

[8] Hujer KM, Hamza NS, Hujer AM, et al. Identification of a new allelic variant of the *Acinetobacter baumannii* cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase; defining a unique family of class C enzymes[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49(7):2941-2948.

[9] Brown S, Amyes S. OXA(beta)-lactamases in *Acinetobacter*; the story so far[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 57(1):1-3.

[10] 马序竹, 吕媛. 鲍曼不动杆菌对主要抗菌药物耐药机制

[J]. *中国临床药理学杂志*, 2009, 25(1):90-94.

[11] 应春妹, 翁文浩. 鲍曼不动杆菌多重耐药机制研究进展[J]. *检验医学*, 2007, 22(2):208-212.

[12] 钟国权, 李介华, 袁春雷, 等. 不动杆菌对临床常用抗菌药物耐药性及耐药机制分析[J]. *中国抗生素杂志*, 2006, 31(4):206-208.

(收稿日期:2011-05-03)

糖基化终产物致动脉粥样硬化的作用机制

葛林 综述, 徐庆雷 审校(江苏省沭阳县人民医院检验科 223600)

【关键词】 糖基化终产物; 动脉粥样硬化; 实验室诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.044 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)20-2513-02

近年来,随着对非酶糖基化研究的不断深入,特别是糖基化终产物(AGEs)及其受体的发现,AGEs 越来越受到关注。同时,大量的临床及实验研究表明,AGEs 具有诱发和促进动脉粥样硬化(AS)的形成,并且在糖尿病易患 AS 中起关键作用。

1 AGEs 的形成

持续的高血糖状态会导致体内许多结构和功能蛋白质糖基化。这种转录后修饰过程,先形成可逆的早期糖基化产物、Schiff 碱和 Amadori 产物。如反应继续,则分子重排形成一大类有高度活性的高级 AGEs。它们共同的特征是形成缓慢,但不可逆,有棕黄色素和特征性荧光光谱。作者通过体外孵育制备 AGEs 加以纯化后,免疫接种新西兰白兔,成功获得多克隆 AGEs 抗体,并运用该抗体建立酶联免疫吸附试验(ELISA)系统。另外分别建立了荧光分析法、流动注射分析技术,并将该技术应用于临床的检测工作^[1]。

2 AGEs 诱发和促进 AS 的机制

2.1 AGEs 与 AGEs 受体的相互作用 AGEs 发挥作用的重要途径是通过与细胞特异性表面受体相结合而起作用。AGEs 能被细胞识别、摄入、代谢,并使细胞发生一系列功能变化。如使血管内皮通透性增加及细胞表面抗凝特性改变,趋化单核细胞游走,刺激某些细胞因子、生长因子、激素分泌等。平滑肌细胞的异常增生在 AS 的发病机制中具有极其重要的作用。体外实验已证实,平滑肌细胞、内皮细胞、单核细胞表面均存在特异性 AGEs 受体^[2]。并且 AGEs 与受体相互作用后,可诱导大鼠平滑肌细胞、人肝和胰腺星状细胞增殖^[3-5]。进一步的研究发现,上述作用可能与 AGEs 引起细胞内信号通路的改变有关,它包括细胞内一氧化氮通路的改变^[5],磷脂肌醇系统激活,即 DAG-PKC 和 IP₃-Ca²⁺ 两条信号通路的活化,形成瀑布效应^[6-10],从而影响细胞的下游事件的发生。如单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、CD31、结缔组织生长因子(CTGF)和细胞黏附分子-1(VCAM-1)的高表达。这些因子的过度表达又可导致单核细胞对内皮的黏附性增强、细胞外基质的增生以及促进 AS 的发生和发展。

AGEs 受体在内皮上的表达,对细胞内配体的摄取和糖基化蛋白到内皮下的传输提供了一个途径。此外,AGEs 与受体结合后,引起内皮素-1 合成增加,凝血系统被激活,导致血管收缩和局部血栓形成。

2.2 AGEs 与细胞外基质 在糖尿病患者中,微小血管基底

膜的增厚是普遍现象。研究证明,在血管壁胶原和基底膜蛋白上均有 AGEs 的积聚。作者在糖尿病大鼠模型中亦发现,AGEs 和 MCP-1 水平明显升高,肾皮质胶原显著增生,肾小球基底膜增厚。众多的资料显示,血管基质蛋白糖基化后不仅自身降解减慢,而且能与血浆蛋白发生共价结合沉积于血管壁导致血管壁进行性增厚、管壁狭窄。作者在体外应用 AGEs 的抑制剂氨基胍及葛根素治疗糖尿病大鼠模型,均可使大鼠的血管壁弹性增加,肾脏和心肌的损害明显减轻。这一方面说明 AGEs 的积聚,对 AS 的早期发展起重要的作用。另一方面也提示,AGEs 致 AS 的复杂性。

AGEs 对细胞外基质的影响,还可通过一些能促进基质增生的细胞因子、酶类、蛋白质的分泌增加而起作用。最近的研究发现,AGEs 在体外能明显促进 CTGF 的表达;而 CTGF 是近年来发现的一种以细胞和基质附着为主的多肽小分子,具有促细胞增殖、趋化及诱导胞外基质合成的特性。并且 CTGF 还参与细胞周期调控、血管发生、重构及多种脏器的纤维化反应。糖尿病的慢性并发症更是如此。近期研究发现,AGEs 可抑制内皮细胞来源的舒张因子及抗增生因子 NO 的活性,此可部分解释糖尿病及老年患者,血管对 NO 舒张反应的丧失;在细胞培养途径下,AGEs 可阻断 NO 对平滑肌细胞、基底膜的抑制细胞生长作用^[11]。

2.3 AGEs 与氧化反应 在 AGEs 的形成过程中,可产生反应性氧的中间产物,这些反应性氧中间产物可使蛋白质、脂类等发生氧化,其中尤以脂质的过氧化最为重要。这种过氧化物能促进 AGEs 的形成。在脂质过氧化物中,低密度脂蛋白(LDL)的糖基化及 ox-LDL 对 AS 的发生、发展起重要的作用。以前的研究发现,糖基化 LDL 可增加单核巨噬细胞内 Ca²⁺ 浓度和脂质沉积^[12]。LDL 糖基化使其受体途径代谢受阻而在体内清除减慢,且有免疫性、易被单核巨噬细胞大量摄取。这可能是糖尿病易患脂代谢障碍及 AS 的重要机制之一。此外,血小板膜上的蛋白也可发生糖基化。AGEs 能使血小板的纤维蛋白原受体与纤维蛋白原结合增强,并通过氧化应激、氧自由基途径来促进血小板的聚集,从而导致血小板的黏聚性增强^[13]。

AGEs 可通过氧自由基介导信号转导,AGEs 结合于内皮细胞后可产生氧化应激,抗 AGEs 抗体和抗 AGEs 受体抗体均可阻断氧自由基产生;注入 AGEs 清蛋白,可增强对自由基敏感的转录因子核因子 κ B(NF- κ B) 的表达,由于 NF- κ B 是许多

“反应-损伤”基因的多效性调节子。因此, AGEs 与其受体结合可能促发氧化应激反应, 导致在基因表达水平上的损伤反应。

3 细胞内蛋白糖基化及核酸糖基化

高糖不仅能与细胞膜蛋白发生糖基化, 而且持续的高血糖是胞质内蛋白及核酸发生非酶糖基化修饰。此外, AGEs 还可通过胞饮作用进入细胞内发挥作用, 细胞内蛋白糖基化促发、加速糖尿病慢性血管病变和 AS 的进一步发展。而且胞质及核蛋白如肿瘤抑制因子、转录因子、原癌基因的糖基化, 可直接改变靶组织功能状态, DNA 糖基化可诱导基因发生突变。所有这些效应均可能促发类似于蛋白质磷酸化的重要调控方式的发生^[14]。随着 AGEs 与 AS 关系研究的深入, 细胞内蛋白及核酸的糖基化可能更具有特殊意义。

4 AGEs 与微循环

糖尿病患者不仅易患 AS, 而且晚期慢性并发症与微循环异常有密切关系, 近年的研究集中在血管壁细胞, 特别是内皮细胞已成为研究热点。胰岛素依赖型糖尿病的特征是微循环毛细血管压力增高和流速增快, 导致微血管内皮损伤, 并发生适应性微血管硬化, 自身调节能力受损, 渗透性增加。

糖尿病患者心脏微循环的改变可引起糖尿病心肌病及相关冠心病, 糖尿病冠状血管的病变往往是弥漫性、串珠样改变。最近研究发现: 冠心病患者血清中 AGEs 水平明显升高^[15]。进一步说明糖尿病与冠心病之间的关联性。

5 AGEs 的药物干预

AGEs 是通过与细胞膜特异性受体、细胞外基质、氧化反应、胞浆及核内途径, 引起细胞外基质功能失调、胞外蛋白功能改变和细胞因子产生不正常, 从而促进了 AS 的发生和发展。这些效应能被 AGEs 受体的抗体、维生素 E 和抗氧化剂 Probucol 阻断。抗氧化剂维生素 C、维生素 E 无论在体内或体外实验中不仅可阻断蛋白质的糖基化, 而且具有“清道夫”作用, 清除糖基化所产生的自由基。

氨基胍作为一个经典的阻断 AGEs 形成的药物, 在大规模的动物实验和临床验证已被证实。其机制是由于氨基胍阻断了 Amadori 产物进一步交联形成不可逆的 AGEs。有效降低 AGEs 的危害。最近, 有学者针对 AGEs 在结缔组织与基质成分形成交链, 设计出了一种 AGEs 蛋白质交联阻断剂 PTB, 能将 AGEs-BSA-胶原复合物中的 BSA 释放出来, 并且能清除体内已形成的 AGEs 蛋白质交链^[16]。这为临床寻找应用前景的治疗药物提供了有价值的线索。

新近研究表明, 过氧化物酶体激活受体(PPARs)与 AS 关系密切, 其激活物作用于与 AS 有关的脂质代谢和血管炎症反应^[17]。PPARs 是一类由配体激活的核转录因子, 属核受体超家族成员。其中 PPAR α 是 PPARs 的一个亚型, 它是脂蛋白代谢的调节因子, 已证实合成的 PPAR α 激活物能下调一些致 AS 形成的基因表达, 一方面通过 PPRE 直接调节转录, 另一方面, 可能负性干预信号通路, 包括 NF- κ B 的转录。有资料显示核内的糖基化可能影响 PPARs 的表达。因此, PPAR α 有望成为抑制 AS 进展的核内靶干预点。

参考文献

[1] Zilin S, Naifeng L, Bicheng L, et al. The determination of AGEs-peptides by flow injection assay, a practical marker of diabetic nephropathy[J]. Clin Chim Acta, 2001, 313(1-2): 69-75.

[2] Zhou QG, Liu NF, Xie PL. Expression of receptor for advanced glycosylation end products and inhibition of AGEs induced cytosolic calcium elevation by diltiazem in cultured rat aortic smooth muscle cells[J]. Acta Phar Sinica, 1997, 18(5): 425-430.

[3] 刘乃丰, Bachem MG, Grunert A. 人肝脏星状细胞糖基化终产物受体表达的研究[J]. 铁道医学, 1999, 27(5): 288-290.

[4] Jin H, Liu NF, Tang R. Effects of advanced glycosylation end products on proliferation and of cytosolic free calcium in cultured vascular smooth muscle cells[J]. Acta Phar Sinica, 1997, 18(5): 422-425.

[5] 刘乃丰. 氨基胍抑制糖基化终产物促进大鼠胰星状细胞增殖和基质合成的作用[J]. 中国新药与临床杂志, 1999, 18(6): 339-341.

[6] 严金川. 糖基化终产物对人脐静脉内皮细胞产生一氧化氮量及其合酶的影响[J]. 中国病理生理杂志, 1999, 15(7): 86-88.

[7] Liu NF, Yan JC. Effects of advanced glycosylation end products increase diacylglycerol levels in cultured vascular smooth muscle cells[J]. Acta Phar Sin, 1999, 20(7): 618-622.

[8] Yan JC, Liu NF. Advanced glycosylation end products increase diacylglycerol levels in cultured human umbilical vein endothelial cells[J]. Chin Med J, 2000, 113(7): 588-591.

[9] Tong JY, Liu NF. Effects of advanced glycosylation end products on activity of protein kinase C in human peripheral blood mononuclear cells[J]. Chin Med J, 2000, 20(8): 198-200.

[10] 刘乃丰, 董莉, 何家声. 大鼠组织中 IP3 受体亚型基因的表达[J]. 中国动脉硬化杂志, 1999, 7(3): 201-204.

[11] 冯毅, 刘乃丰, 陈日新. 糖基化 LDL 增加胞浆钙浓度及脂质沉积[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1996, 12(4): 212-214.

[12] Hangaishi M, Taguchi J, Miyata T, et al. Biochem Biophys[J]. Res Commun, 1998, 248(2): 285-292.

[13] Hogen M, Cermi A, Bucala R. Advanced glycosylation end products block the antiproliferative effect of nitric oxide [J]. J Clin Invest, 1992, 90(3): 1110-1115.

[14] Haltiwanger RS, Busby S, Grove K, et al. O-glycosylation of nuclear and cytoplasmic protein: regulation analogous to phosphorylation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 231(2): 237-242.

[15] 刘乃丰, 孙子林, 童家毅. 冠心病患者血清 AGEs 水平升高[J]. 中华心血管杂志, 2001, 29(2): 94-95.

[16] Vasan S, Zhang X, Zhang X, et al. An agent cleaving glucose-derived protein crosslinks in vitro and in vivo[J]. Nature, 1996, 382(6588): 276-278.

[17] Neve BP, Fruchart JC, Bart S. Role of the peroxisome proliferator-activated receptors(PPAR) in atherosclerosis [J]. Biochem Pharmacol, 2001, 60(8): 1245-1250.