

GLP-1 抗心肌缺血再灌注损伤分子机制的研究进展

易湘¹, 鲁艳菊¹, 付娟² 综述, 韦星¹ 审校

(1. 南华大学心血管病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001;
2. 岳阳职业技术学院护理学院, 湖南省岳阳市 414000)

[关键词] 胰高血糖素样肽 1; 缺血再灌注损伤; 分子机制; 心肌保护
[摘要] 胰高血糖素样肽 1 (GLP-1) 是肠道内分泌细胞 L-细胞分泌的一种肠降血糖素, 具有刺激胰岛素分泌和抑制胰高血糖素分泌等作用。GLP-1 半衰期较短。具有较长半衰期的 GLP-1 类似物已经被开发, 并作为新一类抗糖尿病药物在临床上应用。近年来的研究发现, GLP-1 还可以在缺血再灌注过程中保护心肌, 减轻再灌注对心肌的损伤。本文对 GLP-1 抗心肌缺血再灌注损伤的分子机制作一综述。
[中图分类号] R363 [文献标识码] A

Research Progress on Molecular Mechanisms of Glucagon-like Peptide-1 Against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury

YI Xiang¹, LU Yan-Ju¹, FU Juan², and WEI Xing¹
(1. Institute of Cardiovascular Disease & Key Laboratory for Atherosclerology of Hunan Province, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. College of Nursing, Yueyang Vocational & Technical College, Yueyang, Hunan 414000, China)

[KEY WORDS] Glucagon-like Peptide-1; Ischemia-Reperfusion Injury; Molecular Mechanism; Myocardial Protection
[ABSTRACT] Glucagon-like peptide-1 (GLP-1), which can stimulate insulin secretion and inhibit glucagon secretion and so on, is an incretin secreted by the intestinal endocrine L cells. Because GLP-1 has a short half-life, synthetic analogs with a longer half-life have been developed for clinical use as a new class of antidiabetic agents. Recently, studies show that GLP-1 can also protect myocardium by reducing reperfusion injury in ischemia-reperfusion. This paper makes a review on molecular mechanisms of myocardial protection against ischemia-reperfusion injury by GLP-1.

心肌缺血再灌注损伤是指心肌缺血恢复血流后,缺血心肌的损伤非但没有减轻,反而加重。这可能与钙超载、氧自由基增多、心肌纤维能量代谢障碍、炎症反应、酸中毒等机制有关。在缺血再灌注的过程中,胰高血糖素样肽 1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 可以通过抗细胞凋亡、改善心肌能量代谢和血管内皮功能、抑制炎症反应、减少氧化应激和增加抗氧化能力、改善心肌微循环障碍、抗心律失常等途径保护心肌^[1-2]。本文对 GLP-1 抗心肌缺血再灌注损伤的分子机制作一综述。

1 GLP-1 与心肌缺血再灌注损伤

GLP-1 是肠内内分泌细胞 L-细胞分泌的一种肠降血糖素,由高血糖素原基因编码、经翻译后加工而成。GLP-1 具有降低胃能动性、分泌、减少食物摄取、刺激胰岛素分泌、抑制胰高血糖素分泌等作用。另外, GLP-1 还具有抗胰岛 β-细胞凋亡和促进其生长的作用^[3]。因为 GLP-1 可以被二肽基肽酶 4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP4) 快速降解,半衰期较短,所以人工合成的具有较长半衰期的 GLP-1 类似

[收稿日期] 2015-01-19 [修回日期] 2015-03-22
[基金项目] 湖南省科技厅项目 (2010FJ4086)
[作者简介] 易湘, 硕士研究生, 研究方向为心肌无复流, E-mail 为 282854993@qq.com。鲁艳菊, 硕士, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制, E-mail 为 hahalulu2007@163.com。通讯作者韦星, 博士, 副教授, 研究方向为心肌无复流, E-mail 为 1287595448@qq.com。

物已经被开发,并作为一类新的抗糖尿病药物在临床上使用。同时,延迟内源性 GLP-1 降解的口服 DPP4 抑制剂也已被开发出来^[4]。

尽管 GLP-1 及其类似物主要作为抗糖尿病药物在临床上使用,但它也具有明显的抗心肌缺血再灌注损伤的作用^[5-6]。据报道,在经皮冠状动脉介入疗法治疗后的 ST 段抬高的心肌梗死病人,静脉注射艾塞那肽(GLP-1 类似物)具有减轻再灌注损伤、改善营救心肌的效果^[7]。在非糖尿病小动物模型(小鼠、大鼠、兔)的心肌缺血再灌注损伤实验中, GLP-1 及其类似物同样具有减轻再灌注损伤、防止心肌梗死面积扩大以及改善心脏功能的作用^[4,8]。在非糖尿病小鼠或大鼠^[9-11]和肥胖的糖尿病前期大鼠^[12]的心肌缺血再灌注损伤实验中,DPP4 抑制剂也能减少心肌梗死面积。对于 2 型糖尿病和冠状动脉疾病患者,DPP4 抑制剂可以对抗缺血对心脏的影响,对左心室功能产生持续的保护作用^[13]。对缺血 30 min 然后再灌注 24 h 的西方饮食喂养的 Db/Db 小鼠(一种 2 型糖尿病模型),艾塞那肽或 MK07626 (一种口服 DPP4 抑制剂)可以减轻再灌注损伤,限制心肌梗死的面积^[14-15]。

2 GLP-1 抗心肌缺血再灌注损伤的分子机制

2.1 GLP-1 受体依赖的抗心肌缺血再灌注损伤分子机制

GLP-1 对心肌的保护作用,可以通过多种途径来实现,而激活 GLP-1 受体(GLP-1 receptor, GLP-1R)是其主要途径之一(图 1)。GLP-1 受体激活可以导致腺苷酸环化酶激活、环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)产生增多、细胞内钙离子增加、蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 激活,以至 cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)磷酸化。GLP-1 受体激活还可以导致促存活信号转导途径激活,这一途径中包括磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)、糖原合酶激酶 3 β 、蛋白激酶 C 和 AMP 活化蛋白激酶等多种蛋白,它们都参与了对抗缺血再灌注损伤^[16-17]。

cAMP 诱导的 PKA 激活在 GLP-1 受体激活调节的心肌保护作用中可能具有中心的地位。研究表明,在非糖尿病小鼠, H-89 (PKA 抑制剂)完全阻断了用西格列汀(DPP4 抑制剂)预处理 3 天的梗死面

积限制效应。在这个模型中, H-89 不抑制西格列汀诱导的丝/苏氨酸蛋白激酶(serine-threonine protein kinase, Akt)磷酸化增强(在 Ser-473 和 Thr-308 位点),表明这里的 Akt 激活可能不依赖于 PKA^[9]。PKA 可以作为 Akt 的上游调节蛋白主要通过以下 3 条途径激活 Akt^[4]:(1) PKA 激活 PI3K 的 p85 α 调节亚基,从而增强 Akt 的磷酸化;(2) PKA 以物理的形式与 Akt 相互作用,并使其磷酸化;(3) PKA 的激活导致 10 号染色体上磷酸酶和张力蛋白同源物(phosphatase and tension homolog, PTEN)的表达减少,而 PTEN 可以降低磷脂酰肌醇-3-磷酸(PI3P),因而减弱 Akt 的磷酸化。H-89 可以减弱西格列汀诱导的内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)磷酸化(在 Ser-1177 和 Ser-633 位点)增强,表明 PKA 可以直接磷酸化 eNOS^[9],而 eNOS 在对抗缺血再灌注损伤中具有重要的保护作用。另外,体外的研究表明,用渥曼青霉素抑制 Akt,用 U-0126 抑制 ERK1/2,用 H-89 抑制 PKA,都能废止西格列汀和 GLP-1 对缺血再灌注损伤心肌的保护作用,而抑制环氧合酶 2 没有此效应^[9]。并且, H-89 还可以废止艾塞那肽诱导的 ERK1/2 上调^[14]。

综上所述, PKA 的激活对于 GLP-1 调节的心肌保护作用至关重要,而 PKA 的激活与 cAMP 的水平有关,那么抑制 cAMP 的降解是否能增强 GLP-1 的心肌保护作用呢? 据报道,对西方饮食喂养的 Db/Db 小鼠,口服西洛他唑(磷酸二酯酶 3 抑制剂,可以抑制 cAMP 的降解)并加入 DPP4 抑制剂或艾塞那肽具有协同效应。西洛他唑和 GLP-1 受体的活化对心肌 cAMP 水平、PKA 激活、Akt、ERK1/2 和 CREB 磷酸化具有叠加效应^[14-15]。西洛他唑与 MK0626(一种选择性的 DPP4 抑制剂)的联合使用对 eNOS 的 Ser-633 磷酸化具有叠加效应^[15]。这些结果说明抑制 cAMP 的降解对心肌具有保护效应。

CREB 是 PKA 下游主要的核转录因子,可以转导 cAMP 对基因转录的激活。PKA 通过磷酸化 CREB 的 Ser-133 激活 CREB,诱导其自身由细胞质转位到细胞核。CREB 参与了缺血预处理和药物预处理,是心肌保护机制中重要的蛋白。编码细胞色素 C 和 Bcl-xl 的基因启动子区域带有一个 cAMP 反应原件位点, CREB 被认为是这些基因正调节因子。有报道称,腺苷受体 3 亚型激活可以直接增强 CREB 的 Ser-133 磷酸化,随后 Bcl-2 被磷酸化激活,抑制缺血再灌注过程中的细胞凋亡,减轻再灌注损

伤。Birnbaum 等^[15]报道,在 小鼠心脏,艾塞那肽和 DPP4 抑制剂都能增强 CREB 的磷酸化,并且,与 DPP4 抑制剂或者艾塞那肽单独使用相比,西洛他唑与它们的联合使用皆增加了 CREB 的磷酸化;此外, H-89 阻止了这种作用,证实 CREB 可以被 PKA 磷酸化。

在抗心肌缺血再灌注损伤方面,PTEN 的抑制可能具有重要的意义。与非糖尿病小鼠相比,糖尿病小鼠 PTEN 在心肌中的表达水平较高,导致 Akt 的磷酸化能力降低,并因此钝化了缺血预处理的保护效应^[4]。但是,由于磷酸化的 Akt 也参与了胰岛素信号转导和糖转移的调节,西洛他唑和 DPP4 抑制剂的联合使用可能对药物的抗糖尿病特性具有潜在的影响。事实上,在 Db/Db 小鼠,西洛他唑与 MK0626 的联合使用(给药 3 天),对空腹血糖和甘油三酯水平具有叠加效应^[15]。

另据发现,cAMP/PKA 信号转导通路的激活也可以增加 15-差向异构体-脂氧素 A4 (15-epimer-lipoxin A4, 15-epi-LXA4) 的产生。15-epi-LXA4 是一种花生四烯酸衍生的类二十烷酸,具有强效的抗炎和消炎特性;其抗炎效应可能对 2 型糖尿病和/或动脉粥样硬化患者有益。15-epi-LXA4 由环氧化酶 2 和脂氧合酶催化产生,环氧化酶 2 可以将花生四烯酸转变为 15-羟甘碳四烯酸,脂氧合酶可以将 15-羟甘碳四烯酸转变为 15-epi-LXA4。据报道,PKA 对 5-脂氧合酶的磷酸化(在 Ser-523 位点),对于防止其与胞浆型磷脂酶 A2 相互作用产生促炎白三烯类、增强其与环氧化酶 2 相互作用产生 15-epi-LXA4 是非常关键的^[4]。西洛他唑和 DPP4 抑制剂或者艾塞那肽联合使用导致 cAMP 水平和 PKA 激活增加,与单独使用西洛他唑、DPP4 抑制剂或艾塞那肽相比,这些药物的联合使用使心肌内的 15-epi-LXA4 水平升高^[14-15]。还不清楚 15-epi-LXA4 是否调节(至少部分调节)GLP-1 受体激活对梗死面积的限制作用;但是,与其类似的类二十烷酸——消退素 E1(由环氧化酶 2 和 5-脂氧合酶催化二十碳五烯酸衍生),在非糖尿病大鼠实验模型中,可以对抗心肌缺血再灌注损伤而起保护作用^[18]。

2.2 非 GLP-1 受体依赖的抗心肌缺血再灌注损伤分子机制

GLP-1 还具有非 GLP-1 受体依赖的心肌保护效应^[19]。在急性缺血再灌注损伤大鼠模型,利司那肽(GLP-1 类似物)减少了心肌梗死面积和心肌细胞凋亡;而在其心脏样本和分离的心肌细胞样本,却不能检测到 GLP-1 受体的 mRNA。并且,在分离自

GLP-1R^{-/-}小鼠的心肌细胞,和分离自野生型小鼠的心肌细胞一样对利司那肽产生反应,增加缩短分数^[20]。在 GLP-1R^{-/-}小鼠的离体心脏模型上, GLP-1 和艾塞那肽 4 都促进了再灌注后的左室功能恢复,并减少了乳酸脱氢酶(一种梗死面积的测量指标)的释放,尽管用艾塞那肽(9~39)封闭 GLP-1 受体减弱了 GLP-1 及其类似物艾塞那肽 4 的限制梗死面积作用^[21-23]。在 DPP4 缺陷小鼠,用艾塞那肽(9~39)封闭 GLP-1 受体,不能完全阻断 DPP4 缺失对心肌梗死面积的限制作用^[10]。这些发现表明, GLP-1 具有一些非 GLP-1 受体依赖的保护效应,尽管其分子机制尚未阐明。

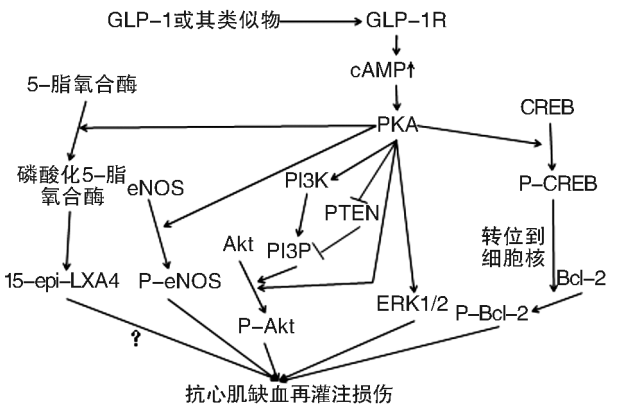


图 1. GLP-1 受体依赖的抗心肌缺血再灌注损伤分子机制
Figure 1. Molecular mechanisms of GLP-1 receptor dependent anti-myocardial ischemia reperfusion injury

另一方面,在 GLP-1R^{-/-}小鼠,利拉糖肽(GLP-1 类似物)并未像在野生型小鼠那样增加 Akt 和糖原合酶激酶 3β 的磷酸化^[24]。而且,在 GLP-1 受体抑制剂艾塞那肽(9~39)处理过的心肌细胞和来源于 GLP-1R^{-/-}小鼠的心肌细胞, GLP-1 类似物艾塞那肽 4 没有保护作用。不过,在来源于 GLP-1R^{-/-}小鼠的心肌细胞, GLP-1 的代谢物 GLP-1(9~36)却可以增加 cAMP 的水平,并保护了该心肌细胞,尽管艾塞那肽(9~39)可以阻断该保护作用^[25]。这些结果提示,其他的受体可能参与了 GLP-1 的保护作用,或者 GLP-1 类似物和天然的 GLP-1 或其代谢物 GLP-1(9~36)之间具有明显的不同。

3 结 语

GLP-1 具有重要的抗心肌缺血再灌注损伤作用,从实验室到临床,科研工作者已经做了大量的工作^[6,17]。GLP-1 保护心脏的作用机制非常复杂,

其受体激活是最主要途径之一。GLP-1 受体激活将导致细胞内 cAMP 水平增加,随后 PKA 激活。PKA 具有多种对抗缺血再灌注损伤、保护心肌的下游机制,并且可以通过磷酸化 5-脂氧合酶和产生 15-epi-LXA4 来调节抗炎效应。GLP-1 保护心脏的非 GLP-1 受体依赖机制尚不清楚,有待进一步阐明。总之, GLP-1 及其类似物具有重要的抗心肌缺血再灌注损伤作用,在临床上具有广阔的应用前景。

【参考文献】

- [1] 陈韦任, 陈韵岱. 胰高血糖素样肽 1 抗缺血再灌注损伤的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2014, 16(7): 765-767.
- [2] Hu X, Yang X, Jiang H. Glucagon-like peptide-1 and related agents: novel anti-arrhythmic agents during myocardial ischemia and reperfusion[J]. Int J Cardiol, 2013, 168(3): 3 119-120.
- [3] Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1[J]. Physiol Rev, 2007, 87(4): 1 409-439.
- [4] Birnbaum Y, Ye Y, Bajaj M. Myocardial protection against ischemia-reperfusion injury by GLP-1: molecular mechanisms[J]. Metab Syndr Relat Disord, 2012, 10(6): 387-390.
- [5] Clarke SJ, McCormick LM, Dutka DP. Optimising cardioprotection during myocardial ischaemia: targeting potential intracellular pathways with glucagon-like peptide-1[J]. Cardiovasc Diabetol, 2014, 13: 12.
- [6] Aronis KN, Tsoukas MA, Mantzoros CS. Potential cardioprotective action of GLP-1: from bench to bedside[J]. Metabolism, 2014, 63(8): 979-988.
- [7] Lønborg J, Vejlsstrup N, Kelbæk H, et al. Exenatide reduces reperfusion injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction[J]. Eur Heart J, 2012, 33(12): 1 491-499.
- [8] DeNicola M, Du J, Wang Z, et al. Stimulation of glucagon-like-peptide-1 receptor through exendin-4 preserves myocardial performance and prevents cardiac remodeling in infarcted myocardium[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2014, 307(8): E630-E643.
- [9] Ye Y, Keyes KT, Zhang C, et al. The myocardial infarct size-limiting effect of sitagliptin is PKA-dependent, whereas the protective effect of pioglitazone is partially dependent on PKA[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 298(5): H1 454-465.
- [10] Ku HC, Chen WP, Su MJ. DPP4 deficiency preserves cardiac function via GLP-1 signaling in rats subjected to myocardial ischemia/reperfusion[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2011, 384(2): 197-207.
- [11] Chang G, Zhang P, Ye L, et al. Protective effects of sitagliptin on myocardial injury and cardiac function in an ischemia/reperfusion rat model[J]. Eur J Pharmacol, 2013, 718(1-3): 105-113.
- [12] Huisamen B, Genis A, Marais E, et al. Pre-treatment with a DPP-4 inhibitor is infarct sparing in hearts from obese, pre-diabetic rats[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2011, 25(1): 13-20.
- [13] McCormick LM, Kydd AC, Read PA, et al. Chronic dipeptidyl peptidase-4 inhibition with sitagliptin is associated with sustained protection against ischemic left ventricular dysfunction in a pilot study of patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease[J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2014, 7(2): 274-281.
- [14] Ye Y, Qian J, Castillo AC, et al. Phosphodiesterase-3 inhibition augments the myocardial infarct size-limiting effects of exenatide in mice with type 2 diabetes[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2013, 304(1): H131-H141.
- [15] Birnbaum Y, Castillo AC, Qian J, et al. Phosphodiesterase III inhibition increases cAMP levels and augments the infarct size limiting effect of a DPP-4 inhibitor in mice with type-2 diabetes mellitus[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2012, 26(6): 445-456.
- [16] Ye Y, Perez-Polo JR, Aguilar D, et al. The potential effects of anti-diabetic medications on myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(6): 925-952.
- [17] Ravassa S, Zudaire A, Diez J. GLP-1 and cardioprotection: From bench to bedside[J]. Cardiovasc Res, 2012, 94(2): 316-323.
- [18] Keyes KT, Ye Y, Lin Y, et al. Resolvin E1 protects the rat heart against reperfusion injury[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 299(1): H153-H164.
- [19] Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hoefer J, et al. Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and-independent pathways[J]. Circulation, 2008, 117(18): 2 340-350.
- [20] Wohlfart P, Linz W, Hübschle T, et al. Cardioprotective effects of lixisenatide in rat myocardial ischemia-reperfusion injury studies[J]. J Transl Med, 2013, 11: 84.
- [21] Bose AK, Mocanu MM, Carr RD, et al. Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury[J]. Diabetes, 2005, 54(1): 146-151.
- [22] Ossum A, van Deurs U, Engstrøm T, et al. The cardioprotective and inotropic components of the postconditioning effects of GLP-1 and GLP-1(9-36)a in an isolated rat heart[J]. Pharmacol Res, 2009, 60(5): 411-417.
- [23] Sonne DP, Engstrøm T, Treiman M. Protective effects of GLP-1 analogues exendin-4 and GLP-1(9-36) amide against ischemia-reperfusion injury in rat heart[J]. Regul Pept, 2008, 146(1-3): 243-249.
- [24] Noyan-Ashraf MH, Momen MA, Ban K, et al. GLP-1R agonist liraglutide activates cytoprotective pathways and improves outcomes after experimental myocardial infarction in mice[J]. Diabetes, 2009, 58(4): 975-983.
- [25] Ban K, Kim KH, Cho CK, et al. Glucagon-like peptide (GLP)-1(9-36) amide-mediated cytoprotection is blocked by exendin(9-39) yet does not require the known GLP-1 receptor[J]. Endocrinology, 2010, 151(4): 1 520-531.

[此文编辑 陈如意(实习)/曾学清]