

二甲双胍对 2 型糖尿病大血管病变的保护作用机制

陈丽莉 综述, 周亚茹 审校

(河北医科大学第三医院内分泌科 河北省骨科生物力学重点实验室, 河北省石家庄市 050051)

[关键词] 二甲双胍; 2 型糖尿病; 血管内皮; SIRT1

[摘要] 糖尿病大血管病变, 尤其是心血管病变是 2 型糖尿病患者死亡的首要原因。现有研究证明, 二甲双胍除降糖作用外, 还有抗炎、抗氧化应激、改善血管内皮、改善生物钟功能等作用, 因此, 二甲双胍对 T2DM 大血管病变具有保护作用, 且该作用独立于其降血糖作用之外。本文就二甲双胍对 T2DM 大血管病变的保护作用机制做一综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effect of Metformin on the Macrovascular Complications of Type 2 Diabetes

CHEN Li-Li, and ZHOU Ya-Ru

(Department of Endocrinology, the Third Hospital of Hebei Medical University, Key Laboratory of Orthopedic Biomechanics of Hebei Province, Shijiazhuang 050051, China)

[KEY WORDS] Metformin; T2DM; Vascular Endothelial; SIRT1

[ABSTRACT] Diabetic vascular disease, especially cardiovascular disease is the leading cause of death in patients with Type 2 diabetes mellitus (T2DM). It has been shown that metformin goes beyond mere glycemic control, increasing insulin sensitivity. Moreover, metformin can decrease markers of inflammation, contribute to the reduction of oxidative stress, improve vascular endothelial and clock function. Therefore, metformin may have protective effect on diabetic macrovascular complication, which is independent of its hypoglycemic effect.

糖尿病大血管病变, 特别是心血管疾病是 2 型糖尿病 (T2DM) 患者死亡的首要原因。与非 T2DM 患者相比, T2DM 患者发生心血管事件的危险性增加 2-4 倍^[1]。二甲双胍属双胍类药物, 作为口服降糖药应用于 T2DM 已有 50 年的历程, 二甲双胍主要通过减少肝脏葡萄糖输出、增强外周组织 (骨骼肌和脂肪组织) 对葡萄糖的摄取、减少小肠对葡萄糖的吸收发挥降糖作用。现有研究认为, 有效地控制血糖可延缓但不能防止 T2DM 患者大血管并发症的发生, 这可能与 T2DM 患者常合并血脂异常、高血压, 存在氧化应激、凝血及纤溶系统紊乱等因素有关^[2]。越来越多的证据表明, 二甲双胍能抑制氧化应激和粘附分子的形成, 能够抗炎、改善血管内皮功能并激活纤溶系统、改善生物钟功能, 具有降糖以外的大血管保护作用^[3-5]。

1 二甲双胍与炎症反应

炎症反应参与 T2DM 和动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的发生。二甲双胍可降低 T2DM 患者血清中可溶性细胞间黏附分子 1 (ICAM-1)、血管细胞黏附分子 1 (VCAM-1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和 E-选择素等炎症介质水平, 而这种作用与血糖控制水平无关^[4]。

核因子 κ B (NF- κ B) 是一种调控基因转录的重要因子, NF- κ B 的 p65 亚基 (核转移信号部位) 与其抑制蛋白 I κ Bs 结合后, 因掩盖了 NF- κ B 的核转移信号部位, 故而以非活化方式存在于细胞质中, 并阻止 NF- κ B 进入细胞核与核内特异的 DNA 结合。氧化应激反应、糖基化终产物 (advanced glycation end products, AGE)、ox-LDL 等均能激活 NF- κ B, NF- κ B 的活化可导致其下游炎症因子的产生和释放增加, 从而引起炎症反应。

[收稿日期] 2013-07-07

[基金项目] 中华医学会临床科研专项资金 (0901022017)

[作者简介] 陈丽莉, 硕士研究生, 从事糖尿病并发症发病机制及干预研究, E-mail 为 chenlily163@163.com。通讯作者周亚茹, E-mail 为 lzhouyaru@gmail.com。

二甲双胍呈剂量依赖性地抑制血管平滑肌细胞(VSMC)IL-1 β 的诱导活化及NF- κ B的核易位,减少人血管内皮细胞、VSMC和巨噬细胞中IL-1 β 诱导的炎症因子(IL-6和IL-8)释放,降低IL-1 β 诱导的NF- κ B p65蛋白磷酸化、抑制I κ B α 的降解,并抑制IL-1 β 诱导的促炎蛋白Akt、p38MAPK及ERK激活^[6],但二甲双胍不影响PI3K的活性,表明二甲双胍通过作用于PI3K的下游,抑制NF- κ B的活性,发挥抗炎作用。既往研究观察到^[7],高浓度葡萄糖(30 mmol/L)可使人脐静脉内皮细胞(HUVEC)PI3K激活,导致其下游的Akt发生磷酸化,NF- κ B活化。采用二甲双胍(20 μ mol/L)对高糖(30 mmol/L)培养的血管内皮细胞进行1小时的预处理,结果显示,二甲双胍作用后的血管内皮细胞Akt磷酸化的达峰时间(30 min)比IL-1 β 刺激后的达峰时间(10 min)延迟,30、60 min的Akt磷酸化水平较对照组显著减少($P < 0.05$),表明二甲双胍通过阻断PI3K-Akt通路来抑制NF- κ B的活化,对血管内皮细胞发挥抗炎作用,从而降低炎症性心血管疾病的发生发展。

2 二甲双胍与血管内皮功能

血管内皮功能障碍是As血管并发症的始动环节,二甲双胍可抑制As病变的早期改变:包括减少血管内皮的单核细胞和白细胞的粘附、抑制单核细胞向巨噬细胞的分化、抑制泡沫细胞的形成和减少VSMC的增殖等^[8]。单磷酸腺苷激活蛋白激酶(AMP activated kinase, AMPK)是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是重要的细胞能量传感器。二甲双胍可通过激活血管内皮细胞AMPK通路,发挥调节内皮一氧化碳合酶(eNOS)活性,促进NO产生,改善血管内皮功能的作用^[9]。卫曼曼等^[5]研究认为,二甲双胍通过激活AMPK通路,使NO生成增加,改善人脐静脉内皮细胞功能,从而起到抗As的作用。

Zhang等^[10]将原发性高血压患者随机分为原发性高血压组、原发性高血压接受单剂量二甲双胍(500 mg/d)治疗组,以健康志愿者作为对照组,观察高血压患者在急性糖负荷后内皮依赖性血管舒张功能、血清抗氧化物质的动态变化,以及二甲双胍对血管内皮功能的影响。结果显示,单剂量二甲双胍可以通过恢复机体抗氧化能力、降低游离脂肪酸水平,改善葡萄糖负荷对原发性高血压患者血管内皮功能的影响。

3 二甲双胍与SIRT1、生物钟功能

肥胖、脂代谢异常是T2DM和冠心病的重要危

险因素,因此,T2DM患者减肥、改善血脂对于减少心血管疾病有重要意义。现有研究认为,正常的生物钟功能可调节代谢的昼夜节律变化,生物钟紊乱可导致物质能量代谢紊乱,是肥胖等代谢性疾病发病的危险因素。沉默信息调节因子1(SIRT1)是一种依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)的组蛋白去乙酰化酶,是酵母沉默信息调节因子Sir2的同源基因,它能感知环境营养信号的变化,并将其与动物代谢的稳态相联系。

SIRT1与肝糖异生、白色脂肪组织(WAT)的脂肪动员有关,SIRT1可通过调节肝脏脂肪酸氧化及摄食中枢等影响脂代谢和肥胖的发生^[11]。肥胖和胰岛素抵抗患者脂肪组织的SIRT1 mRNA表达水平明显减少^[12]。增加细胞内NAD⁺/NADH比例,可增强SIRT1蛋白的活性,有助于维持生物钟的昼夜节律,对预防和治疗生物钟紊乱引起的脂质代谢相关疾病具有重要作用;SIRT1激动剂可改善DM肥胖大鼠的胰岛素敏感性,从而降低血糖^[13-14]。

与对照组相比,肥胖db/db小鼠和高脂饮食饲养(HFD)的C56BL/6小鼠WAT中AMPK活性、尼克酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)和SIRT1的蛋白表达水平、CLOCK mRNA及蛋白表达水平均显著降低,血脂水平及体重增加。此外,与对照组相比,db/db小鼠WAT的脂肪生成抑制因子3(Irf3)和Irf4 mRNA表达分别下降33%、25%,db/db小鼠WAT的CLOCK转录因子表达降低与Irf3和Irf4 mRNA表达降低有关^[15]。瘦素(leptin)和脂联素(adiponectin)可激活AMPK。db/db小鼠存在Leptin受体功能受损^[16]。db/db小鼠WAT的Leptin mRNA表达明显增加,提示可能存在瘦素抵抗现象;此外他们还发现,db/db小鼠WAT的脂联素(Adipoq)和其受体2(AdipoR2)基因表达分别下降58%、28%,而Adipo受体1(AdipoR1)的基因表达无改变,提示白色脂肪组织中AMPK活性的减少,可能与Leptin和AdipoR2导致的脂肪因子自分泌功能损伤有关^[15]。采用二甲双胍进行干预治疗(db/db小鼠:250mg/kg/day,共7天;3T3-L1脂肪细胞:2 mmol/L孵育24 h),发现二甲双胍可增加db/db小鼠WAT和3T3-L1脂肪细胞中AMPK的活性,增加NAMPT、SIRT1和CLOCK mRNA的表达,降低血脂、体重、空腹血糖及空腹胰岛素水平^[15]。而二甲双胍介导的脂肪细胞CLOCK mRNA表达增加可被SIRT1和NAMPT的抑制剂EX527、FK866所阻断。该研究表明,db/db和HFD小鼠AMPK-SIRT1信号的下调影响了WAT昼夜节律功能,导致血脂异常,

从而启动肥胖表型。二甲双胍通过上调 AMPK-NAMPT-SIRT1 蛋白表达,改变 CLOCK 组件及脂质堆积的表型。

近年发现 SIRT1 还与 DM、As 密切相关。Zhang 等^[17]研究发现,血管内皮 SIRT1 特异性高表达,可阻止 ApoE^{-/-}小鼠 As 的发生,该作用可能与 SIRT1 促进内皮细胞存活、延迟细胞寿命及功能的改善等有关。国内朱玉研究发现^[18],与正常大鼠相比,T2DM 大鼠腹主动脉 SIRT1 mRNA 的表达降低,提示 SIRT1 表达降低可能参与了 T2DM 大鼠 As 的发生、发展。T2DM 组大鼠应用二甲双胍(3 mg/kg,灌胃)干预 12 周后,其腹主动脉 SIRT1 mRNA 的表达水平较未干预组明显升高,表明二甲双胍可通过升高 SIRT1 mRNA 的表达发挥糖尿病大血管的保护作用。因此,SIRT1 在 DM 动脉粥样硬化中具有潜在治疗价值。

4 二甲双胍与血管舒缩功能

VSMC 的正常收缩、舒张功能是维持正常血管内压力所必需的。血管收缩是全身血液流量调节的一个关键机制。肝激酶 B1 (LKB1)-AMPK 通路激活参与了血管舒张。Sung 等^[19]观察到,二甲双胍可减弱去甲肾上腺素(PE)诱导的大鼠主动脉环收缩,为明确 AMPK 在其中的作用,他们加入 AMPK 抑制剂复合物 C(10 μmol/L)进行离体灌注,结果显示,与二甲双胍干预后相比,加入复合物 C 后大鼠主动脉环的收缩能力再次升高,证明二甲双胍可通过激活 LKB1-AMPK 通路发挥舒张血管作用。他们还观察到,PE(1 μmol/L)可使体外培养的大鼠 VSMC 肌球蛋白轻链激酶(MLCK)和肌球蛋白轻链(P-MLC)蛋白表达水平升高,以 2 mmol/L 的二甲双胍预处理大鼠 VSMC,可使磷酸化 AMPK 的表达水平升高,并彻底阻断了 PE 诱导的 MLCK、P-MLC 蛋白高表达。AMPK 抑制剂也可使体外培养 VSMC 的 MLCK、P-MLC 蛋白表达水平升高,且该作用亦可被二甲双胍阻断。此外,他们还观察到 LKB1 siRNA 和 AMPK siRNA 可使 VSMC 的 MLCK、P-MLC 水平升高。综上结果表明,二甲双胍通过激活 LKB1-AMPK 通路,抑制 MLCK 和 p-MLC 水平,降低血管平滑肌细胞收缩。因此,AMPK-LKB1 途径可能成为一种治疗高血压的新靶点。

5 二甲双胍与心肌损伤

为了评估二甲双胍对异丙肾上腺素(ISO)引起

的心肌梗死、心脏功能、血流动力学参数和病理组织学变化的影响。Soraya 等^[20]将雄性 Wistar 大鼠随机分为六组:对照组、二甲双胍组 100 mg/kg (sham)、ISO(100mg/kg)致心肌梗死组(MI)及不同剂量二甲双胍(25,50,100 mg/kg,2/日×2天)+ISO 组。结果显示:ISO 可升高 ST 段、抑制 R 波幅度,二甲双胍可显著降低 ISO 导致的 S-T 段升高、增加 R 波幅度。组织病理学结果显示:ISO 可造成密集的心肌坏死,严重降低动脉压力指数,左心室收缩、舒张功能,并增加左心室舒张期末压力(LV-EDP)。二甲双胍可显著降低 ISO 引起的心肌坏死、心肌水肿、LVEDP,并使 ISO 引起的心肌梗死大鼠左心室内压最大上升速率[LVP/dt(max)]显著增加。该研究结果表明,短期服用二甲双胍可有效改善 ISO 引起的心肌梗死、心肌缺血。另外,Yin 等^[21]研究表明,心肌梗死的非糖尿病大鼠应用二甲双胍(250 mg/(kg·d),12周)治疗后可减小左室扩大,增加左室射血分数。因此,长、短期应用二甲双胍治疗均可对心肌梗死有改善作用。

过氧化物酶体增殖物受体 γ 辅激活因子 α (PGC-1α)是骨骼肌能量代谢的关键控制器。Whittington 等^[22]研究证实,二甲双胍可通过上调 PGC-1α 蛋白表达,改善糖尿病患者的缺血再灌注损伤,提高患者心肌线粒体活性。该研究还发现,二甲双胍对非糖尿病和糖尿病患者均有心脏保护作用。Whittington 等的研究结果表明,二甲双胍可通过激活 AMPK 通路,增加 PGC-1α 蛋白表达水平,保护线粒体结构,减少心肌损伤等心血管事件的发生。

6 二甲双胍与心肌肥大、纤维化

研究发现,二甲双胍能显著改善病理性心肌肥大和纤维化。Fu 等^[23]采用主动脉缩窄术建立压力负荷性心肌肥厚小鼠模型,术后给予腹腔注射二甲双胍(200 mg/(kg·d),6周),结果显示:二甲双胍能明显抑制野生型小鼠压力负荷引起的心肌肥厚,但不能抑制 AMPKA2 基因敲除小鼠压力负荷引起的心肌肥厚;二甲双胍可抑制压力负荷引起心肌组织 Akt 和 mTOR 磷酸化增加,但不影响 AMPKA2 基因敲除小鼠 Akt 和 mTOR 的磷酸化。表明二甲双胍通过激活 AMPK,进而抑制压力负荷引起的心肌 mTOR 和 AKT 的磷酸化,抑制小鼠压力负荷性心肌肥厚,实现对病理性心肌肥厚的抑制作用。

Xiao 等^[24]对 10 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠进行左心室压力负荷横向主动脉缩窄术,继而采用二

甲双胍(200 mg/kg/d)干预6周。结果表明,二甲双胍可抑制心肌纤维化引起的压力负荷,改善心脏舒张功能,抑制压力负荷引起的小鼠心肌转化生长因子(TGF) β 1产生增加,抑制TGF β 1引起的胶原合成增加。此外,二甲双胍还可抑制心肌成纤维细胞(CFS)的核移位以及Smad3蛋白的转录活性。因TGF β 1-Smad2/3信号通路激活是胶原合成的经典通路之一,上述结果提示,二甲双胍可能通过抑制TGF β 1-Smad3蛋白信号通路抑制胶原蛋白合成增加,该结果拓展了二甲双胍心脏保护作用的新机制。

7 小 结

二甲双胍除降糖、改善胰岛素抵抗外,还具有抗炎、改善血管内皮功能、调节生物钟功能、改善血管舒缩功能、减少心肌肥大/纤维化、改善心肌损伤等作用。AMPK是细胞的能量传感器,可增强机体对缺血和缺氧的耐受。二甲双胍的大血管保护作用,部分是由激活AMPK介导的。

新近研究发现,二甲双胍具有调节昼夜节律、抗衰老、抗肿瘤等作用。因此,二甲双胍可能在该领域发挥重要作用。

[参考文献]

[1] Haffner SM. Coronary heart disease in patients with diabetes[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(14): 1 040-042.

[2] Stolar M. Glycemic control and complications in type 2 diabetes mellitus[J]. *Am J Med*, 2010, 123(3): 1-3.

[3] Bailey CJ. Metformin: effects on micro and macrovascular complications in type 2 diabetes[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2008, 22(3): 215-224.

[4] de Jager J, Kooy A, Leher P, et al. Effects of short-term treatment with metformin on markers of endothelial function and inflammatory activity in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial [J]. *J Intern Med*, 2005, 257(1): 100-109.

[5] 卫曼曼, 鄢文海, 王留义. 二甲双胍对血管内皮细胞磷酸化腺苷酸活化蛋白激酶和一氧化氮含量的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2011, 27(9): 686-688.

[6] Isoda K, Young JL, Zirlik A, et al. Metformin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB in human vascular wall cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(3): 611-617.

[7] Sheu ML, Ho FM, Yang RS, et al. High glucose induces human endothelial cell apoptosis through a phosphoinositide 3-kinase-regulated cyclooxygenase-2 pathway[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(3): 539-545.

[8] Li L, Mamputu JC, Wiernsperger N, et al. Signaling pathways involved in human vascular smooth muscle cell proliferation and matrix metalloproteinase-2 expression induced by leptin: inhibitory effect of metformin[J]. *Diabetes*, 2005, 54(7): 2 227-234.

[9] Turdi S, Fan X, Li J, et al. AMP-activated protein kinase deficiency exacerbates aging-induced myocardial contractile dysfunction[J]. *Aging Cell*, 2010, 9: 592-606.

[10] Zhang TX, Xu JX, Peng F, et al. Metformin reduces vascular endothelial dysfunction caused by an acute glucose load in patients with hypertension[J]. *Blood Press*, 2013, 22(2): 106-113.

[11] Picard F, Kurtev M, Chung N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma[J]. *Nature*, 2004, 429(6993): 771-776.

[12] Rutanen J, Yaluri N, Modi S, et al. SIRT1 mRNA expression may be associated with energy expenditure and insulin sensitivity[J]. *Diabetes*, 2010, 59(4): 829-835.

[13] Shang Z, Lu C, Chen S, et al. Effect of H₂S on the circadian rhythm of mouse hepatocytes [J]. *Lipids Health Dis*, 2012, 11: 23.

[14] Milne JC, Lambert PD, Schenk S, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2007, 450(7 170): 712-716.

[15] Caton PW, Kieswich J, Yaqoob MM, et al. Metformin opposes impaired AMPK and SIRT1 function and deleterious changes in core clock protein expression in white adipose tissue of genetically-obese db/db mice[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2012, 25(1-2): 33-40.

[16] Sharma K, McCue P, Dunn SR. Diabetic kidney disease in the db/db mouse[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2003, 284(6): 1 138-144.

[17] Zhang QJ, Wang Z, Chen HZ, et al. Endothelium-specific overexpression of class III deacetylase SIRT1 decreases atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 80(2): 191-199.

[18] 朱玉, 杨菊红, 王楠, 等. 自发性2型糖尿病大鼠腹主动脉SIRT1的表达及二甲双胍的干预研究[J]. *天津医科大学学报*, 2010, 3(16): 455-458.

[19] Sung JY, Choi HC. Metformin-induced AMP-activated protein kinase activation regulates phenylephrine-mediated contraction of rat aorta [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 11; 421(3): 599-604.

[20] Soraya H, Khorrami A, Garjani A, et al. Acute treatment with metformin improves cardiac function following isoproterenol induced myocardial infarction in rats[J]. *Pharmacol Rep*, 2012, 64(6): 1 476-484.

[21] Yin M, van der Horst IC, van Melle JP, et al. Metformin improves cardiac function in a nondiabetic rat model of post-MI heart failure [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301: 459-468.

[22] Whittington HJ, Hall AR, McLaughlin CP, et al. Chronic metformin associated cardioprotection against infarction: not just a glucose lowering phenomenon[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2013, 27(1): 5-16.

[23] Fu YN, Xiao H, Ma XW, et al. Metformin attenuates pressure overload-induced cardiac hypertrophy via AMPK activation[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32(7): 879-887.

[24] Xiao H, Ma X, Feng W, et al. Metformin attenuates cardiac fibrosis by inhibiting the 9-1y KH, TGFbeta1-Smad3 signalling pathway [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87(3): 504-513.