

一种新的内源性血管活性物质——胍丁胺

隆 敏 综 述, 覃 军 审 校

(第三军医大学附属新桥医院全军心血管病中心, 重庆市 400037)

[关键词] 病理学与病理生理学; 血管活性物质; 综述; 胍丁胺; 平滑肌细胞增殖

[摘 要] 胍丁胺是精氨酸的代谢物之一, 近些年来发现胍丁胺具有抑制血管平滑肌细胞增殖、舒张血管以及抗炎等作用, 提示胍丁胺作为一种内源性血管活性物质, 可能参与以内皮功能障碍和平滑肌细胞增殖为特征的动脉粥样硬化发病机制并具有重要作用, 可用于治疗相关疾病。本文就当前有关胍丁胺在血管生物学方面的研究进展做一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

胍丁胺 (agmatine, AGM) 是精氨酸经细胞线粒体膜上的精氨酸脱羧酶 (arginine decarboxylase, ADC) 作用转化而来的。自 1995 年用高效液相色谱法和荧光测定法检测到胍丁胺在大鼠主动脉和血清中有相对高浓度聚集以来, 胍丁胺的生成代谢及其生物学作用逐渐引起人们的关注。随后, 胍丁胺和精氨酸脱羧酶在人类多种组织广泛分布和表达又得到了证实^[1]。胍丁胺是一种多胺, 其结构与其它多胺相似, 但其生物学功能复杂得多。本文就当前有关胍丁胺在血管生物学方面的研究进展做一综述。

1 胍丁胺对血管壁的直接生物学作用

1.1 通过诱导抗酶和非抗酶机制抑制细胞增殖

在脊椎动物体内参与胍丁胺代谢的酶目前只发现有鲱精胺酶^[2]。胍丁胺在鲱精胺酶的作用下可生成其它多胺, 包括肉毒碱 (carnitine)、尸胺 (cadaverine)、精脒 (spermidine) 和肌胺 (musculamine)。各类多胺广泛分布于多种有机体, 近二十年来的研究表明多胺参与大量生物过程, 是细胞增殖所必需的原料, 在调节各类细胞的生长和分化中发挥重要作用。

胍丁胺通过诱导永生细胞和变异细胞内鸟氨酸脱羧酶的抗酶蛋白翻译和抑制多胺转运体实现对细胞内多胺的调节作用^[3]。抗酶是唯一可以结合多胺生物合成的第一个限速酶——鸟氨酸脱羧酶 (ornithine decarboxylase, ODC) 并抑制其活性、加速其降解的内源性蛋白, 抗酶与 ODC 结合后通过影响细胞内环境和降低细胞内多胺水平从而抑制细胞生长^[4]。研究表明, 胍丁胺可诱导抗酶, 进而调节细胞内多胺摄取和抑制多胺合成, 它能有效抑制永生细胞株和变异细胞株增殖, 胍丁胺摄取的多少与其抗增殖作用灵敏度成正比^[5]。Satriano 等^[3]实验发现胍丁胺诱导抗酶的依据为:

胍丁胺诱导翻译抗酶 mRNA 移码生成全长抗酶蛋白质; ④在加入胍丁胺后, 细胞内多胺耗竭从而抑制细胞增殖, 补充多胺后, 胍丁胺抑制细胞增殖作用可恢复; ④抗抗酶免疫球蛋白 G 和抗酶抑制剂均能抑制胍丁胺对 ODC 活性和细胞增殖的抑制作用, 然而, 胍丁胺诱导抗酶的调节作用并未在所有细胞类型中得到证实。肝细胞中胍丁胺诱导精脒/肌胺乙酰基转移酶并抑制 ODC 活性和多胺转运, 此作用过程并未发现有抗酶参与^[6]。晚近, Babal 等^[7]运用同位素标记测定原代培养的 SD 大鼠肺动脉内皮细胞胍丁胺与多胺摄取途径的交互作用, 发现多胺和胍丁胺可能在多胺转运体水平上存在相互影响。随后又在同一类型的细胞上, 运用蛋白质印迹法测定胍丁胺处理后抗酶含量变化、同位素¹⁴C-多胺测定评估 ODC 活性和¹⁴C-多胺测定多胺吸收率, 检测出胍丁胺抑制抗酶的增加与 ODC 活性的降低存在时间差异, 证明抗酶未参与该作用^[8]。该实验结论与 Satriano 等^[3]结论相背。

这两项研究结论分歧的原因可能是: 实验所选取的细胞不同, 如 Satriano 等研究的是变异和转染的细胞株, 而 Babal 等采用了原代正常内皮细胞; ④在检测多胺摄取时前者仅用³H-肉毒碱, 而后者用了肉毒碱、精脒、肌胺三种多胺并发现胍丁胺对不同多胺的吸收抑制也存在差异; ④研究胍丁胺的多种生物学作用时, 前者虽然采用不同类型的细胞但缺乏对某一类型细胞的系统研究, 后者虽然只用了一种细胞但又缺乏对人类细胞的研究设计。此外在对实验结果进行分析时后者过多的强调时间差异, 抗酶通过 ODC 抑制细胞增殖的过程很可能有其它因素的参与, 因而不能过早否定抗酶的作用。新近对在体建立增殖鼠肾模型进行胍丁胺抗增殖作用的研究发现, 胍丁胺抑制抗尿酸损伤鼠肾模型的上皮细胞增殖, 但抗酶是否参与该抗增殖作用并未得到证实^[9]。

1.2 通过抑制一氧化氮合酶活性调节血管舒缩和抗炎作用

现今认为胍丁胺可能是一氧化氮 (nitric oxide, NO) 合成的内源性调节物之一, 它可以通过底物竞争性的方式抑制一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS)、减少病理状态下 NO 生成从而实现其对血管的血管舒缩和抗炎作用。一氧化氮合酶可分为 3 种类型, 类型 ③即可诱导型一氧化氮合酶 (inducible NOS, iNOS), 在静止细胞中不表达但可被内毒素、致炎

[收稿日期] 2004-10-08 [修回日期] 2005-06-30

[作者简介] 隆 敏, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制, 联系电话为 023-65230772, E-mail 为 longmin_casper@tom.com。覃 军, 博士, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制, 联系电话为 023-68774931, E-mail 为 qinjunqj@tom.com。

细胞因子等所诱导产生。相比于类型 iv 和类型 ④ 一氧化氮合酶类型 ⑤ 可产生持久的更高水平的 NO 并与病理状态有关。由一氧化氮合酶类型 ④ 产生的低水平 NO 有调节血管张力等多种生理活性。在离体动物实验中胍丁胺可明显抑制 iNOS 的活性,对一氧化氮合酶类型 ④ 无显著影响。实验表明脂多糖一方面呈剂量依赖的促进 RAW264.7 巨噬细胞中鲚精氨酸酶的作用;降低精氨酸脱羧酶活性;减少细胞内胍丁胺的浓度,另一方面又可剂量依赖地刺激 iNOS 的活性。推断胍丁胺可抑制脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞内 iNOS 活性,从而降低 NO 所造成的损害^[10]。胍丁胺是一氧化氮合酶的竞争性抑制剂,但非 NO 的前体,与胍丁胺结构上相似的多胺并不能抑制一氧化氮合酶的活性。新近研究进一步表明,咪唑克生和胍丁胺均可以有效抑制星形胶质细胞和巨噬细胞一氧化氮合酶类型 ⑤ 表达和活性,但胍丁胺抑制脂多糖诱导 RAW264.7 巨噬细胞内一氧化氮合酶类型 ⑤ 活性较咪唑克生强。咪唑克生可与咪唑啉受体特异性结合,而 RAW 264.7 巨噬细胞膜缺乏与³H-咪唑克生特异性结合,因此认为该细胞膜咪唑啉受体表达丰度不高。胍丁胺抑制 RAW264.7 巨噬细胞一氧化氮合酶类型 ⑤ 活性较咪唑克生强,由此推断胍丁胺抑制脂多糖诱导的 NO 生成和抗炎作用主要不是通过咪唑啉受体,而是直接抑制细胞信号传导的酶^[11]。

2 胍丁胺通过咪唑啉受体介导对血管壁的生物学作用

胍丁胺是咪唑啉受体的一种内源性配体。目前将咪唑啉结合位点(imidazoline bindings sites, IBS)分为 I₁ 及 I₂ 两大类,这两种类型的结合位点均分布于多种动物的血管平滑肌,IBS I₂ 可能参与血管平滑肌的增殖。近年来的研究还证实中枢抗高血压药的降压作用不是通过刺激 α_2 肾上腺素受体而是作用于咪唑啉受体。有人据此推测胍丁胺可能通过外周受体调节机制发挥其对血管壁的生物学作用。

2.1 咪唑啉受体介导的抗增殖作用

1996 年 Regunathan 等发现培养的大白鼠主动脉平滑肌细胞和牛肺动脉内皮细胞膜可结合³H 标记的咪唑克生。胍丁胺竞争性抑制³H-咪唑克生的结合(Ki 240 ± 25 nmol/L),通过激活咪唑啉受体减少单胺类神经递质的释放^[12]。免疫染色证实平滑肌细胞和内皮细胞表达咪唑啉受体结合蛋白。高效液相色谱法检测到鼠动脉内含有一定量胍丁胺(8.69 ± 1.1 ng/g),鼠动脉和培养内皮细胞表达 ADC,但平滑肌细胞不表达该酶。经³H-胸腺嘧啶脱氧核苷掺入实验及计数平滑肌细胞的数目证实小牛血清引起的细胞增殖有 90% 以上可以被咪唑克生等所抑制。抑制效果咪唑克生 > UK14304 > 萘甲唑林 > 西拉唑啉 > 胍丁胺,该抑制效果与药物和³H-咪唑克生结合位点的亲和力有很大关系。由此认为平滑肌细胞和内皮细胞表达咪唑啉受体 I₂ 亚型。刺激该受体可抑制平滑肌细胞增殖。由内皮细胞 ADC 合成的胍丁胺可能作为一种咪唑啉受体 I₂ 的内源性激动剂抑制血管生长,咪唑啉受体 I₂ 具有功能上的内源性的血管活性。继之,又发现培养

的人类冠状动脉平滑肌细胞表达咪唑啉受体并呈剂量依赖的抑制血清刺激细胞增殖的作用。胍丁胺通过结合咪唑啉受体抑制去甲肾上腺素、血管紧张素 ③、血小板源性生长因子对人类和大鼠主动脉平滑肌细胞的增殖,表明人类血管平滑肌细胞的咪唑啉受体激活可通过细胞内信号传导 G 蛋白共同通路和受体酪氨酸激酶促有丝分裂途径的相互作用而抑制增殖。由血管内皮细胞合成的胍丁胺可通过旁分泌的形式作用于咪唑啉受体调节血管平滑肌细胞增殖^[13]。现已证实胍丁胺具有通过受体介导对培养细胞的抗增殖作用,但内源性胍丁胺是否参与在体正常或病理条件下的抗平滑肌细胞增殖有待于进一步研究。胍丁胺抗增殖作用很可能对治疗血管增殖疾病将起到一定的积极作用。

2.2 结合咪唑啉受体调节血管舒缩

静脉给予胍丁胺可呈剂量依赖性降低麻醉大鼠血压,预先静注咪唑啉受体和 α_2 受体阻断剂咪唑克生(idazoxan)明显抑制胍丁胺的降压效应。Sun 等报道由于胍丁胺不能通过血脑屏障,其降压药作用可能与节后交感神经抑制有关,也可能与血管内皮一氧化氮释放有关,提示外周咪唑啉受体可能参与胍丁胺的血管舒缩调节作用。Morrissey 等^[14]研究发现胍丁胺刺激体外培养的牛肺动脉内皮细胞使其亚硝酸盐比基础亚硝酸盐含量增加三倍,而这种作用可以被咪唑克生但非 α_2 -AR 拮抗剂育享宾(Yohimbine)所抑制。胍丁胺可替代³H-咪唑克生与内皮细胞膜结合并诱导细胞内钙离子的短暂增加。重复给予胍丁胺该作用下调,但用去甲肾上腺素预先处理不影响该结果。提示胍丁胺结合内皮细胞表面咪唑啉受体使胞浆钙离子增加刺激一氧化氮生成。故认为胍丁胺可以通过直接与内皮细胞表面咪唑啉受体结合,增加一氧化氮合成引起血管舒张。但新近年国人采用离体血管环灌注技术发现在 10⁻⁶mol/L 苯肾上腺素(phenephrine, PE)引起血管预收缩的基础上,胍丁胺剂量依赖性地舒张大鼠胸主动脉。该舒张反应在去除血管内皮和应用 NOS 抑制剂 N-硝基-L-精氨酸甲酯(NG-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME)后依然存在,预先应用 α_2 肾上腺素能受体和咪唑啉受体阻断剂咪唑克生完全阻断胍丁胺的舒张作用,应用育享宾可部分阻断该反应。提示胍丁胺所引起的浓度依赖性血管舒张作用非内皮依赖性并与 NO 无关,胍丁胺对鼠主动脉的舒张作用可能通过 α_2 肾上腺素能受体和咪唑啉受体^[15]。血管内皮细胞是否参与胍丁胺的血管舒张作用还有待于进一步。晚近该小组又向在体恒流灌注环路中直接加入胍丁胺观察其对不同组织动脉张力的调节作用,发现胍丁胺对不同部位的血管床张力的调节不一,且参与作用的主要受体也不一致。对胍丁胺调节血管舒缩的生物学功的研究还需深入,并可能对血管内皮功能障碍性疾病发生机制理论的完善和防治提供有益线索。

3 结束语

胍丁胺作为一种新的内源性血管物质越来越受到重视并展示出良好的研究及应用前景。(下转第 658 页)

(上接第 654 页)

但其对血管壁调节作用机制尚需进一步研究,如胍丁胺如何协调其抑制血管增殖和调节血管舒缩功能;胍丁胺与受体结合后下游信号怎样进行传导和实现;胍丁胺中枢血压调节与外周血压调节的内在关系如何;外源性胍丁胺分布于血液时是否可以像内皮细胞释放的内源性胍丁胺一样影响血管平滑肌细胞增殖,抑或有其他机制参与。对胍丁胺血管生物学作用的进一步研究将会为有利于阐明动脉粥样硬化的发病机制,并对指导其运用于动脉粥样硬化治疗有一定的积极作用。

[参考文献]

- [1] Zhu MY, Iyo A, Piletz JE, Regunathan S. Expression of human arginine decarboxylase, the biosynthetic enzyme for agmatine. *Biochim Biophys Acta*, 2004, **1 670** (2): 156-164
- [2] Morris SM Jr. Vertebrate agmatinases: what role do they play in gmatine catabolism? *Ann N Y Acad Sci*, 2003, **1 009**: 30-33
- [3] Satriano J, Matsufuji S, Murakami Y, Lortie MJ, Schwartz D, Kelly CJ, et al. Agmatine suppresses proliferation by frameshift induction of antizyme and attenuation of cellular polyamine levels. *J Biol Chem*, 1998, **273** (25): 15 313-316
- [4] Patocka J, Kuehn GD. Natural polyamines and their biological consequence in mammals. *Acta Medica*, 2000, **43** (4): 119-124
- [5] Satriano J, Kelly CJ, Blantz RC. An emerging role for agmatine. *Kidney Int*, 1999, **56** (4): 1 252-253
- [6] Vargiu C, Cabella C, Belliardo S, Cravanzola C, Grillo MA, Colombatto S.

Agmatine modulates polyamine content in hepatocytes by inducing spermidine / spermine acetyltransferase. *Eur J Biochem*, 1999, **259** (3): 933-938

- [7] Babal P, Ruchko M, Olson JW, Gillespie MN. Interactions between agmatine and polyamine uptake pathways in rat pulmonary artery endothelial cells. *Gen Pharmacol*, 2000, **34** (4): 255-261
- [8] Babal P, Ruchko M, Campbell CC, Gilmour SP, Mitchell JL, Olson JW, et al. Regulation of ornithine decarboxylase activity and polyamine transport by agmatine in rat pulmonary artery endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, **296** (2): 372-377
- [9] Dudkowska M, Lai J, Gardini G, Stachurska A, Grzelakowski-Szabert B, Colombatto S, et al. Agmatine modulates the in vivo biosynthesis and interconversion of polyamines and cell proliferation. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1 619** (2): 159-166
- [10] Sastre M, Galea E, Feinstein D, Reis DJ, Regunathan S. Metabolism of agmatine in macrophages: modulation by lipopolysaccharide and inhibitory cytokines. *Biochem J*, 1998, **330** (3): 1 405-409
- [11] Regunathan S, Feinstein DL, Reis DJ. Anti-proliferative and anti-inflammatory actions of imidazoline agents. Are imidazoline receptors involved? *Ann N Y Acad Sci*, 1999, **881**: 410-419
- [12] 李锦, 李昕, 裴钢, 秦伯益. 胍丁胺抑制中枢不同脑区单胺类神经递质释放. *解放军药理学学报*, 1999, **15** (1): 2-6
- [13] Regunathan S, Reis DJ. Stimulation of imidazoline receptors inhibits proliferation of human coronary artery vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 1997, **30** (2 Pt 1): 295-300
- [14] Morrissey JJ, Klahr S. Agmatine activation of nitric oxide synthase in endothelial cells. *Proc Assoc Am Physicians*, 1997, **109** (1): 51-57
- [15] Li Q, He RR. Action of agmatine on tension of isolated aortic artery and its receptor mechanism in rats. *Sheng Li Xue Bao*, 2001, **53** (2): 133-136

(此文编辑 朱雯霞)