

抗器官纤维化短肽——AcSDKP 对心脏纤维化的作用及其研究进展

李淑钰, 于婉莹 综述, 杨方 审校

(河北联合大学医学实验研究中心, 河北省唐山市 063000)

[关键词] N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸; 心脏纤维化; 转化生长因子 $\beta 1$; 血小板源性生长因子

[摘要] N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸(AcSDKP)是一种具有抗器官纤维化作用的由四个氨基酸构成的短肽。正常生理状态下,存在于人的血浆和淋巴系统内。近年研究发现 AcSDKP 能够抑制诸多器官如心、肺、肾、肝的纤维化。其中可以抑制器官内的靶细胞(如心脏成纤维细胞、肺成纤维细胞、肾小球系膜细胞和肝星状细胞)的增殖和胶原蛋白的合成或表达,通过信号转导系统的调节抑制靶器官内胶原的沉积,减轻致病因素导致的器官纤维化的程度。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect and Progress of Antifibrotic Tetrapeptide——N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline on Inhibition of Heart Fibrosis

LI Shu-Yu, YU Wan-Ying, and YANG Fang

(Medical Research Center in Hebei United University, Tangshan, Hebei 063000, China)

[KEY WORDS] N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline; Heart Fibrosis; Transforming Growth Factor- $\beta 1$; Platelet Derived Growth Factor

[ABSTRACT] N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline (AcSDKP) is a kind of anti-fibrosis effects of short peptides, which is normally present in human plasma and circulating mononuclear cells. Recent studies found that AcSDKP was involved in some organ's fibrosis, such as heart, lung, kidney and liver. AcSDKP could inhibit the target cells such as cardiac fibroblasts, lung fibroblasts, glomerular mesangial cells and hepatic stellate cells proliferation and collagen synthesis and expression. Through a variety of mechanisms including extracellular signal transduction AcSDKP can inhibit a target organ within the collagen deposition and reduce the causative factors leading to organ fibrosis.

N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸(N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline, AcSDKP)是由四个氨基酸构成的短肽,分子量为 487.51 kDa。它首先合成、贮存于骨髓当中,然后缓慢且持续地释放到血液当中,分布到肾脏、心脏、睾丸等特定的组织器官中。AcSDKP 的前体是胸腺素 $\beta 4$ (T $\beta 4$)。

胸腺素 $\beta 4$ 是哺乳动物的内肽。Asp-N 可以将 T $\beta 4$ Pro-5Asp 之间的肽键打开而生成 AcSDKP^[1]。同时,赖氨酸寡肽酶(POP)也可以通过水解胸腺素

$\beta 4$ 生成 AcSDKP^[2]。在正常生理情况下,AcSDKP 存在于人的血浆和淋巴系统内。它最早由 Frindel 等于 1977 年首次从胎牛骨髓中提取出来,并证实了是一种具有生理性造血系统的生长抑制因子,能够抑制原始造血干细胞的增殖。近年研究发现,AcSDKP 对非造血系统的细胞也有生长抑制作用。在体内许多器官,尤其是心血管系统,AcSDKP 参与了肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)活性的调节,AcSDKP 具有类似血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)

[收稿日期] 2011-12-23

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助(81072254);河北省自然科学基金项目资助(C2011401024)

[作者简介] 李淑钰,硕士研究生,从事器官纤维化防治研究,E-mail 为 2509008096@qq.com。于婉莹,硕士研究生,从事器官纤维化防治研究,E-mail 为 527483519@qq.com。通讯作者杨方,主任医师,教授,博士研究生导师,从事心血管疾病防治研究,E-mail 为 fangyang02@sohu.com。

的作用。在其基础分泌水平,就有抑制器官内胶原聚集的生理功能^[3]。AcSDKP 在体内可被血管紧张素转化酶 (ACE) 迅速降解。

近年来动物的体内外实验研究发现, AcSDKP 具有抗感染及抗器官纤维化的作用。在诸多器官纤维化动物模型中(如高血压^[4]心肌梗死^[5]、糖尿病肾病^[6]、博莱霉素诱导的间质性肺病^[7]、矽肺纤维化^[8]、四氯化碳诱导的肝损害^[9]), AcSDKP 均能够抑制靶器官(心、肾、肺、肝)胶原的沉积,减轻致病因素导致的器官纤维化的程度。体外实验也证实, AcSDKP 能够抑制靶细胞(如心脏成纤维细胞、肺成纤维细胞、肾小球系膜细胞等)的增殖和胶原蛋白的合成或表达^[10-12]。因此, AcSDKP 有望成为抗器官纤维化的新药。现就其对心脏纤维化的作用与可能机制作一概述。

心脏纤维化是一些心血管疾病(如高血压、心肌梗死等)发生、发展阶段中重要的病理过程,是导致临床患者心脏功能失调的重要因素。心脏间质成纤维细胞的增殖,进而合成、分泌大量的细胞外基质是心脏纤维化形成过程中的关键环节。研究表明,应用 AcSDKP 给予大鼠心肌梗死后心脏纤维化治疗时(包括预防治疗和抗纤维化治疗), AcSDKP 具有较好的防治大鼠心肌梗死后心脏纤维化的疗效^[5]。在动物模型中, AcSDKP 能够减小醛固酮-高盐诱导的高血压后大鼠心脏纤维化的程度^[4]。AcSDKP 还能够减轻由 Galectin-3 诱导的大鼠心肌梗大与心脏结构的重构^[5]。这些结果表明, AcSDKP 是一个心脏纤维化的强效负性调节因子。其抑制心脏纤维化作用的机制包括以下几方面。

1 N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸对致纤维化细胞因子的调节与胶原代谢的调控作用

一些致纤维化性细胞因子,如转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 和血小板源性生长因子 (PDGF)^[13], 可以刺激靶细胞的分裂、增殖,并促进胶原的合成;基质金属蛋白酶 (MMP) 是一类含锌的可降解细胞外基质中多种蛋白成份的内肽酶家族,其细胞来源极其丰富^[14];它们在纤维化疾病形成过程中都起着重要的作用。朱曦龄^[10]、吴芳等^[11]采用了 MTT 和 ^3H -TdR 摄入等方法,从细胞代谢活性与 DNA 合成的双重角度证实了 PDGF 和 TGF- $\beta 1$ 对心脏成纤维细胞增殖具有较强的促进作用。同时采用 ^3H -脯氨酸掺入法和免疫印迹法证实了两者还能促进心脏成纤

维细胞胶原蛋白的合成以及 I 型与 III 型胶原蛋白的表达。其中,两种因子在促进细胞增殖与胶原合成时均具有一定的剂量依赖性。显然,抑制细胞因子刺激靶细胞增殖与胶原蛋白合成在拮抗心脏纤维化发生、进展过程中起着极为关键的作用。

1.1 N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸对细胞因子及其胶原合成的调控作用

Rhaleb 等^[15]通过 ^3H -TdR 掺入、 ^3H 脯氨酸掺入和羟脯氨酸掺入等方法,证实了 AcSDKP 对培养的成年大鼠心脏成纤维细胞增殖及胶原合成有抑制作用,且抑制 DNA 合成的效应呈剂量依赖性,在 10^{-9} mol/L 时 AcSDKP 的抑制效应最强。同时, 10^{-9} mol/L 的 AcSDKP 也能够显著性抑制由内皮素 1 刺激的心脏成纤维细胞胶原蛋白的合成。朱曦龄^[10]、吴芳^[11]等在实验中也发现,当用 PDGF 与 TGF- $\beta 1$ 刺激心脏成纤维细胞胶原合成的同时给予 AcSDKP,不同浓度的 AcSDKP 均能够减低 PDGF 和 TGF $\beta 1$ 介导的成纤维细胞 ^3H -脯氨酸的掺入量,并具有一定的剂量依赖性,表明 AcSDKP 能够抑制成纤维细胞总胶原蛋白的合成。同时,还证实了 AcSDKP 还能明显下调 PDGF 与 TGF $\beta 1$ 介导的心脏成纤维细胞 I 型和 III 型胶原在蛋白水平的表达。这一结果提示, AcSDKP 的抗心脏纤维化的作用与其抑制细胞因子介导的心脏成纤维细胞胶原蛋白的合成,包括对 I 型和 III 型胶原蛋白表达水平的调节密切相关。在动物体内, AcSDKP 可以减少心肌梗死^[5]、高血压^[4]和半乳糖凝集素诱导的心肌肥大^[5],大鼠左心室内单核巨噬细胞的浸润和细胞因子 TGF- β 蛋白的表达,同时,抑制了左心室血管周围和心肌细胞周围胶原的集聚,提示 AcSDKP 抗感染和抑制细胞因子的活性或释放可能是减少心肌间质胶原沉积的重要环节。体内外实验均表明, AcSDKP 通过对相应细胞因子的调控作用在抑制细胞外基质合成的方面具有重要意义。

1.2 N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸对细胞因子及其胶原降解的调控作用

在心脏纤维化形成、发展过程中,基质金属蛋白酶 (MMP) 起着重要的调节作用。MMP 能特异性降解细胞外基质,同时 MMP 又为其组织抑制剂 (TIMP) 等所调控, MMP/TIMP 比例失调是导致心肌纤维化的重要原因^[16]。在高血压、心肌梗死引起的心脏纤维化(尤其是早期阶段), MMP 的活性或表达往往增高;甘天翊等^[17]发现心房肌组织中 MMP1/TIMP1 以及 MMP9/TIMP1 的 mRNA 表达水平失衡引起 I 型胶原转录水平的改变,是瓣膜病慢性

房颤患者心房肌间质纤维化的分子基础。机体具有维持细胞外基质(包括胶原)代谢平衡的自我调节方式,而细胞因子在代谢调节过程中发挥着重要作用。杨方等^[18]研究显示,PDGF 在刺激心脏成纤维细胞增殖、胶原(包括 I 型与 III 型胶原)合成的同时,还增加了 MMP-2、MMP-9 活性及 MMP-1 蛋白表达,这与体内纤维化发生过程中的变化规律相近。这一结果提示,PDGF 在刺激心脏成纤维细胞细胞外基质合成的同时,也通过增加 MMP 活性或表达促进了细胞外基质的降解以维持细胞外基质代谢的平衡。而当给予 AcSDKP 进行干预时,MMP-2、MMP-9 活性及 MMP-1 蛋白表达进一步上调,提示 AcSDKP 的作用是在 PDGF 作用的基础上更利于降解心脏成纤维细胞所生成过多的细胞外基质。杨方等^[18]证明在 0.4% 血清基础培养条件下,TGF- β 1 的诱导刺激了心脏成纤维细胞 I 型与 III 型胶原的表达,同时促进了 TIMP-1 表达,下调 MMP-1 表达,使 MMP-1/TIMP-1 值下降,造成基质降解减少和胶原降解不平衡,加重纤维化的程度。而 AcSDKP 可抑制由 TGF- β 1 诱导的 MMP-1 表达下调,使 MMP-1 水平上升,而对 TIMP-1 表达无明显影响,MMP-1/TIMP-1 值上升,这样就调节了 TGF- β 1 诱导的不平衡,促进胶原的降解。AcSDKP 对 MMP/TIMP 系统的这种调节作用进一步证实其防治心肌纤维化的作用。从对调节细胞因子诱导细胞外基质降解的角度提示了 AcSDKP 抗心脏纤维化作用的又一重要调控环节。

2 N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸对细胞外信号转导通路调节在抑制心脏纤维化形成中的调控作用

心脏纤维化中细胞增殖及胶原聚集涉及多条不同的信号转导途径,其中 MAPK 及 Smad 是其中两大主要信号传导通路。

2.1 N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸对 MAPK 信号通路的调节

Rhaleb 等^[15]的实验表明 AcSDKP 能降低血清刺激的心脏成纤维细胞丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)活性,提示 AcSDKP 在调节心脏成纤维细胞增殖及细胞外基质形成过程中的作用可能与 MAPK 信号转导途径相关。张丽娟等^[19]证实用 10^{-9} mol/L AcSDKP 能够抑制 PDGF 诱导的大鼠心脏成纤维细胞代谢活性,减少了细胞由 G₁ 期向 S 期的转化,细胞增殖指数下降,I 型、III 型胶原表达下

调。同时信号转导通路中的重要调节蛋白,细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2)的表达也被下调,这与 ERK1/2 上游激酶 MEK1 特异性阻断剂 PD98059 作用相同。推论 AcSDKP 能够通过阻断 PDGF 介导的 ERK1/2 通路的激活进而抑制大鼠心脏成纤维细胞增殖和胶原蛋白表达。有报道,一些细胞因子可通过 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号转导途径调节细胞的增殖和细胞外基质的合成。张晓明等^[20]发现,当应用 AcSDKP 预处理心脏成纤维细胞后再给予 PDGF 刺激,细胞的增殖与 I 型、III 型胶原表达较 PDGF 诱导刺激时明显下调,同时磷酸化-JNK 蛋白的表达减少,这一结果与抑制的程度与 JNK 通路特异性阻断剂 SP600125 的作用效果相同。表明 AcSDKP 能够通过阻断 JNK 通路的活化进而抑制心脏成纤维细胞的增殖和胶原的合成。

2.2 N-乙酰基-丝氨酸-天门冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸对 Smad 信号通路的调节

Kanasaki 等^[21,22]体外实验探讨了 AcSDKP 对 TGF- β 介导的肾小球系膜细胞增殖及分泌的作用,发现 AcSDKP 能抑制 TGF- β 诱导的 Smad2 磷酸化,使 Smad7 的负反馈调节作用加强,TGF- β 转导通路的信号减弱,从而使 TGF- β 诱导的靶基因 PAI-1、I 型胶原 mRNA 表达也因此减弱。张祖隆^[23]等体内实验证明了 AcSDKP 通过增加 Smad7 蛋白的表达抑制 TGF- β 1 信号转导,发挥抗大鼠肾间质纤维化的作用。Peng 等^[24]人在 AcSDKP 抑制人体心脏成纤维细胞转化成肌成纤维细胞方面得到了相同结果。Yunhe 等^[14]在 Galectin-3 诱导的大鼠心肌肥大模型中发现,AcSDKP 抑制心脏间质血管周围和心肌间质周围胶原聚集的作用与其减少了 TGF- β 诱导的磷酸化-Smad3 的表达而阻断了 Smad 信号转导通路密切相关。表明 AcSDKP 亦可通过调节 Samd 的信号转导通路,抑制细胞因子作用诱导的心脏纤维化。

显然,AcSDKP 抑制心脏纤维化的作用可能是通过对多条信号转导通路(如 Smad 和 MAPK 等)的调节来实现的。然而,这些通路间的相互关系(包括通路间的串话现象)以及它们在 AcSDKP 抑制心脏纤维化中的相互作用将有待进一步探讨。

3 小结与展望

AcSDKP 能够通过抑制心脏间质细胞增殖、减少胶原合成和促进胶原降解,并通过多条信号转导通路的调节减轻器官纤维化程度。AcSDKP 具有类似 ACEI 的作用。AcSDKP 是由四个氨基酸构成的

抗纤维化短肽,易于合成和修饰,通过进一步深入的研究有望使之成为一种新型的拮抗器官纤维化(包括心脏纤维化)的药物。

[参考文献]

- [1] Grillon C, Rieger K, Bakala J, et al. Involvement of the tetrapeptide AcSerAspLysPro a regulator of the hematopoietic system[J]. FEBS-Lett, 1990, 274(1-2): 30-34.
- [2] Cavasin MA, Rhaleb NE, Yang XP, et al. Prolyl oligopeptidase is involved in release of the antifibrotic peptide Ac-SDKP[J]. Hypertension, 2004, 43(5): 1 140-145.
- [3] Cavasin MA, Liao TD, Yang XP, et al. Decreased endogenous levels of Ac-SDKP promote organ fibrosis[J]. Hypertension, 2007, 50(1): 130-136.
- [4] Zhuo JL, Carretero OA, Peng H, et al. Characterization and localization of Ac-SDKP receptor binding sites using ¹²⁵I-labeled Hpp-Aca-SDKP in rat cardiac fibroblasts[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 92(2): H984-993.
- [5] Liu YH, D'Ambrosio M, Liao TD, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline prevents cardiac remodeling and dysfunction induced by galectin-3, a mammalian adhesion/growth-regulatory lectin[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 296(2): H404-412.
- [6] Omata M, Taniguchi H, Koya D, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline ameliorates the progression of renal dysfunction and fibrosis in WKY rats with established anti-glomerular basement membrane nephritis[J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(3): 674-685.
- [7] Li P, Xiao HD, Xu J, et al. Angiotensin-converting enzyme N-terminal inactivation alleviates bleomycin-induced lung injury[J]. Am J Pathol, 2010, 177(3): 1 113-121.
- [8] Ying Sun, Fang Yang, Jingbo Yan, et al. New anti-fibrotic mechanisms of n-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline in silicon dioxide-induced silicosis[J]. Life Sciences, 2010, 87(7-8): 232-239.
- [9] Chen YW, Liu BW, Zhang YJ, et al. Preservation of basal AcSDKP attenuates carbon tetrachloride-induced fibrosis in the rat liver[J]. J Hepatol, 2010, 53(3): 528-536.
- [10] 朱曦龄, 王丽平, 杨方, 等. AcSDKP对PDGF诱导的大鼠心脏成纤维细胞增殖和胶原合成的调节作用[J]. 中国应用生理学杂志, 2007, 23(1): 66-69.
- [11] 吴芳, 杨方, 王小君, 等. AcSDKP对TGF-β1诱导的大鼠心脏成纤维细胞胶原蛋白合成及表达的调节作用[J]. 解剖学报, 2007, 38(6): 708-712.
- [12] 程华, 徐洪, 袁媛, 等. N-乙酰基-丝氨酸-天门冬酰-赖氨酸-脯氨酸对P38分裂原活化蛋白酶通路调节在

肺成纤维细胞胶原合成中的作用[J]. 解剖学杂志, 2011, 34(4): 429-432.

- [13] 郭素芬, 杨向红. bFGF和PDGF-BB对内皮祖细胞分化的内皮样细胞和平滑肌样细胞增殖和迁移的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 19(9): 753-754.
- [14] 范林, 吴黎明. 基质金属蛋白酶及心肌缺血再灌注损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2004, 12(3): 357-359.
- [15] Rhaleb NE, Peng H, Harding P, et al. Effect of N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline on DNA and collagen synthesis in rat cardiac fibroblasts[J]. Hypertension, 2001, 37(3): 827-832.
- [16] 杨方, 朱曦龄, 王丽平, 等. 抗纤维化短肽-AcSDKP对心脏成纤维细胞胶原合成与降解的调节作用[J]. 中华心血管病杂志, 2006, 34(9): 843-846.
- [17] 甘天翊, 许国军, 汤宝鹏, 等. 心脏瓣膜病房颤患者左右心房纤维化机制比较[J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20(3): 395-399.
- [18] 杨方, 马文东, 罗玲, 等. N-乙酰基-丝氨酸-天门冬酰-赖氨酸-脯氨酸对转化生长因子-β1介导的心脏成纤维细胞胶原代谢的调节作用[J]. 中国循证医学杂志, 2009, 1(3): 173-176.
- [19] 张丽娟, 马文东, 杨嫣, 等. 细胞外信号调节激酶1/2在抗纤维化短肽AcSDKP调节大鼠心脏成纤维细胞增殖和胶原表达中的作用[J]. 中华心血管病杂志, 2008, 36(5): 444-448.
- [20] 张晓明, 罗玲, 杨林, 等. N-乙酰基-丝氨酸-天门冬酰-赖氨酸-脯氨酸对大鼠心脏成纤维细胞c-Jun氨基末端激酶通路活化的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(6): 437-440.
- [21] Kanasaki K, Haneda M, Sugimoto T, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline inhibits DNA synthesis in human mesangial cells via up-regulation of cell cycle modulators[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 342(3): 758-765.
- [22] Kanasaki K, Koya D, Sugimoto T, et al. N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline inhibits TGF-beta-mediated plasminogen activator expression via inhibition of smad pathway in human mesangial cells[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(4): 863-872.
- [23] 张祖隆, 熊世红. AcSDKP抗肾间质纤维化作用及对TGF-β1、Smad7表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(19): 2 236-242.
- [24] Peng H, Carretero OA, Peterson EL, et al. Ac-SDKP inhibits transforming growth factor-beta1-induced differentiation of human cardiac fibroblasts into myofibroblasts[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(5): H 1 357-364.

(此文编辑 李小玲)