

艾溴利平对高糖诱导的内皮细胞内皮素 1、血管性假血友病因子表达的影响

肖国华^{1,4}, 洪 丽¹, 肖建忠¹, 刘慧婷⁴, 卿 恺⁵, 尹卫东^{2,4}, 王宗保^{2,3,4}

(南华大学 1. 医学院, 2. 药学与生命科学学院, 3. 实验动物部, 4. 心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001;
5. 上海交通大学仁济医院, 上海市 200240)

[关键词] 糖尿病血管病变; 葡萄糖; 内皮素 1; 血管性假血友病因子; 内皮细胞; 艾溴利平

[摘要] **目的** 观察艾溴利平对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞内皮素 1、血管性假血友病因子(vWF)表达的影响,并探讨其分子机制。**方法** 应用终浓度为 33.3 mmol/L 葡萄糖诱导人脐静脉内皮细胞 12 细胞株高糖模型,实验分为正常对照组、高糖模型组、艾溴利平组,噻唑蓝法评价内皮细胞活力;采用放射免疫方法测定内皮素 1 含量;酶联免疫吸附法检测培养上清中 vWF 含量;逆转录-聚合酶链反应检测内皮素 1、vWF mRNA 的表达;细胞免疫荧光法检测细胞内内皮素 1、vWF 蛋白水平的改变。**结果** 高糖显著降低内皮细胞活力,增加内皮素 1、vWF 表达。艾溴利平能显著抑制高糖诱导的内皮功能障碍。低浓度艾溴利平(2、4、8 $\mu\text{mol/L}$)短时间(6、12、24 h)提高细胞活力,降低内皮素 1、vWF 表达($P < 0.01$)。**结论** 艾溴利平能抑制高糖引起的人脐静脉内皮细胞功能损伤,可能与 vWF、内皮素 1 表达降低有关。

[中图分类号] R972.6

[文献标识码] A

Effect of Ibrolipim on Human Umbilical Vein Endothelial Cells Endothelin-1 and von Willebrand Factor Expression Induced by High Glucose

XIAO Guo-Hua^{1,4}, HONG Li¹, XIAO Jian-Zhong¹, LIU Hui-Ting⁴, QING Kai⁵, YIN Wei-Dong^{2,4}, and WANG Zong-Bao^{2,3,4}

(1. School of Medicine, 2. Institute of Biochemistry and Molecular Biology, 3. Department of Laboratory Animal Science, 4. The Institute of Cardiovascular Disease, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 5. Yan Chai Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

[KEY WORDS] Diabetic Angiopathies; Glucose; Endothelin-1; von Willebrand Factor; Endothelial Cells; Ibrolipim

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of ibrolipim on the expression of endothelin-1 (ET-1) and von Willebrand factor (vWF) in cultured human umbilical vein endothelial cells induced by high glucose, and to investigate its molecular mechanism. **Methods** Human umbilical vein endothelial cell-12 (HUVEC-12) were cultured respectively under normal glucose level (5.5 mmol/L), high glucose level (33.3 mmol/L), and high glucose level with ibrolipim treatment. HUVEC-12 activity or injury was assayed by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT). The ET-1 concentrations were evaluated by radioimmunoassay. The expression of vWF in the conditioned media was tested by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Endothelial dysfunction was identified by the expression of ET-1 and vWF through reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). The protein content of ET-1 and vWF were evaluated by cell immunofluorescence. **Results** High glucose condition significantly weakened cell viability, and increased the expression of ET-1 and vWF. Ibrolipim treatment significantly attenuated these alterations of endothelial dysfunction. The lower con-

[收稿日期] 2011-11-16

[基金项目] 湖南省科技厅重点项目(2010TT1008);湖南省科技厅科研项目(2009SKJ17);湖南省高校科技创新团队支持计划资助

[作者简介] 肖国华,硕士,主治医师,研究方向为糖尿病的分子机制,E-mail 为 xiaogh68@163.com。通讯作者王宗保,教授,硕士研究生导师,研究方向为糖尿病和动脉粥样硬化发病机制,电话为 0734-8281234,E-mail 为 wangzb65@hotmail.com。洪丽,副教授,研究方向为应用解剖学。

centrations (2, 4, 8 $\mu\text{mol/L}$) of ibrolipim improved cell viability, down-regulated the expression of ET-1 and vWF, and attenuated the cytotoxicity, however, higher concentration (16, 32 $\mu\text{mol/L}$) of ibrolipim aggravated the damage of HUVEC-12 cultured under high glucose level. **Conclusion** Ibrolipim at low concentration can inhibit high glucose-induced endothelial dysfunction of cultured HUVEC-12, which may be related to the alternation of ET-1 and vWF expression.

内皮功能障碍(endothelial dysfunction, ED)是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)发生和加重的重要原因,也是糖尿病血管病变发生的主要原因,而糖尿病血管病变是糖尿病患者致死率和致残率增高的主要原因^[1]。血管性假血友病因子(von Willibrand factor, vWF)是鉴定内皮细胞受损或刺激的特异性标志物^[2],其升高幅度可反应内皮细胞损伤的程度^[3]。内皮素1(endothelin-1, ET-1)是目前所知的作用最强、持续最久的血管收缩肽。ET-1参与了糖尿病的发生和演变,其水平能反映内皮细胞损伤的程度^[4],是内皮功能障碍的一个重要指标^[5]。

艾溴利平(NO-1886, 世界卫生组织 2003 年公布的通用名为 ibrolipim)是本课题组与日本德岛大塚(Tokushima Otsuka)制药厂合作研究的一种脂蛋白脂酶(lipoprotein lipase, LPL)活化剂。最近研究表明,艾溴利平对糖尿病血管病变具有多种有益的保护作用,如上调蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB)蛋白的表达,改善糖脂代谢紊乱,抑制脂质蓄积^[6],减轻胰岛素抵抗,改善糖尿病心肌病变^[7];提高 LPL 活性,抑制糖尿病实验动物动脉粥样硬化病变^[8];能下调内皮细胞 PKB-Thr308 和 PKB-Ser473 磷酸化,增加 PKB 活性,抑制高糖引起的人脐静脉内皮细胞凋亡^[9]。本研究用艾溴利平干预高糖诱导的人脐静脉内皮细胞 12(human umbilical vein endothelial cell-12, HUVEC-12)细胞株,观察内皮细胞增殖情况,检测内皮细胞 ET-1、vWF 的表达,探讨艾溴利平改善血管内皮细胞功能损伤的作用机制。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂及仪器

艾溴利平(CAS 133208-93-2, 批号:C99H74SM)由日本德岛大塚制药厂新药研究实验室合成。D 葡萄糖购自 Sigma 公司,DMEM 培养基购自 GIBCO 公司,优级胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,胰蛋白酶购自 AMRESCO 公司,ET-1、vWF 一抗购自北京博奥森生物技术有限公司,异硫氰酸荧光素(FITC)标记山羊抗兔 IgG(H + L),逆转录试剂盒购自立陶宛 Fermentas 公司,聚合酶链反应一管便捷式 Master Mix 购自天根生化科技(北京)有限公司,引物由上海生物工程有限公司合成,荧光倒

置生物显微镜购自日本 Olympus 公司。ET-1 放免试剂盒由北京东亚免疫技术研究所提供。vWF 的酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒购自上海太阳生物公司。

1.2 人脐静脉内皮细胞 12 的培养

人脐静脉内皮细胞 12 细胞株来源于中南大学湘雅医学院细胞中心。HUVEC-12 细胞解冻复苏后加入含 10% 胎牛血清低糖 DMEM 培养基中,置 37℃、5% CO₂ 培养箱中贴壁培养,隔日换液,待细胞 75% 融合时,0.25% 胰酶消化,按 1:2 或 1:3 传代,取生长状态良好的 2~4 代细胞用于实验。当细胞呈对数生长后,调整细胞数为 1×10⁶ 个/L 接种于 6 孔板中,细胞 75 % 融合时换成含 1% 胎牛血清 DMEM 培养基继续培养 12 h,使细胞同步化后,随机分配进行实验。

1.3 分组与给药

(1)正常对照组:给予葡萄糖终浓度为 5.5 mmol/L 的 DMEM 培养基孵育 72 h。(2)高糖模型组:给予葡萄糖终浓度为 33.3 mmol/L 的 DMEM 培养基孵育 72 h。(3)艾溴利平组,分为 2 个亚组:①给予葡萄糖终浓度为 33.3 mmol/L 的 DMEM 培养基孵育 48 h 后,然后加入不同终浓度的艾溴利平(2.4、8、16、32 $\mu\text{mol/L}$)再共同孵育 24 h;②给予葡萄糖终浓度为 33.3 mmol/L 的 DMEM 培养基孵育 72 h,给予终浓度为 8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平的 DMEM 培养基孵育不同时间(6、12、24、48、72 h)。上述实验均重复 3 次。

1.4 逆转录-聚合酶链反应测定内皮素 1、vWF mRNA 水平

用 RT-PCR 测定 ET-1、vWF mRNA。按 Trizol 试剂法提取细胞总 RNA。琼脂糖凝胶电泳观察总 RNA 条带,以检查细胞 RNA 提取的质量。取总 RNA 2 μL ,用逆转录试剂盒合成 cDNA,具体操作步骤按说明书。再用 PCR 试剂盒进行 PCR 扩增, GAPDH 为内对照。ET-1 mRNA 引物序列上游为 5'-TGACCCACAACCGAGCACA-3',下游为 5'-TC-CCCAGATGAAAGAAGAGAC-3',反应条件为:95℃ 5 min,94℃ 30 s,57℃ 30 s,72℃ 30 s,共 30 个循环,最后于 72℃ 延伸 10 min,终产物为 258 bp。vWF 上游为 5'-AAGAAGAGGAAGGGCGAGTAGG -3',下游为 5'-CGAGGTGAGCATTGCGTGAC-3',反应条件为:

95℃ 5 min, 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 30 个循环, 最后于 72℃ 延伸 10 min, 终产物为 470 bp。GAPDH 上游为 5'-TCACCATCTTCCAGGAGCGAG-3', 下游为 5'-TGTGCTGTTGAAGTCAGAG-3', 反应条件为: 95℃ 5 min, 94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共 30 个循环, 最后于 72℃ 延伸 10 min, 终产物为 697 bp。反应结束后取 10 μL PCR 产物, 以 1.5 % 琼脂糖 (含 EB) 80 V 电泳 40 min, 再用 VDS 凝胶成像分析系统进行分析, 以待测指标积分光密度与 GAPDH 的积分光密度的比值来表示其相对含量。

1.5 内皮素 1、vWF 含量测定

细胞以 3×10^4 个/L 浓度接种于 96 孔培养板中, 各组细胞培养至所选时间, 收集培养上清液 100 μL, 按 ET-1 试剂盒说明书操作测定 ET-1 含量。采用 ELISA 检测各组细胞培养上清中 vWF 的抗原含量 (%)。抗体为兔抗人 vWF 的单克隆抗体, 方法按试剂盒说明书进行。

1.6 细胞免疫荧光染色检测内皮素 1、vWF 蛋白表达

将实验各组细胞按上述分组处理后, 吸弃各孔中上清, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 漂洗 3 次, 每次 5 min。加入固定液 0.5 mL, 4℃ 固定 10 min, 去除固定液, PBS 漂洗 3 次, 每次 5 min。荧光显微镜下观察细胞有无自发荧光。检测 vWF, 固定后的细胞用 0.3% Triton X-100 破膜 10 min, PBS 漂洗 3 次, 每次 5 min, 1.5% 羊血清封闭 1 h, 加入兔抗人的 vWF 抗体 (1:100 稀释) 4℃ 孵育过夜。弃去一抗孵育液, PBS 漂洗 3 次, 每次 5 min, 加入 FITC 结合的羊抗兔二抗标记 vWF (1:200), 室温孵育 1 h。检测 ET-1, 固定后的细胞不破膜, 封闭后加入兔抗人的 ET-1 抗体 (1:100 稀释) 4℃ 孵育过夜, 余同上。用抗荧光淬灭封片剂封片, 置于倒置荧光显微镜下观察、摄片。用 ImageJ 图象分析软件处理。

1.7 噻唑蓝法测定细胞活力

细胞接种于 96 孔培养板贴壁生长 72 h 后, 每孔加入 20 μL 噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 继续培养 4 h 后, 离心 (2 000 r/min, 5 min), 弃上清, 每孔加入 150 μL 二甲基亚砷, 置全自动酶标仪上测出每孔吸光度值, 测定波长为 490 nm。

1.8 统计学处理

数据均用 SPSS 13.0 软件统计分析, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 组间两两比较采用 Dunnett-t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 不同浓度的艾溴利平对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞 12 内皮素 1、vWF mRNA 表达的影响

结果显示, 高糖可显著增加 ET-1、vWF mRNA 的表达 (与正常对照组相比, $P < 0.05$), 低浓度艾溴利平 (2、4、8 μmol/L) 可降低内皮细胞 ET-1、vWF mRNA 的表达 ($P < 0.05$), 其中艾溴利平浓度为 8 μmol/L 时, 该作用最为显著, 接近正常对照组 ($P > 0.05$)。当浓度增高至 16 μmol/L 时, 艾溴利平抑制高糖增加内皮细胞 vWF mRNA 表达的作用显著降低, 接近高糖模型组 ($P > 0.05$); 浓度增高至 32 μmol/L 时, 艾溴利平可加重高糖对内皮细胞的损伤, 导致内皮细胞 vWF mRNA 的表达进一步升高, 且高于高糖模型组 ($P > 0.05$), 表明艾溴利平对高糖环境下内皮细胞 vWF mRNA 表达的影响与艾溴利平的浓度有关, 艾溴利平发挥最大保护作用的浓度为 8 μmol/L (图 1)。

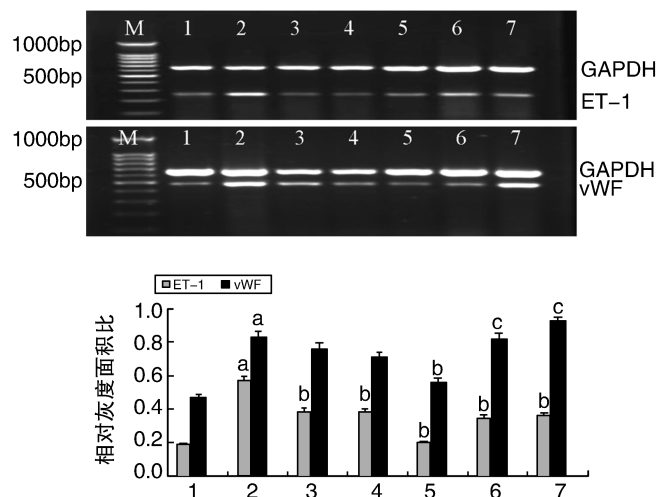


图 1. 不同浓度艾溴利平对高糖诱导的 HUVEC-12 ET-1、vWF mRNA 表达的影响 M 为 Marker, 1 为正常对照组, 2 为高糖模型组, 3 为艾溴利平 2 μmol/L 组, 4 为艾溴利平 4 μmol/L 组, 5 为艾溴利平 8 μmol/L 组, 6 为艾溴利平 16 μmol/L 组, 7 为艾溴利平 32 μmol/L 组。a 为 $P < 0.05$, 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与高糖模型组比较; c 为 $P < 0.05$, 与艾溴利平 8 μmol/L 组比较。

Figure 1. Effects of ibuprofen on the gene expression of ET-1 and vWF in HUVEC-12 induced by high glucose

2.2 艾溴利平处理不同时间对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞 12 内皮素 1、vWF mRNA 表达的影响

8 μmol/L 艾溴利平处理 48 h 内能降低 ET-1、vWF mRNA 表达 (与高糖模型组比较, $P < 0.05$), 在 24 h 时

达到最低,在 48 h 时逐渐升高。当时间增加到 72 h 时,艾溴利平可加重高糖对内皮细胞的损伤,内皮细胞 vWF mRNA 的表达显著升高($P < 0.05$)。表明艾溴利平对高糖环境下内皮细胞 ET-1、vWF mRNA 表达的影响与艾溴利平干预的时间有关,艾溴利平发挥最大保护作用的时间为 24 h (图 2)。

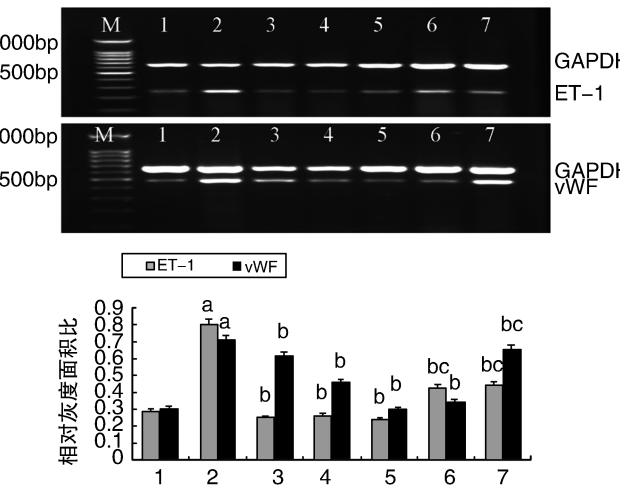


图 2. 8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平处理不同时间对高糖诱导的 HUVEC-12 ET-1、vWF mRNA 表达的影响 M 为 Marker,1 为正常对照组,2 为高糖模型组,3 为艾溴利平作用 6 h 组,4 为艾溴利平作用 12 h 组,5 为艾溴利平作用 24 h 组,6 为艾溴利平作用 48 h 组,7 为艾溴利平作用 72 h 组。a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高糖模型组比较;c 为 $P < 0.05$,与艾溴利平作用 24 h 组比较。

Figure 2. The time course effects of ET-1 and vWF mRNA levels in HUVECs treated by high glucose and 8 $\mu\text{mol/L}$ ibrolipim

2.3 艾溴利平对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞 12 内皮素 1、vWF-Ag 含量的影响

高浓度葡萄糖能促进 HUVEC-12 生成 ET-1 ($P < 0.05$),其上清中 vWF-Ag 含量明显增加 ($P < 0.05$),与正常对照组相比差异具有统计学意义;加入 8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平作用 24 h 可明显降低高糖状态下 ET-1 分泌,ET-1 含量降为高糖模型组的 45.48% ($P < 0.05$),接近正常 ($P > 0.05$),其上清中 vWF-Ag 含量显著降低,vWF-Ag 含量降为高糖模型组的 67.83% ($P < 0.05$) (表 1)。

2.4 高糖诱导人脐静脉内皮细胞 12 内皮素 1、vWF 蛋白表达

给予葡萄糖终浓度为 33.3 mmol/L 的 DMEM 培养基孵育 HUVEC-12 72 h 后,结果显示,FITC 标记的 ET-1 (绿色)表达在胞膜上,高糖诱导 HUVEC-12 的 ET-1 蛋白表达增加 (图 3B),显著高于正常对

照组 (11.57 ± 0.25 , $P < 0.01$) (图 3A),给予 8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平处理 24 h 可显著抑制高糖诱导 ET-1 的蛋白表达,ET-1 的蛋白表达由高糖模型组的 50.07 ± 0.91 降至 10.61 ± 0.46 ($P < 0.01$),接近正常对照组 ($P > 0.05$) (图 3C);FITC 标记的 vWF (绿色)表达在胞浆中,高糖诱导 HUVEC-12 的 vWF 蛋白表达增加 (图 3E),显著高于正常对照组 (6.67 ± 0.32 , $P < 0.01$) (图 3D),给予 8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平处理 24 h 可显著抑制内皮细胞 vWF 的蛋白表达,vWF 的蛋白表达由高糖模型组的 18.58 ± 0.49 降至 6.74 ± 0.25 ($P < 0.01$),接近正常对照组 (图 3F) (图 4)。

表 1. 艾溴利平对高糖状态下 HUVEC-12 分泌 ET-1 及培养上清中 vWF-Ag 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Effects of ibrolipim on the expression of ET-1 and vWF-Ag in HUVEC-12 induced by high glucose ($\bar{x} \pm s$)

分 组	ET-1 (pg/L)	vWF
正常对照组	158.39 \pm 62.34	104.64% \pm 7.31%
高糖模型组	382.27 \pm 49.51 ^a	192.39% \pm 14.61% ^a
艾溴利平 作用 24 h 组	173.85 \pm 52.09 ^b	130.85% \pm 12.71% ^b

a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高糖模型组比较。

2.5 艾溴利平对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞 12 细胞活力的影响

用 MTT 试剂盒检查高糖和 8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平对细胞活力的影响。结果显示,给予葡萄糖终浓度为 33.3 mmol/L 的 DMEM 培养基孵育 HUVEC-12 72 h 后,细胞存活率降低至 57.67% (与正常对照组相比, $P < 0.01$)。8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平预处理提高细胞活力,细胞存活率增加至 86.06% (图 5)。

3 讨 论

血管内皮功能障碍是各种血管疾病发生的基础,尤其在糖尿病慢性血管并发症的发生、发展起重要作用。近年来,多项研究已经显示,内皮损伤及功能障碍与糖尿病血管并发症密切相关^[10,11]。

目前认为 ET-1 参与了 As 的全过程^[12]。有研究证明,高浓度葡萄糖可降低细胞活力,呈浓度依赖性促进 ET-1 的分泌,并呈剂量依赖性损伤细胞,但并不增加 ET-1 mRNA 的水平。因此降低 ET-1 表达无疑将对内皮功能障碍所致的心血管疾病患者

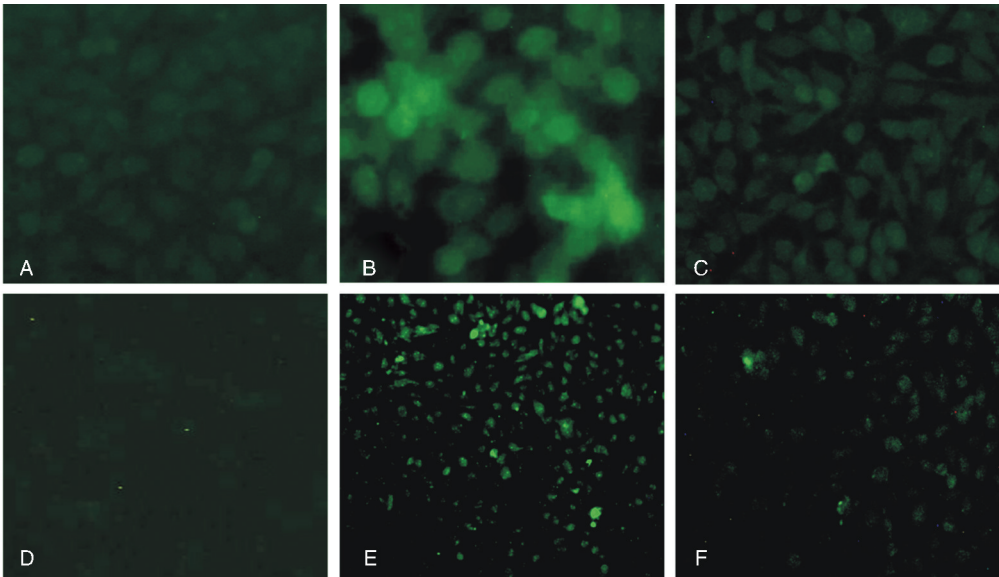


图 3. 8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平对高糖诱导的 HUVEC-12 ET-1 及 vWF 蛋白的影响 ($\times 200$) A、B、C 为 ET-1;D、E、F 为 vWF。A、D 为正常对照组,B、E 为高糖模型组,C、F 为艾溴利平作用 24 h 组。

Figure 3. Effects of 8 $\mu\text{mol/L}$ ibuprofen on the protein expression of ET-1 and vWF in HUVEC-12 induced by high glucose ($\times 200$)

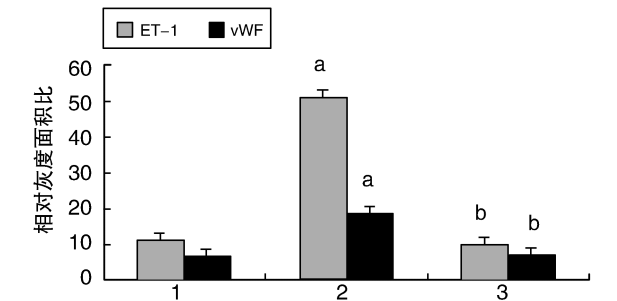


图 4. ET-1、vWF 相对表达量的统计图 1 为正常对照组,2 为高糖模型组,3 为艾溴利平作用 24 h 组。a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高糖模型组比较。

Figure 4. Statistical graph of ET-1 and vWF relative expression quantity

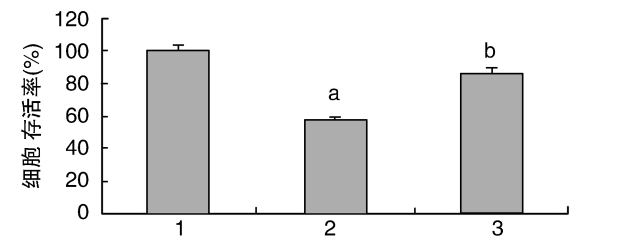


图 5. 8 $\mu\text{mol/L}$ 艾溴利平对高糖诱导的 HUVEC-12 细胞活力的影响 1 为正常对照组,2 为高糖模型组,3 为艾溴利平作用 24 h 组。a 为 $P < 0.05$,与正常对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与高糖模型组比较。

Figure 5. Effect of 8 $\mu\text{mol/L}$ ibuprofen on high glucose-induced loss of cell viability

有益。研究发现内皮细胞损伤时其溶解物及上清

中 vWF 水平均升高^[13],提示 vWF 的合成及释放均增加。vWF 是血小板粘附到受损管壁上不可缺少的成分^[14],是其聚集于受损的血管内皮细胞下、启动血栓形成的第一步,进而导致微血管并发症的发生^[15];vWF 还能通过形成自身免疫脂蛋白复合物损伤动脉血管^[16],因而血浆 vWF 水平升高被认为是微血管内皮细胞损伤的标志,也是反映内皮受损的程度及作为治疗、预后的评价指标之一。

研究表明,高糖可促进内皮细胞 ET-1 的合成分泌,上调 ET-1 的表达,表现高糖的细胞毒性作用,说明高糖可通过 ET-1 造成内皮细胞的损伤,这可能是因为内皮细胞在高糖环境有部分敏感基因发生了暂时的表达改变,包括编码与血栓生成、应激反应、凋亡、血管生成细胞增殖相关的蛋白家族^[17]。因此干预高糖介导血管内皮细胞 ET-1 的分泌,可减轻高糖对内皮细胞的损害,干预 As 的血栓形成,有助于防治糖尿病血管并发症的发生发展。Churdchomjan 等发现 2 型糖尿病患者血糖控制良好有助于内皮细胞机能障碍的改善,vWF 将有一定程度的降低,体现内皮细胞机能的恢复^[18],进一步说明了 vWF 的表达上调与高糖诱导内皮细胞功能障碍、糖尿病血管病变及动脉粥样硬化的发生密切相关。

实验证据表明,艾溴利平可直接作用于体外培养的 HUVEC-12 细胞株,低浓度短时间处理可部分抑制高糖诱导内皮细胞 ET-1 的分泌,减轻高糖及其代谢产物对内皮细胞的直接毒害作用,进而降低 vWF 的表达,高浓度艾溴利平 (32 $\mu\text{mol/L}$) 长时间

(48、72 h)作用则进一步加重高糖的细胞毒性作用。而 ET-1、vWF 作为重要的体内血管内皮细胞损伤标志物,其表达下降,说明艾溴利平可能通过 ET-1、vWF 发挥保护内皮细胞功能的作用,进一步说明了艾溴利平在维持心血管正常结构和功能,防治糖尿病血管病变及动脉粥样硬化方面起着重要作用。高浓度艾溴利平及长时间作用于内皮细胞产生细胞毒作用,是否与高糖有相互作用,如增加氧化应激反应等,目前尚未见报道,具体机制需进一步实验证实。高糖导致内皮细胞损伤细胞模型的研究显示,高糖上调内皮细胞 ET-1、vWF 表达,艾溴利平可有效地逆转 ET-1、vWF 的水平,从而起到保护内皮细胞功能的作用,以此预防内皮细胞功能障碍相关性疾病的发生。

综上所述,艾溴利平能抑制高糖诱导的人脐静脉内皮细胞功能损伤,可能与 vWF、ET-1 表达下调有关。目前艾溴利平抗糖尿病的机制仍不甚明确,因此,艾溴利平改善内皮细胞功能损伤、治疗糖尿病血管并发症的机制仍有必要进行更深入的研究。

[参考文献]

[1] Sudano I, Spieker LE, Hermann F, et al. Protection of endothelial function: targets for nutritional and pharmacological interventions [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2006, 47(2): S136-150.

[2] L'Azou B, Fernandez P, Bareille R, et al. In vitro endothelial cell susceptibility to xenobiotics: comparison of three cell types[J]. Cell Biol Toxicol, 2005, 21(2): 127-137.

[3] Zhang WG, Ji L, Cao XM, et al. Mycophenolate mofetil as a treatment for refractory idiopathic thrombocytopenic purpura [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2005, 26(5): 598-602.

[4] Yokota T, Ma RC, Park JY, et al. Role of protein kinase C on the expression of platelet-derived growth factor and endothelin-1 in the retina of diabetic rats and cultured retinal capillary pericytes [J]. Diabetes, 2003, 52(3): 838-845.

[5] Hanefeld M, Koehler C, Henkel E, et al. Post-challenge hyperglycaemia relates more strongly than fasting hyperglycaemia with carotid intima-media thickness: the RIAD Study--Risk Factors in Impaired Glucose Tolerance for Atherosclerosis and Diabetes [J]. Diabetic Med, 2000, 17(12): 835-840.

[6] 蔡曼波, 李建军, 胡丽, 等. NO-1886 对高脂/高糖/高胆固醇饲养的小型猪组织中肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 1 β 蛋白表达的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(9): 741-746.

[7] Kusunoki M, Hara T, Tsutsumi K, et al. The lipoprotein lipase activator, NO-1886, suppresses fat accumulation and insulin resistance in rats fed a high-fat diet [J]. Diabetologia, 2000, 43(7): 875-880.

[8] Liu Y, Wang ZB, Yin WD, et al. Preventive effect of ibrolipim on suppressing lipid accumulation and increasing lipoprotein lipase in the kidneys of diet-induced diabetic minipigs [J]. Lipids Health Dis, 2011, 16(10): 117.

[9] 肖国华, 王宗保, 余坚, 等. 艾溴利平对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡及蛋白激酶 B 表达的影响 [J]. 中国新药与临床杂志, 2010, 29(8): 611-616.

[10] Persson F, Rossing P, Hovind P, et al. Endothelial dysfunction and inflammation predict development of diabetic nephropathy in the irbesartan in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria (irma2) study [J]. Scand J Clin Lab Invest, 2008, 68(8): 731-738.

[11] Skeppholm M, Kallner A, Kalani M, et al. ADAMTS13 and von Willebrand factor concentrations in patients with diabetes mellitus [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2009, 20(8): 619.

[12] Ihling C, Bohrmann B, Schaefer HE, et al. Endothelin-1 and endothelin converting enzyme-1 in human atherosclerosis--novel targets for pharmacotherapy in atherosclerosis [J]. Curr Vasc Pharmacol, 2004, 2(3): 249-258.

[13] Rondaij MG, Bierings R, Kragt A, et al. Dynamics and plasticity of Weibel-Palade bodies in endothelial cells [J]. Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol, 2006, 26(5): 1 002-007.

[14] Franchini M, Lippi G. The role of von Willebrand factor in hemorrhagic and thrombotic disorders [J]. Crit Rev Clin Lab Sci, 2007, 44(2): 115-149.

[15] Blann AD, Lip GY. Effects of C-reactive protein on the release of von Willebrand factor, E-selectin, thrombomodulin and intercellular adhesion molecule-1 from human umbilical vein endothelial cells [J]. Blood Coagul Fibrinolysis, 2003, 14(4): 335-340.

[16] Vila V, Martínez-Sales V, Almenar L, et al. Inflammation, endothelial dysfunction and angiogenesis markers in chronic heart failure patients [J]. Int J Cardiol, 2008, 130(2): 276-277.

[17] Kobayashi T, Taguchi K, Yasuhiro T, et al. Impairment of PI3-K/Akt pathway underlies attenuated endothelial function in aorta of type 2 diabetic mouse model [J]. Hypertension, 2004, 44(6): 956-962.

[18] Churdchomjan W, Kheolamai P, Manochantr S, et al. Comparison of endothelial progenitor cell function in type 2 diabetes with good and poor glycemic control [J]. BMC Endocr Disord, 2010, 7(10): 5.

(此文编辑 曾学清)