

血红素氧合酶与糖尿病

邢邯英 综述, 凌亦凌 审校

(河北医科大学病理生理学教研室, 河北省石家庄市 050051)

[关键词] 内科学; 糖尿病; 综述; 血红素氧合酶; 一氧化碳

[摘要] 血红素氧合酶是血红素降解的起始酶和限速酶。在糖尿病及糖尿病心血管并发症、糖尿病肾病和糖尿病视网膜病变的发展过程中多种组织细胞血红素氧合酶的表达水平发生了改变, 而应用血红素氧合酶的抑制剂、诱导剂或基因干扰技术人为改变血红素氧合酶表达的水平可以加速或延缓该病程进展。提示血红素氧合酶做为糖尿病病情诊断和治疗的手段有一定临床应用前景。

[中图分类号] R587

[文献标识码] A

血红素氧合酶(heme oxygenase, HO)是血红素降解的起始酶和限速酶, 其主要功能是分解血红素的四吡咯环结构, 从而生成等摩尔的游离铁、一氧化碳(carbon monoxide, CO)和胆绿素, 而胆绿素在胆绿素还原酶的催化下迅速转化为胆红素。长期以来, 人们对HO的认识只局限于其维持血红素代谢平衡, 但近年来越来越多的资料表明, HO及其代谢产物对机体多种生理和病理过程的发生、发展具有重要意义, 尤其对于HO的诱导型HO-1的研究证实它就是热休克蛋白32, 是目前发现的受最多因素诱导的应激蛋白。

糖尿病主要表现为糖代谢紊乱, 其并发症范围很广, 几乎可以累及全部的器官和组织。由于高血糖以及继发的脂代谢紊乱, 糖尿病时机体内存在活性氧产生增多及机体清除活性氧系统功能的减弱, 氧化应激是糖尿病急慢性并发症的重要发病机制之一。而多项研究证实HO-1在抗氧化应激损伤中扮演了重要角色, 同时糖尿病病变的广泛性和HO作用的广泛性也提醒和促进研究者对两者的关系深入研究。本文重点介绍近年来在糖尿病及其并发症领域对血红素氧合酶的研究进展。

1 血红素氧合酶分类及特点

血红素氧合酶包括3种同工酶, 即HO-1、HO-2和HO-3。它们是不同的基因编码的产物, 虽然都参与血红素代谢, 但其一级结构、氨基酸组成、组织分布、调节因素以及功能等方面均有很大差异。HO-2属于结构型, 存在于大多数组织细胞中, 在生理状况下组织中的HO活性主要由HO-2决定(但是脾脏除外)。HO-2表达稳定, 几乎不受外界刺激因素的影响, 目前仅知大脑组织中HO-2的转录受肾上腺皮质激素的调节^[1]。因此, HO-2对正常人体内环境的稳定起重要作用。HO-3是最近发现的HO, 与HO-2有90%的氨基酸同源性, 虽然HO-3也存在于大多数的组织细胞中, 但对其生理功能尚

不清楚, 目前尚未有HO-3与糖尿病的相关研究报道。

血红素氧合酶1属诱导型, 正常情况下在大多数组织中表达量很低(只在脾、肝脏和睾丸中有较高表达), 但多种应激性因素可以诱导HO-1的表达和活性增强, 如内毒素、高(低)氧、紫外线、重金属和血红素等。大量研究证实上调HO-1的表达可以保护组织细胞、对抗氧化应激损伤。有关HO与糖尿病的研究大多围绕HO-1展开。

2 血红素氧合酶1与糖尿病

2.1 糖尿病时血红素氧合酶1的表达

一般来讲, 氧化应激因素往往诱导HO-1的表达增加或是提高其活性, 所以研究糖尿病与HO-1的关系常从HO-1的表达水平改变入手, 虽然早期的研究也有这方面的内容, 但是都是从糖尿病对血红素代谢的影响这个角度考虑, 笼统地把各型HO作为影响血红素类蛋白含量和功能的因素。从氧化应激角度研究糖尿病对HO-1的影响近年来才兴起并得到重视, 但是研究者并未对糖尿病时HO-1表达水平的改变趋势达成共识。

用链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)破坏胰岛β细胞是诱导动物糖尿病模型的经典方法。Farhangkhoei等^[2]全面研究了STZ大鼠心肌组织HO-1的表达, 发现病程1周的大鼠HO-1 mRNA水平没有明显改变, 但是病程1个月的大鼠心肌mRNA、蛋白和酶活性明显升高, 研究者认为血红素氧合酶1的提高与STZ大鼠体内氧化水平增高相关。根据目前研究结果, 肾小球、肝脏、STZ小鼠牙龈的HO-1表达均有不同程度的增高^[3-5]。但对胸主动脉的研究显示病程1个月的STZ大鼠HO-1蛋白水平虽无明显改变, 而酶活性却明显下降^[6]。

血红素氧合酶1的临床研究也已开展。有研究者测量了1型和2型糖尿病病人呼出气中的一氧化碳含量, 发现与血糖水平和病程长短呈正相关, 认为这是HO-1增高的间接证据; 良好的血糖控制和糖基化终末产物的生成可以减少一氧化碳, 建议将呼出气中一氧化碳水平作为监测糖尿病病情发展的指标^[7]。同样, 对于临床2型糖尿病病人的研究发现: 骨骼肌组织HO-1表达降低^[8]; 单核细胞HO-1表达增

[收稿日期] 2005-12-12

[修回日期] 2006-07-12

[作者简介] 邢邯英, 博士, 医师, 主要从事糖尿病血管并发症的研究, 现工作于河北省人民医院临床研究中心, 联系电话为 0311-85988007, E-mail 为 xinghanying@yahoo.com.cn。

高^[9];而对视网膜中 HO-1 表达情况的报道存在分歧^[10,11]。

由此可见对糖尿病时 HO-1 表达的报道十分不一致,但这正是糖尿病疾病复杂性的体现,是机体病理发展多因素参与的结果。在今后的研究中,对于 HO-1 变化趋势的研究只有与确切的疾病状态相联系、相互印证,才是全面阐述糖尿病时 HO-1 动态变化的正确途径。

2.2 血红素氧合酶 1 与糖尿病并发症

2.2.1 血红素氧合酶 1 与糖尿病心血管并发症 大约有 3/4 的糖尿病病人死于心血管并发症。动物实验证实,每日给予 STZ 大鼠 HO-1 诱导剂钴卟啉提高 HO-1 表达和活性可以降低胸主动脉产生、减少循环血中脱落内皮细胞的数量;而应用抑制剂时则结果相反^[6,12]。体外高糖环境培养 7 天后,人皮肤微血管内皮细胞增殖减慢、凋亡增加,利用逆转录病毒将血红素氧合酶 1 导入内皮细胞后,增殖速度加快,凋亡细胞减少,而血红素氧合酶 1 反义脱氧寡核苷酸的导入却无此效果^[13]。

糖尿病心肌病常发生于病程较长的糖尿病病人。由于高血糖的存在,心肌组织的缺血再灌损伤更为严重,将 HO-1 转基因小鼠和 HO-1 基因敲除小鼠的冠状动脉左前降支血流阻断 1 h 后恢复灌流 24 h,HO-1 基因敲除小鼠的心肌梗死面积、左心室血栓发生率和死亡率均较 HO-1 转基因小鼠提高^[14]。2 型糖尿病病人冠状动脉疾病的发生率比正常人群明显增高。目前研究发现,2 型糖尿病病人冠状动脉疾病的易感性与 HO-1 启动子区域中微小卫星多态性相关。通过研究 HO-1 启动子突变遗传因子(GT)的重复序列,证实与不伴有冠状动脉疾病的糖尿病病人比较,在糖尿病伴有冠状动脉疾病病人中重复突变遗传因子出现的频率和比率明显增高,L/L 基因型病人血浆中衡量脂质过氧化的指标硫代巴比妥酸反应物质含量也增高^[15]。虽然多数研究者认为 HO-1 是糖尿病心肌病的保护因素,但是也有研究者并不支持这一结论,认为 HO-1 分解血红素的产物之一——自由态的活性铁可以诱导心肌发生氧化应激^[2]。

2.2.2 血红素氧合酶 1 与糖尿病肾病 糖尿病肾病目前是肾脏衰竭的首要原因,长期的高糖会诱发多种因素改变肾脏结构,氧化应激就是其中之一。氧化应激可以增加糖基化终末产物的产生和蛋白激酶 C 的激活,同样也可以诱导抗氧化酶的表达。Hayashi 等^[3]已证实 STZ 大鼠肾小球上皮细胞、系膜细胞和毛细血管内腔 HO-1 mRNA 和蛋白表达分别增高 13 倍和 10 倍,而传统抗氧化酶如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶并未相应增高。应用维生素 E 或丙丁酚进行抗氧化治疗的 STZ 大鼠的 HO-1 表达与正常无异,活性氧的含量变化与 HO-1 的变化一致,提示 HO-1 对抗糖尿病肾病的氧化损伤^[16]。

2.2.3 血红素氧合酶 1 与糖尿病视网膜病变 几乎所有糖尿病病程达 15 年以上的病人均出现一定程度的视网膜病变。在糖尿病视网膜病变早期即可出现视网膜神经层变性,慢性神经变性是视力丧失的重要原因。Da 等^[10]研究了糖尿病病人的视网膜色素上皮细胞,发现 HO-1 的 RNA 表达下调,

但是高血压不伴有糖尿病的病人并无这种改变,因此认为 HO-1 的下调增加了神经视网膜的易损性。但动物实验却发现 STZ 大鼠视网膜和神经胶质中 HO-1 上调,应用抗氧化剂治疗后 HO-1 表达才下调。彩色多普勒超声证实病程 6 周的 STZ 大鼠视网膜电阻系数增加,每日给予 HO-1 抑制剂锡原卟啉(50 mmol/kg)后电阻系数减小^[11]。糖尿病病人和实验动物研究的差异提示了糖尿病发病学的种属差异,在此领域 HO-1 的研究仍是处于初步阶段。

2.3 血红素氧合酶 1 与 1 型糖尿病

1 型糖尿病的直接病因是胰岛 β 细胞的自身免疫性毁损。如果不能阻断自身免疫系统对 β 细胞的攻击,即使应用胰岛再生治疗也不可能治愈 1 型糖尿病。HO-1 可以对抗由肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1 β 诱导的胰腺 β 细胞凋亡^[17]。白细胞介素 1 β 可以促进胰腺诱导型一氧化氮合酶表达,是诱导胰腺细胞凋亡、引发自身损伤的因素之一,而应用 HO-1 诱导剂可以减少一氧化氮(nitric oxide, NO)过量的生成和葡萄糖氧化,维持胰岛素分泌和葡萄糖代谢的平衡。

胰岛 β 细胞移植是目前治疗 1 型糖尿病的一种非常具有前景的医疗手段,但在移植初期常产生生物介质及活性氧分子,损伤胰腺细胞,导致功能损害、凋亡以至死亡。所以如果能够提高胰腺组织自身保护性基因如 HO-1 将有助于提高早期移植组织功能。可以有多种方法提高 HO-1 的表达,如应用 HO-1 的诱导剂、利用腺病毒载体或将 HO-1 制成融合蛋白等^[18,19]。无论是体外培养的胰岛细胞瘤株或是从胰岛分离的 Langerhan 细胞,在用铁卟啉预孵育 24 h 后,白细胞介素 1 α 、干扰素 γ 或肿瘤坏死因子 α 诱导的凋亡显著减少;胰岛同源移植前、后连续给予钴卟啉,STZ 小鼠恢复正常血糖的时间由对照组的 48 $\pm$ 30 天缩短到 18 $\pm$ 28 天^[17]。HO-1 并不仅仅作为 β 细胞移植的一种保护手段,因为 HO-1 对氧化应激状态极为敏感,在评价药物以及其他基因转移的治疗效果时,也常将 HO-1 水平作为衡量疗效的指标^[20,22]。

3 血红素氧合酶 2 与糖尿病

有关这方面的研究报道极少,主要原因是因为 HO-2 是固有型 HO,在多种病理状态下其表达并无改变。但是有研究者发现 STZ 大鼠心肌 HO-1 升高的同时,HO-2 mRNA 和蛋白表达也随之升高^[8]。Henningsson 等^[23]阐明了 CO 与胰岛素分泌的关系,证实 HO/CO 系统确实存在于胰腺分泌组织,完整新鲜的胰腺组织主要表达 HO-2,HO-1 几乎不表达,应用高糖(20 mmol/l)孵育离体胰岛组织后 CO 含量增加,提示 HO-2 的表达增加。同时发现,与 NO 不同,HO 诱导剂正铁血黄素和外源性的 CO 均促进高糖诱导的胰岛素的分泌;而锌原卟啉可削弱葡萄糖对胰岛素的诱导作用。

4 血红素氧合酶下游产物与糖尿病

血红素氧合酶分解血红素后有 3 种下游产物:胆绿素、CO 及铁,所以有必要研究 HO-1 的生理或病理学作用主要是一种产物介导的还是兼而有之。但是因为 HO 与糖尿病的

研究处于起步阶段,关于这方面的深入研究极为有限,目前仅发现外源性的 CO 可以保护移植后的胰岛 β 细胞^[24],虽然 HO-1 的保护作用常伴有 CO 的升高,内源性或外源性 CO 可对抗多种氧化应激原对组织细胞的损伤,但仍缺乏直接的证据证实糖尿病时 CO 的确切作用。

糖尿病与 HO 的研究在近 10 年刚刚起步,研究多围绕 HO 在糖尿病各组织的表达,以及应用抑制剂和诱导剂后对糖尿病进程的影响展开,而且目前尚未达到共识,但将 HO 做为糖尿病病情诊断和治疗的手段的研究已显示了这一领域的临床应用前景。对于 HO 在糖尿病发生、发展中的作用环节和信号转导途径等方面的研究有待深入。

[参考文献]

- [1] Maines MD. The heme oxygenase system and its functions in the brain[J]. *Cell Mol Biol*, 2000, **46** (3): 573-585
- [2] Farhangkhoei H, Khan ZA, Mukherjee S, Cukiernik M, Barbin YP, Karmazyn M, et al. Heme oxygenase in diabetes-induced oxidative stress in the heart[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2003, **35** (12): 1 439-448
- [3] Hayashi K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Isshiki K, Kikkawa K, et al. Enhancement of glomerular heme oxygenase-1 expression in diabetic rats[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2001, **52** (2): 85-96
- [4] Cosso L, Maineri EP, Traverso N, Rosatto N, Pronzato MA, Cottalasso D, et al. Induction of heme oxygenase 1 in liver of spontaneously diabetic rats[J]. *Free Radic Res*, 2001, **34** (2): 189-191
- [5] Schmidt AM, Weidman E, Lalla E, Yan SD, Hori O, Cao R, et al. Advanced glycation endproducts (AGEs) induce oxidant stress in the gingiva: a potential mechanism underlying accelerated periodontal disease associated with diabetes[J]. *J Periodontol Res*, 1996, **31** (7): 508
- [6] Quan S, Kaminski PM, Yang L, Morita T, Inaba M, Ikehara S, et al. Heme oxygenase-1 prevents superoxide anion-associated endothelial cell sloughing in diabetic rats[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **315** (2): 509-516
- [7] Paredi P, Biernacki W, Invernizzi G, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled carbon monoxide levels elevated in diabetes and correlated with glucose concentration in blood: a new test for monitoring the disease[J]? *Chest*, 1999, **116** (4): 1 007-011
- [8] Bruce CR, Carey AL, Hawley JA, Febbraio MA. Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin resistance is associated with a disturbed antioxidant defense mechanism[J]. *Diabetes*, 2003, **52** (9): 2 338-345
- [9] Avogaro A, Pagnin E, Calo L. Monocyte NADPH oxidase subunit p22(phox) and inducible hemeoxygenase-1 gene expressions are increased in type II diabetic patients: relationship with oxidative stress[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, **88** (4): 1 753-759
- [10] Da Silva JL, Stoltz RA, Dunn MW, Abraham NG, Shibahara S. Diminished heme oxygenase-1 mRNA expression in RPE cells from diabetic donors as quantitated by competitive RT/PCR[J]. *Curr Eye Res*, 1997, **16** (4): 380-386
- [11] Cukiernik M, Mukherjee S, Downey D, Chakabarti S. Heme oxygenase in the retina in diabetes[J]. *Curr Eye Res*, 2003, **27** (5): 301-308
- [12] Abraham NG, Rezzani R, Rodella L, Kruger A, Toller D, Li Volti G, et al. Overexpression of human heme oxygenase-1 attenuates endothelial cell sloughing in experimental diabetes[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, **287** (6): H2 468-477
- [13] Abraham NG, Kushida T, Mc Clung J, Weiss M, Quan S, Lafaro R, et al. Heme oxygenase-1 attenuates glucose-mediated cell growth arrest and apoptosis in human microvessel endothelial cells[J]. *Circ Res*, 2003, **93** (6): 507-514
- [14] Liu X, Wei J, Peng DH, Layne MD, Yet SF. Absence of heme oxygenase-1 exacerbates myocardial ischemia/reperfusion injury in diabetic mice[J]. *Diabetes*, 2005, **54** (3): 778-784
- [15] Chen YH, Lin SJ, Lin MW, Tsai HL, Kuo SS, Chen JW, et al. Microsatellite polymorphism in promoter of heme oxygenase-1 gene is associated with susceptibility to coronary artery disease in type 2 diabetic patients[J]. *Hum Genet*, 2002, **111** (1): 1-8
- [16] Koya D, Hayashi K, Kitada M, Kashiwagi A, Kikkawa R, Hanedam M, et al. Effects of antioxidants in diabetes-induced oxidative stress in the glomeruli of diabetic rats[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, **14** (8 Suppl 3): S250-253
- [17] Pileggi A, Molano RD, Berney T, Cattani P, Vizzardelli C, Oliver R, et al. Heme oxygenase-1 induction in islet cells results in protection from apoptosis and improved in vivo function after transplantation[J]. *Diabetes*, 2001, **50** (9): 1 983-991
- [18] Kapturczak MH, Flotte T, Atkinson MA. Adeno-associated virus (AAV) as a vehicle for therapeutic gene delivery: improvements in vector design and viral production enhance potential to prolong graft survival in pancreatic islet cell transplantation for the reversal of type 1 diabetes[J]. *Curr Mol Med*, 2001, **1** (2): 245-258
- [19] Ribeiro MM, Klein D, Pileggi A, Molano RD, Fraker C, Ricordi C, et al. Heme oxygenase-1 fused to a TAT peptide transduces and protects pancreatic beta cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **305** (4): 876-881
- [20] Ishida H, Takizawa M, Ozawa S, Nakamichi Y, Yamaguchi S, Katsuta H, et al. Pioglitazone improves insulin secretory capacity and prevents the loss of beta cell mass in obese diabetic dly/db mice: Possible protection of beta cells from oxidative stress[J]. *Metabolism*, 2004, **53** (4): 488-494
- [21] Kimoto K, Suzuki K, Kizaki T, Hitomi Y, Ishida H, Katsuta H, et al. Glioclarzide protects pancreatic beta cells from damage by hydrogen peroxide[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **303** (1): 112-119
- [22] Zhang YC, Pileggi A, Agarwal A, Molano RD, Powers M, Brusko T, et al. Adeno-associated virus-mediated IL-10 gene therapy inhibits diabetes recurrence in syngeneic islet cell transplantation of NOD mice[J]. *Diabetes*, 2003, **52** (3): 708-716
- [23] Henningsson R, Alm P, Ekstrom P, Lundquist I. Heme oxygenase and carbon monoxide: regulatory roles in islet hormone release: a biochemical, immunohistochemical, and confocal microscopic study[J]. *Diabetes*, 1999, **48** (1): 66-76
- [24] Gunther L, Berberat PO, Haga M, Brouard S, Smith RN, Soares MP, et al. Carbon monoxide protects pancreatic beta cells from apoptosis and improves islet function/survival after transplantation[J]. *Diabetes*, 2002, **51** (4): 994-999

(此文编辑 朱雯霞)