

# 糖皮质激素与动脉粥样硬化的关系

吴练秋 综述 赵庆伟 审校

(中国人民武装警察部队医学院病理学教研室, 天津 300162)

**主题词** 糖皮质激素: 动脉粥样硬化: 核受体: 脂蛋白类: 血管壁: 细胞: 基因

**摘要** 研究糖皮质激素在动脉粥样硬化中的作用和地位可以从一个崭新的角度去探讨动脉粥样硬化的发病机理。本文综述了近 15 年来的国外相关研究文献, 以其讨论糖皮质激素与核受体的作用原理及其与脂蛋白代谢和动脉血管壁细胞生物学行为的关系, 并从基因水平阐述了糖皮质激素对某些动脉粥样硬化相关基因转录和表达的调节作用。

1949 年 Hench 等首次运用糖皮质激素 (glucocorticoid, GC) 治疗类风湿性关节炎取得成功并于次年获得诺贝尔医学奖。此后, 尽管 GC 通过其显著疗效而成为临床上治疗某些危重和难治性疾病的主要药物, 但由于严重的副作用而使其应用受到很大限制。其副作用包括感染、骨质疏松、高血压和动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 等, 其中动脉粥样硬化与高血压成为长期大量应用 GC 的患者和 Cushing 氏综合征患者过早死亡的重要原因。研究 GC 在动脉粥样硬化发生发展中的作用机制和所处地位可以从一个崭新的角度去探讨动脉粥样硬化的发病机理。此类研究在国内尚属空白, 本文复习了国外近 15 年来的相关文献, 归纳概述于此。

## 1 糖皮质激素核受体的作用原理

GC 为脂溶性类固醇激素, 能穿过细胞膜与细胞质的受体 (glucocorticoid receptor, GR) 相结合, 形成 GC-GR 复合物。人类 GR 为相对分子质量 50~100 kDa 的蛋白质, 是由两个基本相同的单位组成的二聚体。GR 的中央部位为 DNA 结合区, 含有 9 个半胱氨酸, 每 4 个半胱氨酸和 1 个锌原子相连接, 构成两个并列的螺旋型锌指结构。第一个锌指 N 端指根部的氨基酸序列可与靶细胞 DNA 上的糖皮质激素反应元件 (glucocorticoid responsive element, GRE) 发生特异性结合。在生理状态下, GR 与热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 等物质结合, 遮盖了 GR 的 DNA 结合部位, 阻滞 GR 活性。GC 进入细胞后与 GR 的 C 端结合, GR 发生温度依赖性立体构型变化, DNA 结合部位得以暴露, 抑制活性被解除, 成为能与 DNA 结合的活化型受体。GR-GC 复合物一起向核内移行, 与细胞核基因中特定的 GRE 结合, 再通过靶基因调节区域及转录因子的介入, 对基因转录产生正调控或负调控, 调节正常组织细胞代谢。当血液中 GC 浓度高于生理剂量时, 则可引起 Cushing 氏综合征的发生<sup>[1]</sup>。

## 2 糖皮质激素与脂蛋白代谢

以往比较一致的实验结果是糖皮质激素可引起血浆高密度脂蛋白胆固醇水平升高和脂蛋白 (a) 水平下降, 前者的升高及后者的降低都对动脉粥样硬化有预防作用。以往的实验证实, GC 能增加大鼠肝脏中载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 的表达水平

而对载脂蛋白 A<sub>ii</sub> 则有削弱作用。目前的研究表明, 单纯给大鼠注射地塞米松 6 h 后肝脏载脂蛋白 A<sub>iv</sub> mRNA 水平增加, 12~24 h 后增加更快, 与之相反, 载脂蛋白 A<sub>ii</sub> mRNA 水平则逐渐减弱。由此可证明地塞米松通过直接作用于肝细胞而调节载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 基因表达, 这种地塞米松诱导的载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 基因表达需要 GR 和一个不稳定的特异性细胞蛋白参与, 载脂蛋白 A<sub>ii</sub> 则无此过程<sup>[2]</sup>。脂蛋白 (a) 在 GC 的作用下早期出现浓度的快速下降, GC 还可抑制体外培养的平滑肌细胞产生脂蛋白 (a)<sup>[3]</sup>。但是, GC 是否引起含载脂蛋白 B 的脂蛋白 (极低密度脂蛋白、低密度脂蛋白和甘油三酯) 水平升高, 结果不一致<sup>[4]</sup>。如 Wang 等<sup>[5]</sup> 实验结果表明, GC 促进肝细胞分泌含载脂蛋白 B 脂蛋白, 不仅增加载脂蛋白 B<sub>100</sub> 和载脂蛋白 B<sub>48</sub> 的合成, 而且降低细胞内新合成的载脂蛋白 B 的降解, 从而使血浆相应的脂蛋白水平升高。有数据表明, 地塞米松剂量在 10~100 nmol/L 时, 载脂蛋白 B<sub>100</sub> 及载脂蛋白 B<sub>48</sub> 的降解分别由正常的 50% 降至 30% 和 30% 降至 10%。Berg 等<sup>[6]</sup> 研究结果显示, 促肾上腺皮质激素使载脂蛋白 B、低密度脂蛋白胆固醇及血浆甘油三酯浓度快速上升, 而地塞米松对含载脂蛋白 B 的脂蛋白不起作用。同样的实验还发现, 无论是促肾上腺皮质激素还是地塞米松, 均可使脂蛋白 (a) 浓度下降, 高密度脂蛋白及高密度脂蛋白胆固醇浓度升高, 对载脂蛋白 A<sub>iv</sub> 只有地塞米松才起作用。由于结果不一致, GC 对脂蛋白代谢的影响还需进行更进一步的研究。

## 3 糖皮质激素与动脉血管壁细胞的生物学行为

参加动脉粥样硬化形成和发展过程的细胞主要有单核/巨噬细胞、血小板、内皮细胞和平滑肌细胞。GC 可以通过抑制巨噬细胞的内皮表面粘附以及趋化是其抗炎作用的一个重要机制。单纯就 GC 的这一作用而言, 似乎可以认为 GC 能够阻止动脉粥样硬化的早期病变形成<sup>[7-9]</sup>。例如, 有人用大量的 GC 来防治冠状动脉球囊再塑后的再狭窄有一定效果。但这一作用在动脉粥样硬化发病机制中所占的地位尚有待进一步考证。

内皮细胞的形态和功能正常是动脉粥样硬化发生的第一道防线。有关研究表明, 地塞米松可以抑制体外培养的冠

状血管前列腺素(prostaglandin, PG)释放,并具有时间和剂量依赖性,但不能抑制花生四烯酸(arachidonic acid, AA)的释放<sup>[10]</sup>。同时还观察到,地塞米松对内皮细胞膜的磷脂分布没有明显影响,但改变脂肪酸的成分,即饱和脂肪酸和单一不饱和脂肪酸增加,多不饱和脂肪酸减少。地塞米松明显抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激的内皮白细胞粘附分子(endothelial-leukocyte adhesion molecule-1, ELAM-1)和细胞间粘附分子(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)mRNA 增加,这种抑制作用能被 Ru-486(一种地塞米松对抗物)所逆转<sup>[12]</sup>。Kanno 等<sup>[12]</sup>1994 年观察了白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1) $\beta$ 对培养的主动脉内皮细胞一氧化氮和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)mRNA 及其蛋白质生成的影响,发现 IL-1 $\beta$ 显著地刺激 NO<sup>2-</sup>和 NO<sup>3-</sup>(亚硝酸根和硝酸根,统称 Nox)的产生,并有时间和剂量依赖性。转移生长因子(transforming growth factor, TGF) $\beta$ 和地塞米松抑制 IL-1 $\beta$ 诱导的 Nox 产生以及 iNOS mRNA 蛋白质的表达。因此可以看出 GC 与某些细胞因子和炎症介质间存在多种多样的交互作用。

动脉中膜平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)的增殖及向内膜下迁移是动脉粥样硬化发生的关键环节之一<sup>[13-16]</sup>。Ito 等观察了 GC 对由垂体腺苷酸环化酶激活多肽(pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, PACAP)、前列腺素 E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)及卡巴环素(carbacynclin, 一种 PGE<sub>2</sub> 类似物)介导的主动脉平滑肌细胞内环磷酸腺苷产生的影响,结果表明 GC 显著抑制体外培养的主动脉平滑肌细胞中由上述活性物质介导的环磷酸腺苷的生成。该抑制作用是通过抑制腺苷酸环化酶(adenylate cyclase, AC)而实现的。平滑肌细胞以自分泌或旁分泌的方式分泌血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)A 链和肝素结合的类内皮细胞生长因子(heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor, HB-EGF),两者可刺激平滑肌细胞本身的增殖。有研究显示,地塞米松抑制由血栓素(thrombin)刺激的上述两种丝裂因子的产生。

#### 4 糖皮质激素对某些动脉粥样硬化相关基因转录和表达的调节

现已明确 c-fos 和 c-jun 表达是细胞凋亡启动所必须,这些原癌基因编码的蛋白在核内起着转录因子的作用。c-fos 编码的蛋白与 c-jun 编码的蛋白组成异源二聚体称为 AP-1。AP-1 是一个重要的转录因子,结合于 DNA 上,可诱导细胞凋亡的发生。GR 与糖皮质激素反应元件结合后,也可通过 AP-1 转录因子的介入发挥作用<sup>[17]</sup>。但是否是通过凋亡机制参与动脉粥样硬化的形成尚不清楚。

Gax 基因是一种 homebox 基因。homebox 基因所编码的蛋白质是一类转录因子,均含有一个 DNA 结合区,在进化过程中高度保守。血管平滑肌细胞的增殖和表型变化是动脉粥样硬化发病的关键环节,在这一过程中,一类基因所编码的转录因子如 c-fos、c-jun 和 c-myc 等原癌基因产物起促进作用,另一类基因编码的转录因子如 Gax 和 gadd 基因产物

起抑制作用。这些基因在静止的细胞中才高水平表达,而当细胞受到促细胞分裂剂等刺激后,其 mRNA 水平明显下降。Gax 基因在静止期和收缩型的平滑肌细胞中高度表达,但当血管平滑肌细胞被促细胞分裂剂等刺激后,它的表达迅速下降。若细胞以血小板源性生长因子或其它生长因子刺激,在 2 h 内 Gax mRNA 水平会下降至原水平的 1/5~1/20,4 h 达高峰,刺激后 8~24 h 开始恢复,24~28 h 基本恢复正常。Gax 基因下调的另一特点是较低水平的促细胞分裂剂即可引起其下调,这一水平与机体生理水平相似。因此,当正常的血管受损,排除生长因子的情况下,Gax 表达下调,血管紧张素 $\text{①}$ 刺激血管平滑肌细胞增殖,而 C 型排钠肽(C-type natriuretic peptide, CNP)则抑制血管平滑肌细胞增殖。研究发现血管紧张素 $\text{①}$ 可抑制 Gax mRNA 表达,C 型排钠肽则使其 mRNA 水平增加 108 倍,当两者共存时,C 型排钠肽可减弱血管紧张素 $\text{①}$ 对 Gax 基因表达的抑制作用。在动脉粥样硬化、再狭窄和血管平滑肌细胞增殖性疾病时,Gax 基因表达下调,应用显微注射,在血管平滑肌细胞中导入反义 Gax 可以促进血管平滑肌细胞增殖,使血管平滑肌细胞从收缩型向合成型转化。在体内利用复制缺陷的腺病毒载体携带 Gax 基因,导入内皮损伤的血管,可以抑制血管平滑肌细胞增殖,并明显减少内膜的增生和再狭窄的发生,提示 Gax 基因可能是防治动脉粥样硬化和再狭窄,进行基因治疗的靶基因<sup>[18]</sup>。

JE 是一种血小板源性生长因子诱导基因(PDGF-inducible gene),它的人类同源物为巨噬细胞趋化蛋白-1(macrophage chemotactic protein-1, MCP-1)。JE/MCP-1 编码一种细胞因子,是小诱导基因超家族中的一员,另外还包括血小板因子 4、血栓球蛋白- $\beta$ 、310-C/NAP-1/IL-8、IP-10、KC/gro/MSGA 及其它一些在炎性和免疫性反应中起重要作用的细胞因子。有研究表明,GC 抑制 JE/MCP-1 基因的表达,并可能是通过某一转录抑制因子而实现的<sup>[19]</sup>。

载脂蛋白 A iv 基因的表达在多次摄入 GC 后会增加,且 mRNA 的水平呈现出时间和剂量的依赖性。将 RU486 用于地塞米松作用后的机体,可观测到它能阻止载脂蛋白 A iv mRNA 水平的提高,这种作用是通过 GR 来传递的。另有研究表明,地塞米松对载脂蛋白 A iv 基因转录的诱导作用可以被一种名为亚胺环己酮的蛋白合成抑制剂阻滞,同时此作用的产生需要 GR 和一种不稳定的细胞特异性蛋白参与<sup>[2]</sup>。

血清糖皮质激素调节激酶(serum glucocorticoid-regulated kinase, SGK)是血管平滑肌细胞增殖的早期应答因子。血管平滑肌细胞增殖在急慢性血管病变中均起重要作用,其中也包括动脉粥样硬化。运用不同的显示技术证明,肝素可以抑制早期 SGK 基因的表达,继而抑制平滑肌细胞的增殖。随着肝素浓度的增加,SGK mRNA 表达也会减少,但 SGK 基因的表达却不受其他生长抑制物(如  $\beta$ -TGF 和  $\beta$ -TNF)的作用,提示生长抑制物是在促有丝分裂的途径中才发挥独立和显著的作用<sup>[20]</sup>。

#### 5 结语

上述归纳了 GC 与动脉粥样硬化研究相关的主要方面:

GC 与动脉粥样硬化的研究是初步的,基本上处在 GC 与抗炎和抗免疫作用的附带研究,不深入不系统。主要是没有就 GC 与动脉粥样硬化发生发展的某些重要环节进行深入研究,没有以动脉粥样硬化发病机理为主线或角度来加以研究。④研究结果是模棱两可的,且有许多结果可以推论 GC 有抗动脉粥样硬化作用,或者抗动脉粥样硬化作用和致动脉粥样硬化作用并存。⑤在应用 GC 时,其他相关激素的分泌和功能会受到影响,但其他内分泌激素对血管壁功能结构的作用缺乏研究。长期大量应用 GC 和发生 Cushing 氏综合征时,动脉壁动脉粥样硬化病变是常见的表现,即动脉粥样硬化的发生是确实的,但就目前为止的研究,尚未找到一个确定的 GC 致动脉粥样硬化的证据或机制。因此,GC 与动脉粥样硬化的研究将是一个崭新而有前途的研究方向,尤其是切合动脉粥样硬化发生发展中的一些重要环节,如内皮损伤、细胞凋亡、平滑肌细胞增殖、血管壁内某些细胞因子、受体活性、脂质沉积及基因表达等动脉壁内分子要件,利用先进的病理学、细胞生物学和分子生物学技术进行在体和离体实验研究,阐明 GC 在动脉粥样硬化形成中的作用机理及其地位,不但丰富了动脉粥样硬化发病学的理论知识,也将为 GC 在临床的广泛应用提供有指导意义的科学依据,降低其副作用产生的不良影响。

#### 参考文献

- Kaiser A, Stier U, Riecken EO, et al. Glucocorticoid receptor concentration modulates glucocorticoid-regulated gene expression in rat pancreatic AR42J cells. *Digestion*, 1996, **57**: 149-160
- Saladin R, Vu-Dac N, Fruchart JC, et al. Transcriptional induction of rat liver apolipoprotein A iv gene expression by glucocorticoids requires the glucocorticoid receptor and a labile cell specific protein. *Eur J Biochem*, 1996, **239**: 451-459
- Sato A, Sheppard KE, Fullerton MJ, et al. Glucocorticoid receptor expression is down-regulated by lipoprotein (a) in vascular smooth muscle cells. *Endocrinology*, 1995, **136**: 3707-713
- Martin Sanz P, Vance JE, Brindley DN. Stimulation of apolipoprotein secretion in very low density and high density lipoprotein from cultured rat hepatocytes by dexamethasone. *Biochem*, 1990, **271**: 575-583
- Wang CN, Mcleod RS, Yao Z, et al. Effects of dexamethasone on the synthesis, degradation, and secretion of apolipoprotein B in cultured rat hepatocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 1481-491
- Berg AL, Nilson Ehle P. Direction effects of corticotropin on plasma lipoprotein metabolism in man - studies in vivo and in vitro. *Metabolism*, 1994, **43**: 90-97
- Zitnik RI, Whiting NL, Elias JA, et al. Glucocorticoid inhibition of interleukin-1-induced interleukin-6 production by human lung fibroblasts: evidence for transcriptional and post-transcriptional regulatory mechanism. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1994, **10**: 643-650
- Hauptmann S, Bernauer J, Zwadlo-Klarwasser G, et al. Differential adherence of the human monocyte subsets 27E10 and RM3/1 to cytokine/glucocorticoid-treated endothelial cells. *Pathology*, 1994, **62**: 262-268
- Wolff JE, Molenkamp G, Hotfilder M, et al. Dexamethasone inhibits glioma-induced formation of capillary like structures in vitro and angiogenesis in vivo. *Klin Padiatr*. 1997, **209**: 275-277
- Prajrod G, Danon A. Biphasic regulation by dexamethasone of IL-1 and LPS stimulated endothelial prostacyclin production. *Agents Actions*, 1992, **35**: 220
- Wheller SK, Perretti M, et al. Dexamethasone inhibits cytokine-induced intercellular adhesion molecule-1 up-regulation on endothelial cell lines. *Eur J Pharmacol*, 1997, **331**: 65-71
- Kanno K, Hirata Y, Imai T, et al. Regulation of inducible nitric oxide synthase gene by interleukin-1 beta in rat vascular endothelial cells. *Am J Physiol*, 1994, **267**: H2318-324
- Ito Y, Kozawa O, Tokuda H, et al. Glucocorticoid inhibits cAMP production induced by vasoactive agents in aortic smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 1994, **30**: 69-76
- 赵庆伟, 吕新跃. 糖皮质激素对前列腺素 E<sub>2</sub> 介导的主动脉平滑肌细胞 cAMP 生成的影响. *中华病理学杂志*, 1997, **26**: 96-99
- Zhao QW, Qiu JM. Cultured smooth muscle cell proliferation enhanced by low concentration prostaglandin E<sub>2</sub>. *Chemical Abstract*, 1993, **119**: 152700
- 邱近明, 赵庆伟, 宋文静. 高脂血清对不同剂量前列腺素 E<sub>2</sub> 下的平滑肌细胞的影响. *中华医学杂志*, 1993, **73**: 474-479
- Yanovski JA, Cutler GB Jr. Glucocorticoid action and the clinical features of Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 1994, **23**: 487-509
- Yamashita J, Yu J, Itoh H, et al. Opposite regulation of Gα<sub>h</sub> expression by angiotensin II and C-type natriuretic peptide. *Hypertension*. 1997, **29**: 381-387
- Kawahara RS, Deng ZW, Deuel TF. Glucocorticoids inhibit the transcriptional induction of JE, a platelet-derived growth factor-inducible gene. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 13261-266
- Delmolino LM, Castellot JJ Jr. Heparin suppresses SGK, an early response gene in proliferating vascular smooth muscle cells. *J Cell Physiol*, 1997, **173**: 371-379

(此文 1999-04-12 收到, 1999-09-06 修回)

(此文编辑 文玉珊)