

## • 文献综述 •

## 肾素—血管紧张素系统的调控研究现状

杨兵勋 综述

吕俊升 审校

(浙江医科大学附属第二医院心血管病研究室, 杭州 310009)

肾素—血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)是调节心血管功能的重要因素之一。经典认为, PAS 仅存在于循环之中。但近年的研究证实, 在心脏、血管壁、大脑等局部组织也拥有完整的 RAS。在功能上与交感神经系统以及心血管局部合成的其它血管活性物质密切配合, 共同完成对心血管功能的调整。动脉粥样硬化、高血压为临床常见病, 许多实验表明, 局部高活性状态的 RAS 是其发生发展的重要原因。因此, 了解 RAS 的调节及局部 RAS 高活性状态的发生和维持具有重要意义。

## 1 肾素的调控研究

## 1.1 肾素的一般生物学特性

肾素为分子量 37~40 kDa, pI 5.2~5.8 的糖基化蛋白质, 是血管紧张素 I (angiotensin I, AT I) 形成酶级联反应的限速酶。在人类其主要来源于肾脏球旁细胞。将人肾素基因转入小鼠体内, 发现人肾素基因也在睾丸、卵巢和脂肪等肾外组织有较高表达<sup>[1]</sup>。但血管壁处表达很低甚至不表达。表明肾素表达有其组织特异性, 血管局部的肾素可能主要来源于对循环中肾素的摄取<sup>[2]</sup>。

编码人肾素基因只有一种, 长 12.5 kb, 和大鼠一样, 在染色体组上只有一个基因位点。与人类不同, 有 Ren-1 和 Ren-2 两种基因编码小鼠肾素分子。Ren-1 主要在肾脏表达, 而 Ren-2 除肾脏外, 颌下腺也可表达。对于肾素基因结构和转录调控目前已有较深入的研究。在 Ren-1 和 Ren-2 基因 5' 端都有一个负调控元件, 但由于受 Ren-2 基因 5' 端与其相邻的长 150 bp 插入片段的影响, 负调控元件只在 Ren-1 表达中发挥作用<sup>[3]</sup>。人肾素基因结构中至少还含有能与糖皮质激素、cAMP、雌激素结合进而调节基因表达的顺式作用元件(cis-acting responsive elements)。最近研究又发现, 在肾素基因上游和顺式作用元件附近有两段序列为其转录启动所必需。而在人肾素基因中则不存在这两段序列。说明肾素基因表达存在一定种间差异<sup>[4]</sup>。

## 1.2 肾素的调控

肾素—血管紧张素系统也是一个较为完善的自动控制系统, 其效应分子 AT I 一方面作用于靶组织发挥

其生物学效应, 另一方面也对本系统当前所处功能水平进行调整。许多实验证明, AT I 抑制肾素的合成和释放。而低于生理剂量的 AT I, 不但能促进血管紧张素原 mRNA 的表达, 而且对肾素也表现出正常调节作用<sup>[5]</sup>。AT I 对肾素的双相调节作用, 无疑对生理状态下保持 RAS 自稳态具有重要意义。内皮素是体内目前已知的最强血管收缩剂, 能够刺激多种细胞增殖。AT I 能够促进内皮素的合成和分泌<sup>[6]</sup>。反之, 内皮素也可促进形成 AT I 限速酶肾素的合成和表达。有趣的是, 在肾脏却表现出相反效应<sup>[7]</sup>。内皮素这一作用是否由于不同受体介导的原故, 还不清楚。

近年, 生长因子的多样性和作用的广泛性渐受人们注目。血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、碱性纤维母细胞生长因子(basicity fibroblast growth factor, bFGF)、胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)等不仅在功能上与 AT I 密切配合, 促进血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)增殖, 而且还受 AT I 有力调节; 有研究提示, 生长因子对 RAS 也发挥调控影响。经表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)刺激的肾上腺皮质, 肾素分泌受到明显抑制。TGF- $\alpha$  与 EGF 受体也具有一定亲和力, 结果也产生抑制效应<sup>[8]</sup>。免疫与动脉粥样硬化及高血压之间的关系早为人们所认识, 白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)都可刺激肾素的释放, 并对 AT I 抑制肾素分泌起对抗作用<sup>[9]</sup>, 可见免疫因子在维持局部 RAS 高活性状态具有一定贡献。

## 2 血管紧张素原的调控研究

## 2.1 血管紧张素原的一般生物学特性

血管紧张素原为 AT I 的前体, 肝脏是其主要合成场所, 但在大脑、主动脉和肠系膜动脉等处也可表达合成。动物来源不同的血管紧张素原, 肾素水解使之转化成血管紧张素 I 的作用点有一定差异。人类的作用点是血管紧张素原分子 N 端的亮氨酸—缬氨酸肽键, 大鼠和小鼠等则是亮氨酸—亮氨酸肽键。除肾素外, 体内还有如组织蛋白酶 D、胃蛋白酶以及其它天门冬氨酸酶

类,也可促进血管紧张素原(angiotensinogen, ATg)的转化。另有一些酶类,如组织蛋白酶G、胰蛋白酶和激肽释放酶等则能直接将ATg转化成ATⅠ。

与肾素不同,无论人类还是鼠类,ATg 仅为一个基因编码,其长度13 kb,包括4个外显子(exon)和5个内含子(intron)。在其基因结构中有3个糖皮质激素反应元件、一个甲状腺激素反应元件和一个雌激素反应元件。靠近基因中间位置还有一个类病毒增强子序列。靠近转录起始点处还含有TATA框和CAT框。TATA框启动能力很弱,ATg转录启动主要由TATA框上游的顺式作用元件调控;另外,其基因结构中急性反应元件也参与ATg的转录调控。当与可受炎症介质和缺氧调节的组织特异性细胞核因子kB(nuclear factor, NFkB)或CCAAT框/增强子结合蛋白(C/EBP)结合,即可促进ATg的转录<sup>[10,11]</sup>。

## 2.2 血管紧张素原的调节

从ATg基因结构上判断,糖皮质激素和雌激素等对ATg转录可能存在调节作用。Lych等<sup>[12]</sup>分别用糖皮质激素和雌激素处理大鼠肝脏,结果发现ATg合成明显增加;切除肾脏的大鼠,肝中ATg含量显著下降。ATⅠ也是ATg表达的有效调节物。用ATⅠ刺激培养的心肌细胞和心肌成纤维细胞,引起c-fos、c-jun、Agr-1和c-myc等早期癌基因的表达。心肌细胞中ATg等的表达也得到明显加强。应用DuP753可以完全阻断ATⅠ这些效应<sup>[13]</sup>。说明ATⅠ由AT-受体介导,对ATg表达呈正反馈调节,且这一过程有可能有早期癌基因的参与。

目前,关于RAS对生长因子作用及其调节已有不少报道,但就生长因子对RAS的影响,特别是对ATg和ATⅠ受体的影响研究很少。最近李氏等<sup>[14]</sup>利用bFGF体外培养SHR和WKY大鼠VSMC,提取其DNA和RNA分别行分子杂交和反转录聚合酶链反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)分析,结果两种大鼠VSMC中ATg和AT-1表达皆有显著增高,但以SHR更为显著。高血压包括bFGF都有较高表达。据此可以认为,bFGF可能是高血压及动脉粥样硬化血管局部RAS高活性状态发生的重要原因之一。

肥胖是高血压及动脉粥样硬化的危险因子。实验发现,脂肪细胞也可合成大量的ATg<sup>[12]</sup>。Tamurn等研究报道,前脂肪细胞表达ATg mRNA水平很低,随着向脂肪细胞分化,ATg基因启动小的转录活性及ATg的转录逐渐增强。转录启动区-96至-52一段序列是启动子的必须结构。将-96至+22这段序列导入3T3-L前

脂肪细胞,结果促进其分化。DNA蛋白结合实验也发现,脂肪细胞分化可诱导该段序列特异地与NFkB结合。表明,肥胖发生发展过程中,脂肪细胞分化是导致RAS高活性状态的又一重要诱因<sup>[15]</sup>。

## 3 血管紧张素转换酶的调节研究

### 3.1 血管紧张素转换酶的一般生物学特性

血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)为一种羧基肽酶类。不同来源的ACE其免疫原性和分子量大小有所不同。ACE的特异性差,除血管紧张素Ⅰ外,尚能水解缓激肽等多种底物分子。在酶催化底物水解过程中,其活性受Cl<sup>-</sup>的影响。受影响的程度取决于它所作用的底物。转化血管紧张素Ⅰ时,Cl<sup>-</sup>是必不可少的,而当Cl<sup>-</sup>减少或甚至没有Cl<sup>-</sup>存在的条件下,仍可水解缓激肽。其原理是由于血管紧张素Ⅰ分子结构的特点,要求ACE发生与之相契合的分子空间构象的变化,而Cl<sup>-</sup>能够诱导这一变化。

编码ACE的基因,由于可以从不同的起始点进行转录或转录后以不同的方式进行剪接,可以形成两种mRNA<sup>[16]</sup>;基因序列分析证实,人和鼠等ACE基因5'端上游有80%的同源性。其中都含有SP-1结合位点。在兔的该段序列中还含有AP-2和转录因子ⅠD的结合位点。而人及鼠类是否也有这两个特殊位点还不清楚。在距5'端较远的一段区域,有糖皮质激素和cAMP两相邻的反应元件。又有研究发现,睾丸ACE基因序列中存在与其它已知的RNA聚合酶Ⅱ不同的启动子。说明睾丸ACE转录可能通过一种特殊的方式进行。

### 3.2 血管紧张素转换酶的调控

许多血管活性物质参与ACE的表达调节。用内皮素培养牛肺主动脉内皮细胞,结果血管紧张素Ⅰ转化率明显增高。而ANP则呈现相反效应<sup>[17,18]</sup>;CGRP也可抑制ACE活性,减少ATⅠ的合成释放<sup>[19]</sup>;给SD大鼠静脉滴注ATⅠ,引起肺和睾丸处ACE mRNA表达量降低,肺组织中ACE活性与之呈平行性变化。Quinapril可逆转ATⅠ的这种作用<sup>[20]</sup>。说明ATⅠ对ACE呈负调控;bFGF可以促进SHR和WKY两种大鼠VSMC中ACE分泌。有意思的是,WKY大鼠VSMC对bFGF反应似乎更敏感<sup>[14]</sup>。考虑自然状态下SHR大鼠血管平滑肌处有较高的bFGF;因此上述现象可能是由于过多的bFGF受体被占领后,可供结合的受体数目减少所致。

另外,机械因素(如损伤、压力负荷等)和衰老也可触发ACE mRNA表达,但确切机制还不甚明瞭<sup>[21]</sup>。

## 4 血管紧张素受体的调控研究

### 4.1 血管紧张素受体的一般生物学特性

血管紧张素受体有 AT-1 和 AT-2 两大类。有研究证实, AT-1 是一种能与 G 蛋白正性偶联的膜蛋白, 分子内部有 7 个跨膜区, 4 个胞外环。每个环上都含有一个半胱氨酸残基, 其功能有利于配基的结合, 增强受体对配基的敏感性<sup>[22, 23]</sup>。比较从大鼠血管和肾上腺克隆的 AT-1 cDNA, 结果发现二者结构不尽相同。二者编码的蛋白序列有 94% 的同源性。有趣的是, 非同源序列主要集中在受体分子 C 端<sup>[24]</sup>。据此人们将两种来源的 AT-1 分为 AT-1 $\alpha$  和 AT-1 $\beta$  两种亚型<sup>[25]</sup>。

大鼠的 AT-1 受体至少含有 3 个外显子和 2 个内含子。其中两个外显子联合编码 5' 端非翻译序列, 而另一个外显子则编码包括整个编码区、一小段 5' 端非翻译区和大部分 3' 端非翻译区。因此, 分离这一外显子及上游相关序列将为 AT-1 受体转录调控研究提供有用工具<sup>[26, 27]</sup>。

与大鼠相似, 编码人 AT-1 $\alpha$  的开放阅读框全部位于一个外显子序列中, 编码含有 359 个氨基酸残基的 AT-1 $\alpha$  受体蛋白与牛和大鼠的 AT-1 $\alpha$  有 95% 的同源性。值得指出的是, 在 AT-1, 3' 端非翻译区有两个多聚腺苷信号序列和 6 个能影响 mRNA 稳定性的 AUU-UA 序列。提示, 转录后调控将是人 AT-1 mRNA 表达的调节方式之一<sup>[28]</sup>。

#### 4.2 血管紧张素受体的调控

关于血管紧张素受体调控的研究近几年才刚起步。但已积累了不少有价值的资料。有实验用 AT I 刺激培养的大鼠 VSMC, AT-1 mRNA 首先出现短暂的高表达, 1 小时后表达水平逐渐下降, 4~8 小时下降到 28%。接受 Forskolin 刺激, AT-1 mRNA 表达水平也呈大幅度下降。AT I 作用于肾系膜细胞, AT-1 mRNA 表达与上述变化一致, DUP753 可逆转这种变化<sup>[29]</sup>; 但也有研究发现, AT I 对肾上腺 AT-1 mRNA 表达有促进作用, 而在动脉及肾脏则未观察到这种现象<sup>[30]</sup>。

对受体分子序列分析证实, 在 AT-1 C 端序列存在可被蛋白激酶 C 磷酸化的 3 个位点。激活蛋白激酶 C 使受体磷酸化, 可能对受体调节发挥作用, 但尚无直接证据。

应用放射配基自显影技术研究发现, SHR 大鼠 VSMC 上 AT-1 受体数目较 WKY 大鼠高近 2 倍, 而受体对配基的亲合力无甚差别; 应用 RT-PCR 分析 AT-1 mRNA 表达情况, 结果 AT-1 mRNA 在 SHR 大鼠 VSMC 的表达显著高于 WKY 大鼠; bFGF 能够刺激 SHR 和 WKY 两种大鼠 VSMC 中的 AT-1 mRNA 表达, 用限制性内切酶 EcoR I 酶解分析 AT-1 mRNA 表达的相对强度, 结果发现表达 AT-1 $\alpha$  mRNA 水平下

降, 说明血管活性物质调控 AT-1 受体有其组织特异性。

综上所述, RAS 功能状态不仅受自身反馈调节, 而且在体内复杂环境中, 也受来自内分泌、自分泌/旁分泌的激素及血管活性物质的影响。但至目前还有许多血管活性物质和生长因子等对 RAS 调节仍有待阐明。另外, AT-1 和 AT-2 的研究还存在很多不足, 诸如结构特点, 生物学功能及调控方式等, 也需深入研究。

#### 参考文献

- 1 Sigmund CD, Jones CA, Kane CM, et al. Regulated tissue and cell specific expression of the human renin gene in transgenic mice. *Circ Res*, 1992, **90**: 1 070~79.
- 2 Vicaut E, Hou X. Local renin-angiotensin system in the microcirculation of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 1994, **24**: 70~76.
- 3 Barret G, Horiuchi M, Paul M, et al. Identification of a negative regulatory element involved in tissue-specific expression of mouse renin genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**: 885~889.
- 4 Tamura K, Tanimoto K, Murakami K, et al. A combination of upstream and proximal elements is required for efficient expression of the mouse renin promoter in cultured cells. *Nucleic Acid Res*, 1992, **14**: 3 617~23.
- 5 Eggena P, Zhu JH, Clegg K, et al. Nuclear angiotensin receptors induce transcription of renin and angiotensinogen mRNA. *Hypertension*, 1993, **22**: 496~501.
- 6 Ito H, Hirata Y, Adachi S, et al. Eothelin is an autocrine/paracrine factor in the mechanism of angiotensin I induced hypertrophy in cultured rat cardiomyocytes. *J Clin Invest*, 1993, **92**: 398~403.
- 7 Chao H, Poisner A, Handwerger S. Endothelins stimulate the synthesis and release of prorenin from human decidual cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993, **76**: 616~619.
- 8 Antonipillai I. Epidermal growth factor is a potent inhibitor of renin secretion. *Hypertension*, 1993, **21**: 654~659.
- 9 Antonipillai I, Horton R. Tumor necrosis factor and interleukin-1 may regulate renin secretion. *Endocrinol*, 1990, **126**: 273~278.
- 10 Zhao YY, Wei GU, Siddiqui MAQ, et al. Identification of cis-acting DNA elements involved in the regulation of angiotensinogen gene expression. *Cell Mol Biol*, 1992, **38**: 71~80.
- 11 Ron D, Brasier AR, Habener JF. ATiotensinogen gene-inducible enhancer binding protein I, a member of a new family of large nuclear proteins that recognize nuclear factor kB-binding sites through a zinc finger motif. *Mol Cell Biol*,

- 1991, **11**: 2 387~95.
- 12 Lynch KR, Peach MJ. Molecular biology of angiotensinogen. *Hypertension*, 1991, **17**: 263~269.
- 13 Sadoshima JI, Izumo S. Molecular characterization of angiotensin I induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts, critical role of the AT-1 receptor subtype. *Circ Res*, 1992, **73**: 413~423.
- 14 李国红, 吕俊升, 丁金凤. bFGF对高血压大鼠血管平滑肌细胞中肾素血管紧张素系统的调节作用. (待发表)
- 15 Tamura K, Umemura S, Iwanoto T, et al. Molecular mechanism of adipogenic activation of the angiotensinogen gene. *Hypertension*, 1994, **23**: 364~368.
- 16 Kumar RS, Thekkumkara TJ, Sen GC. The mRNAs encoding the two angiotensin-converting isoenzymes are transcribed from the same gene by a tissue-specific choice of alternative transcription initiation sites. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 3 854~62.
- 17 Kawaguchi H, Sawa H, Yasuda H. Effect of atrial natriuretic factor on angiotensin converting enzyme. *J Mol Cell Cardiol*, 1989, **21**: 959~961.
- 18 Kawaguchi H, Sawa H, Yasuda H. Endothelin stimulates angiotensin I to angiotensin I conversion in cultured pulmonary artery endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol*, 1990, **22**: 339~342.
- 19 吴祥声. 降钙素基因相关肽. 国外医学生化与检验分册, 1994, **15**(5): 200~202.
- 20 Schunker H, Ingelfinger JR, Hirsch AT, et al. Feedback regulation of ACE activity and mRNA levels by angiotensin I. *Circ Res*, 1993, **72**: 312~313.
- 21 Hymes C, Swynghedauw B, Chevalier B. Activation of angiotensinogen and angiotensin converting enzyme gene expression in the left ventricle of senescent rats. *Circulation*, 1994, **90**: 1 326~33.
- 22 Murphy TI, Alexander RW, Griedler KK, et al. Isolation of a cDNA encoding the vascular type-1 angiotensin I receptor. *Nature*, 1991, **351**: 233~236.
- 23 Sasaki K, Yamano Y, Bardhan S, et al. Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin I type 1 receptor. *Nature*, 1991, **351**: 230~232.
- 24 Sasamura H, Hein L, Krieger JE, et al. Cloning characterization and expression of two angiotensin receptor (AT-1) isoforms from the mouse genome. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, **135**: 253~259.
- 25 Iwai N, Inagami T. Identification of two subtypes in the rat type-1 angiotensin I receptor. *FEBS Lett*, 1992, **298**: 257~260.
- 26 Takeuchi K, Alexander RW, Nakamura Y, et al. Molecular structure and transcriptional function of the rat vascular AT-1a angiotensin receptor gene. *Circ Res*, 1993, **73**: 612~621.
- 27 Lnagford K, Frenzel K, Martin BM, et al. The genomic organization of the rat AT-1 angiotensin receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, **183**: 1 025~32.
- 28 Furuta H, Guo DF, Inagami T. Molecular cloning and sequencing of the gene encoding human type-1 angiotensin I receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, **133**: 8~13.
- 29 Lassague B, Griendling KK, Murphy TJ, et al. Regulation of angiotensin I receptor expression in vascular smooth muscle cells. *FASEB J*, 1992, **6**: A 1 859.
- 30 Iwai N, Inagami T. Regulation of the rat angiotensin I receptor mRNA. *Biochem Biophys Res Commun*, 1992, **182**: 1 094~99.

(本文 1995-10-23 收到)