

# 高血糖加速动脉粥样硬化的分子生物学机制

李震花<sup>1</sup>, 张涛<sup>2</sup>, 葛志明<sup>1</sup>

(山东大学 1. 齐鲁医院心内科, 2. 临床医学院, 山东省济南市 250012)

[关键词] 内科学; 高血糖; 动脉粥样硬化; 糖基化终末产物; 氧化应激; 蛋白激酶 C

[摘要] 糖尿病病人长期处于高血糖状态使血管组织在分子水平发生了大量转变: 1. 糖基化终末产物产生增多; 对蛋白质和脂类进行非酶性的糖基化, 扰乱其正常功能; 与相关细胞上的受体相互作用, 导致氧化应激和促炎反应。2. 氧化应激增强。3. 蛋白激酶 C 激活。这些机制间存在相互作用, 共同促进了动脉粥样硬化的发展。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

糖尿病(1型和2型)是冠心病、卒中和周围动脉疾病独立而强大的危险因素, 80%的糖尿病病人死于动脉粥样硬化(atherosclerosis, As), 糖尿病作为冠心病的等危症已经过临床大规模研究的证实<sup>[1,2]</sup>。本文将对高血糖导致As加速的具体机制进行综述。

## 1 糖基化终末产物

机体内暂时的血糖升高主要影响细胞水平代谢, 而持续的高血糖则会在分子水平产生影响。高血糖产生的影响是不可逆的, 糖尿病病人进行了胰腺移植后, 5年之内肾脏的病理改变仍会继续<sup>[3]</sup>。提示在糖尿病并发症的发生中, 持续的代谢改变更为重要。

糖与血管壁的蛋白质氨基酸残基发生反应形成早期的可逆性的糖基化产物 Schiff 碱基, 后者再重排形成更稳定的 Amadori 糖基化产物, 部分糖基化产物与一些老化的蛋白质继续反应直至产生稳定而不可逆的糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGE), 其主要结构是羧酸甲赖氨酸蛋白加合物。AGE能够在血管壁老化的蛋白质上持续的沉积, 糖尿病病人的这种现象是加速的<sup>[4]</sup>。

血糖浓度和持续时间决定了非酶糖基化的程度。另一个决定因素是组织微观环境的氧化还原潜力。氧化应激增强时, AGE的形成增加<sup>[5]</sup>。

AGE通过不同的机制加速动脉硬化的形成过程, 可以分为受体依赖型和非受体介导型。AGE形成抑制剂 ALT-711能明显减缓As进展<sup>[6]</sup>。

### 1.1 非受体介导型机制

对蛋白质和脂质的糖基化能破坏其分子结构、改变酶的活性、减少酶的降解、干扰其与受体识别, 从而破坏其功能。而蛋白质正常生理的改变与动脉粥样硬化的发生有关。目

前研究最多的是关于糖基化对低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)颗粒的正常生理功能的破坏。高糖状态下载脂蛋白 B 和 LDL 的磷脂成分都受到糖基化, 导致 LDL 清除障碍并对易被氧化修饰<sup>[7,8]</sup>

临床研究已证实糖尿病病人的 LDL 表面 AGE 水平较正常人升高, 与血糖浓度成正相关。对 LDL 载脂蛋白 B 的糖基化发生在主要由赖氨酸残基构成的 LDL 受体连接区域, 这个区域能够介导 LDL 与 LDL 受体的特异性识别。载脂蛋白 B 的糖基化导致 LDL 受体介导的 LDL 清除明显减弱。在人工培养的能够产生 LDL 受体的成纤维细胞, 糖基化的 LDL 降解较正常的 LDL 明显减弱。

人类单核巨噬细胞对糖基化的 LDL 较天然的 LDL 的识别能力明显增强。这些细胞对糖基化 LDL 的摄取是通过一种高活性, 低亲和力的非特异性受体(清除受体)介导, 形成泡沫细胞, 这种清除受体介导的途径被认为能增加胆固醇微粒在细胞内的沉积, 加速动脉粥样硬化。

糖基化的另一个影响是能够增加 LDL 对氧化修饰的易感性。糖基化的过程通常伴随着氧化反应的发生, 能够氧化 LDL 中包含氨基酸的磷脂成分, 而不依赖金属离子的转运和外源性的自由基产生系统, 能够被 AGE 形成阻断剂氨基胍阻断。巨噬细胞在形成初期具有抗氧化能力<sup>[9]</sup>, 但随着糖基化水平逐渐增高, 其抗氧化能力逐渐减弱, 最终摄取氧化的 LDL 形成泡沫细胞。因此, 糖基化增加了 LDL 对氧化修饰的易感性, 这在动脉粥样硬化的过程中是非常关键的因素, 实验证明减少糖尿病病人饮食中 AGE 的摄入量能明显减少 LDL 的血管毒性<sup>[10]</sup>。

补体调节蛋白 CD59 在正常情况下能够限制膜攻击复合物形成和在血管壁的沉积, 后者可促进巨噬细胞的迁移和炎症因子的释放, 刺激成纤维细胞和平滑肌细胞的增殖<sup>[11]</sup>。对 CD59 的糖基化能够导致其失活并能够增加糖尿病病人内皮对 MAC 产生的生长因子和细胞因子的敏感性<sup>[12]</sup>。

对基质成分如胶原蛋白 VI、层粘连蛋白、玻连蛋白的糖基化使已酰肝素阴离子的连接降低, 导致已酰肝素消耗增加。Iris J Edwards 证实与糖尿病相关的高血糖可以通过影响猴的动脉壁细胞已酰肝素蛋白聚糖的合成或代谢来促进动

[收稿日期] 2005-05-31 [修回日期] 2006-06-29

[作者简介] 李震花, 博士研究生, 主要从事糖尿病心脏病的基础研究, E-mail 为 lizhenhua675@126.com。葛志明, 博士, 博士研究生导师, 主要从事心血管疾病的临床与基础研究, 联系电话 0531-86751975 或 13583140760。

动脉硬化<sup>[13]</sup>。乙酰肝素的缺失能够通过改变基质结合型蛋白聚糖和细胞之间生长调节因子的分配,刺激其他基质成分代偿性的过量产生。在基质内的 AGE 还能够改变横跨膜的整联蛋白受体与三种基质配体正常的相互作用。

### 1.2 受体介导机制

糖基化终末产物(AGE)与细胞的相互作用是通过细胞表面的 AGE 特异性受体(RAGE)发挥作用的。后者是免疫球蛋白超家族受体的一员,它在所有与动脉粥样硬化有关的细胞如单核巨噬细胞、内皮细胞和平滑肌细胞上都有表达,实验证明 RAGE 在大鼠心肌细胞缺血再灌注损伤中起到重要作用<sup>[14]</sup>。RAGE 在成年的动物模型细胞上的表达较低。在病理性损伤区域,RAGE 表达增加的细胞通常位于 AGE 水平增高的地方。代谢综合征病人体内 RAGE 水平与动脉硬化发展密切相关<sup>[15]</sup>,对基因敲除所致 As 小鼠应用链脲佐菌素制成糖尿病模型,对其喂食水溶性 RAGE(一种 RAGE 的阻断剂),发现能明显阻断粥样板块的进展<sup>[16]</sup>。

糖基化终末产物(AGE)与 RAGE 在内皮细胞的相互作用导致氧化压力和随后的转录因子  $\kappa$ B、血管细胞黏附分子的产生,血管细胞黏附分子介导的细胞黏附启动了炎症细胞进入内膜下的过程<sup>[17]</sup>。在培养的小牛主动脉内皮细胞加入 AGE 能够导致内皮细胞损伤,内皮屏障功能的减低,升高的内皮通透性能够使更多的脂质进入内皮下膜<sup>[18]</sup>。因此,AGE 与 RAGE 的相互作用可以介导动脉硬化事件的启动。

可溶性的 AGE 与 RAGE 结合能够对单核细胞产生趋化作用。单核巨噬细胞与 AGE 的相互作用还会导致一些介质比如白细胞介素 IL-6、肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$  和血小板源性生长因子、胰岛素生长因子 1 的产生。他们在粥样硬化的发病机理中都起着关键的作用。

糖基化终末产物(AGE)与 RAGE 结合有促进细胞增殖作用。在平滑肌细胞,AGE 与 RAGE 结合会导致细胞过度增生。Panatsopoulos 等<sup>[19]</sup>证实糖尿病病人成纤维细胞生长因子(bFGF)和血管内皮生长因子(VEGF)mDNA 表达增加。

## 2 蛋白激酶 C

血糖浓度升高通过增加糖酵解的中间产物甘油二酯的形成激活蛋白激酶 C (protein kinases C, PKC),甘油二酯是内源性 PKC 激活的主要因素。

蛋白激酶 C (PKC)是具有至少 12 种同型丝氨酸和苏氨酸激酶的家族。PKC 系统普遍存在于各种细胞,在多种生长因子的转录中发挥作用,并对生长因子的反应中起到信号转导的作用。在糖尿病大鼠,存在大动脉、心脏和视网膜的 PKC  $\alpha$  2 的优先激活,PKC  $\alpha$  2 的激活可引起一系列继发反应:促进转化因子(TGF- $\beta$ )和原癌基因  $c$ -fos 的表达,使基底膜增厚,细胞外基质增生。④促进内皮素 1 的表达,对抗内皮型一氧化氮合酶(eNOS),导致血管舒缩功能障碍。④促进钙调蛋白结合蛋白(caldesmon)和细胞间黏附分子(ICAM)的表达,使白细胞黏附增加。激活纤溶酶原激活物抑制剂 1(PAI-1),促进血栓形成。

有试验报道 PKC 的选择性抑制剂 LY333531 能够明显减

少糖尿病病人的微血管并发症,但有关 LY333531 对糖尿病病人动脉硬化的影响目前尚无报道<sup>[20]</sup>。

## 3 氧化应激

氧化应激被普遍认为是动脉粥样硬化的一种发病机理。高血糖可以通过多种途径使氧化压力增加:细胞内的氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的产生,后者来自于线粒体电子传递链中形成的质子梯度。④单糖的自我氧化,使超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)和过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)产生增加。④蛋白结合物(Amadori 复合物)的自我氧化,产生高反应性 dicarbonyl 复合物和 ROS。高糖状态诱发多聚山梨醇途径,使还原压力增加,造成的伪低氧状态使氧化应激增强。葡萄糖可直接清除内皮一氧化氮。破坏天然的抗氧化屏障。氧化应激是体内活性氧的产生和清除失去平衡的结果,活性氧增加引起 LDL 的氧化修饰,形成的氧化的 LDL,后者可被巨噬细胞吞噬形成泡沫细胞,这是导致动脉粥样斑块形成的重要病理生理环节<sup>[21]</sup>。

降糖药物淀粉不溶素(pramlintide)能明显降低糖尿病病人体内的氧化压力<sup>[22]</sup>,但有关其在防止糖尿病病人大血管动脉粥样硬化形成中的作用尚无相关报道。

## 4 糖基化终末产物、蛋白激酶 C 和氧化应激之间的关系

如上所述,高血糖依赖性的 AGE 形成和 PKC 激活与氧化压力升高存在着紧密联系。部分糖基化终末产物比如 N(-羧甲基赖氨酸是蛋白质与糖在特定的过氧化的条件下形成的,是糖基化和氧化的双重产物,称为糖基氧化产物。AGE 和 RAGE 的相互作用能够上调氧化应激反应性基因,升高氧化压力,国内有报道晚期糖基化终末产物通过氧化应激加速动脉粥样硬化斑块形成<sup>[23]</sup>;PKC 可通过激活血管内 NAD(P)H 氧化酶使 ROS 产生增加<sup>[24]</sup>。ROS 在 AGE 的生成以及 AGE 诱导的基因表达方面的病理改变都起着关键作用,两者通过诱导核因子  $\kappa$ B 活化共同作用于血管,影响转录调控<sup>[5,25]</sup>。

氧化应激和 AGE 的形成又都能够不同程度的激活 PKC,启动炎症过程的发生,共同促进 As 的快速进展<sup>[26]</sup>。

### [参考文献]

- [1] Egede LE. Diabetes, major depression, and functional disability among U. S. adults [J]. *Diabetes Care*, 2004, **27** (2): 421-428
- [2] Howard BV, Best LG, Galloway JM, Howard WJ, Jones K, Lee ET, et al. Coronary heart disease risk equivalence in diabetes depends on concomitant risk factors [J]. *Diabetes Care*, 2006, **29** (2): 391-397
- [3] Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE, Goetz FC, Mauer M. Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation [J]. *N Engl J Med*, 1998, **339** (2): 69-75
- [4] Takenaka K, Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, Imaizumi T. Role of advanced glycation end products (AGE) in thrombotic abnormalities in diabetes [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2006, **3** (1): 73-77
- [5] Gillerp. Advanced glycation end products (AGE), free radicals and diabetes [J]. *J Soc Biol*, 2001, **195** (4): 387-390
- [6] Forbes JM, Yee LT, Thallas V, Lassila M, Candido R, Jandeleit-Dahm KA, et

- al. Advanced glycation end product interventions reduce diabetes-accelerated atherosclerosis [J]. *Diabetes*, 2004, **53** (7): 1 813-823
- [7] Lopez LR, Hurley BL, Simpson DF, Matsuura E. Oxidized low-density lipoprotein[ $\beta$ ]2-glycoprotein I complexes and autoantibodies in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2005, **1 051**: 97-103
- [8] Veiraiah A. Hyperglycemia, lipoprotein glycation, and vascular disease [J]. *Angiology*, 2005, **56** (4): 431-487
- [9] Hulten LM, Ullstrom C, Krettek A, Von Rayk D, Marklund SL, Dahlgren C, et al. Human macrophages limit oxidation products in low density lipoprotein [J]. *Lipids Health Dis*, 2005, **4** (1): 6
- [10] Cai W, He JC, Zhu L, Peppia M, Lu C, Uribarri J, et al. High levels of dietary advanced glycation end products transform low-density lipoprotein into a potent redox-sensitive mitogen-activated protein kinase stimulant in diabetic patients [J]. *Circulation*, 2004, **110** (3): 285-291
- [11] Veerhuis R, Van Breemen MJ, Hoozemans JM, Morbin M, Ouladhadj J, Tagliavini F, et al. Amyloid beta plaque-associated proteins C1q and SAP enhance the Abeta1-42 peptide-induced cytokine secretion by adult human microglia in vitro [J]. *Acta Neuropathol (Berl)*, 2003, **105** (2): 135-144
- [12] Qin X, Goldfine A, Krumrei N, Grubisich L, Acosta J, Chorev M, et al. Glycation inactivation of the complement regulatory protein CD59: a possible role in the pathogenesis of the vascular complications of human diabetes [J]. *Diabetes*, 2004, **53** (10): 2 653-661
- [13] Iris JE, Janice DW, Vogel-Willis CA, Kenneth NL, William TC. Arterial heparan sulfate is negatively associated with hyperglycemia and atherosclerosis in diabetic monkeys [J]. *Cardiovasc Diab*, 2004, **3** (1): 6
- [14] Bucciarelli LG, Kaneko M, Ananthakrishnan R, Harja E, Lee LK, Hwang YC, et al. Receptor for advanced-glycation end products: key modulator of myocardial ischemic injury [J]. *Circulation*, 2006, **113** (9): 1 226-234
- [15] Koyama H, Shoji T, Yokoyama H, Motoyama K, Mori K, Fukumoto S, et al. Plasma level of endogenous secretory RAGE is associated with components of the metabolic syndrome and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (12): 2 587-593
- [16] Bucciarelli LG, Wendt T, Qu W, Lu Y, Lalla E, Rong LL, et al. RAGE blockade stabilizes established atherosclerosis in diabetic apolipoprotein E-null mice [J]. *Circulation*, 2002, **106** (22): 2 827-835
- [17] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature*, 2002, **420** (6917): 868-874
- [18] 张隆, 叶希韵, 吕晔, 李晓峰, 王耀发. 糖基化终末产物和高糖对小牛主动脉血管细胞的损伤作用[J]. *基础医学与临床*, 2005, **25** (12): 1 161-164
- [19] Panoutsopoulos D, Zafiroopoulos A, Krambovitis E, Kochiadakis GE, Igoumenidis NE, Spandidos DA. Peripheral monocytes from diabetic patients with coronary artery disease display increased bFGF and VEGF mRNA expression [J]. *Transl Med*, 2003, **1** (1): 6
- [20] Joy SV, Scates AC, Bearely S, Dar M, Taulien CA, Goebel JA, et al. Ruboxistaurin, a protein kinase C beta inhibitor, as an emerging treatment for diabetes microvascular complications [J]. *Ann Pharmacol Ther*, 2005, **39** (10): 1 693-699
- [21] Lankin VZ, Lisina MO, Arzamastseva NE, Konovalova GG, Nedosugova LV, Kaminyi AI, et al. Oxidative stress in atherosclerosis and diabetes [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2005, **140** (1): 41-43
- [22] Ceriello A, Piconi L, Quagliaro L, Wang Y, Schnabel CA, Ruggles JA, et al. Effects of pramlintide on postprandial glucose excursions and measures of oxidative stress in patients with type 1 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2005, **28** (3): 632-637
- [23] 张卫娟, 侯非凡, 刘尚喜, 郭志坚, 周展眉, 王国保, 等. 晚期糖基化终末产物通过氧化应激加速动脉粥样硬化斑块形成[J]. *中华医学杂志*, 2004, **84** (13): 1 066-070
- [24] 冯契, 刘乃丰. 活性氧与糖基化终末产物致动脉粥样硬化作用的关系[J]. *中国病理生理杂志*, 2003, **19** (12): 1 705-708
- [25] Sonta T, Inoguchi T, Tsubouchi H, Sekiguchi N, Kobayashi K, Matsumoto S, et al. Evaluation of oxidative stress in diabetic animals by in vivo electron spin resonance measurement--role of protein kinase C [J]. *Diab Res Clin Prac*, 2004, **66** (11): 109-113
- [26] Scivittaro V, Ganz MB, Weiss MF. AGE induce oxidative stress and activate protein kinase C-beta(2) in neonatal mesangial cells [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2000, **278** (4): 676-683

(此文编辑 胡必利)