

雄激素在心血管疾病中作用的相关信号通路

易 东 谈世进

[中图分类号] R972 [文献标识码] A

雄激素作为男性最重要的类固醇激素,对心血管疾病的病理生理过程有重要的意义,其作用多通过雄激素受体(androgen receptor, AR)起作用。既往关于雄激素对心血管疾病作用机制的研究主要集中于雄激素与 AR 结合后作为转录因子参与核内基因的转录过程,调节靶基因的表达,即雄激素的基因作用^[1]。近年来大量研究发现,雄激素还可以通过非基因作用影响细胞的生长、分化、增殖、凋亡,进而参与心血管疾病的调节^[2]。本文主要就雄激素作用对心血管系统的基因作用和非基因作用可能涉及信号转导通路做一综述。

一、雄激素与雄激素受体

雄激素主要包括睾丸合成并分泌到血液中的睾酮(testosterone, T)和肾上腺合成的两种作用较弱的雄激素,即脱氢表雄酮(dehydroepiandrosterone, DHEA)和雄烯二酮。在睾丸间质细胞和周围组织,雄烯二酮可经芳香酶转化为 T 或雌激素(estrogen, E₂),而 T 则既可经 5 α -还原酶转化为活性更强的双氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT),又可经 P450 芳香酶转化为 E₂^[3]。血液中 98% 的雄激素处于结合状态,其中 60% 结合于性激素结合球蛋白(sex hormone binding globulin, SHBG)和雄激素结合蛋白,还有少数结合于血浆白蛋白^[4]。

AR 是 X 染色体编码的 110kDa 的蛋白,AR 主要位于睾丸间质细胞和支持细胞的胞质内,在没有配体的情况下,AR 主要同胞质内热休克蛋白(heat shock protein, HSPs)、细胞骨架蛋白和其他伴侣蛋白结合^[5]。AR 在机体多个系统均有重要的作用,而不仅仅是作用于性腺和前列腺。由于心血管系统 AR 的表达量较低,雄激素在心血管系统中的作用常被忽略。近年来越来越多的证据表明,雄激素可以作用于

心肌细胞和血管壁的内皮细胞、平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMC)、巨噬细胞和间质细胞的 AR,通过基因作用和(或)非基因作用介导多种细胞效应从而共同参与心血管疾病的调节^[6]。

二、雄激素及 AR 的基因作用和非基因作用相关的信号通路

经典的 AR 位于细胞胞质内,脂溶性的 T 或 DHT 可进入细胞并与胞内 AR 结合,诱导 AR 分子构象变化,HSPs 从 AR 分离,使得 AR 易于与一系列的辅助调节因子结合,进入细胞核,并形成二聚体,引起染色质重构,TATA 结合蛋白、转录因子和 RNA pol III 聚集,形成转录起始复合物,启动转录,而没有结合配体的 AR 则重新回到胞质,即为雄激素的基因作用^[7]。此外越来越多的研究显示,雄激素可以在数秒到数分钟内通过与经典的 AR、G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)、膜相关 AR 结合或改变离子通道,激活多种信号通道,调节细胞内酶活性、钙离子浓度等来发挥调节其调节细胞功能的作用,即雄激素的非基因作用^[2]。下面介绍雄激素作用主要的信号通路。

1. 3-磷脂酰肌醇激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI₃K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt): PI₃K/Akt 通路参与多种细胞的增殖和凋亡的调节,雄激素对心血管的部分作用是通过 PI₃K/Akt 通路实现的。研究表明睾酮可以抑制荷兰猪心肌 L 型钙通道电流,增强慢钾通道电流,NO 清除剂、一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)抑制剂以及 c-Src 抑制剂、PI₃K 抑制剂、Akt 抑制剂均可以阻断睾酮的作用^[8]。同时有研究显示雄激素同 AR 结合后可以同 c-Src 相互作用,在 1min 内激活 c-Src,故睾酮的作用可能是通过 AR→c-Src→PI₃K→Akt→eNOS→NO 实现的^[9]。生理剂量的 T 和 DHT 可以快速引起细胞外相关激酶(extracellular-related kinase, ERK1/2)和 PI₃K/Akt 聚集和磷酸化,进而引

基金项目:上海交通大学医工交叉课题(其他 608)

作者单位:200233 上海交通大学附属第六人民医院

通讯作者:谈世进,主任医师,电子信箱:tanshijinsh@163.com

起 eNOS 磷酸化,促进人内皮细胞一氧化氮(nitric oxide, NO)合成,同时发现生理剂量的睾酮和 DHT 可以上调 eNOS 基因表达,剂量依赖性地上调组织纤溶酶原激活物(tissue type plasminogen activator, t-PA)和血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)表达。尽管 DHT 的作用是通过 AR 介导的,而睾酮的作用是通过转化为雌激素实现的。体内研究证实了睾酮和 DHT 可以引起主动脉 eNOS、t-PA 和 PAI-1 表达增加,即雄激素可以通过基因作用和非基因作用调节心血管的血管活性物质合成和释放以及凝血与纤溶功能^[10]。

2. 丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK): MAPK 激活参与多种细胞的迁移、增殖和分化等众多生物过程。主要的 MAPK 通路包括 ERK1/2, 蛋白激酶 p38 和应激激活蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK)/c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun NH2-terminal kinases, JNK), ERK1/2 诱导细胞增殖,而 p38 和 JNK 则介导细胞凋亡^[11]。生理剂量的 DHEA 可以在 30min 内诱导脐静脉内皮细胞 eNOS 活性增强, NO 生成增加,同时 MEK1/2, ERK1/2 磷酸化增强,而 mRNA 合成抑制剂放线菌素 D 和蛋白合成抑制剂放线菌酮以及 AR 阻断剂、雌激素受体阻断剂、糖皮质激素受体阻断剂预处理均不能阻断 DHEA 的作用,而 eNOS 抑制剂、ERK1/2 抑制剂 PD98059、G 蛋白抑制剂百日咳毒素(pertussis toxin, PTX)、Raf-1 抑制剂可以显著下调 eNOS 活性,降低 NO 生成。表明 DHEA 发挥作用的通路可能是 GPCR → Raf-1 → MEK1/2 → ERK1/2 → eNOS → NO^[12]。同时 DHEA 干预脐静脉内皮细胞 24h,可以观察到 eNOS 蛋白量增加, eNOS 活性增强, NO 合成增加,而 AR 阻断剂、雌激素受体阻断剂、糖皮质激素受体阻断剂预处理均不能阻断 DHEA 的作用,可见 DHEA 还可以通过直接的基因作用来增加 eNOS 蛋白量和 NO 的释放,且这种作用是通过独立的受体实现的,在体研究也验证了 DHEA 的基因作用^[12]。此外, DHEA 可以不依赖 AR 的方式保护内皮细胞免受氧化应激损伤,睾酮可以不依赖 AR 地促进上调 ERK 基因表达,促进 ERK1/2 磷酸化,并诱导细胞 DNA 合成和内皮细胞生长, DHT 通过 AR 依赖性方式抑制 DNA 合成,同样睾酮和 DHT 可以激活 ERK1/2, 促进 SMC 增殖^[13]。

研究还发现生理剂量的睾酮促进脐静脉内皮细胞 p38 磷酸化, AR 抑制剂可以抑制 p38 磷酸化。而

超生理剂量的睾酮促进 p38 和 JNK 磷酸化, 细胞凋亡增加, 加入 AR 抑制剂并不能抑制 p38 和 JNK 磷酸化以及细胞凋亡。可见睾酮可以不依赖 AR 地促进 JNK 磷酸化, 诱导细胞凋亡, 而 p38 在睾酮诱导的细胞凋亡中的作用与其浓度有关^[14]。另外, H₂O₂ 可以诱导小鼠胚胎干细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成、脂质过氧化和 DNA 降解, 促进 p38, JNK 和核因子 kappa B(nuclear factor kappa B, NF-κB)的磷酸化, 而加入 DHT 可以阻断 H₂O₂ 的作用以及 p38、JNK 和 NF-κB 的磷酸化。同时 H₂O₂ 降低 DNA 合成和细胞周期调节蛋白细胞周期素 D1、细胞周期素 E、细胞周期素依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)2 和 CDK4 的含量, 而 DHT 共处理可以阻断这些作用。可见 DHT 可通过促进 p38、SAPK/JNK 和 NF-κB 的磷酸化抑制 ROS 生成, 减弱 H₂O₂ 诱导的氧化应激及细胞损伤^[14]。

3. 蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC): 雄烯二酮可以在数秒内引起细胞内钙离子浓度升高, 而 G 蛋白受体抑制剂 PTX 和特异性磷脂酶 C(phospholipase C, PLC)抑制剂 U-73122 可以抑制雄激素诱导的细胞内钙离子浓度升高。AR 拮抗剂氟他胺不能抑制雄激素诱导的细胞内钙离子浓度升高。表明雄激素诱导的细胞内钙离子浓度升高涉及 PLC 活化和 PTX 敏感性 G 蛋白。此外, 睾酮可以诱导细胞内钙离子迅速升高, 而细胞内三磷酸肌醇(inositol triphosphate, IP3)和甘油二酯(diacylglycerol, DAG)合成也增加, 意味着睾酮可以通过 G 蛋白介导的 PKC 通路参与这一调节过程, 且这一过程不依赖 AR^[15]。激活的 PKC 可以介导内质网钙释放, 升高的细胞内钙离子可与钙调蛋白结合, 形成复合物, 激活依赖钙调蛋白的磷脂酶, 促进活化 T 细胞核因子从胞质进入核内, 促进 c-fos, c-Jun 和 c-myc 等基因表达, 促进心肌细胞肥大^[16]。此外, T 和 DHT 可以引起离体猪冠脉 PKCδ 蛋白表达量和 PKCδ 激酶活性显著升高, PKCδ 由浆膜向核内转移。去势显著降低右冠脉 PKCδ 含量, 睾酮替代治疗可以逆转这一改变^[17]。在培养的 SMC, 普通 PKC 抑制剂和纯化的 PKCδ 抑制剂均可以阻断睾酮诱导的冠脉 L-型电压门控钙通道蛋白含量升高。而 PKC 抑制剂 Go6976 或 PKC 小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)均可以阻断睾酮诱导的冠脉 L-型电压门控钙通道蛋白含量升高, 表明内源性睾酮可以通过 PKCδ 依赖性方式上调冠脉 L-型电压门控钙通道蛋白含量表达^[17]。睾酮可以诱导

SMC 其 G_i 期阻滞,降低 CD1 和 CD E 蛋白水平以及核糖体蛋白磷酸化,降低 CDK2 和 CDK6 活性,剂量依赖性地促进 SMC 凋亡,而 PKC δ siRNA 和 caspase 3 抑制剂均可阻断睾酮的作用,即睾酮促进 SMC 凋亡的作用可能是 PKC δ 介导的^[18]。

4. 蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA): 睾酮和 DHT 可以快速地诱导雄性大鼠左心室正性收缩,从时间上看可能是雄激素的非基因作用,然而放线菌酮 D、放线菌素及环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) 激酶抑制剂均可以阻断 5α -DHT 诱导的正性收缩,可能基因作用也参与这一过程,且 5α -DHT 通过与 β 肾上腺素-腺苷酸环化酶复合体结合后增强腺苷酸环化酶活性,增加 cAMP 生成,经 PKA 通路诱导左心室收缩^[19]。而既往在前列腺和乳腺组织的研究表明雄激素并不能经与 AR 结合后激活 PKA,而是 SHBG 先与 SHBG 受体 (sex hormone-binding protein receptor, SHBGR) 结合,然后雄激素结合到 SHBG 上,继而激活后续的 PKA 通路,SHBGR 是一个七跨膜 G 蛋白,但在心血管系统,雄激素激活 PKA 通路是否经过与 SHBGR 结合发挥作用,尚未完全阐明^[3]。

5. 蛋白激酶 G (protein kinase G, PKG) 在去内皮的人脐动脉,睾酮、硝普钠 (sodium nitroprusside, SNP) 和心房钠尿肽 (atrial natriuretic peptide, ANP) 的血管舒张作用相似,睾酮和 SNP 共孵育对血管舒张作用并不强于单独使用睾酮,PKA 抑制剂并不能抑制睾酮的血管舒张作用,但 PKG 却能显著降低睾酮诱导的血管舒张。同时睾酮可以显著激活钾通道,SNP 对钾通道及睾酮诱导的钾通道激活并无明显影响。ANP 也可以激活钾通道,但并不改变睾酮对钾通道的影响,PKA 抑制剂与睾酮或 ANP 共孵育并不能阻断睾酮和 ANP 诱导的钾通道激活,而 PKG 抑制剂能完全阻断。可见,睾酮诱导的血管舒张和钾通道激活独立于 SNP 及 ANP 的作用,且这一作用是经激活鸟苷酸环化酶,促进 SMC 内 cGMP 生成实现的^[20]。同样研究表明睾酮可以诱导去内皮的冠脉平滑肌舒张,而特异性的钙激活的钾通道 (calcium activated potassium channels, BKCa) 抑制剂可以阻断睾酮诱导的血管舒张,膜片钳技术也证实了睾酮可以诱导 BKCa 活性升高近 100 倍,而 eNOS 抑制剂可以阻断睾酮的作用。抑制 NO 合成或鸟苷酸环化酶 (guanylyl cyclase, GC) 活性可以减弱睾酮的 BKCa 活性增强和平滑肌舒张,但是不改变 8 -溴-cGMP 诱导的血管舒张。

表明睾酮诱导的冠脉平滑肌舒张至少部分是由 NO 生成增多,引起 cGMP 合成和 PKG 活化,进而激活 BKCa 介导的^[21]。可见 PKG 参与了雄激素介导的血管舒张调节,尽管和 PKA 通路一样,PKG 通路是典型的膜受体介导的,但尚未有研究证实雄激素的这一作用是经过 SHBG/SHBGR 或其他膜相关受体起作用的。

综上所述,雄激素和 AR 既可以通过其介导的基因机制调节蛋白合成,还能通过非基因机制介导的信号转导快速调节细胞生长、分化、增殖、凋亡,通过其信号级联反应的终产物蛋白激酶、钙离子、细胞因子等参与了心肌细胞电生理、机械运动和细胞重构以及血管舒缩、炎症、内皮增生与细胞凋亡等生物过程,这些作用相互影响,互为补充,共同参与心血管疾病病理生理过程的调节。同时,我们也需要认识到尽管雄激素在心血管疾病中作用的机制及可能的信号转导通路方面的研究不断广泛和深入,但尚存在以下几方面的问题:①雄激素及 AR 的基因作用和非基因作用通常是同时存在的,但多数研究仅关注了某一方面;②多数研究中雄激素作用为非生理浓度下的作用;③雄激素可经芳香化转化为雌激素或转化为其他代谢物间接发挥作用,但部分研究并未排除这一可能。今后的研究中这些方面的内容可能会引起我们更多的关注,以便更深入地阐述雄激素对心血管系统的作用及其机制。

参考文献

- Black BE, Paschal BM. Intranuclear organization and function of the androgen receptor[J]. Trends Endocrinol Metab, 2004,15 (9):411-417
- Foradori CD, Weiser MJ, Handa RJ. Non-genomic actions of androgens[J]. Front Neuroendocrinol, 2008,29 (2):169-181
- Michels G, Hoppe UC. Rapid actions of androgens[J]. Front Neuroendocrinol, 2008,29 (2):182-198
- Lam CS, Cheng S, Choong K, et al. Influence of sex and hormone status on circulating natriuretic peptides[J]. J Am Coll Cardiol, 2011,58 (6):618-626
- Loy CJ, Sim KS, Yong EL. Filamin-A fragment localizes to the nucleus to regulate androgen receptor and coactivator functions[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003,100 (8):4562-4567
- Liu PY, Death AK, Handelsman DJ. Androgens and cardiovascular disease[J]. Endocr Rev, 2003,24 (3):313-340
- Bennett NC, Gardiner RA, Hooper JD, et al. Molecular cell biology of androgen receptor signalling[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2010,42 (6):813-827
- Bai CX, Kurokawa J, Tamagawa M, et al. Nontranscriptional regulation of cardiac repolarization currents by testosterone[J]. Circulation, 2005,112 (12):1701-1710

(下转第 4 页)

肿,提高视力。但 Avastin 玻璃体腔注射属处方外用药物。Lucentis 是人源化重组抗 VEGF 单克隆抗体片段 (Fab) 部分,是 FDA 批准第 1 个用于眼内注射治疗的药物。使用 Lucentis 治疗 AMD 微小典型或隐匿型 CNV 的多中心临床研究发现,患者接受每月 1 次持续 2 年的注射,95% 患者的视力稳定或改善,而对照组仅 65% 视力稳定或改善^[12]。Macugen 是一种特殊的 VEGF 异构体 165 的拮抗剂,对 VEGF 的高度亲和力,可治疗任何类型的 CNV。II 期和 III 期临床试验发现其可稳定患者视力,但视力改善不明显^[13]。

CNV 的发生、发展及其引起的视力下降是多种原因共同作用的结果。目前, PDT 疗法,眼内注射抗新生血管剂、糖皮质激素针对某一单因素的治疗不能从根本上治疗 CNV。联合疗法可从多方面治疗 CNV,提高 CNV 的治疗疗效。但目前尚缺乏多中心、随机、对照临床研究试验的证据。

参考文献

- 徐国兴. 眼科学基础[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 235 - 247
- 郑志. 糖尿病视网膜病变临床防治: 进展、挑战与展望[J]. 中华眼底病杂志, 2012, 28(3): 209 - 214
- 徐国兴. 临床眼科学[M]. 福州: 福建科技出版社, 2006: 353 - 433
- Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY, et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes[J]. N Engl J Med, 2005, 353(25): 2643 - 2653
- Villeneuve LM, Reddy MA, Lanting LL, et al. Epigenetic histone H3 lysine 9 methylation in metabolic memory and inflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells in diabetes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(26): 9047 - 9052
- 徐国兴. 激光眼科学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2011: 149 - 200
- Sjolie AK, Klein R, Porta M, et al. Effect of candesartan on progression and regression of retinopathy in type 2 diabetes (DIRECT - Protect 2): a randomised placebo - controlled trial[J]. Lancet, 2008, 372(9647): 1385 - 1393
- Scott R, Best J, Forder P, et al. Fenofibrate intervention and event lowering in diabetes (FIELD) study: baseline characteristics and short - term effects of fenofibrate[J]. Cardiovasc Diabetol, 2005, 4: 13
- ACCORD Study Group, ACCORD Eye Study Group. Effects of medical therapies on retinopathy progression in type 2 diabetes[J]. N Engl J Med, 2012, 367(25): 2458
- Good WV, Hardy RJ, Dobson V, et al. The incidence and course of retinopathy of prematurity: findings from the early treatment for retinopathy of prematurity study[J]. Pediatrics, 2005, 116(1): 15 - 23
- 黎晓新. 我国早产儿视网膜病变特点和筛查指南[J]. 中华眼底病杂志, 2004, 20(6): 384 - 386
- Chakravarthy U, Soubrane G, Bandello F, et al. Evolving European guidance on the medical management of neovascular age related macular degeneration[J]. Br J Ophthalmol, 2006, 90(9): 1188 - 1196
- Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET, et al. Pegaptanib for neovascular age - related macular degeneration[J]. N Engl J Med, 2004, 351: 2805 - 2816 (收稿日期: 2013 - 09 - 10) (修回日期: 2013 - 10 - 10)
- Heineke J, Molkenin JD. Regulation of cardiac hypertrophy by intracellular signalling pathways[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7(8): 589 - 600
- Maddali KK, Korzick DH, Tharp DL, et al. PKCdelta mediates testosterone - induced increases in coronary smooth muscle Cav1.2[J]. J Biol Chem, 2005, 280(52): 43024 - 43029
- Bowles DK, Maddali KK, Dhulipala VC, et al. PKCdelta mediates antiproliferative, proapoptotic effects of testosterone on coronary smooth muscle[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 293(2): C805 - 813
- Rubin JM, Hidalgo A, Bordallo C, et al. Positive inotropism induced by androgens in isolated left atrium of rat: evidence for a cAMP - dependent transcriptional mechanism[J]. Life Sci, 1999, 65(10): 1035 - 1045
- Cairrao E, Santos - Silva AJ, Verde I. PKG is involved in testosterone - induced vasorelaxation of human umbilical artery[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 640(1 - 3): 94 - 101
- Deenadayalu V, Puttabyatappa Y, Liu AT, et al. Testosterone - induced relaxation of coronary arteries: activation of BKCa channels via the cGMP - dependent protein kinase[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2012, 302(1): H115 - 123 (收稿日期: 2013 - 07 - 10) (修回日期: 2013 - 08 - 26)
- Kousteni S, Bellido T, Plotkin LI, et al. Nongenotropic, sex - nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity[J]. Cell, 2001, 104(5): 719 - 730
- Goglia L, Tosi V, Sanchez AM, et al. Endothelial regulation of eNOS, PAI - 1 and t - PA by testosterone and dihydrotestosterone in vitro and in vivo[J]. Mol Hum Reprod, 2010, 16(10): 761 - 769
- Simoncini T, Genazzani AR. Non - genomic actions of sex steroid hormones[J]. Eur J Endocrinol, 2003, 148(3): 281 - 292
- Simoncini T, Mannella P, Fornari L, et al. Dehydroepiandrosterone modulates endothelial nitric oxide synthesis via direct genomic and non-genomic mechanisms[J]. Endocrinology, 2003, 144(8): 3449 - 3455
- Nheu L, Nazareth L, Xu GY, et al. Physiological effects of androgens on human vascular endothelial and smooth muscle cells in culture[J]. Steroids, 2011, 76(14): 1590 - 1596
- Powazniak Y, Kempfer AC, de la Paz Dominguez M, et al. Effect of estradiol, progesterone and testosterone on apoptosis - and proliferation - induced MAPK signaling in human umbilical vein endothelial cells[J]. Mol Med Rep, 2009, 2(3): 441 - 447
- Machelon V, Nome F, Tesarik J. Nongenomic effects of androstenedione on human granulosa luteinizing cells[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1998, 83(1): 263 - 269

(上接第 11 页)