

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2016)24-02-0114-05

西格列汀对人主动脉内皮细胞内皮素 1 及一氧化氮合酶的影响及其机制

戴尧, 林先和, 戴东生

(安徽医科大学第一附属医院心内科, 安徽省合肥市 230032)

[关键词] 西格列汀; 内皮型一氧化氮合酶; 内皮素 1; 诱导型一氧化氮合酶; 核因子 κ B

[摘要] **目的** 探讨在高糖培养环境下西格列汀对人主动脉内皮细胞(HAEC)内皮素 1 及一氧化氮合酶的影响及其可能机制。**方法** 高糖环境下(25 mmol/L 葡萄糖)培养人主动脉内皮细胞,并分别给予 0、5、10 及 20 μ mol/L 西格列汀干预,检测 HAEC 内皮型一氧化氮合酶(eNOS)、内皮素 1(ET-1)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)以及核因子 κ B p65(NF- κ B p65)的 mRNA 和蛋白表达水平;应用肿瘤坏死因子 α (TNF- α)处理西格列汀干预后的 HAEC,观察 eNOS、ET-1、iNOS、NF- κ B p65 的 mRNA 和蛋白表达水平的变化。**结果** 与普通培养环境(7 mmol/L 葡萄糖)相比,高糖环境下 HAEC 的 eNOS mRNA 和蛋白表达降低,ET-1、iNOS mRNA 和蛋白表达及 p-NF- κ B p65 蛋白表达增高($P < 0.05$)。与 0 μ mol/L 组相比,20 μ mol/L 西格列汀组 HAEC 的 eNOS mRNA、蛋白表达上调,ET-1、iNOS mRNA 和蛋白表达以及 p-NF- κ B p65 蛋白表达下调($P < 0.05$)。与单独使用西格列汀组相比,TNF- α 联合西格列汀组 HAEC 的 eNOS mRNA 和蛋白表达下调,ET-1、iNOS mRNA 和蛋白表达及 p-NF- κ B p65 蛋白表达上调($P < 0.05$)。**结论** 西格列汀在转录和翻译水平上增加 eNOS 表达、降低 ET-1、iNOS 的表达,该作用通过其抑制 p-NF- κ B p65 表达而实现。提示西格列汀可能改善内皮功能,从而预防糖尿病动脉粥样硬化的形成。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

Sitagliptin Regulates Endothelin-1 and Nitric Oxide Synthase Through Inhibiting Phosphorylation of NF- κ B in Human Aortic Endothelial Cells

DAI Yao, LIN Xian-He, and DAI Dong-Sheng

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China)

[KEY WORDS] Sitagliptin; Endothelial Nitric Oxide Synthase; Endothelin-1; Induced Nitric Oxide Synthase; Nuclear Factor- κ B

[ABSTRACT] **Aim** To explore the effect of sitagliptin on the expression of endothelin-1 (ET-1) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) in human aortic endothelial cells (HAEC) and its underlying mechanism in high glucose environment. **Methods** HAEC were cultured in high glucose environment (25 mmol/L), and treated with different concentrations of sitagliptin (0, 5, 10 and 20 μ mol/L, respectively). The mRNA and protein expressions of eNOS, ET-1, iNOS and phosphate nuclear factor-kappa B p65 (p-NF- κ B p65) were measured. The measurements for eNOS, ET-1, iNOS, NF- κ B p65 on mRNA and protein levels in HAEC were evaluated after incubation with tumor necrosis factor- α (TNF- α) and sitagliptin. **Results** Compared with normal medium (glucose concentrations for 7 mmol/L), both the mRNA and the protein expression of eNOS in HAEC significantly decreased in high glucose medium, while those of ET-1, iNOS and p-NF- κ B p65 protein significantly increased ($P < 0.05$). Compared with 0 μ mol/L sitagliptin, 20 μ mol/L sitagliptin significantly increased mRNA and protein expressions of eNOS, while decreased those of ET-1, iNOS and p-NF- κ B p65 protein ($P < 0.05$). Compared with sitagliptin alone treated HAEC, both the mRNA and the protein expressions of eNOS significantly decreased in HAEC treated with TNF- α and sitagliptin, while those of ET-1, iNOS and p-NF- κ B p65 protein expressions significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusions** Sitagliptin enhances eNOS, represses ET-1,

[收稿日期] 2015-04-13

[修回日期] 2015-07-14

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金培养计划项目(2013KJ25);安徽省自然科学基金面上项目(1508085MH178)

[作者简介] 戴尧,博士,医师,研究方向为动脉粥样硬化,E-mail 为 daiyaoh@163.com。林先和,博士,主任医师,研究方向为动脉粥样硬化。戴东生,博士,主任医师,研究方向为动脉粥样硬化。

iNOS expressions at the level of transcription and translation through inhibiting NF- κ B p65 phosphorylation in HAEC in high glucose environment. This may contribute to the improvement of endothelial function and prevention of subsequent atherogenesis.

动脉粥样硬化是糖尿病患者主要死因之一^[1],其成因是高血糖导致调控血管舒张和收缩功能的因子分泌失衡,进而致使内皮细胞功能发生紊乱;这些因子主要包括内皮素 1 (endothelin-1, ET-1)、内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 以及诱导型一氧化氮合酶 (induced nitric oxide synthase, iNOS)^[2]。目前,已有研究显示 ET-1 和 eNOS 参与 2 型糖尿病大血管并发症的发生。研究表明,2 型糖尿病胰岛素抵抗患者血浆 ET-1 水平增高,这将抑制血管一氧化氮的释放,使该类患者的血管舒张功能受损^[3]。此外,血管内皮细胞 eNOS 表达降低也被认为与 2 型糖尿病患者内皮功能紊乱密切相关^[4]。西格列汀是二肽基肽酶 4 (dipeptidyl peptidase-4, DPP-4) 抑制剂, DPP-4 的主要作用是降解肠道 L 型细胞分泌的肠促胰素胰高血糖素样肽 1 (glucagon like peptide-1, GLP-1)。目前临床上已开始使用 GLP-1 受体激动剂和 DPP-4 抑制剂治疗 2 型糖尿病。我们的前期研究发现,新型降糖药物 GLP-1 受体激动剂利拉鲁肽具有抗动脉粥样硬化的作用^[5]。然而, DPP-4 抑制剂是否也具有此效果,其机制如何,仍属未知。本研究旨在通过体外实验明确这一问题。

1 材料和方法

1.1 材料

西格列汀、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 购自美国 Sigma Aldrich 公司;人主动脉内皮细胞 (human aortic endothelial cell, HAEC)、DMEM 细胞培养基 (含糖量 7 mmol/L) 购自美国 ATCC 公司; ET-1、eNOS、iNOS、核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) p65 抗体购自美国 Santa Cruz 公司;磷酸化 NF- κ B p65 [p-NF- κ B p65 (S536)] 抗体购自美国 Cell Signaling 公司;PCR 试剂盒、real-time PCR 引物购自美国 IDT 公司。

1.2 细胞培养与传代

DMEM 预热培养基重悬 HAEC 后接种于 25 mL 培养瓶中。培养基成份:10% 胎牛血清,3% 内皮生长因子。5% 二氧化碳培养箱 (95% 湿度) 培养 2~3 天,待细胞呈指数生长满瓶底 85% 后,使用 0.25%

EDTA 胰酶消化细胞。培养基终止消化并传代,3~6 代细胞用于实验。

1.3 实验分组及药物干预

①高糖组 (含糖量 25 mmol/L 葡萄糖) 和对照组 (含糖量 7 mmol/L 葡萄糖);②应用不同浓度的西格列汀 (0.5、10 及 20 μ mol/L) 干预 HAEC,并在高糖环境下 (25 mmol/L 葡萄糖) 培养 24 h;③应用不同药物干预 HAEC 24 h,分为四组:对照组 (无药物干预)、西格列汀组 (20 μ mol/L 西格列汀)、TNF- α 组 (5 μ g/L TNF- α)、西格列汀 + TNF- α 组 (20 μ mol/L 西格列汀联合 5 μ g/L TNF- α)。

1.4 real-time PCR 检测内皮细胞 eNOS、ET-1、iNOS 及 NF- κ B p65 mRNA 表达

Trizol 试剂盒提取 HAEC 总 RNA,反转录后 150 ng 的 cDNA 结合 300 nmol/L 引物行 PCR 检测。反应程序:2 min 预热至 95 $^{\circ}$ C;变性,30 s 至 1 min;退火,30 s 至 1 min;延伸,72 $^{\circ}$ C ~ 74 $^{\circ}$ C,1 min;共 40 个循环。PCR 引物:eNOS 上游引物 5'-TGA TGG CGA AGC GAG TGA AG-3',下游引物 5'-ACT CAT CCA TAC ACA GGA CCC-3'; ET-1 上游引物 5'-AGA GTG TGT CTA CTT CTG CCA-3',下游引物 5'-CTT CCA AGT CCA TAC GGA ACA A-3'; iNOS 上游引物 5'-AGG GAC AAG CCT ACC CCTC-3',下游引物 5'-CTC ATC TCC CGT CAG TTG GT-3'; NF- κ B p65 上游引物 5'-AAC AGA GAG GAT TTC GTT TCC G-3',下游引物 5'-TTT GAC CTG AGG GTA AGA CTT CT-3'; 内参 GAPDH 上游引物 5'-GGA GCG AGA TCC CTC CAA AAT-3',下游引物 5'-GGC TGT TGT CAT ACT TCT CAT GG-3'。内参 GAPDH 用于标准化反应结果。

1.5 免疫印迹法检测 eNOS、ET-1、iNOS、NF- κ B p65 及 p-NF- κ B p65 蛋白表达

具体方法参见前期实验^[3]。抗体稀释度:eNOS (1:2000)、iNOS (1:1500)、NF- κ B p65 (1:1500)、pho-NF- κ B p65 (1:1000)。使用 β -actin 标准化目的蛋白。

1.6 统计学方法

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 对照组和高糖组 eNOS、ET-1、iNOS 及 NF-κB p65 的表达

与对照组相比,高糖组 HAEC 中 eNOS 的 mRNA 和蛋白表达降低,ET-1、iNOS 的 mRNA 和蛋白表达增高,p-NF-κB p65 蛋白表达显著增高 ($P < 0.05$;图 1 和表 1)。

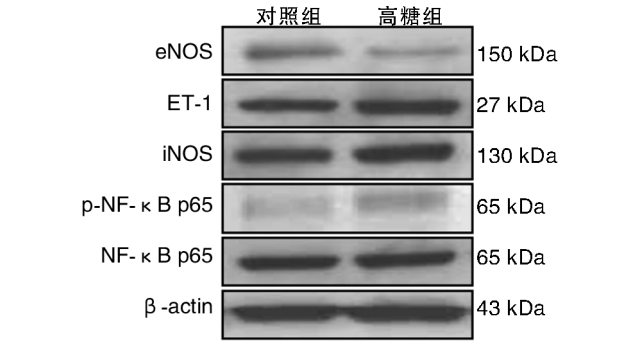


图 1. 对照组和高糖组 HAEC 中 eNOS、ET-1、iNOS、p-NF-κB p65 及 NF-κB p65 的蛋白表达

Figure 1. Comparison of eNOS, ET-1, iNOS, p-NF-κB p65 and NF-κB p65 protein expression in HAEC treated with high and low concentration of glucose

表 1. 对照组和高糖组 HAEC 中 eNOS、ET-1、iNOS、p-NF-κB p65 及 NF-κB p65 的 mRNA 和蛋白表达($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1. Expression of eNOS, ET-1, iNOS, p- NF-κB p65 and NF-κB p65 mRNA and protein in HAEC treated with high and low concentration of glucose($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分 组	eNOS		ET-1		iNOS		p-NF-κB p65	NF-κB p65	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	蛋白	mRNA	蛋白
对照组	1.4 ± 0.2	0.8 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.8 ± 0.4	0.8 ± 0.3	0.6 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.6 ± 0.2	2.00 ± 0.6
高糖组	1.0 ± 0.3 ^a	0.4 ± 0.2 ^a	1.8 ± 0.2 ^b	2.4 ± 0.2 ^a	1.3 ± 0.2 ^a	0.9 ± 0.2 ^b	1.6 ± 0.1 ^a	1.5 ± 0.5	2.6 ± 0.7

a 为 $P < 0.05$,b 为 $P < 0.01$,与对照组比较。

表 2. 不同浓度西格列汀干预下人主动脉内皮细胞中 eNOS、ET-1、iNOS、p-NF-κB p65 及 NF-κB p65 的 mRNA 和蛋白表达($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2. Expression of eNOS, ET-1, iNOS, p-NF-κB p65 and NF-κB p65 mRNA and protein in HAEC after treatments of different concentration of sitagliptin($\bar{x} \pm s, n = 8$)

西格列汀 浓度	eNOS		ET-1		iNOS		p-NF-κB p65	NF-κB p65	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	蛋白	mRNA	蛋白
0 μmol/L	1.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.9 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.2
5 μmol/L	1.0 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.6 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.7 ± 0.3	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.4
10 μmol/L	0.9 ± 0.3	0.6 ± 0.3	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.4 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.1	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.2
20 μmol/L	1.7 ± 0.1 ^a	1.5 ± 0.1 ^a	0.7 ± 0.1 ^b	0.8 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^b	1.2 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^b	1.2 ± 0.4	1.1 ± 0.1

a 为 $P < 0.05$,b 为 $P < 0.01$,与 0 μmol/L 组比较。

2.3 TNF-α 抑制西格列汀对 eNOS、ET-1、iNOS 及 p-NF-κB p65 表达的影响

与西格列汀组比较,西格列汀 + TNF-α 组 eNOS

2.2 不同浓度西格列汀对 eNOS、ET-1、iNOS 及 p-NF-κB p65 表达的影响

与 0 μmol/L 西格列汀组相比,20 μmol/L 组 HAEC 中 eNOS 的 mRNA 和蛋白表达增高,ET-1、iNOS 的 mRNA 和蛋白以及 p-NF-κB p65 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$),未观察到西格列汀不同干预浓度组间 NF-κB p65 mRNA 和蛋白表达的差异 ($P > 0.05$;图 2 和表 2)。

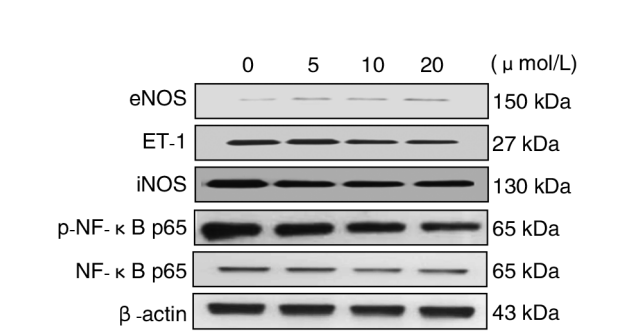


图 2. 不同浓度西格列汀干预下 eNOS、ET-1、iNOS、p-NF-κB p65 及 NF-κB p65 蛋白表达水平

Figure 2. The protein expression of eNOS, ET-1, iNOS, p-NF-κB p65 and NF-κB p65 after treatments of different concentration of sitagliptin

表 2. 不同浓度西格列汀干预下人主动脉内皮细胞中 eNOS、ET-1、iNOS、p-NF-κB p65 及 NF-κB p65 的 mRNA 和蛋白表达($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2. Expression of eNOS, ET-1, iNOS, p-NF-κB p65 and NF-κB p65 mRNA and protein in HAEC after treatments of different concentration of sitagliptin($\bar{x} \pm s, n = 8$)

西格列汀 浓度	eNOS		ET-1		iNOS		p-NF-κB p65	NF-κB p65	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	蛋白	mRNA	蛋白
0 μmol/L	1.1 ± 0.1	0.5 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.9 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.2
5 μmol/L	1.0 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.2 ± 0.2	1.6 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.7 ± 0.3	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.4
10 μmol/L	0.9 ± 0.3	0.6 ± 0.3	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.4 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.1	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.2
20 μmol/L	1.7 ± 0.1 ^a	1.5 ± 0.1 ^a	0.7 ± 0.1 ^b	0.8 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^b	1.2 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^b	1.2 ± 0.4	1.1 ± 0.1

a 为 $P < 0.05$,b 为 $P < 0.01$,与 0 μmol/L 组比较。

mRNA 和蛋白表达降低,ET-1、iNOS 的 mRNA 和蛋白以及 p-NF-κB p65 蛋白表达均增高 ($P < 0.05$);与 TNF-α 组比较,西格列汀 + TNF-α 组 eNOS mRNA

NA 和蛋白表达增加, ET-1、iNOS 的 mRNA 和蛋白 p65 表达差异均无统计学意义 ($P>0.05$; 图 3 和表 3)。

以及 p-NF-κB p65 蛋白表达均降低, 各组间 NF-κB

表 3. 不同药物干预下 HAEC 中 eNOS、ET-1、iNOS、p-NF-κB p65 及 NF-κB p65 的 mRNA 和蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3. Expression of eNOS, ET-1, iNOS, p-NF-κB p65 and NF-κB p65 mRNA and protein in HAEC after different drugs treatments ($\bar{x} \pm s, n=8$)

分 组	eNOS		ET-1		iNOS		p-NF-κB p65	NF-κB p65	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	蛋白	mRNA	蛋白
对照组	1.2 ± 0.2	0.6 ± 0.1	1.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.5 ± 0.2	1.4 ± 0.1	1.2 ± 0.2	2.0 ± 0.1
西格列汀组	1.9 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.2 ^a	0.7 ± 0.1 ^a	0.2 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.1 ^a	1.2 ± 0.4	2.0 ± 0.4
TNF-α 组	0.6 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.1 ^a	1.4 ± 0.2 ^a	1.2 ± 0.2 ^a	1.5 ± 0.2 ^a	1.4 ± 0.3 ^a	1.8 ± 0.2 ^a	1.1 ± 0.2	2.1 ± 0.1
西格列汀 + TNF-α 组	1.2 ± 0.1 ^{bc}	0.5 ± 0.1 ^{bc}	0.9 ± 0.1 ^{bc}	0.5 ± 0.1 ^{bc}	1.1 ± 0.1 ^{bc}	0.6 ± 0.2 ^{bc}	1.0 ± 0.1 ^{bc}	1.1 ± 0.2	2.3 ± 0.3

a 为 $P<0.05$, 与对照组比较; b 为 $P<0.05$, 与西格列汀组比较; c 为 $P<0.05$, 与 TNF-α 组比较。

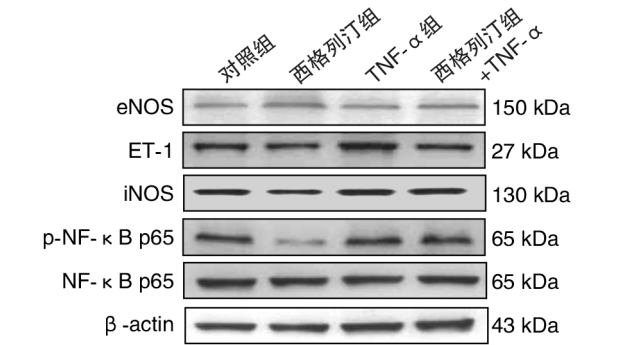


图 3. 不同药物干预下 HAEC 中 eNOS、ET-1、iNOS、p-NF-κB p65 及 NF-κB p65 的表达

Figure 3. The expression of eNOS, ET-1, iNOS, p-NF-κB p65 and NF-κB p65 after treatments of sitagliptin, TNF-α and sitagliptin + TNF-α combination

3 讨 论

动脉血管内皮组织是保护血管免受有害物质侵蚀的第一道屏障。其功能障碍是动脉粥样硬化的重要始动因素。以往研究发现, 高糖可促进 NF-κB p65 活化, 调控 ET-1 和 NOS 的释放, 从而造成内皮功能紊乱^[2-5]。Sun 等^[6]发现体外高糖环境培养的内皮祖细胞 eNOS 表达降低; Guan 等^[7]研究表明高糖可诱导人脐静脉内皮细胞大量释放 ET-1; Yehuda 等^[8]发现 iNOS 在高糖环境下表达增加; Mudaliar 等^[9]发现 NF-κB p65 活化是高糖诱导炎症反应的重要因素。我们关于高糖环境下 eNOS、ET-1、iNOS 及 NF-κB p65 表达的研究结果进一步支持上述文献报道。

本研究发现 HAEC 在西格列汀 (20 μmol/L) 干预下, eNOS mRNA 和蛋白的表达增加, 而 ET-1、iNOS、p-NF-κB p65 等高糖诱导表达产物的 mRNA 及蛋白的表达被抑制。Nader 等^[10]发现西格列汀可通

过抑制 NF-κB p65 活化改善家兔的内皮功能; Amber 等^[11]研究表明西格列汀可增加糖尿病患者血清 eNOS 的表达; 一项国外关于西格列汀的临床研究结果表明, 西格列汀可改善 2 型糖尿病患者动脉内皮功能^[12]。然而, 上述研究均未提及 DPP-4 抑制剂对内皮收缩因子, 如 ET-1 的调控。我们在前人研究的基础上发现, 西格列汀可抑制 HAEC ET-1 的表达。NF-κB p65 又被称为核转录调控因子, 其在高糖、氧化应激等刺激条件下被活化, 并从细胞质转移至细胞核, 负责调控一系列基因的表达以及后续的翻译^[13]。已有研究发现, 西格列汀可通过抑制 NF-κB p65 活化改善高血糖家兔的内皮功能^[8]; 此外, 最近一项研究表明, 西格列汀可减轻糖尿病大鼠脑部的缺血再灌注损伤, 该作用也是由其抑制 NF-κB p65 活化实现的^[14]。我们通过观察西格列汀干预下的 HAEC, 也发现西格列汀可抑制高糖环境下培养的内皮细胞 NF-κB p65 S536 位点的磷酸化。

为进一步证明西格列汀对内皮细胞 eNOS、ET-1、iNOS mRNA 和蛋白表达的影响是通过 NF-κB p65 介导的, 我们选用 TNF-α 作为 NF-κB p65 特异性激活剂, 干预内皮细胞并再次检测上述蛋白表达情况。结果发现, 西格列汀联合 TNF-α 干预 HAEC 时, TNF-α 可削弱西格列汀对 HAEC 的 p-NF-κB p65 以及 eNOS、ET-1、iNOS mRNA 和蛋白表达的调控作用; 同时, 西格列汀也可削弱 TNF-α 激活 NF-κB p65、上调 ET-1、iNOS 以及抑制 eNOS 表达的作用。TNF-α 可特异地激活 NF-κB 信号通路, 使其活化并进一步调控 eNOS 和 iNOS 的表达^[15-16]。eNOS 表达受 NF-κB p65 调控, 反之, NF-κB p65 活化也可被 eNOS 抑制^[17]。因此, 二者存在相互抑制作用^[18]。Katsuyama 等^[19]发现一氧化氮可通过降解

NF- κ B p65 的抑制蛋白 I κ B α 来降低 iNOS 表达以及 NF- κ B p65 活化。我们的研究结果也表明 eNOS 与 p-NF- κ B p65 蛋白表达呈相反趋势。

ET-1 是强烈的血管收缩剂,可诱导炎症反应的产生,在动脉粥样硬化中起重要作用^[20-21]。NF- κ B p65 是参与炎症反应的重要细胞核转录因子。León 等^[22]发现褪黑素可通过抑制 NF- κ B p65 活化减少大肠癌患者 ET-1 的表达。我们的研究首次发现,西格列汀可通过抑制 p-NF- κ B p65 降低 HAEC 中 ET-1 的表达。这对了解西格列汀抑制糖尿病动脉粥样硬化形成的机制具有重要意义。鉴于实验条件限制,本研究尚有一些不足之处,如:仅进行了体外实验,而未在体内实验中验证西格列汀改善内皮功能的作用,在涉及 NF- κ B p65 信号通路的研究中,仅选择激动剂而未应用阻滞剂。

总之,本研究证实了高糖诱导内皮细胞功能障碍,eNOS 表达降低,ET-1、iNOS 及 p-NF- κ B p65 表达增加。DPP-4 抑制剂西格列汀可通过抑制 NF- κ B p65 活化在转录和翻译水平上增加 eNOS 表达、降低 ET-1 及 iNOS 的表达。为使用 DPP-4 抑制剂治疗糖尿病动脉粥样硬化提供了一定的理论依据。

参考文献

- [1] 胡利梅,任卫东,张斌,等. 影响 2 型糖尿病患者动脉硬化的多因素分析[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22 (4): 391-394.
- [2] Wang GG, Chen QY, Li W, et al. Ginkgolide B increases hydrogen sulfide and protects against endothelial dysfunction in diabetic rats [J]. Croat Med J, 2015, 56 (1): 4-13.
- [3] Campia U, Tesaro M, Di Daniele N, et al. The vascular endothelin system in obesity and type 2 diabetes: pathophysiology and therapeutic implications[J]. Life Sci, 2014, 118 (2): 149-155.
- [4] Youn JY, Zhou J, Cai H. Bone morphogenic protein 4 mediates NOX1-dependent eNOS uncoupling, endothelial dysfunction and COX2 induction in type 2 diabetes mellitus [J]. Mol Endocrinol, 2015, 29 (8): 1 123-133.
- [5] 戴尧,赵丽丽,陈明卫,等. 利拉鲁肽通过抑制核因子 κ B p65 磷酸化调控人脐静脉内皮细胞一氧化氮合酶的表达[J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6 (9): 678-682.
- [6] Sun N, Wang H, Wang L. Vaspilin alleviates dysfunction of endothelial progenitor cells induced by high glucose via PI3K/Akt/eNOS pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8 (1): 482-489.
- [7] Guan Q, Liu W, Liu Y, et al. High glucose induces the release of endothelin-1 through the inhibition of hydrogen sulfide production in HUVECs[J]. Int J Mol Med, 2015, 35 (3): 810-814.
- [8] Yehuda I, Madar Z, Leikin-Frenkel A, et al. Glabridin, an isoflavan from licorice root, down-regulates iNOS expression and activity under high glucose stress and inflammation[J]. Mol Nutr Food Res, 2015, 59 (6): 1 041-052.
- [9] Mudaliar H, Pollock C, Ma J, et al. The role of TLR2 and 4-media-

ted inflammatory pathways in endothelial cells exposed to high glucose[J]. PLoS One, 2014, 9 (10): e108844.

- [10] Nader MA. Sitagliptin ameliorates lipid profile changes and endothelium dysfunction induced by atherogenic diet in rabbits [J]. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol, 2014, 387 (5): 433-444.
- [11] Amber CF, Zeynep TK, Evren O, et al. Di-peptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin protects vascular function in metabolic syndrome: possible role of epigenetic regulation[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41 (8): 4 853-863.
- [12] Nakamura K, Oe H, Kihara H, et al. DPP-4 inhibitor and alpha-glucosidase inhibitor equally improve endothelial function in patients with type 2 diabetes: EDGE study[J]. Cardiovasc Diabetol, 2014, 13: 110.
- [13] Huang HJ, Chen YH, Liang KC, et al. Exendin-4 protected against cognitive dysfunction in hyperglycemic mice receiving an intrahippocampal lipopolysaccharide injection[J]. PLoS One, 2012, 7 (7): e39656.
- [14] El-Sahar AE, Safar MM, Zaki HF, et al. Sitagliptin attenuates transient cerebral ischemia/reperfusion injury in diabetic rats: Implication of the oxidative-inflammatory-apoptotic pathway[J]. Life Sci, 2015, 126: 81-86.
- [15] Utkan T, Yazir Y, Karson A, et al. Etanercept improves cognitive performance and increases eNOS and BDNF expression during experimental vascular dementia in streptozotocin-induced diabetes [J]. Curr Neurovasc Res, 2015, 12 (2): 135-146.
- [16] Jia J, Liu Y, Zhang X, et al. Regulation of iNOS expression by NF- κ B in human lens epithelial cells treated with high levels of glucose[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54 (7): 5 070-077.
- [17] Hattori Y, Jojima T, Tomizawa A, et al. A glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogue, sitagliptin, upregulates nitric oxide production and exerts anti-inflammol/Latory action in endothelial cells [J]. Diabetologia, 2010, 53 (10): 2 256-263.
- [18] Grumbach IM, Chen W, Mertens SA, et al. A negative feedback mechanism involving nitric oxide and nuclear factor kappa-B modulates endothelial nitric oxide synthase transcription[J]. J Mol Cell Cardiol, 2005, 39 (4): 595-603.
- [19] Katsuyama K, Shichiri M, Marumo F, et al. NO inhibits cytokine-induced iNOS expression and NF-kappaB activation by interfering with phosphorylation and degradation of IkappaB-alpha[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1998, 18 (11): 1 796-802.
- [20] 陈灿,刘江华,祖旭宇,等. 胰岛素信号通路与动脉粥样硬化[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33 (1): 62-66.
- [21] 陈钰梅. 颈动脉彩超评估大动脉粥样硬化型缺血性脑卒中再发的危险性[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2014, 41 (3): 277-280.
- [22] León J, Casado J, Jiménez Ruiz SM, et al. Melatonin reduces endothelin-1 expression and secretion in colon cancer cells through the inactivation of FoxO-1 and NF- κ B[J]. J Pineal Res, 2014, 56 (4): 415-426.

(此文编辑 文玉珊)