

G 蛋白偶联受体 5 在动脉粥样硬化发生发展中的作用

文 星, 冯 健, 李家富

(西南医科大学附属医院心血管内科, 四川省泸州市 646000)

[关键词] G 蛋白偶联受体 5; 动脉粥样硬化; 炎症反应; 血管内皮功能障碍

[摘 要] G 蛋白偶联受体 5(TGR5)是近来发现的一种新的能调节炎症和代谢的膜受体。其激活后可以通过减轻炎症反应,抑制泡沫细胞形成和动脉粥样硬化斑块破裂;还可以促进 NO、H₂S 等内源性气体信号分子产生,改善血管内皮功能障碍;此外,还可以减少肥胖、糖尿病等多种动脉粥样硬化危险因素的发生。因此,TGR5 有可能成为防治动脉粥样硬化的重要靶点。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The Role of G Protein-coupled Receptor 5 in the Development of Atherosclerosis

WEN Xing, FENG Jian, and LI Jia-Fu

(Department of Cardiovascular, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[KEY WORDS] G Protein-coupled Receptor 5; Atherosclerosis; Inflammation Reaction; Vascular Endothelial Dysfunction

[ABSTRACT] G protein-coupled receptor 5 (TGR5) is recently discovered to be a new membrane receptor that can regulate inflammation and metabolism. TGR5 activation can inhibit foam cell formation and atherosclerotic plaque rupture by reducing inflammation reaction, promote NO, H₂S and other endogenous gas signal molecules to improve vascular endothelial dysfunction. In addition, it also can reduce atherosclerosis risk factors such as obesity and diabetes. Therefore, TGR5 may be an important target for prevention and treatment of atherosclerosis.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种多病因所致的慢性炎症性疾病,它是冠心病、脑卒中等缺血性心脑血管病的主要病理基础,严重危害人类健康^[1]。

近来研究已发现,G 蛋白偶联受体 5(G protein-coupled receptor 5,TGR5),亦称作 G 蛋白偶联胆汁酸受体 1(G protein-coupled bile acid receptor 1,GPBAR1)是一种新的能调节炎症和代谢的膜受体,广泛表达于人类和啮齿类动物的各种组织和细胞中^[2]。激活白细胞上 TGR5 受体,可减轻炎症反应,抑制泡沫细胞形成和动脉粥样硬化斑块破裂^[3];激活血管内皮细胞上 TGR5 受体,可以促进一氧化氮(nitric oxide,NO)和硫化氢(hydrogensulfide,H₂S)等内源性气体信号分子产生,同时改善血管内皮功能障碍^[4-5];此外,TGR5 激活在血脂异常、肥胖、胰岛

素抵抗、糖尿病等代谢性疾病方面起重要调控作用,可以减少多种 As 危险因素的发生^[6]。因此,TGR5 有可能成为防治 As 的重要靶点。

1 TGR5 及其信号传导通路

TGR5 是 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor,GPCR)视紫红质样(A 类)超家族成员之一,最早在 2002 年由日本学者 Maruyama 等^[7]报道,随后由 Kawamata 等^[2]于 2003 年在人类脾 cDNA 文库中搜索 GPCR 发现,并对其进行了特征性描述:它的基因组 DNA(编码序列为 AC021016)是由单一外显子编码,位于小鼠染色体 1C3 及人类染色体 2q35 上。TGR5 受体是由 330 个氨基酸组成的一条肽链结构,定位于细胞膜上,其 N-末端在细胞外侧,C-末

[收稿日期] 2015-07-24

[修回日期] 2016-03-02

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31300946);泸州市人民政府-泸州医学院科技战略合作科技项目(2013LZLY-J22)

[作者简介] 文星,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化的基础与临床,E-mail 为 410128291@qq.com。冯健,博士,主治医师,研究方向为冠心病的基础与临床。通讯作者李家富,教授,硕士研究生导师,研究方向为高血压、冠心病、心脏起搏与电生理的基础与临床,E-mail 为 ljf-198@163.com。

端在细胞内形成其尾巴,中间包含 7 个跨膜螺旋,3 个细胞外环和 3 个细胞内环。

胆汁酸 (bile acids, BA) 是内源性 TGR5 的配体,不同胆汁酸激活 TGR5 的能力不同,其中石胆酸 (lithocholic acid, LCA) 的激活能力最强^[2]。另外,胆汁酸半合成衍生物如 INT-777、BAR501 和 INT-767 也能激活 TGR5。当 TGR5 受到 BA、INT-777 等激动剂刺激后,与 G 蛋白 α 亚基相连接的 GDP 被

GTP 所取代,解离,释放出 α 亚基和 $\beta\gamma$ 亚基,活化的 α 亚基主要作用于生成或水解细胞内第二信使的酶(如腺苷酸环化酶合成),从而改变细胞内第二信使的浓度(如环磷酸腺苷含量升高),激活不同的 GPCR 信号通路,诱导下游目的基因活化表达,参与调控脂质代谢、能量代谢、血糖平衡、炎症反应、内源性气体信号分子表达等,从而在肥胖、糖尿病、As 等代谢和炎症性疾病中发挥重要作用^[2-6](图 1)。

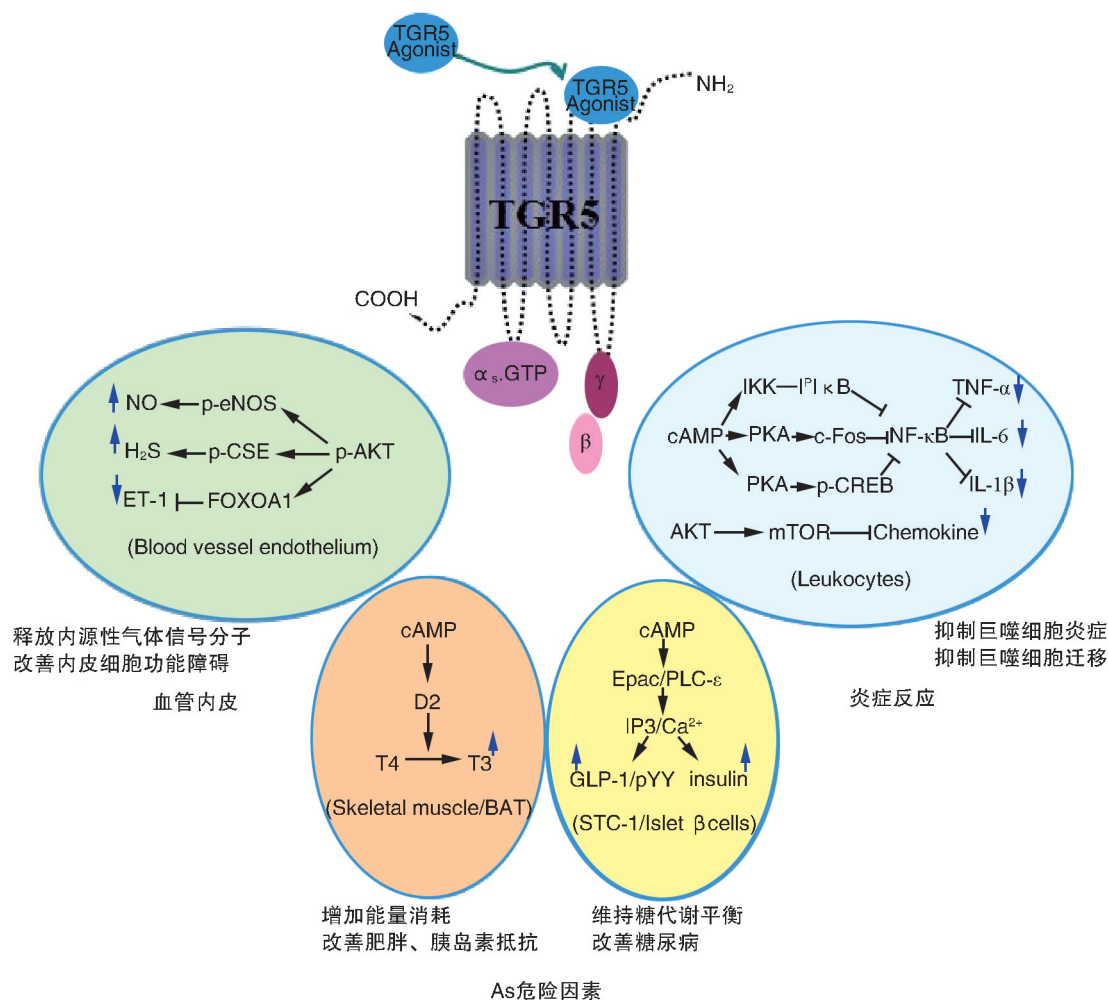


图 1. TGR5 功能示意图

Figure 1. TGR5 function diagram

2 TGR5 与 As

As 是一种血管壁的慢性炎症性疾病,病变始于血管内皮细胞损伤,加上脂质代谢紊乱,血液中的低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 通过受损的内皮进入管壁内膜,并氧化修饰成低密度脂蛋白胆固醇 (oxidized LDLC, ox-LDL),巨噬细胞通过清道夫受体吞噬 ox-LDL,转变

为泡沫细胞。这些巨噬细胞源性泡沫细胞合成分泌许多生长因子和炎症细胞因子,通过多种因素复杂的相互作用,逐渐发展成 As 斑块。Pols 等^[3]用 LDLR^{-/-}TGR5^{+/+}小鼠模型以高脂饮食喂养,在病理学上证实了使用胆汁酸衍生物 INT-777 特异性激活 TGR5,可以抑制 As 斑块形成,同时降低斑块中巨噬细胞浸润和炎症水平,而在 LDLR^{-/-}TGR5^{-/-}小鼠中血管损伤则较重。随后其通过骨髓移植的方法

证实,INT-777 主要是选择性激活白细胞上 TGR5 受体,抑制巨噬细胞吞噬 ox-LDL 和产生炎症细胞因子,从而发挥抗 As 作用。无独有偶,Miyazaki-Anzai 等^[8]在 ApoE^{-/-}和 LDLR^{-/-}小鼠模型中,用胆汁酸衍生物 INT-767 激活 TGR5,产生了相似的抗 As 结果。此外,TGR5 激活还可以改善血管内皮功能,以及减少血脂异常、肥胖、糖尿病等多种 As 危险因素的发生,从多方面发挥抗 As 作用。

2.1 TGR5 与炎症

As 被认为是具有慢性炎症反应特征的病理过程,其发展始终伴随炎症反应,涉及多种细胞和细胞因子之间复杂的相互作用。尤其是巨噬细胞,在 As 的发生发展中发挥了关键作用^[9]。有趣的是,TGR5 在几种与炎症有关的细胞中都有表达,如单核细胞和巨噬细胞^[2]。因此,TGR5 有可能通过调节炎症反应,在 As 发生发展的过程中发挥重要作用。

在 As 早期阶段,血源性单核细胞在黏附分子和趋化因子的作用下,从管腔迁移到动脉壁,在动脉壁堆积分化成巨噬细胞。随后,这些巨噬细胞吞噬 ox-LDL,转变为泡沫细胞,形成最早的粥样硬化病变脂质条纹。Pols 等^[3]研究发现,在正常小鼠中,利用人工合成的 TGR5 特异性激动剂 INT-777 可以使巨噬细胞表面的清道夫受体 A (scavenger receptor-A, SR-A) 及 CD36 表达水平下降,从而减少了巨噬细胞对 ox-LDL 的摄取,而在敲除 TGR5 受体的小鼠中则不然。由此证明激活 TGR5 能抑制泡沫细胞的形成。此外,Perino 等^[10]研究发现用 INT-777 激活脂肪组织中巨噬细胞上的 TGR5 受体,可以通过 TGR5-AKT-mTOR 信号通路显著降低脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的原发性巨噬细胞趋化因子的表达,从而阻碍巨噬细胞迁移。

在 As 的发展中,激活白细胞上的 TGR5 受体可以有效抑制巨噬细胞炎症,减少肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 等炎症细胞因子产生,从而抑制硬化斑块形成和斑块内炎症,降低斑块破裂和发生心肌梗死的风险^[2-3]。研究发现,TGR5 激活主要是通过 TGR5-NF- κ B 信号路径来降低促炎细胞因子水平^[3,8]。NF- κ B 是一种广泛存在于人体内的核转录因子,与其抑制蛋白 (I κ B) 结合,并以非活性状态贮存于细胞质中。当一些细胞受到某些刺激 (如 LPS、TNF- α) 后,I κ B 发生磷酸化,最终降解并与 NF- κ B 分离,NF- κ B 激活并进入细胞核,与 DNA 链上特异性部位

结合,启动基因转录及蛋白表达^[11]。在 As 的病理形成过程中,NF- κ B 可以调节一系列基因的表达,如炎症细胞因子、黏附分子和单核细胞趋化蛋白等的表达,并参与炎症反应,从而促进硬化斑块的形成,以及使不稳定斑块破裂^[12]。目前研究发现,在巨噬细胞中激活的 TGR5 抑制 NF- κ B 进入细胞核转录有三种主要途径:其一,激活 TGR5 后,通过 TGR5-cAMP 信号通路,抑制 I κ B 激酶,从而抑制 I κ B 的磷酸化,抑制 NF- κ B 激活进入细胞核转录;其二,激活 TGR5 后,通过 TGR5-cAMP 信号通路,激活蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA),从而上调原癌基因 c-Fos 并与 NF- κ B 的亚基 p65 结合,抑制 NF- κ B 转录;其三,激活 TGR5 后,通过 TGR5-cAMP-PKA 信号途径,使相应的底物结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 磷酸化,并与 NF- κ B 竞争结合 CREB 的结合蛋白 (CREB binding protein, CBP),从而减低 NF- κ B 活性,同时可能增加抗炎细胞因子白细胞介素 10 (interleukin-10, IL-10) 的产生^[13]。

2.2 TGR5 与血管内皮

研究发现,TGR5 受体普遍表达于人类和啮齿类动物的血管内皮细胞中^[2]。Renga 等^[5]发现在小鼠门静脉高压模型中,用胆汁酸衍生物 BAR501 特异性激活血管内皮上 TGR5 受体后,可以减轻或者逆转血管内皮功能障碍。众所周知,血管内皮功能障碍是 As 早期重要的病理生理改变。其中,血管张力调节障碍和黏附分子的异常表达是血管内皮功能障碍的两个重要表现,血管内皮依赖性舒张反应减弱甚至消失,导致血管痉挛、异常收缩、血栓形成及血管增厚,不仅是 As 形成之前的一个早期表现,而且在 As 的发展过程中起着极为重要的作用。黏附分子的异常表达可导致单核细胞大量黏附于血管内皮,迁移至动脉内皮下间隙,分化并摄取 ox-LDL 转化为泡沫细胞,促进 As 的发生发展^[14]。

Kida 等^[4]研究发现在血管内皮细胞中 TGR5 激活可以通过促进 Akt 磷酸化和增加细胞内 Ca²⁺ 浓度,从而促进内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 磷酸化,诱导 NO 产生。而 NO 是心血管系统关键的信号分子,具有抗 As 的特性:包括舒张血管、抑制血管平滑肌细胞增殖、血小板聚集以及单核细胞与内皮细胞黏附^[14]。Kida 等^[4]也证实了 TGR5 介导产生的 NO 可以抑制黏附分子的异常表达,随后通过抑制 NF- κ B 的活性,抑制单核细胞黏附到血管内皮细胞。此外,最近研究还发现,在血管内皮中,石胆酸可以通过激活 TGR5 受体调控胱硫醚- γ -裂解酶 (cystathionine- γ -lyase, CSE) 的

表达和活性,产生 H_2S ^[15]。而 H_2S 是继 NO 之后又一新的具有心血管调节功能的内源性气体信号分子,能够通过保护血管内皮,抑制血管平滑肌细胞增殖和泡沫细胞形成,从而抑制 As 的发生发展^[16]。最近,Renga 等^[5]进一步证实,激活肝窦内皮细胞上 TGR5 受体调节 CSE 的表达和活性,仍然是通过 TGR5-Akt 途径,使 CSE 磷酸化,从而产生 H_2S 。并且,还可以使 FOXO1 基因蛋白磷酸化,抑制内皮素 1 (endothelin, ET-1) 的产生,从而改善血管张力调节障碍,维持血管内皮功能。然而血管内皮上 TGR5 激活后产生的相关抗 As 效应,还需在 As 动物模型中得到进一步证实。

2.3 TGR5 与脂代谢及肥胖

最近研究发现,TGR5 可以调节肝脂质代谢和改善高脂饮食引起的肥胖。Thomas 等^[17]用高脂饮食喂养 C57BL/6J 老鼠 14 周后,再给予 TGR5 特异性激动剂 INT-777 治疗 10 周,发现实验组老鼠体重及肝脂肪变性较对照组明显减轻,同时测得血浆肝脂酶、甘油三酯、游离脂肪酸也明显下降。深入研究显示,TGR5 可能是通过调节能量代谢来减少肥胖的发生。Zhou 等^[18]研究证实,慢性高脂饮食后引起胃排空延迟,是因为上调了胃肌间神经丛的 TGR5 和神经型一氧化氮合酶 (neuronal nitric oxide synthase, nNOS) 的表达,说明了 TGR5 激活可引起胃排空延迟,减少能量摄取,避免体重增加。另外,激活 TGR5 受体,可引起小鼠基础代谢率升高,增加小鼠热量消耗,减少肥胖的发生^[19]。Watanabe 等^[20]研究显示其机制可能是:在脂肪组织和骨骼肌中,TGR5 激活通过 TGR5-cAMP 信号通路,增强了 2 型碘甲状腺原氨酸二碘酶 (D2) 活性,促进无活性的甲状腺素 (T4) 转化为有活性的三碘甲状腺原氨酸 (T3),增加组织细胞的生热效应及氧气的消耗,从而增加能量消耗,避免了肥胖和胰岛素抵抗的发生。

2.4 TGR5 与糖代谢及糖尿病

近年来,研究表明 TGR5 受体激活可以直接或者间接地增加胰岛素合成与分泌,维持糖代谢平衡,防治糖尿病。Katsuma 等^[21]发现激活 TGR5 受体可促进小鼠肠内分泌细胞系 STC-1 分泌胰高血糖素样肽 1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1)。而 GLP-1 水平升高可以增加胰岛素的生物合成和分泌,抑制胰高血糖素的分泌,维持糖代谢平衡。随后,研究发现激活 TGR5 受体不仅可促使肠道内分泌细胞分泌 GLP-1,还可促使其分泌多肽 YY (peptide YY, PYY),其相关机制为:在肠道内分泌细胞中,TGR5 激动剂 (如胆汁酸) 引起偶联于 TGR5 受体的 Gas 激

活,刺激磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol, PI) 水解,通过 cAMP/Epac/PLC- ϵ /Ca²⁺ 信号通路,引起 GLP-1 和 PYY 释放;而 H_2S 可通过抑制 PI 水解和 Ca²⁺ 释放来抑制 TGR5 介导的 GLP-1 和 PYY 释放^[22]。Kumar 等^[23]进一步证明,TGR5 受体也存在于胰腺胰岛 β 细胞中,在低糖或者高糖的环境下 TGR5 的激活都会直接刺激胰岛 β 细胞分泌胰岛素,其机制与在肠道内分泌细胞中 TGR5 激活后引起 GLP-1/PYY 释放的作用机制相似。

3 问题与展望

综上所述,TGR5 作为一种新的能调节炎症和代谢的膜受体,广泛表达于人类和啮齿类动物的各种组织和细胞中,其激活后可以通过多条信号通路,参与脂质代谢、能量代谢、血糖平衡、炎症反应、内源性气体信号分子表达等多方面的调控,涉及 As 发生发展的多个方面,有望成为防治 As 的潜在靶点。另外,研究发现 TGR5 激活后可通过 JNK 依赖性途径增加巨噬细胞中 miR-26a 的表达^[24]。miR-26a 已被证实参与调节糖、脂代谢,改善肥胖引起的胰岛素抵抗^[25]。但也有研究发现在 ox-LDL 引导的动脉粥样硬化模型中 miR-26a 表达异常升高,miR-26a 通过促进血管平滑肌细胞增殖和迁移,抑制细胞分化和凋亡,在 As 发生中发挥重要作用^[26]。目前 TGR5 对血管平滑肌细胞的作用研究甚少,TGR5 在血管平滑肌细胞方面对 As 的发生究竟扮演着正面还是反面角色,有待进一步研究证实。并且,目前这些研究主要局限于动物实验和体外实验,进一步研究 TGR5 在人体相关组织中的功能及其信号通路,收集相关的临床资料,对于探讨代谢与炎症相关性疾病的发病机制,以及对 As 的防治及其开发新的干预措施具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Anogeianaki A, Angelucci D, Gianchetti E, et al. Atherosclerosis: a classic inflammatory disease [J]. *INT J Immunopathol Pharmacol*, 2011, 24 (4): 817-825.
- [2] Kawamata Y, Fujii R, Hosoya M, et al. A G protein-coupled receptor responsive to bile acids [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (11): 9 435-440.
- [3] Pols TW, Nomura M, Harach T, et al. TGR5 activation inhibits atherosclerosis by reducing macrophage inflammation and lipid loading [J]. *Cell Metab*, 2011, 14 (6): 747-757.
- [4] Kida T, Tsubosaka Y, Hori M, et al. Bile acid receptor

- TGR5 agonism induces NO production and reduces monocyte adhesion in vascular endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33 (7): 1 663-669.
- [5] Renga B, Cipriani S, Carino A, et al. Reversal of endothelial dysfunction by GPBAR1 agonism in portal hypertension involves a AKT/FOXO1 dependent regulation of H₂S generation and endothelin-1 [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (11): e0141082.
- [6] Pols TW, Noriega LG, Nomura M, et al. The bile acid membrane receptor TGR5 as an emerging target in metabolism and inflammation [J]. *J Hepatol*, 2011, 54 (6): 1 263-272.
- [7] Maruyama T, Miyamoto Y, Nakamura T, et al. Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 298 (5): 714-719.
- [8] Miyazaki-Anzai S, Masuda M, Levi M, et al. Dual activation of the bile acid nuclear receptor FXR and G-protein-coupled receptor TGR5 protects mice against atherosclerosis [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (9): e108270.
- [9] Chinetti-Gbaguidi G, Colin S, Staels B. Macrophage subsets in atherosclerosis [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12 (1): 10-17.
- [10] Perino A, Pols TW, Nomura M, et al. TGR5 reduces macrophage migration through mTOR-induced C/EBPbeta differential translation [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124 (12): 5 424-436.
- [11] Gordon JW, Shaw JA, Kirshenbaum LA. Multiple facets of NF-kappaB in the heart: to be or not to NF-kappaB [J]. *Circ Res*, 2011, 108 (9): 1 122-132.
- [12] 孙龙飞, 安冬青. 炎症信号通路在动脉粥样硬化中的机制与中医药干预作用研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23 (11): 1 177-181.
- [13] Pols TW. TGR5 in inflammation and cardiovascular disease [J]. *Biochem SOC Trans*, 2014, 42 (2): 244-249.
- [14] 李丹, 李玉洁, 杨庆, 等. 血管内皮功能障碍与动脉粥样硬化研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18 (8): 272-276.
- [15] Renga B, Bucci M, Cipriani S, et al. Cystathionine gamma-lyase, a H₂S-generating enzyme, is a GPBAR1-regulated gene and contributes to vasodilation caused by secondary bile acids [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 309 (1): H 114-126.
- [16] 廖玲, 邹丽君, 刘录山. 硫化氢: 动脉粥样硬化研究新靶点 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23 (2): 201-206.
- [17] Thomas C, Gioiello A, Noriega L, et al. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis [J]. *Cell Metab*, 2009, 10 (3): 167-177.
- [18] Zhou H, Zhou S, Gao J, et al. Upregulation of bile acid receptor TGR5 and nNOS in gastric myenteric plexus is responsible for delayed gastric emptying after chronic high-fat feeding in rats [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 308 (10): G 863-873.
- [19] Cortes V, Amigo L, Zanlungo S, et al. Metabolic effects of cholecystectomy: gallbladder ablation increases basal metabolic rate through G-protein coupled bile acid receptor Gpbar1-dependent mechanisms in mice [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (3): e0118478.
- [20] Watanabe M, Houten SM, Matakai C, et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation [J]. *Nature*, 2006, 439 (7075): 484-489.
- [21] Katsuma S, Hirasawa A, Tsujimoto G. Bile acids promote glucagon-like peptide-1 secretion through TGR5 in a murine enteroendocrine cell line STC-1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 329 (1): 386-390.
- [22] Bala V, Rajagopal S, Kumar DP, et al. Release of GLP-1 and PYY in response to the activation of G protein-coupled bile acid receptor TGR5 is mediated by Epac/PLC-epsilon pathway and modulated by endogenous H₂S [J]. *Front Physiol*, 2014, 5: 420.
- [23] Kumar DP, Rajagopal S, Mahavadi S, et al. Activation of transmembrane bile acid receptor TGR5 stimulates insulin secretion in pancreatic beta cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 427 (3): 600-605.
- [24] Chen X, Xu H, Ding L, et al. Identification of miR-26a as a target gene of bile acid receptor GPBAR-1/TGR5 [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (6): e0131294.
- [25] Fu X, Dong B, Tian Y, et al. MicroRNA-26a regulates insulin sensitivity and metabolism of glucose and lipids [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125 (6): 2 497-509.
- [26] 张丽, 谢建洪, 陈明, 等. miR-26a 在动脉粥样硬化发生中的作用 [J]. *中华全科医学*, 2015, 13 (4): 532-534.

(此文编辑 文玉珊)