

· 综 述 ·

糖尿病血管病变与纤溶酶原激活物抑制物-1

孙小毛, 拓西平*, 苗振春

(第二军医大学附属长海医院老年病科, 上海 200433)

【摘 要】糖尿病(DM)常并发血管及血栓性疾病, 而 DM 发生血管病变的机制复杂。血栓前状态分子标志物之一的纤溶活性指标——纤溶酶原激活物抑制物-1(PAI-1)在 DM 及其血管病变的发生发展中起到重要作用。本文拟对 DM 血管病变与 PAI-1 关系的研究进展作一综述。

【关键词】糖尿病; 糖尿病血管病变; 纤溶酶原激活物抑制物-1

【中图分类号】R587.1

【文献标识码】A

【文章编号】1671-5403(2011)02-0189-04

Vascular change and plasminogen activator inhibitor-1 in diabetes mellitus

SUN Xiaomao, TUO Xiping*, MIAO Zhenchun

(Department of Geriatrics, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

【Abstract】Diabetes mellitus (DM) is often complicated with vascular and thrombotic diseases, and the pathogenesis of diabetic vasculopathy is complex. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) is a fibrinolytic activity indicator and a pre-thrombotic state molecular marker, and believed to play an important role in the development and progression of DM and diabetic vasculopathy. This article is a review of researches about associations between diabetic vasculopathy and PAI-1.

【Key words】diabetes mellitus; diabetic vasculopathy; plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是严重危害人类健康的常见病, 常并发血管及血栓性疾病。数据表明, DM 患者死于心血管事件的占 75%, 而死于血栓形成的占 80%^[1]。许多研究表明, 血栓前状态分子标志物之一的纤溶活性指标——纤溶酶原激活物抑制物-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)的变化与血栓形成密切相关, 是动脉粥样硬化性心血管疾病的独立危险因素。研究证实 1 型糖尿病(type 1 DM, T1DM)和 2 型糖尿病(T2DM)都存在纤溶系统的改变及血浆 PAI-1 升高。PAI-1 与 DM、心血管疾病及动脉粥样硬化的联系越来越受到各科学家的关注。

1 PAI-1 简述

1.1 分子生物学特性

PAI-1 是一种单链糖蛋白, $M_r 51 \times 10^5$, 由 379 个氨基酸残基构成, 内含一个由 23 个氨基酸残基组成的信号肽。PAI-1 是组织型纤溶酶原激活物(tissue plasminogen activator, t-PA)和尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase plasminogen activator, u-PA)的特异

性快速抑制剂。t-PA/PAI-1 是调节纤溶系统生理功能的一对重要产物, 它们之间的生理平衡对调节血流畅通起重要作用。自从 1977 年 PAI-1 被首先发现作为纤溶酶活性的“快速灭活剂”以来, 人们就已经很好地认识到 PAI-1 在血栓形成中的作用, 包括深静脉血栓形成及心肌梗死的发生^[2]。近年来, 人们逐渐认识到 PAI-1 在动脉粥样硬化症、肾和肺纤维化^[3-5]、肥胖和 DM^[6]、癌症等疾病的发生发展过程中起重要作用^[7]。PAI-1 在体内以 3 种形式存在, 即活性态、潜在活性态和静止态, 其相互之间的转换通过一种特殊的蛋白水解酶完成^[8]。

1.2 PAI-1 合成与调节

1.2.1 PAI-1 合成 许多细胞可以合成 PAI-1, 主要包括肝细胞、脂肪细胞、血管内皮细胞。生理条件下 PAI-1 通过这些细胞分泌释放到循环系统和细胞间隙中, 血浆中 5~20 $\mu\text{g/L}$ 活性的 PAI-1 足以控制纤维蛋白溶解和细胞外蛋白质的水解。而在病理条件下, 体内其他组织和细胞也分泌大量 PAI-1, 如肿瘤细胞、对炎症因子反应的內皮细胞及其他炎症激活细胞^[9]。

1.2.2 PAI-1 调节 脂蛋白 a 与极低密度脂蛋白均可刺激血管皮合成 PAI-1; 白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、转化生长因子- β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)、胰岛素、糖皮质激素、高血糖可刺激血管内皮 PAI-1 mRNA 的表达增强。研究表明 α 干扰素(interferon α , INF- α)和 γ 干扰素(IFN- γ)则可抑制 PAI-1 mRNA 在视网膜上皮细胞的表达。研究发现, 人血管内皮细胞表达过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR γ) mRNA 及其蛋白, 而 PPAR γ 又可抑制 PAI-1 及内皮素-1 在内皮细胞表达, 从而减少血管动脉粥样硬化的发生^[10,11]。

2 DM 时影响 PAI-1 上调的因素

2.1 高血糖

研究证实高血糖和高胰岛素血症可直接刺激体内 PAI-1 基因的表达, 目前其机制还不明确。研究发现高血糖通过蛋白激酶(protein kinase, PK)和氧化应激依赖途径刺激 Rho 激酶活性, 导致 PAI-1 基因转录的增加^[11]。Gabriely 等^[12]利用体瘦和肥胖 SD 大鼠为研究对象, 通过夹闭胰岛素分泌及注射生长抑素抑制内源性胰岛素的方法, 给大鼠输注葡萄糖 3h 造成高血糖(血糖值 18 mmol/L), 发现 PAI-1 基因表达与对照组相比高 6~7 倍($P \leq 0.001$), 并进一步研究认为高血糖通过激活氨基己糖生物合成途径诱导体内脂肪组织 PAI-1 基因表达。

2.2 脂质代谢紊乱

T2DM 患者多伴随有高甘油三酯、胆固醇、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)和低高密度脂蛋白血症。体外研究表明, 甘油三酯和 LDL 能诱导 PAI-1 的基因表达刺激内皮细胞分泌 PAI-1^[13]。细胞培养研究发现, 极低密度脂蛋白能刺激内皮细胞分泌 PAI-1, 其中 LDL、特别是氧化修饰 LDL(ox-LDL)对增加 PAI-1 水平和抑制 t-PA 活性影响最大。

2.3 胰岛素抵抗

高胰岛素血症伴随有胰岛素抵抗, 能刺激脂肪组织和其他组织释放 PAI-1。禁食、服用二甲双胍及胰岛素增敏剂能减少血浆胰岛素和 PAI-1 水平。在胰岛素抵抗中有两条重要的途径调节胰岛素的释放, 一是磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K), 另一个是有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK), 前者能促进细胞吸收葡萄糖和 NO 的产生, 后者能促进细胞

增殖、迁移和 PAI-1 的表达^[14]。另外 Sobel 等^[15]研究发现胰岛素抵抗诱导了 PAI-1 的积累, 特别是在心肌梗死区域, PAI-1 的增加可能导致胰岛素抵抗患者心梗后发生心肌纤维化及舒张功能障碍。

2.4 肥胖

最近一项大型流行病学 MEGA 研究发现, 超重(BMI > 25kg/m²)和肥胖(BMI > 30 kg/m²)分别增加患静脉血栓的 1.7 倍及 2.4 倍^[16]。研究表明肥胖是一种慢性低程度的炎症反应状态, 急性反应期, 脂肪组织中脂肪细胞以自分泌或者远分泌的方式释放促炎性细胞因子(IL-1, IL-6, TNF- α), 促进了 PAI-1 的表达^[17]。另有研究表明脂肪组织是通过分泌 TNF- α , 刺激 PAI-1 在脂肪细胞、VSMCs 等组织的表达。值得注意的是, 当抑制 TNF- α 时也能抑制 PAI-1 的表达, 但是在给体瘦的动物注射 TNF- α 时, 脂肪中的 PAI-1 基因表达增强^[18]。这些研究说明肥胖时 PAI-1 基因表达的增强是多种细胞因子作用的结果, 而不是脂肪组织直接刺激了 PAI-1 基因表达的增强。

2.5 遗传因素

遗传因素对 PAI-1 活性有重要影响。在 PAI-1 启动子区 694 位置上有两个等位基因 4G/5G。Marion 等^[19]通过研究澳大利亚人群中 PAI-1 基因多态性与 DM 肾病(diabetic nephropathy, DN)和 DM 视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)相关性时发现, DR 患者主要含有 4G/4G 基因型, 而 DN 患者与基因多态性无明显相关性。Ezzidi 等^[20]进一步研究认为 PAI-1 水平的变化与其基因位点不同有关, 但这并不说明 DR 的严重性, 只能作为可能增加 DR 严重性的一个标志物。Saely 等^[21]对冠脉造影显示有稳定斑块的 672 人随访 5 年发现, 含 4G/4G 基因型非 DM 患者中发生冠脉狭窄事件比含 4G/4G 基因型 DM 患者明显增多, 并推论含 4G/5G 基因型 DM 患者更易发生心血管事件。

2.6 增龄因素

研究证实随着 DM 的进程和增龄, 血浆 PAI-1 水平明显升高, 说明年龄因素影响 PAI-1。Maria 等^[22]通过研究 83 名 60 岁老人和 42 名健康百岁老人, 发现与 60 岁老年人相比, 百岁老人有更高的血浆 PAI-1 水平[(73.1 $\pm$ 13.9) vs (23.7 $\pm$ 14.7) μ g/L, $P < 0.001$, 胰岛素抵抗力更低[(1.4 $\pm$ 0.5) vs (3.3 $\pm$ 1.3), $P < 0.001$], 说明在健康百岁老年人血浆 PAI-1 水平与胰岛素抵抗力不相关, 增龄也可作为血浆 PAI-1 水平升高的一个危险因素。

3 PAI-1 与 DM 大血管病变

Laima 等^[23]研究发现血浆 PAI-1 水平的升高是 T2DM 中冠心病的独立危险因素。其机制可能是胰岛素、胰岛素样分子、高血糖、极低密度脂蛋白直接刺激血管内皮及血管平滑肌细胞的转录及分泌 PAI-1。采用免疫荧光法,观察 DM 患者的冠状动脉旁路移植术的血管壁标本,发现尽管与非 DM 患者心血管疾病病变程度一致,DM 患者的 PAI-1 相关免疫荧光水平增加 2 倍^[24]。有人对 DM 患者动脉壁上 PAI-1 的水平进行探讨,结果表明 DM 与动脉壁上 PAI-1 的增加有关,血管壁上 PAI-1 的升高能降低局部纤维蛋白的降解和增加血栓形成以及动脉粥样斑块的加速发展。

4 PAI-1 与 DM 微血管病变

DM 微血管病变分布非常广泛,尤以肾小球、眼底、神经、心肌、骨骼肌等部位的微血管为主。临床上以 DN, DR, DM, 心肌微血管病变为主。在 T2DM 中,伴随着微血管病变的发生和发展,患者体内纤溶和凝血功能发生着一系列变化。

4.1 PAI-1 与 DN

DN 在病理上主要表现为毛细血管基底膜增厚及肾小球和肾小管间质细胞外基质(extracellular matrix, ECM)进行性积聚,最终导致弥漫性或结节性肾小球硬化。生理情况下机体通过纤溶活性清除体内形成的纤维蛋白,但又通过抗纤溶使血液中的纤溶酶不至处于过高凝状态,从而使纤溶和抗纤溶处于动态平衡。肾脏固有内皮细胞的一个重要功能是既能合成 t-PA 和 PAI-1,又能不断将其释放入血浆。Paueksakon 等^[25]研究认为在 DN 中肾小球系膜的出现红细胞碎片预示微血管受损,系膜溶解,并且使蛋白尿进一步恶化。其机制是激活了局部的 PAI-1。Lassila 等^[26]进一步研究认为 PAI-1 缺乏能改善 DN 的损害,内源性 PAI-1 在 DN 发病机制起了重要作用。

4.2 PAI-1 与 DR

视网膜微血管功能和结构紊乱、血液成分和随之而来的血液流变学变化已被公认为 DR 的基本机制。近年来,有学者认为视网膜微循环内微血管病变伴血栓形成在 DR 的发生、发展中有一定作用。大部分研究认为,DR 患者 PAI-1 活性是增强的,从而导致纤溶活性下降。Grant 等^[27]研究发现转基因大鼠视网膜 PAI-1 过度表达导致了视网膜病变,其表

现形式同人类 DR 相似。但是,最近的一项研究发现高水平的血浆 PAI-1 是 DR 独立危险因素,而在冠心病患者中却是独立危险因素^[23]。

4.3 PAI-1 与 DM 心肌微血管病变

流行病学研究显示,临床上一些心绞痛的患者,排除患者以前有冠状动脉性心脏病或风湿性心脏病,并且排除年龄、血压、体重和血清胆固醇等危险因素,冠脉造影也显示无明显异常,经过扩冠、活血化瘀、降脂治疗后,症状明显缓解,这可能是 DM 时高血糖的变化、脂肪代谢的紊乱引起血液流变学发生改变,造成血液黏稠度增高,凝血和纤溶活性异常致血液高凝状态,微循环血流不畅,细胞获能减少、缺氧等,导致心肌微血管内皮受损,PAI-1 释放增加,t-PA 受抑制,进一步加剧了微血栓形成,从而引起了心脏微血管形态和结构的病理改变。

5 研究与展望

临床研究已经证实,在非药理学和药理学干预下可降低血浆 PAI-1 血浆水平及 PAI-1 基因的表达。如饮食、生活方式的干预;二甲双胍、磺酰脲类药、胰岛素增敏剂;降脂药:贝特类及他汀类等药物治疗在体内及体外试验中均能减低 PAI-1 的表达。其机制可能是通过减轻体质量及胰岛素抵抗,或者单独改善胰岛素抵抗而减少血浆 PAI-1 血浆水平及 PAI-1 基因的表达^[28]。

由于 PAI-1 分子结构复杂,阻碍了新的口服小分子 PAI-1 抑制剂的研究发展。最近,通过大型的随机筛选化学程序库及三维 PAI-1 分子结构模式,已研制成功几种新的口服活性小分子 PAI-1 抑制剂。在体外试验中,血栓调节蛋白(thrombomodulin, TM)5001 分子和 TM5007 分子能特异性地抑制 PAI-1 活性,增强纤维蛋白溶解活性,在体内试验中, TM5007 分子能防止血液凝固,延缓平阳霉素(博来霉素)诱导的大鼠肺纤维的进展^[29]。

综上所述,纤溶活性降低在 DM 血管病变中的作用不可忽视,降低 PAI-1 mRNA 在血管内皮的表达及血浆中 PAI-1 活性,对预防 DM 大血管动脉粥样硬化及微血管微血栓形成具有十分重要的临床意义。另外临床研究已经证实,在非药理学和药理学干预下可间接或直接降低血浆 PAI-1 血浆水平及 PAI-1 基因的表达。但是目前在分子水平直接干预 PAI-1 大部分还处在动物实验阶段,推广到临床尚待时日。

【参考文献】

- [1] Gu K, Cowie CC, Harris ML. Mortality in adults with and without diabetes in a national cohort of the US population, 1971-1993[J]. *Diabetes Care*, 1998, 21(7): 1138-1145.
- [2] Wiman B, Coollen D. Purification and characterization of human antiplasmin, the fast acting plasmin inhibitor in plasmin[J]. *Eur J Biochem*, 1977, 78(1): 19-26.
- [3] Eddy A, Fogo A. Plasminogen activator inhibitor-1 in chronic kidney disease: evidence and mechanisms of action[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(11): 2999-3012.
- [4] Liu R. Oxidative stress, plasminogen activator inhibitor 1, and lung fibrosis[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(2): 303-320.
- [5] Vaughan DE, De-Taeye BM, Eren M. PAI-1 antagonists: predictable indications and unconventional applications[J]. *Curr Drug Targets*, 2007, 8(9): 962-970.
- [6] Hoffstedt J, Persson L, Isaksson B, *et al.* The common-675 4G/5G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor-1 gene is strongly associated with obesity[J]. *Diabetologia*, 2002, 45(4): 584-587.
- [7] Eva A, Marcus L, Tom O, *et al.* uPA and PAI-1 in rectal cancer—relationship to radiotherapy and clinical outcome[J]. *J Surg Res*, 2009, 153(1): 46-53.
- [8] Cale JM, Lawrence DA. Structure-function relationships of plasminogen activator inhibitor-1 and its potential as a therapeutic agent[J]. *Curr Drug Targets*, 2007, 8(9): 971-981.
- [9] Binder BR, Christ G, Gruber F, *et al.* Plasminogen activator inhibitor 1: physiological and pathophysiological roles[J]. *News Physiol Sci*, 2002, 17(1): 56-61.
- [10] Ma LJ, Marcantoni C, Linton MF, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist troglitazone protects against nondiabetic glomerulosclerosis in rats[J]. *Kidney Int*, 2001, 59(5): 1899-1910.
- [11] Yoshiyuki R, James K. Rho-kinase mediates hyperglycemia-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression in vascular endothelial cells[J]. *Circulation*, 2005, 111(24): 3261-3268.
- [12] Gabriely I, Yang XM, Cases JA, *et al.* Hyperglycemia induces PAI-1 gene expression in adipose tissue by activation of the hexosamine biosynthetic pathway[J]. *Atherosclerosis*, 2002, 160(1): 115-122.
- [13] Olufadi R, Byrne CD. Effects of VLDL and remnant particles on platelets[J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2006, 35(3): 281-291.
- [14] Bansilal S, Farkouh ME, Fuster V, *et al.* Role of insulin resistance and hyperglycemia in the development of atherosclerosis[J]. *Am J Cardiol*, 2007, 99(4): 6-14.
- [15] Sobel BE, Schneider DJ, Lee YH, *et al.* Insulin resistance increases PAI-1 in the heart[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 346(1): 102-107.
- [16] Pomp ER, le-Cessie S, Rosendaal FR, *et al.* Risk of venous thrombosis: obesity and its joint effect with oral contraceptive use and prothrombotic mutations[J]. *Br J Haematol*, 2007, 139(2): 289-296.
- [17] Bastelica D, Mavri A, Verdierl M, *et al.* Relationships between fibrinolytic and inflammatory parameters in human adipose tissue: strong contribution of TNF alpha receptors to PAI-1 levels[J]. *Thromb Haemost*, 2002, 88(3): 481-487.
- [18] Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(6): 2548-2556.
- [19] Marion F, Georg E, Markus E, *et al.* PAI-1 4G/5G insertion/deletion promoter polymorphism and microvascular complications in type 2 diabetes mellitus[J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2005, 117(19): 707-710.
- [20] Ezzidi I, Mtraoui N, Chaieb M, *et al.* Diabetic retinopathy, PAI-1 4G/5G and -844G/A polymorphisms, and changes in circulating PAI-1 levels in Tunisian type 2 diabetes patients[J]. *Diabetes Metab*, 2009, 35(3): 214-219.
- [21] Saely CH, Axel M, Alexander V, *et al.* Type 2 diabetes significantly modulates the cardiovascular risk conferred by the PAI-1 -675 4G/5G polymorphism in angiographed coronary patients[J]. *Clin Chim Acta*, 2008, 396(1): 18-22.
- [22] Maria R, Emilia R, Michelagela B, *et al.* Elevated plasma activator inhibitor 1 is not related to insulin resistance and to gene polymorphism in healthy centenarians[J]. *Atherosclerosis*, 2002, 160(2): 385-390.
- [23] Laima B, Kevin R, Alicia J, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 activity in type 2 diabetes: a different relationship with coronary heart disease and diabetic retinopathy[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(4): 786-791.
- [24] Pandolfi A, Cetrullo D, Polishuck R, *et al.* Plasminogen activator inhibitor type 1 is increased in the arterial wall of type 2 diabetic subjects[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(8): 1378-1382.
- [25] Pauksakon P, Revelo MP, Ma LJ, *et al.* Microangiopathic injury and augmented PAI-1 in human diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2002, 61: 2142-2148.
- [26] Lassila M, Fukami K, Jandeleit-Dahm K, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 production is pathogenetic in experimental murine diabetic renal disease[J]. *Diabetologia*, 2007, 50(6): 1315-1326.
- [27] Grant M, Spoerri P, Player D, *et al.* Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 overexpression in retinal microvessels of PAI-1 transgenic mice[J]. *Invest*, 2000, 41(8): 2296-2302.
- [28] Yki-Jarvinen H, Sutinen J, Silveira A, *et al.* Regulation of plasma PAI-1 concentrations in HAART-associated lipodystrophy during rosiglitazone therapy[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(4): 688-694.
- [29] Yuko I, Satoru T, Masaomi N, *et al.* Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1: its mechanism and effectiveness on coagulation and fibrosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(4): 672-677.