

脂联素与血管内皮细胞功能障碍的相关性

孙 慧, 吴永全, 严松彪

(北京友谊医院心脏中心心血管内科, 北京市 100050)

[关键词] 脂联素; 内皮功能障碍; 动脉粥样硬化

[摘 要] 代谢综合征的组成成份致冠状动脉粥样硬化性心脏病发生发展的内在机制尚待进一步研究。脂联素作为一种脂肪细胞因子,与内皮依赖性血管舒张功能呈独立正相关,并且是后者的独立决定因素;通过多重信号传导途径上调内皮细胞一氧化氮合成酶活性、增加一氧化氮生成,抑制内皮细胞氧化应激反应、降低细胞损伤程度,阻断内皮细胞炎症信号传导、减轻血管炎症反应。因此,脂联素可能是联系代谢综合征与心血管疾病的枢纽,可以考虑利用脂联素改善代谢综合征患者的血管内皮功能,进而预防或延缓心血管疾病的发生发展。

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

Correlation of Adponectin and Vascular Endothelial Cells Dysfunction

SUN Hui, WU Yong-Quan, and YAN Song-Biao
(Cardiovascular Medicine, the Heart Center of Beijing Friendship Hospital, Beijing 100050, China)

[KEY WORDS] Adiponectin; Endothelial Dysfunction; Atherosclerosis

[ABSTRACT] How components of metabolic syndrome (MS) progress to coronary atherosclerotic heart disease (CAD) is still unclear. Adponectin, a fat-derived plasma protein, is recently considered as a link between MS and CAD, as a number of studies reveal that decreased adiponectin level is associated with impaired endothelial-dependent vasodilation, and adponectin improves endothelial dysfunction through enhancing endothelial nitric oxide (NO) production, suppressing reactive oxygen species generation, and downregulating vascular inflammatory signaling cascade, thus adiponectin may be beneficial to prevention and treatment of MS and CAD.

近年来代谢综合征的发生率不断攀升,由此导致的心血管系统疾病已成为威胁人类生命的最主要疾病负担。而代谢综合征的组成成份致心血管系统疾病,特别是冠状动脉粥样硬化性心脏病发生、发展的内在机制尚待进一步研究。脂联素(adiponectin, APN)作为一种脂肪细胞因子,已有的研究显示其具有增加胰岛素敏感性、改善脂代谢、对抗血管内皮炎症反应、改善内皮依赖性血管舒张功能等作用,因此被认为是联系代谢综合征与心血管疾病的枢纽。其中,脂联素与血管内皮细胞功能障碍的相关性研究引人关注。

1 脂联素与血管内皮细胞功能障碍具有相关性

1.1 基础研究

已发现 APN 基因敲除 (APN^{-/-}) 小鼠主动脉对

乙酰胆碱的反应性舒张存在严重缺陷^[1];脂联素可以改善载脂蛋白 E 基因敲除 (apolipoprotein E knockout, ApoE^{-/-}) 小鼠、肥胖小鼠主动脉环对乙酰胆碱的舒张反应,但不能使内皮功能正常的小鼠主动脉环对乙酰胆碱的反应有所增加。故血脂代谢异常、肥胖致血管内皮功能障碍与脂联素水平降低有关^[2,3]。

内皮功能受损时,脂联素与胶原交联,沉积于血管内皮之下,因而表现为血清脂联素水平下降^[4]。将 APN^{-/-} 和对照组小鼠的冠状动脉左前降支结扎 30 min 后进行再灌注处理,结果发现缺乏脂联素使心肌梗死范围扩大,心肌缺血/再灌注后心脏收缩、舒张功能不全均加重^[5]。相似地,Nishimura 等^[6] 人将 APN^{-/-} 和对照组小鼠大脑中动脉阻断 1 h 后进行 23 h 的再灌注处理,发现脂联素缺乏可导致脑组织缺血/再灌注损伤范围扩大。

[收稿日期] 2011-03-02

[作者简介] 孙慧,硕士研究生,从事血管内皮功能相关临床研究。通讯作者吴永全,主任医师,教授,博士研究生导师,目前主要从事房颤、房扑、室性心动过速等心律失常的研究和诊治。严松彪,主任医师,教授,硕士研究生导师。

1.2 临床研究

早在 2003 年即有人运用无创的血流容积描记技术证明脂联素水平与血管在反应性充血时的舒张能力呈独立正相关,而与单纯补充硝酸甘油引起的血管扩张不相关^[7,8]。

Tan 等^[9]运用肱动脉超声对 2 型糖尿病和对照人群进行了研究,发现与 2 型糖尿病无关,脂联素是内皮依赖性血管舒张功能的独立决定因素。我国萧亚伟等^[10]将入选的冠状动脉粥样硬化性心脏病患者分为合并代谢综合征组与不合并代谢综合征组,亦发现两组研究对象的脂联素水平均与肱动脉超声测定的内皮依赖性舒张反应内径变化率呈正相关。有代谢综合征组成成份异常的患者其肱动脉血流介导的血管舒张(flow-mediated dilation, FMD)与脂联素、腹围、空腹血糖、收缩压、甘油三酯独立相关,其中以脂联素对肱动脉 FMD 影响最大^[11]。

Tsuchiya 等^[12]利用肱动脉超声研究匹格列酮对 2 型糖尿病患者血管内皮功能的影响,认为匹格列酮改善血管内皮功能与其提高脂联素水平、增加一氧化氮(nitric oxide, NO)产出有关。

2 脂联素改善血管内皮细胞功能的分子生物学机制

自脂联素被证实可刺激血管内皮细胞产生 NO^[13-15]以来,近几年的研究着力探讨了脂联素改善血管内皮功能涉及的分子生物学机制。

2.1 上调内皮细胞一氧化氮合成酶活性,增加一氧化氮生成

内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的磷酸化程度是影响 eNOS 活性的关键因素。APN^{-/-}小鼠血管内皮细胞 eNOS 的表达正常,但基础 NO 释放较对照组明显减少,系因其 eNOS 磷酸化程度明显低于对照组^[1]。肥胖小鼠主动脉环的一氧化氮释放总量(NOx)低于正常,补充脂联素可以增加其 NOx 释放,而这一作用可被 eNOS 的特异性抑制剂 L-氮硝基精氨酸甲酯(NG-nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME)显著抑制^[2]。脂联素可以在高脂血症时提高 eNOS 的磷酸化程度、纠正下调的 eNOS 活性^[16],而其对缺血/再灌注脑组织的保护作用亦部分通过增加 eNOS 磷酸化实现^[6]。故脂联素可通过上调内皮细胞 eNOS 活性、增加 NO 生成改善血管内皮功能。

脂联素与其内皮细胞膜上的受体 AdipoR1 和 R2 结合后,内皮细胞内的衔接蛋白 APPL1 作为信

号分子以其-COOH 末端与两种受体位于细胞内的尾端发生互动^[17],腺苷一磷酸激活的蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)磷酸化,进一步经直接、间接两条途径引起 eNOS 磷酸化、NO 生成增加,进而舒张血管、抑制炎症信号激活^[14]。脂联素诱导 AMPK Thr172 磷酸化^[2,13],引起 eNOS Ser633、Ser1177 磷酸化,直接激活 eNOS,使内皮细胞释放 NO 增加,这其中 AMPK 对 Ser633 和 Ser1177 的作用是相当的^[18];同时,脂联素诱导 AMPK 磷酸化后进一步激活磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B(phosphatidylinositol 3 kinase-protein kinase B, PI3-Akt)信号通路,刺激热休克蛋白 90(heat shock protein 90, HSP90)同 eNOS 绑定^[19],间接上调 eNOS 活性,增加内皮细胞释放 NO。后一途径尤其与抑制高血糖损伤内皮功能有关,因高血糖阻止 HSP90 与 eNOS 关联^[20]。此外,脂联素还可抑制肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)诱导生成一种内源性一氧化氮合酶竞争性抑制剂非对称二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, AD-MA)^[21]。

2.2 抑制内皮细胞氧化应激反应,降低细胞损伤程度

糖尿病患者持续高血糖水平是导致其发生心血管并发症的关键因素,高血糖引起的活性氧过量生成可直接降低 eNOS 活性达 65%^[22],进而导致 NO 生成减少、血管内皮功能障碍。2 型糖尿病合并冠心病患者血清脂联素与氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)水平呈负相关,血清脂联素降低时血管氧化反应加剧^[23]。gp91phox 作为烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase, NADPH oxidase)的亚单位,其与活性氧在 APN^{-/-}小鼠体内水平均显著升高,将 APN^{-/-}小鼠动脉血管环同钛试剂进行孵育,降低其活性氧含量,结果显示动脉血管环对乙酰胆碱的反应显著改善^[1]。故脂联素改善内皮细胞功能还涉及其对氧化应激反应的抑制作用。

高血糖和高血脂均可提高 NADPH 氧化酶活性,进而使活性氧生成增多^[24,25],而脂联素可降低 ApoE^{-/-}小鼠血凝素样 ox-LDL 受体 1(lectin-like ox-LDL receptor-1, LOX-1)的表达水平,抑制 ox-LDL 在 ApoE^{-/-}小鼠主动脉的沉积^[3],进一步抑制高糖或 ox-LDL 刺激内皮细胞过量生成活性氧^[14,26];高脂血症或心肌缺血再灌注时,NOx 的生成较对照组反而显著升高,系因 iNOS 活性发生了诱导性上调,但随之发生的是在 NADPH 氧化酶的影响下 NO 与氧自

由基以 $5 \times 10^9 \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ 的高速发生反应^[27], 形成过氧亚硝酸自由基造成细胞损伤^[5,16], 进而引起动脉粥样硬化^[28]。脂联素可抑制 iNOS 和 gp91phox 活性, 减少活性氧生成, 从而减轻机体的氧化/硝化负担, 减少 NO 失活^[5,16]。研究显示, 脂联素不但纠正高脂血症时下调的 eNOS 活性达 83%, 还可同时抑制上调的 iNOS 活性达 70%, 其对两种一氧化氮合成酶独特的双向调控作用对减轻机体的氧化/硝化负担、维护 NO 的生物活性意义重大^[16]。Goldstein 等^[29]推测, 在生理条件下, 脂联素通过增加 eNOS 磷酸化刺激 NO 生成进而发挥促进血管舒张、抗炎等血管保护作用; 在病理条件下, 另一种一氧化氮合成酶 iNOS 活性被诱导上调, 此时脂联素则主要通过抑制 iNOS 活性以阻止活性氧过量生成, 从而减轻机体氧化/硝化负担。

脂联素可呈剂量依赖性地抑制高血糖诱导的人脐静脉内皮细胞过氧化反应, 研究发现此效应伴有环腺苷一磷酸 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 和 cAMP 依赖性蛋白激酶 A (cyclic-AMP dependent protein kinase A, PKA) 水平的升高, 添加 PKA 抑制剂后脂联素的抗氧化能力显著下降^[26], 因此, cAMP-PKA 通路是脂联素于血管内皮细胞发挥抗氧化作用的主要途径。与介导脂联素促进 eNOS 磷酸化不同, AMPK 在脂联素的抗氧化作用中不再充当主要角色, 而是只对 cAMP-PKA 通路起协同作用^[26]。

脂联素通过 AMPK-eNOS 通路保持 NO 生物活性, 通过 cAMP-PKA 通路抑制活性氧生成, 至于两条通路之间是否存在交叉, 已发表的研究显示 PKA 可以磷酸化 AMPK 的上游激酶 LKB1, 进而激活 AMPK-eNOS 通路^[30]。

2.3 阻断内皮细胞炎症信号传导, 减轻血管炎症反应

血管炎症反应是代谢综合征引起器官损伤和慢性并发症的重要病理生理基础。胰岛素敏感性降低可使内皮细胞表达血管细胞黏附分子 1 (vascular cell adhesion molecule, VCAM-1) 增加, 促进单核细胞黏附于血管内皮细胞, 进而加速 APN^{-/-}小鼠的动脉粥样硬化进程^[31]。研究显示, 经补充球状区脂联素 (globular domain of adiponectin, gAd) 治疗, APN^{-/-}小鼠的微血管炎症反应程度显著降低^[32]。脂联素可以逆转 TNF- α 等细胞因子或高血糖在内皮细胞中激起“炎症信号瀑布”, 下调 E 选择素 (E-selectin)、细胞间黏附分子 1 (intracellular adhesion molecule, ICAM-1)、VCAM-1 在上述炎症刺激因素

作用下的过度表达^[33-35], 抑制 VCAM-1、清道夫受体 (scavenger receptors, SR) 在 ApoE^{-/-}小鼠体内的表达^[3], 从而阻止由此引发的单核细胞向血管壁浸润、形成泡沫细胞、启动动脉粥样硬化病理生理过程^[34,36]。

TNF- α 、ox-LDL 或高血糖经 IKK β -核因子 κ B (NF- κ B) 通路激活内皮细胞炎症信号, 而脂联素可降低 ApoE^{-/-}小鼠血浆 LOX-1 表达水平^[3], 经 cAMP-PKA 或 AMPK 途径抑制此通路上 IKK β 和 NF- κ B 的激活^[3,37], AMPK 尤其对因高血糖所激活的 IKK β -NF- κ B 通路的抑制作用较 cAMP-PKA 途径更明显^[38]。

3 前景与展望

现已逐渐证明, 脂联素既促进 NO 生成又可减轻机体氧化/硝化负担, 此双重作用^[16]彰显了脂联素改善内皮功能障碍的生物效应。在体外 2 mg/L 的脂联素可以提高肥胖或高脂血症小鼠的血管内皮 eNOS 磷酸化程度, 改善其内皮依赖性血管舒张功能障碍^[2,16]。gAd (100 nmol/L) 和 fAd (full-length adiponectin, 3 mg/L) 均可显著抑制高血糖 (25 mmol/L) 致牛主动脉内皮细胞产生 H₂O₂ (71% 和 64%, $P < 0.01$), 而不能影响 5 mmol/L 血糖水平时的 H₂O₂ 合成^[26]。APN^{-/-}小鼠补充人重组 gAd 后, 主动脉活性氧合成较补充安慰剂组 APN^{-/-}小鼠下降, eNOS 磷酸化程度增加, 对乙酰胆碱的反应恢复正常^[1], 高脂血症小鼠主动脉血管环的活性氧合成亦下降^[16]。gAd 可显著降低 APN^{-/-}小鼠的微血管炎症程度^[32]。因此, 可以设想利用脂联素改善代谢综合征患者血管内皮功能, 从而延缓其心血管并发症的发生发展。

综上所述, 血清脂联素水平与内皮依赖性血管舒张功能呈独立正相关, 并且是后者的独立决定因素; 脂联素可上调内皮细胞一氧化氮合成酶活性、增加一氧化氮生成, 抑制内皮细胞氧化应激反应、降低细胞损伤程度, 阻断内皮细胞炎症信号传导、减轻血管炎症反应, 因此有望利用其改善代谢综合征患者的血管内皮功能, 进而预防或延缓心血管疾病的发生发展, 然而补充脂联素是否可以减少心血管不良事件的发生有待动物实验初步探索。

[参考文献]

[1] Cao Y, Tao L, Yuan Y, et al. Endothelial dysfunction in adiponectin deficiency and its mechanisms involved [J]. J

- Mol Cell Cardiol, 2009, 46: 413-419.
- [2] Deng G, Long Y, Yu Y-R, et al. Adiponectin directly improves endothelial dysfunction in obese rats through the AMPK-eNOS pathway [J]. Int J Obesity, 2010, 34: 165-171.
- [3] Chen X, Zhang H, McAfee S, et al. The reciprocal relationship between adiponectin and LOX-1 in the regulation of endothelial dysfunction in ApoE knockout mice [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 299 (3): H605-H612.
- [4] Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, et al. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls [J]. Horm Metab Res, 2000, 32: 47-50.
- [5] Tao L, Gao E, Jiao X, et al. Adiponectin cardioprotection after myocardial ischemia/reperfusion involves the reduction of oxidative/nitrative stress [J]. Circulation, 2007, 115: 1408-416.
- [6] Masaki Nishimura, Yasuhiro Izumiya, Akiko Higuchi, et al. Adiponectin prevents cerebral ischemic injury through endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanisms [J]. Circulation, 2008, 117: 216-223.
- [7] Michio Shimabukuro, Namio Higa, Tomohiro Asahi, et al. Hypoadiponectinemia is closely linked to endothelial dysfunction in man [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88: 3236-240.
- [8] Noriyuki Ouchi, Mitsuru Ohishi, Shinji Kihara, et al. Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity [J]. Hypertension, 2003, 42: 231-234.
- [9] Tan KCB, Xu A, Chow WS, et al. Hypoadiponectinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89: 765-769.
- [10] 萧亚伟. 代谢综合征与冠心病患者颈动脉粥样硬化、血管内皮功能及血清脂联素水平相关性研究 [D]. 2007, 山东大学.
- [11] 张竹林. 脂联素、血管内皮功能与代谢综合征相关性研究 [D]. 2007, 山西医科大学.
- [12] Tsuchiya K, Akaza I, Yoshimoto T, et al. Pioglitazone improves endothelial function with increased adiponectin and high-density lipoprotein cholesterol levels in type 2 diabetes [J]. Endocr J, 2009, 56: 691-698.
- [13] Chen H, Montagnani M, Funahashi T, et al. Adiponectin stimulates production of nitric oxide in vascular endothelial cells [J]. J Biol Chem, 2003, 278: 45021-026.
- [14] Motoshima H, Wu X, Mahadev K, et al. Adiponectin suppresses proliferation and superoxide generation and enhances eNOS activity in endothelial cells treated with oxidized LDL [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 315: 264-271.
- [15] Hattori Y, Suzuki M, Hattori S, et al. Globular adiponectin upregulates nitric oxide production in vascular endothelial cells [J]. Diabetologia, 2003, 46: 1543-549.
- [16] Li R, Wang WQ, Zhang HF, et al. Adiponectin improves endothelial function in hyperlipidemic rats by reducing oxidative/nitrative stress and differential regulation of eNOS/iNOS activity [J]. Am J Physiol, 2007, 293: 1703-708.
- [17] Cheng KK, Lam KS, Wang Y, et al. Adiponectin-induced endothelial nitric oxide synthase activation and nitric oxide production are mediated by APPL1 in endothelial cells [J]. Diabetes, 2007, 56: 1387-394.
- [18] Chen Z, Peng IC, Sun W, et al. AMP-activated protein kinase functionally phosphorylates endothelial nitric oxide synthase Ser633 [J]. Circ Res, 2009, 104: 496-505.
- [19] Xi W, Satoh H, Kase H, et al. Stimulated HSP90 binding to eNOS and activation of the PI3-Akt pathway contribute to globular adiponectin-induced NO production: vasorelaxation in response to globular adiponectin [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 332: 200-205.
- [20] Stalker TJ, Skvarka CB, Scalia R. A novel role for calpains in the endothelial dysfunction of hyperglycemia [J]. FASEB J, 2003, 17: 1511-513.
- [21] Eid HM, Lyberg T, Arnesen H, et al. Insulin and adiponectin inhibit the TNFalpha-induced ADMA accumulation in human endothelial cells: the role of DDAH [J]. Atherosclerosis, 2006, 194 (2): e1-8.
- [22] Michael Brownlee. The pathobiology of diabetic complications [J]. Diabetes, 2005, 54: 1615-625.
- [23] Lautamaki R, Rissanen T, Huupponen R, et al. Low serum adiponectin is associated with high circulating oxidized low-density lipoprotein in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease [J]. Metabolism, 2007, 56: 881-886.
- [24] Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage [J]. Nature, 2000, 404: 787-790.
- [25] Mohazzab KM, Kaminski PM, Wolin MS. NADH oxidoreductase is a major source of superoxide anion in bovine coronary artery endothelium [J]. Am J Physiol, 1994, 266: H2568-572.
- [26] Ouedraogo R, Wu XD, Xu SQ, et al. Adiponectin suppression of high-glucose-induced reactive oxygen species in vascular endothelial cells: evidence for involvement of a cAMP signaling pathway [J]. Diabetes, 2006, 55: 1840-846.
- [27] Koppenol WH. The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite [J]. Free Radic Biol Med, 1998, 25: 385-391.
- [28] Beckmann JS, Ye YZ, Anderson PG, et al. Extensive nitration of protein tyrosines in human atherosclerosis detected

- ted by immunohistochemistry [J]. *Biol Chem Hoppe Seyler*, 1994, 375: 81-88.
- [29] Goldstein BJ, Scalia RG, Ma XL. Protective vascular and myocardial effects of adiponectin [J]. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2009, 6: 27-35.
- [30] Collins SP, Reoma JL, Gamm DM, et al. LKB1, a novel serine/threonine protein kinase and potential tumour suppressor, is phosphorylated by cAMP-dependent protein kinase (PKA) and prenylated in vivo [J]. *Biochem J*, 2000, 345: 673-680.
- [31] Rask-Madsen C, Li Q, Freund B, et al. Loss of insulin signaling in vascular endothelial cells accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E null mice [J]. *Cell Metab*, 2010, 11 (5): 379-389.
- [32] Zhu W, Cheng KK, Vanhoutte PM, et al. Vascular effects of adiponectin: molecular mechanisms and potential therapeutic intervention [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2008, 114: 361-374.
- [33] Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Circulation*, 2002, 106: 2 767-770.
- [34] Ouedraogo R, Gong Y, Berzins B, et al. Adiponectin deficiency increases leukocyte-endothelium interactions via upregulation of endothelial cell adhesion molecules in vivo [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117: 1 718-726.
- [35] Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin [J]. *Circulation*, 1999, 100: 2 473-476.
- [36] Goldstein BJ, Scalia R. Adipokines and vascular disease in diabetes [J]. *Curr Diab Rep*, 2007, 7: 25-33.
- [37] Ouchi N, Kihara S, Arita Y, et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway [J]. *Circulation*, 2000, 102: 1 296-301.
- [38] Wu X, Mahadev K, Fuchsel L, et al. Adiponectin suppresses IkappaB kinase activation induced by tumor necrosis factor-alpha or high glucose in endothelial cells: role of cAMP and AMP kinase signaling [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293: E1 836-844.

(此文编辑 许雪梅)