchenko DD, Nguyen CM, *et al*. Endothelin-1, the unfolded protein response, and persistent inflammation: role of pulmonary artery smooth muscle cells [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 46:14-22.

[14] Koyama M, Furuhashi M, Ishimura S, *et al*. Reduction of endoplasmic reticulum stress by 4-phenylbutyric acid prevents the development of hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol. Heart and circulatory physiology, 2014, 306:H1314-H1323.

[15] Sutendra G, Dromparis P, Wright P, *et al*. The role of Nogo and the mitochondria-endoplasmic reticulum unit in pulmonary hypertension[J]. Sci Transl Med, 2011, 3: 55r-88r.

[16] Dromparis P, Paulin R, Stenson TH, *et al*. Attenuating endoplasmic reticulum stress as a novel therapeutic strategy in pulmonary hypertension [J]. Circulation, 2013, 127:115-125.

[17] Yang YD, Li MM, Xu G, *et al*. Nogo-B receptor directs mitochondria-associated membranes to regulate vascular smooth muscle cell proliferation[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20:2319. doi:10.3390/ijms20092319.

[18] Shimizu T, Higashijima Y, Kanki Y, *et al*. PERK inhibition attenuates vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension caused by BMPR2 mutation[J]. Sci Signal, 2021, 14:eabb 3616. doi: 10.1126/scisignal.abb3616.

[19] Wang AP, Li XH, Yang YM, *et al*. A critical role of the mTOR/eIF2α pathway in hypoxia-induced pulmonary hypertension[J]. PLoS One, 2015, 10: e0130806. doi:10.1371/journal.pone.0130806.

[20] Shi Z, Xu L, Xie H, *et al*. Attenuation of intermittent hypoxia-induced apoptosis and fibrosis in pulmonary tissues via suppression of ER stress activation[J]. BMC Pulm Med, 2020, 20:92. doi:10.1186/s12890-020-1123-0.

[21] Jiang H, Niu Y, He Y, *et al*. Proteomic analysis reveals that XBP1s promotes hypoxic pulmonary hypertension through the p-JNK MAPK pathway[J]. J Cell Physiol, 2022, 237:1948-1963.

[22] Cao X, He Y, Li X, *et al*. The IRE1α-XBP1 pathway function in hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling, is upregulated by quercetin, inhibits apoptosis and partially reverses the effect of quercetin in PASMCs[J]. Am J Transl Res, 2019, 11:641-654.

[23] Wang F, Xu X, Tang W, *et al*. Rab6A GTPase contributes to phenotypic modulation in pulmonary artery smooth muscle cells under hypoxia[J]. J Cell Biochem, 2018.10.1002/jcb.28060. doi:10.1002/jcb.28060.

[24] 李圣维,夏国际,熊墨煌,等.内质网应激促进肺动脉平滑肌细胞的表型转化[J]. 现代生物医学进展,2018,3:458-462.

[25] 唐为安,王芳,杨俊俊,等.ATF6 基因对低氧状态下肺动脉平滑肌表型转化的调控作用[J]. 中国细胞生物学学报,2018,40: 1285-1294.