

非对称性二甲基精氨酸与肺动脉高压

谭娜综述, 彭军审校

(中南大学药学院药理学系, 湖南省长沙市 410078)

[关键词] 非对称性二甲基精氨酸; 二甲基精氨酸二甲胺水解酶; 一氧化氮; 肺动脉高压

[摘要] 非对称性二甲基精氨酸为内源性一氧化氮合酶抑制剂, 能抑制一氧化氮生成, 引起血管功能障碍。近来研究发现, 多种原因引起的肺动脉高压伴有非对称性二甲基精氨酸水平改变, 该现象涉及肺动脉高压肺血管内皮损伤、肺纤维化等病理生理过程。因此, 阐明内源性非对称性二甲基精氨酸水平的调节机制将为肺动脉高压的防治提供新思路。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

肺动脉高压 (pulmonary arterial hypertension, PAH) 是一种以肺动脉阻力增加导致肺循环压力增高为特征的致死性综合征^[1], 其特征为外周肺动脉中、内膜异常增生、外膜纤维化。一氧化氮 (nitric oxide, NO) 具有舒张血管、抑制血小板聚集及平滑肌细胞增殖等效应, 其生成和释放异常在肺动脉高压的发展中起重要作用。非对称性二甲基精氨酸 (asymmetric dimethylarginine, ADMA) 是一氧化氮合酶 (nitric oxide synthases, NOS) 的内源性抑制剂, 能有效抑制 NO 生成。有研究表明, ADMA 与高血压、动脉粥样硬化、糖尿病、肾衰竭等多种疾病的血管内皮功能障碍密切相关。新近研究发现, ADMA 也与多种肺血管疾病密切相关, 其机制涉及 PAH 肺血管内皮损伤、肺纤维化等多个病理生理过程。

1 非对称性二甲基精氨酸体内过程及生物学特性

1.1 非对称性二甲基精氨酸的体内过程

非对称性二甲基精氨酸是一种游离甲基化精氨酸, 蛋白质降解是游离甲基精氨酸的主要来源^[2], 特别是内皮细胞甲基化核蛋白的水解。蛋白质精氨酸残基甲基化是由细胞内蛋白质精氨酸甲基转移酶 (protein arginine methyltransferases, PRMT) 所催化, 根据催化活性的特异性将其分为两型: iv 型 (PRMT1, 3, 4, 6, 8) 和 ⑤型 (PRMT5, 7 和 FBXO11)。此外, PRMT2 被认为可能属 iv 型 PRMT, 但其甲基转移酶活性尚未确定。两型 PRMT 均能催化 L-精氨酸形成单甲基精氨酸 (monomethylarginine, MMA), 然而, iv 型 PRMT 催化 MMA 产生 ADMA, 而 ⑤型 PRMT 则催化 MMA 形成对称性二甲基精氨酸 (symmetric dimethylarginine, SDMA)^[3, 4]。细胞内蛋白质甲基化后, 经水解释放出游离 MMA、SDMA 和 ADMA。

内皮细胞中甲基化蛋白水解、甲基精氨酸的降解及其进出细胞平衡能够调节间质及血浆 ADMA 水平, 其它多种细胞也能通过阳离子氨基酸转运体途径摄入 ADMA, 从而调节 ADMA 水平。然而, 最近亦有文献报道 MMA 可通过 peptidyl-arginine deiminase-4 转变为瓜氨酸, MMA 的消除将减少 PRMT1 的底物, 这一作用可能直接影响蛋白质甲基化, 从而影响 ADMA 等甲基精氨酸的生成^[5]。

非对称性二甲基精氨酸可通过以下途径代谢: 通过二甲基精氨酸二甲胺水解酶 (dimethylarginine dimethylaminohydrolase, DDAH) 水解代谢, 此为主要的代谢途径。DDAH 可水解 MMA 和 ADMA 为瓜氨酸和单二甲胺, 而不能水解 SDMA。到目前为止, DDAH 的两种亚型已被克隆, 分别命名为 DDAH1 和 DDAH2。DDAH1 由 1 号染色体编码, 在神经型 NOS 表达的组织如大脑、肾脏中占优势; 而 DDAH2 由 6 号染色体编码, 在内皮型 NOS 表达的组织如心血管、胎盘中占优势。④小部分通过肾脏排出和肝脏代谢从体内清除。④ADMA 也能通过丙氨酸及乙醛酸转氨酶 2 转化为 α-酮戊酸被代谢, 但这条途径对总 ADMA 代谢的影响不大。

1.2 非对称性二甲基精氨酸的生物学效应

单甲基精氨酸、非对称性二甲基精氨酸及对称性二甲基精氨酸三者中, 前两者具有 NOS 抑制作用, 但血浆中 MMA 含量非常低, 故 ADMA 被认为是 NOS 的主要内源性抑制剂。它能非选择性地抑制 NOS 的 3 种亚型 (nNOS, eNOS, NOS), 抑制 NO 的生成。ADMA 抑制内皮细胞产生 NO 的机制包括: ADMA 导致 NOS 活性解耦联。有研究发现重组人 eNOS 肺动脉内皮细胞中 ADMA 能显著增加 NOS 解耦联^[6], NOS 解耦联后, 无法催化 L-精氨酸的双电子氧化生成 NO。④ADMA 与 NOS 催化底物 L-精氨酸在活性部位起竞争性抑制作用。ADMA 作为 L-精氨酸的类似物, 与其竞争 NOS 的活性结合部位, 从而使 NO 生成减少。

一氧化氮可调控一系列肺功能, 如巨噬细胞活性、肺动脉舒张及支气管收缩。ADMA 调控肺细胞功能可通过以下两条途径起作用: 对基因表达和蛋白质功能的直接作用; 影响 NOS 的活性改变 NO 生成。研究证实, 肺脏可产生大量 ADMA, 直接影响局部间质及血浆中 ADMA 水平, 提示 AD-

[收稿日期] 2009-07-16 [修回日期] 2009-09-02

[作者简介] 谭娜, 硕士研究生, 主要从事心血管药理学研究, 电话为 0731-82355076, 15874293017, E-mail 为 tanna7777@163.com。通讯作者彭军, 教授, 博士生导师, 主要从事心血管药理学研究, 电话为 0731-82355081, E-mail 为 junpeng168@yahoo.com, junpeng@mail.csu.edu.cn。

MA 代谢失调可能参与了慢性肺疾病,如 PAH、特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)、哮喘及慢性阻塞性肺疾病的发生、发展。

2 非对称性二甲基精氨酸在肺动脉高压中的变化

大量临床及基础研究发现 ADMA 水平变化与 PAH 密切相关,其中大多数资料显示 PAH 时 ADMA 水平增加。临床研究发现,原发性 PAH 病人呼出气体中 NO 水平降低,乙酰胆碱内皮依赖性血管舒张作用受损;在特发性肺动脉高压、慢性血栓肺动脉高压及镰刀形红细胞贫血或系统性硬化病引起的肺动脉高压病人均检测到血浆 ADMA 浓度升高。ADMA 水平变化与肺动脉高压的关系在动物模型中亦得到证实。Sasaki 等在野百合碱 (monocrotaline, MCT) 诱导的肺动脉高压大鼠模型中,发现肺动脉内皮细胞 L-精氨酸的代谢酶——精氨酸酶和 ADMA 含量均增加^[7];在慢性低氧诱导大鼠 PAH 模型中肺组织 ADMA 浓度增加促进了 PAH 的形成^[8]。然而,也有文献报道 PAH 中 ADMA 浓度并无改变。有学者发现 PAH 病人和健康人群血清 ADMA 水平无显著差别,但 PAH 病人血清精氨酸酶活性增高,使得生成 NO 所需底物减少,提示 PAH 病理生理过程涉及精氨酸代谢改变。

非对称性二甲基精氨酸与 PAH 关系研究中,大部分显示 ADMA 水平在 PAH 中增高,但机制尚未阐明,推测可能与 ADMA 的生成和降解途径异常密切相关。在特发性肺动脉高压病人肺组织 DDAH2 表达下降,提示 DDAH 活性降低是导致 ADMA 水平升高的原因。用 MCT 处理大鼠肺动脉内皮细胞后,细胞内 MMA 和 ADMA 水平显著增加但 SDMA 水平不变,由于 SDMA 不是 DDAH 的底物,支持 MCT 诱导的内皮细胞 MMA 和 ADMA 的积累主要是 DDAH 活性减弱的结果,而与 PRMT 关系不密切,因为 PRMT 活性的变化将影响到细胞内 MMA、ADMA 和 SDMA 三者水平的变化。但在慢性低氧诱导的 PAH 中,则发现肺组织 ADMA 水平升高、L-精氨酸/ADMA 比值降低伴随 PRMT 活性升高,这一结果支持 PRMT 介导的 ADMA 生成可能在慢性低氧诱导的 PAH 中起重要作用^[9]。

研究表明细胞内 ADMA 水平的变化比血浆 ADMA 水平变化更能反映肺组织的病理变化。PAH 时, Kiehlstein 等^[10]和 Pullangetti 等^[11]分别报道血浆 ADMA 水平升高到 $0.53 \pm 0.15 \text{ mol/L}$ (对照组为 $0.36 \pm 0.05 \text{ } \mu\text{mol/L}$) 及 $1.06 \pm 0.06 \text{ } \mu\text{mol/L}$ (对照组为 $0.48 \pm 0.04 \text{ } \mu\text{mol/L}$)。由于 L-精氨酸血浆生理浓度为 $100 \text{ } \mu\text{mol/L}$, ADMA 为 $0.42 \pm 0.06 \text{ } \mu\text{mol/L}$ ^[12],它必须达到约 $10 \text{ } \mu\text{mol/L}$ 时才能对血浆中 NO 的产生及生理功能发挥作用^[13],故在 PAH 或其它心血管疾病,血浆 ADMA 水平的变化不能很好地反映其对 NO 生成的影响。但是,病理条件如颈动脉球囊术引起血管损伤,细胞内 ADMA 水平从 $5.8 \pm 1.2 \text{ } \mu\text{mol/L}$ 增加到 $21.6 \pm 4.7 \text{ } \mu\text{mol/L}$ 则能显著影响 NOS 活性^[13]。因此,检测细胞内 ADMA 水平的变化比血浆 ADMA 水平更敏感,血浆 ADMA 水平的轻微改变可反映细胞内 ADMA 较大改变。

3 非对称性二甲基精氨酸与肺动脉内皮损伤

内皮功能障碍为肺动脉高压病理生理学特征之一。正常肺内皮能维持适当血管紧张度,抑制血管平滑肌增殖、血小板粘附与聚集及防止炎症发生,肺动脉高压患者以上保护作用降低。内皮源性 NO 在维持血管稳态中起关键作用,肺动脉高压的病理改变部分是由于血管 NO 生物活性和合成受损所致。M illat 等在慢性低氧诱导的 PAH 动物模型中发现肺血管内皮源性 NOS 表达增加 2 倍,而肺组织 NO 含量显著降低。进一步研究发现,肺组织中 NOS 抑制剂 ADMA 增加 2 倍以上,这与 NO 含量降低相吻合。ADMA 作为一种内源性 NOS 的抑制物,目前已成为一种新的血管内皮功能障碍预测因子^[14]。

非对称性二甲基精氨酸能损伤肺内皮屏障功能^[15]。Rho GTPase 在内皮屏障功能的调节中起重要作用, Wojcik-Stothard 等发现 ADMA 可分别调节肺动脉内皮细胞中肌动蛋白动力学调节器 Rho GTPases RhoA、Rac1 及 Cdc42 的活性^[16],内源性 ADMA 通过激活 RhoA 增加内皮肌动蛋白收缩性和细胞间隙形成,从而增加内皮通透性;通过抑制细胞 Rac1、Cdc42 活性破坏内皮细胞间连接^[17, 18]。最近有研究发现, ADMA 通过抑制 NO 生成下调蛋白激酶 G,从而增加离体、在体肺内皮通透性,而 DDAH1 和 DDAH2 活性增高或过表达能抑制 ADMA 的促内皮通透性作用。

4 非对称性二甲基精氨酸与肺纤维化

缺氧和长期炎症造成的肺损伤会导致肺纤维化,最初表现为下呼吸道炎症细胞浸润,肺泡上皮细胞和血管内皮细胞损伤,伴有成纤维母细胞和Ⅱ型肺泡上皮细胞增殖及细胞因子释放,导致细胞外基质蛋白和胶原沉积,最终引起肺结构的损害。临床上多种慢性肺部损害会在肺血管周围发展为肺纤维化,最终形成 PAH。而 PAH 时,肺小血管内皮损伤,从而导致血管腔狭窄或栓塞,进而加重肺间质炎症和肺纤维化。

以往人们对 ADMA 在 IPF 肺间质重构中的作用了解不多,近年来逐渐发现 IPF 的进程涉及精氨酸的甲基化作用和 ADMA 的代谢作用^[19]。成纤维细胞聚集是 IPF 特征性损害的标志,表现为 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 阳性、活化的成纤维合成并沉积富含胶原的细胞外基质^[20]。成纤维细胞聚集发生于邻近肺泡上皮细胞损伤部位的上皮下层,肺泡上皮细胞反复损伤和修复、有或无局部炎症是目前普遍公认的 IPF 致病机制,其导致生长因子活化及纤维化紊乱。

除细胞因子和生长因子白介素 4、13、21、W ingless 及转化生长因子 β 外,肾素-血管紧张素-醛固酮系统内的血管紧张素 $\text{I}(\text{angiotensin I}, \text{Ang I})$ 在肺纤维化中也发挥重要作用。新近研究发现,注射 Ang I 将增加血浆 ADMA 水平和导致外周血管和肾间质纤维化^[21, 22]; DDAH1、DDAH2 的过表达可减轻 Ang I 诱导的 ADMA 增加和间质纤维化。这些资料显示 Ang I、ADMA 与外周血管及间质纤维化可能存在

因果关系。进一步研究发现,直接注射 ADMA 导致的小鼠肺脏胶原沉积增加及精氨酸酶活性增加是实验性肺纤维化的一个特征^[23]。最近,有研究者应用鼠模型,采用渗透性微泵连续皮下注射 ADMA,发现 2 周后肺洗出液中亚硝酸盐显著降低,同时伴随肺组织匀浆中尿素和精氨酸酶活性增高,肺胶原含量显著增加^[24]。此外,体外实验也发现,用 ADMA 处理原代小鼠肺成纤维细胞可激活精氨酸酶活性和促使胶原形成。这些报道支持 ADMA 在哮喘、肺纤维化等呼吸道疾病中起重要作用的观点,其可能是通过抑制 NOS 活性和增加精氨酸酶活性而发挥作用的。

5 展望

随着对 PAH 发病机制认识的不断深入,对于 PAH 的防治已突破了吸氧、强心、利尿及钙离子拮抗剂等传统方法。由于 NO 的生成减少与 PAH 的发生发展密切相关,补充外源性 NO 或增加内源性 NO 的水平均是当前治疗 PAH 常用的有效途径^[25]。已知 ADMA 可通过抑制 NOS 的活性、减少 NO 生成而促进 PAH 的发生发展,因此阐明内源性 ADMA 水平的调节机制将为 PAH 的防治提供新思路。有研究表明某些治疗心血管疾病药物如血管紧张素受体拮抗剂、血管紧张素转化酶抑制剂及胰岛素增敏剂等均被证实可降低血浆 ADMA 水平^[26],提示这些药物可用于 PAH 的防治。此外,通过上调 DDAH 活性而减少 ADMA 水平也是目前寻找防治 PAH 药物的新途径。

[参考文献]

- [1] Ghofrani HA, Wilkins MW, Rich S. Uncertainties in the diagnosis and treatment of pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2008 **118** (11): 1 195-201.
- [2] Vallance P, Leiper J. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine/dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004 **24** (6): 1 023-030.
- [3] Bedford MT, Richard S. Arginine methylation: an emerging regulator of protein function [J]. *Mol Cell*, 2005 **18** (3): 263-272.
- [4] Lee DY, Teyssier C, Strahl BD, et al. Role of protein methylation in regulation of transcription [J]. *Endocr Rev*, 2005 **26** (2): 147-170.
- [5] Zakrzewicz D, Eickelberg O. From arginine methylation to ADMA: a novel mechanism with therapeutic potential in chronic lung diseases [J]. *BMC Pulm Med*, 2009 **9**: 5.
- [6] Sud N, Wells SM, Shamsa S, et al. Asymmetric dimethylarginine inhibits HSP90 activity in pulmonary arterial endothelial cells: role of mitochondrial dysfunction [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008 **294** (6): C1 407-418.
- [7] Sasaki A, Doi S, Mizutani S, et al. Roles of accumulated endogenous nitric oxide synthase inhibitors: enhanced arginase activity and attenuated nitric oxide synthase activity in endothelial cells for pulmonary hypertension in rats [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007 **292** (6): L1 480-487.
- [8] Millatt LJ, Whitley GS, Li D, et al. Evidence for dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase in chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Circulation*, 2003 **108** (12): 1 493-498.
- [9] Yildirim AO, Bulku P, Zakrzewicz D, et al. Increased protein arginine methylation in chronic hypoxia: role of protein arginine methyltransferases [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2006 **35** (4): 436-443.
- [10] Kielstein JE, Bode-Boger SM, Hesse G, et al. Asymmetric dimethylarginine in idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005 **25** (7): 1 414-418.
- [11] Pullamsetti S, Kiss I, Ghofrani HA, et al. Increased levels and reduced catabolism of asymmetric and symmetric dimethylarginines in pulmonary hypertension [J]. *FASEB J*, 2005 **19** (9): 1 175-177.
- [12] Ulau P, Zakrzewicz D, Kitowska K, et al. Analysis of methylarginine metabolism in the cardiovascular system identifies the lung as a major source of ADMA [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007 **292** (1): L18-24.
- [13] Cardounel AJ, Cui H, Samouilov A, et al. Evidence for the pathophysiological role of endogenous methylarginines in regulation of endothelial NO production and vascular function [J]. *J Biol Chem*, 2007 **282** (2): 879-887.
- [14] 姜德建, 李元建. 非对称性二甲精氨酸—新的心血管疾病危险因素和药物防治靶点 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005 **13** (3): 379-382.
- [15] Wojciak-Stothard B, Torondel B, Zhao L, et al. Modulation of Rac1 activity by ADMA/DDAH regulates pulmonary endothelial barrier function [J]. *Mol Biol Cell*, 2009 **20** (1): 33-42.
- [16] Wojciak-Stothard B, Torondel B, Tsang LY, et al. The ADMA/DDAH pathway is a critical regulator of endothelial cell motility [J]. *J Cell Sci*, 2007 **120** (Pt 6): 929-942.
- [17] Waschke J, Baumgartner W, Adamson RH, et al. Requirement of Rac activity for maintenance of capillary endothelial barrier properties [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004 **286** (1): H 394-401.
- [18] Wojciak-Stothard B, Tsang LY, Haworth SG. Rac and Rho play opposing roles in the regulation of hypoxia/reoxygenation-induced permeability changes in pulmonary artery endothelial cells [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005 **288** (4): L749-760.
- [19] Martinez FJ, Safran S, Weycker D, et al. The clinical course of patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Ann Intern Med*, 2005 **142** (12 Pt 1): 963-967.
- [20] Sehman M, Thannickal VJ, Pardo A, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: pathogenesis and therapeutic approaches [J]. *Drugs*, 2004 **64** (4): 405-430.
- [21] Hasegawa K, Wakino S, Tatematsu S, et al. Role of asymmetric dimethylarginine in vascular injury in transgenic mice overexpressing dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 [J]. *Circ Res*, 2007 **101** (2): e2-10.
- [22] Jacobi J, Maas R, Cordasic N, et al. Role of asymmetric dimethylarginine for angiotensin II-induced target organ damage in mice [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008 **294** (2): H1 058-066.
- [23] Kitowska K, Zakrzewicz D, Konigshoff M, et al. Functional role and species-specific contribution of arginases in pulmonary fibrosis [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2008 **294** (1): L34-45.
- [24] Wells SM, Buford MC, Migliaccio CT, et al. Elevated asymmetric dimethylarginine alters lung function and induces collagen deposition in mice [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2009 **40** (2): 179-188.
- [25] 顾勇, 王治平, 张希, 等. 一氧化氮吸入对肺动脉高压大鼠血压和血浆中血管活性物质水平的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003 **11** (3): 219-222.
- [26] Cooke JP. ADMA: its role in vascular disease [J]. *Vasc Med*, 2005 **10** (Suppl 1): S11-17.

(此文编辑 曾学清)