

基于 AMPK 信号通路抗血管钙化的研究进展

周树兰 王 成

摘 要 血管钙化(vascular calcification, VC)是指血管壁软组织内的钙沉积不适当积累所引起血管弹性下降,其机制与血管壁细胞成骨分化异常密切相关。AMP 活化蛋白激酶(AMPK)是细胞能量状态的主要传感器,越来越多的证据显示 AMPK 在 VC 进展中的重要作用。包括激活内皮型一氧化氮合酶、触发自噬抑制细胞凋亡、改善氧化应激和炎症、减弱内质网应激、抑制骨相关转录因子(runt-related transcription factor2, Runx)2 信号通路和动态相关蛋白 1 介导的线粒体裂变、调控血管周围脂肪组织等。目前已发现多种通过激活 AMPK 改善 VC 的药物,这些药物有望为 VC 的治疗提供新的方向。

关键词 AMPK 血管钙化 动脉粥样硬化

中图分类号 R543.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.03.031

血管钙化(vascular calcification, VC)被认为是动脉粥样硬化、慢性肾脏疾病(CKD)、糖尿病、高血压、绝经后综合征、主动脉狭窄和老年人群的常见病理表现,与心血管及全因病死率显著相关,但目前临床上暂无特效治疗药^[1]。因此,在早期阶段更好地了解疾病的发病机制对开发有效的治疗方法至关重要。目前,研究者越来越关注细胞分子机制的调控。

多种机制参与 VC 过程,并且每个机制之间可能存在交互影响。如果仅针对单一途径用药难以解决临床复杂疾病的治疗需求,所以,一个具有多靶点的分子信号通路是改善 VC 的发展方向。目前研究发现包括二甲双胍、阿托伐他汀、中草药单体或提取物如白藜芦醇、附子多糖、黄氏多糖、槲皮素等多种药物可通过激活 AMPK 相关通路改善 VC。本文对激活 AMPK 改善 VC 的相关机制和药物做一系统阐述。

一 AMPK 和激活机制

在哺乳动物细胞中 AMPK 由 1 个催化亚基(α)和 2 个调节亚基(β 和 γ)聚合而成的一个异三聚体,是一种监测细胞能量状态并快速协调代谢途径以平衡机体营养供应和各组织器官能量需求的酶^[2]。主要通过监测 AMP 与 ATP 比值变化来感知机体能量状态,并通过 AMP 或 ADP 与 AMPK γ 亚基结合及通过上游蛋白激酶使 AMPK α 催化亚基上苏氨酸(Thr)172 残基发生磷酸化,同时上游蛋白磷酸酶(PP)去磷

酸化,然后被 AMP 和 ATP 变构激活,这是 AMPK 的主要激活位点^[3]。而 Thr172 残基主要由两个不同的上游激酶磷酸化:一个是肝激酶 B1(LKB1),LKB1 是 AMPK 感知细胞能量状态机制中的关键元素,接受机体发出的大部分应激信号;另一个是钙(Ca^{2+})/钙调素依赖性蛋白 2(CaMKK2),被细胞内 Ca^{2+} 的增加激活^[4]。

二、AMPK 与血管钙化的关系

1. AMPK 调控 eNOS 影响血管钙化:内皮细胞(ECs)形成血管内壁,将血管壁与血液循环隔开,其关键功能是支持血管稳态,调节血管壁通透性和提供细胞运输。其中由内皮型一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, eNOS)产生的一氧化氮(NO)在维持血管功能方面具有重要作用,例如凝血功能、收缩功能、分泌功能等。另一项研究表明,eNOS 缺乏可导致主动脉钙化加重^[5]。而 AMPK 是一种定义明确的 eNOS 调节剂,在维持血管功能方面具有重大意义。研究发现,植物提取物白藜芦醇(resveratrol, RSV)能通过激活 AMPK 降低氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, Ox-LDL)诱导的氧化应激并保存了 eNOS 活性,使 NO 的生物利用度增加,具有显著改善内皮功能障碍和抑制动脉粥样硬化作用^[6]。中药提取物黄氏多糖(astragalus polysaccharide, APS)通过激活 AMPK 信号通路,活化 eNOS 降低糖尿病大鼠的血糖、血脂水平,明显抑制糖尿病大鼠动脉粥样硬化的进展^[7]。因此,中草药提取物作为 AMPK 激活剂对内皮细胞 eNOS 信号通路的影响可能是预防 VC 的治疗方法之一。

2. AMPK 激活自噬影响血管钙化:自噬是细胞生

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81960824)

作者单位:519100 遵义医科大学第五附属(珠海)医院整形手外科

通信作者:王成,硕士生导师,副主任医师,电子信箱:906090860

@qq.com

存所必需的分解代谢降解过程,负责去除畸形或不必要的蛋白质和受损的细胞器,并更新旧的或损坏的分子,以补充饥饿时期储存的营养。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)被普遍认为是一个中央监管自噬的关键分子结构酶,在自噬激活中起关键的负调控作用。研究表明通过 AMPK 的激活探讨了自噬抑制细胞凋亡在 VC 中的保护作用。Liao 等^[8]研究发现,附子多糖(fuzi polysaccharide, FPS)通过降低 ox - LDL 来增强 AMPK/mTOR 自噬通路活性从而抑制 VSMC 凋亡,显著改善 VC。陈雨露等^[9]研究发现,柚皮素通过增加 AMPK 的磷酸化水平进而增强自噬能力,减轻细胞内胆固醇的含量从而抑制泡沫细胞的形成,有效防治了动脉粥样硬化。此外,当机体内细胞内钙浓度升高时 Ca^{2+} 通过电压门控 Ca^{2+} 通道进入血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)影响血管成骨分化。李云攀等^[10]研究发现,天麻钩藤饮通过激活 Ca^{2+} /AMPK/mTOR 自噬通路具有明显改善高血压大鼠血管弹性下降继而有效控制其血压稳定。值得注意的是,一项研究发现,甲状腺功能减退(hypothyroidism, HT)也是动脉粥样硬化一大致病因素,机制与 HT 导致巨噬细胞中 TAK1 表达减少,从而抑制下游 AMPK 和 ULK1 的活化,减弱自噬有关^[11]。因此,AMPK 相关自噬通路的激活在 VC 的预防和治疗机制中扮演着重要角色。

3. AMPK 减弱内质网应激影响血管钙化:内质网是一个重要的细胞器,参与了大约 1/3 的细胞蛋白质的产生和折叠,特定的内质网应激(ER stress, ERS)信号通路是维持内质网稳态所必需的。越来越多的证据表明,延长 ERS 最终导致多种细胞途径的调控,包括凋亡、坏死、自噬等^[12]。因此,VC 与 ERS 之间存在紧密联系,研究发现在钙化的主动脉瓣中病变中 ERS 的生物学标志物显著增加,其中最常见的是转录因子 4(transcription factor 4, ATF4),它在钙化的主动脉 VSMC 中活性增加^[13]。为进一步研究其机制,Li 等^[14]研究发现,死亡相关蛋白激酶 3(death associated protein kinase 3, DAPK3)的缺乏能通过激活 AMPK 抑制 VSMC 中 ERS 的相关蛋白的表达,进而缓解 VC。Xiong 等^[15]研究发现,目前临床上应用的阿托伐他汀正是通过激活 AMPK 通路抑制 ox - LDL 诱导的 ERS 从而改善动脉粥样硬化。然而,作为动脉粥样硬化的最后阶段,AMPK 在 ERS 介导的血管钙化中的作用尚未完全阐明,可能与抑制下游 ATF4 分子有关。但

是目前可以肯定的是 AMPK 的激活可以抑制 ERS 改善 VC 进展。

4. AMPK 调控 PGC - 1 影响血管钙化:过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子 - 1(PGC - 1)是一个转录共激活因子家族,由 PGC - 1 α 、PGC - 1 β 和 PGC - 1 相关共激活因子组成^[16]。AMPK 是 PGC - 1 的重要上游介质,研究表明通过激活 AMPK 上调 PGC - 1 水平在改善动脉粥样硬化的发生、发展中具有重要作用^[17]。PGC - 1 α 作为内源性保护调节剂可以通过上调抗氧化酶活力清除线粒体活性氧(mitochondrial ROS, mtROS)降低线粒体氧化应激从而抑制 VSMC 的增殖和迁移,改善 CKD 中钙、磷失调诱导的 VC^[18]。Tsai 等^[19]研究发现,从杜仲科植物中提取的绿原酸(chlorogenic acid, CA)能通过激活沉默信息调节因子 1(SIRT1)和调节 AMPK/PGC - 1 信号通路缓解 ox - LDL 诱导的内皮氧化应激和线粒体功能障碍,在动脉粥样硬化的治疗中具有重要的潜在意义。此外,二甲双胍除了具有降糖作用外,还能通过激活 AMPK/PGC - 1 β 通路抑制 VSMC 增殖,其中 PGC - 1 β 的下调将完全阻断了这一作用^[20]。因此,PGC - 1 可能成为一种有吸引力的动脉粥样硬化治疗候选蛋白,以及在 VC 相关疾病的治疗中具有潜在意义。

5. AMPK - Runx2 信号通路影响血管钙化:Runx2 是一种公认的成骨细胞分化相关基因的激活因子,Runx2 的上调已成为驱动心血管病理的不良细胞事件的重要调节因子。它在人动脉粥样硬化钙化的血管组织标本和小鼠主动脉 VSMC 中均有表达升高,并且 VSMC 自主 Runx2 对血管成骨至关重要^[21]。AMPK 作为能量传感器,除了众所周知的代谢调节作用外,Gai 等^[22]研究发现,激活 AMPK α 1 可以阻止 VSMC 中 Runx2 的表达,从而改善血管顺应性减低心血管事件的发生。因此,AMPK α 1 - Runx2 信号通路可能是预防 VC 相关疾病的潜在作用靶点。

6. AMPK 调控 DRP1 影响血管钙化:线粒体动力相关蛋白 1(dynamin - related protein 1, DRP1)在线粒体裂变中是必需的,这导致线粒体收缩并最终分裂,从而维持能量平衡。而 DRP1 是 AMPK 已知的下游因子,研究发现通过调节 DRP1 能减弱氧化应激诱导的血管钙化^[23]。在糖尿病小鼠模型中,Wang 等^[24]研究发现二甲双胍能通过激活 AMPK 降低 DRP1 的表达,减少线粒体碎裂和斑块形成,有效改善高糖诱导的动脉粥样硬化。此外,Chen 等^[25]研究

发现,由脑松果体分泌的褪黑素能通过激活 AMPK 的表达,下调 DRP1 水平,进而降低 VSMC 凋亡、Runx2 表达和钙沉积在抑制 VC 中具有明显作用。因此,AMPK 介导的线粒体裂变通过抑制 DRP1 的表达来减弱 VC,其中 DRP1 抑制剂可作为 VC 治疗的新靶点。

7. AMPK 调节血管周围脂肪组织影响血管钙化: 血管周围脂肪组织 (perivascular adipose tissue, PVAT) 是一种活跃的内分泌和旁分泌器官,具有血管调节功能。在小动脉、冠状动脉、主动脉和全身血管周围的 PVAT 能产生一些重要的脂肪因子,在调节血管炎症、平滑肌收缩和内皮功能方面具有重要作用^[26]。其中 AMPK 是 PVAT 的潜在调节剂,也是血管中 PVAT 作用的靶点。近年来,PVAT 的血管保护作用逐渐被研究者发现,其中新近发现的脂肪因子网膜素 (omentin-1) 可以活化细胞内蛋白激酶 (Akt)/AMPK/核因子- κ B (NF- κ B) 信号通路明显抑制炎症反应、VSMC 的增殖和体外成骨细胞分化,在改善动脉粥样硬化引发的缺血性脑卒中发挥重要作用^[27]。这些数据表明,PVAT 不仅可以激活 AMPK 相关通路降低血管炎症反应,还可以通过影响 VSMC 成骨分化和增殖从而调节血管结构,笔者猜想它可能是一种介导脂肪和心血管交叉的分子机制和潜在治疗靶点。

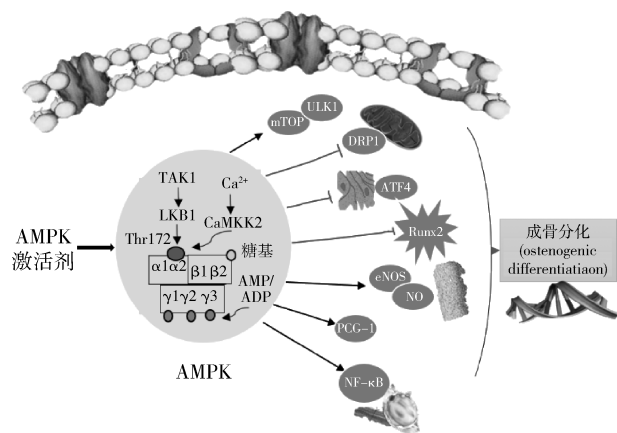


图1 AMPK 信号通路在血管钙化中的作用机制示意图

TAK1. 转化生长因子激酶 1; LKB1. 肝激酶 B1; CaMKK2. 钙调素依赖性蛋白激酶 2; ULK2. Unc-51 样自噬激活激酶 1; DRP1. 线粒体动力相关蛋白 1; ATF4. 内质网转录因子 4; Runx2. 骨相关转录因子 2; PGC-1. 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1; NF- κ B. 核因子- κ B

三、展望

VC 是一个复杂的、主动的、可调节的过程,在世

界范围内非常普遍,同时,VC 也是心血管发生率和病死率的预测因子,其机制目前尚未完全阐明。AMPK 作为机体代谢的主要调节器,是一个非常重要的分子靶点,可以被微小的应激暗示激活以重建细胞内稳态。目前越来越多的证据表明,通过激活 AMPK 影响血管成骨分化在改善 VC 中发挥了重要作用 (图 1),并且各个机制之间存在交互作用。其中二甲双胍和组分中药,如白藜芦醇、附子多糖、黄芪多糖等具有多途径、多靶点、多效应等整合作用特征是目前研究的热点,可能是预防和治疗 VC 的一个新方向。但 AMPK 参与 VC 的研究进展尚处于临床前阶段,精确靶向 AMPK 或 AMPK 亚单位的药物尚未开发。因此,AMPK 治疗 VC 的靶点还需要开展深入的临床研究,特别是前瞻性随机临床试验予以进一步证实。

参考文献

- Singh A, Tandon S, Tandon C. An update on vascular calcification and potential therapeutics [J]. Mol Biol Rep, 2021, 48(1): 887 - 896
- Herzig S, Shaw RJ. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis [J]. Nat Rev Mole Cell Biol, 2018, 19(2): 121 - 135
- Hardie DG. Keeping the home fires burning: AMP-activated protein kinase [J]. J Royal Soc, Interface, 2018, 15(138): http://dx.doi.org/10.1098/rsif.2017.0774
- Woods A, Dickerson K, Heath R, et al. Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta acts upstream of AMP activated protein kinase in mammalian cells [J]. Cell Metab, 2005, 2(1): 21 - 33
- Oe Y, Mitsui S, Sato E, et al. Lack of Endothelial nitric oxide synthase accelerates ectopic calcification in uremic mice fed an adenine and high phosphorus diet [J]. Ame J Pathol, 2021, 191(2): 283 - 293
- 杨宵曼, 刘铭雅, 朱伟, 等. 白藜芦醇调控腺苷酸活化蛋白激酶-内皮型一氧化氮合酶信号通路促进大鼠心肌微血管内皮细胞的血管生成 [J]. 上海医学, 2013, 36(9): 787 - 791
- 禹博威, 潘晓琼, 陈君第霞, 等. 黄芪多糖对糖尿病动脉粥样硬化大鼠糖脂代谢的影响及血管内皮保护机制 [J]. 浙江中医药大学学报, 2021, 45(5): 447 - 453
- Liao L, Zhuang X, Li W, et al. Polysaccharide from Fuzi protects against Ox-LDL-induced calcification of human vascular smooth muscle cells by increasing autophagic activity [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(4): 5109 - 5115
- 陈雨露, 杜延飞, 郑文武, 等. 柚皮素增加自噬抑制泡沫细胞的形成 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(11): 1913 - 1919
- 李云攀, 刘美云, 等. 天麻钩藤饮对自发性高血压大鼠血管内皮细胞自噬相关信号通路 Ca^{2+} /AMPK/mTOR 的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(22): 38 - 43

- 11 Yang Y, Jia Y, Ning Y, *et al.* TAK1 – AMPK pathway in macrophages regulates hypothyroid atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2021, 35(3): 599 – 612
- 12 Almanza A, Carlesso A, Chintia C, *et al.* Endoplasmic reticulum stress signalling – from basic mechanisms to clinical applications [J]. *FEBS J*, 2019, 286(2): 241 – 278
- 13 Duan X, Zhou Y, Teng X, *et al.* Endoplasmic reticulum stress – mediated apoptosis is activated in vascular calcification [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 387(4): 694 – 699
- 14 Li KX, Du Q, Wang HP, *et al.* Death – associated protein kinase 3 deficiency alleviates vascular calcification via AMPK – mediated inhibition of endoplasmic reticulum stress [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 852: 90 – 98
- 15 Xiong W, Fei M, Wu C, *et al.* Atorvastatin inhibits endoplasmic reticulum stress through AMPK signaling pathway in atherosclerosis in mice [J]. *Exp Therapeut Med*, 2020, 19(3): 2266 – 2272
- 16 Liu C, Lin JD. PGC – 1 coactivators in the control of energy metabolism [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2011, 43(4): 248 – 257
- 17 Kadlec AO, Chabowski DS, Ait – Aissa K, *et al.* Role of PGC – 1 α in Vascular Regulation: Implications for Atherosclerosis [J]. *Arteriosclero Thrombosi Vasc Biol*, 2016, 36(8): 1467 – 1474
- 18 Feng H, Wang JY, Yu B, *et al.* Peroxisome proliferator – activated receptor – γ coactivator – 1 α inhibits vascular calcification through sir-tuin 3 – mediated reduction of mitochondrial oxidative stress [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2019, 31(1): 75 – 91
- 19 Tsai KL, Hung CH, Chan SH, *et al.* Chlorogenic acid protects a-against oxLDL – induced oxidative damage and mitochondrial dysfunction by modulating SIRT1 in endothelial cells [J]. *Mol Nut Food Res*, 2018, 62(11): 170 – 228
- 20 Guo Y, Fan Y, Zhang J, *et al.* Peroxisome proliferator – activated re-ceptor γ coactivator 1 β (PGC – 1 β) protein attenuates vascular lesion formation by inhibition of chromatin loading of minichromosome main-tenance complex in smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(7): 4625 – 4636
- 21 Liu L, Zeng P, Yang X, *et al.* Inhibition of vascular calcification [J]. *Arterioscleros, Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(10): 2382 – 2395
- 22 Cai Z, Ding Y, Zhang M, *et al.* Ablation of adenosine monophos-phate – activated protein kinase α 1 in vascular smooth muscle cells promotes diet – induced atherosclerotic calcification in vivo [J]. *Circulat Res*, 2016, 119(3): 422 – 433
- 23 Rogers MA, Maldonado N, Hutcheson JD, *et al.* Dynamin – related protein 1 inhibition attenuates cardiovascular calcification in the pres-ence of oxidative stress [J]. *Circulat Rese*, 2017, 121(3): 220 – 233
- 24 Wang Q, Zhang M, Torres G, *et al.* Metformin suppresses diabetes – accelerated atherosclerosis via the inhibition of Drp1 – mediated mito-chondrial fission [J]. *Diabetes*, 2017, 66(1): 193 – 205
- 25 Chen WR, Zhou YJ, Sha Y, *et al.* Melatonin attenuates vascular cal-cification by inhibiting mitochondria fission via an AMPK/Drp1 sig-nalling pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(11): 6043 – 6054
- 26 Szasz T, Bomfim GF, Webb RC. The influence of perivascular adi-pose tissue on vascular homeostasis [J]. *Vasc Health Risk Manage*, 2013, 9: 105 – 116
- 27 Lin S, Li X, Zhang J, *et al.* Omentin – 1: protective impact on is-chemic stroke via ameliorating atherosclerosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 517: 31 – 40

(收稿日期: 2021 – 10 – 30)

(修回日期: 2021 – 11 – 10)

lncRNA 在肝脏炎症性疾病中作用及其机制的研究进展

王雅芝 申元英 郭 乐

摘 要 长非编码 RNA(lncRNA)是一种长度大于 200nt 的非编码 RNA,在细胞增殖、分化和凋亡等生物学过程中起着重要作用。肝脏炎症性疾病的发生率逐年上升,其诱因复杂且发病机制尚未阐明,临床迫切需要明确其作用机制以找到更有效的治疗靶点与药物。目前已发现 lncRNA 在包括病毒性肝炎、非酒精性脂肪肝、肝纤维化等肝脏疾病中呈差异性表达,可能的调节机制是通过调控下游基因的表达和信号通路的激活,从而参与疾病的发生、发展。通过综述 lncRNA 参与肝脏炎症性疾病发生、发展的调控机制及靶向机制等方面的研究进展,预测 lncRNA 作用新靶点,为肝脏炎症性疾病的研究和防治提供研究基础和新思路。

关键词 长链非编码 RNA 肝脏 炎症性疾病

中图分类号 R364.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.03.032

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81960371);云南省科技厅青年项目(202001AU070014)

作者单位:671000 大理大学基础医学院

通信作者:郭乐,博士,副教授,电子信箱:guole0622@126.com