

· 综 述 ·

花生四烯酸细胞色素P450代谢途径在高血压中作用的研究进展

严 婧, 贾伟平*

(上海交通大学附属第六人民医院, 上海市糖尿病研究所, 上海 200233)

【摘要】花生四烯酸是人体必须脂肪酸之一, 其代谢产物具有较强生物学活性并在众多生理病理过程中发挥着重要调节作用。其在人体内主要通过环氧化酶、脂氧化酶、细胞色素P450 (CYP) 三大途径进行代谢。其中, 越来越多的研究表明, CYP代谢途径中其关键基因CYP通过调控经 ω -羟化酶、表氧化酶作用的下游产物20-羟-二十烷四烯酸及表氧-二十碳三烯酸的质/量, 从而影响高血压的发生发展, 并且对其分子生物学机制及遗传学的研究亦成为当前的研究焦点。本文主要对CYP途径在高血压中的作用简要做一综述。

【关键词】花生四烯酸, 细胞色素P450, 高血压

【中图分类号】 R544.1

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2014.00054

Role of arachidonic acid cytochrome P450 signal pathway in hypertension: a review on the research progress

YAN Jing, JIA Wei-Ping*

(Shanghai Diabetes Institute, Affiliated No.6 People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China)

【Abstract】 Arachidonic acid (AA) is one of the essential fatty acids for human beings, and its metabolites have strong biological activities and play important roles in regulating many physiological and pathological processes. AA is metabolized by three major pathways, including cyclooxygenases (COXs), lipoxygenases (LOXs) and cytochrome P450 (CYP). Recently, more and more evidences demonstrated that CYP pathway contributed to the pathogenesis of hypertension by regulating 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) and epoxyeicosatrienoic acid (EET), the downstream products of ω -hydroxylase and epoxigenase. The mechanisms of molecular biology and genetics of the pathway become a hot-spot in recent years. In this article, we reviewed the role of the CYP pathway in the hypertension.

【Key words】 arachidonic acids, cytochrome P450, hypertension

This work was supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81300691) and the Natural Science Foundation of Shanghai (13ZR1431600).

Corresponding author: JIA Wei-Ping, E-mail: wpjia@yahoo.com

高血压是最常见的慢性病, 以体循环收缩压和(或)舒张压持续升高为主要临床表现。其是多种心脑血管疾病的重要病因和危险因素, 影响重要脏器如心、脑、肾的结构与功能, 最终导致这些器官的功能衰竭。花生四烯酸 (arachidonic acids, AA) 属于二十碳多不饱和脂肪酸, 以磷脂化的形式存在于细胞膜内表面。当细胞受到刺激时, 由磷脂酶A2水解释放至细胞浆中, 分别经过环氧化酶 (cyclooxygenases, COXs) 途径、脂氧化酶 (lipoxygenases, LOXs) 途径和细胞色素P450 (cytochrome P450, CYP) 等三大代谢途径产生近百种具有不同生物活性的小分子代

谢产物。之前的研究多聚焦于前两大途径在代谢性疾病中的作用, 而越来越多的研究证实CYP基因及其介导的AA代谢物在高血压的发生发展中发挥了重要的调节作用^[1]。本文就其研究的新近进展做一综述。

CYP450基因编码的CYP450同工酶家族属于血红蛋白超家族, 调节内、外源性物质的氧化代谢, 其催化AA代谢的过程主要分为两条通路: 一是经CYP表氧化酶CYP2家族的CYP2J2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19代谢生成表氧-二十碳三烯酸 (epoxyeicosatrienoic acid, EET), 包括5-, 6-, 8-, 9-, 11-, 12-, 14-, 15-EET 4种异构体; 二是经CYP ω -羟化

收稿日期: 2013-10-07; 修回日期: 2013-12-07

基金项目: 国家自然科学基金-青年科学基金项目 (81300691); 上海市自然科学基金 (13ZR1431600)

通信作者: 贾伟平, E-mail: wpjia@yahoo.com

酶CYP4A, CYP4F, CYP1A家族的CYP4A11, CYP4F2, CYP4F3b, CYP4F11, CYP4F12等生成20-羟-二十烷四烯酸(20-hydroxyeicosatetraenoic acid, 20-HETE)和19-羟-二十烷四烯酸(19-hydroxyeicosatetraenoic acid, 19-HETE)。

1 花生四烯酸CYP代谢途径在高血压中的作用

1.1 动物实验

早期Holla等^[2]研究显示,全身性敲除*cyp4a14*基因的小鼠,其肾脏中*cyp4a12*表达上调,致其下游产物20-HETE的含量增加从而升高血压。同样,过表达*CYP4f2*的转基因小鼠可通过升高20-HETE/EET的比例从而升高血压,而CYP ω -羟化酶抑制剂HET0016则可阻断该升压效应^[3]。目前越来越多的动物实验研究证明,20-HETE, EET在自发性高血压大鼠(spontaneously genetic hypertension rat, SHR)、去氧皮质酮醋酸盐诱导的高血压大鼠(DOCA-salt)等多种高血压大鼠体内发挥着调节血管收缩、肾脏盐代谢的重要作用。Zhao等^[4]通过血管紧张素II诱导小鼠发生盐敏感性高血压后,即便随后撤除了血管紧张素II的干预,小鼠仍表现持续高血压,这可能与肾脏微血管中CYP2j、CYP2c基因表达下调从而影响EET含量有关。

1.2 人群研究

CYP代谢途径与高血压的相关性已在多项人群中报道。Ward等^[5]发现女性中高血压者尿中20-HETE的排泄率较正常血压者显著增加,并且该排泄率与收缩压、舒张压呈正相关。在超重人群中血浆20-HETE水平和24h收缩压呈正相关^[6]。在关于20-HETE调节排钠作用的研究中,盐抵抗性高血压者的尿钠排泄率与20-HETE水平呈正相关,而盐敏感性高血压者的尿钠排泄率则与20-HETE并不相关^[7]。同时,已有遗传学研究对*CYP4A*、*CYP4F*、*CYP2J*等基因多态性与高血压的相关性进行了初步探讨。2005年, Gainer报道了欧洲人群中*CYP4A11*上功能性的变异8590T>C(rs1126742)与血压升高有关,且随着风险等位基因C数目的增加,机体盐敏感性也随之增加^[8],之后不同种族的研究亦得到了相类似的结果^[9]。而另一项研究显示*CYP4F2*上V433M的GA/AA基因型者20-HETE排泄率及收缩压都显著升高, *CYP4A11*上F434S的CC/TC基因型者则20-HETE排泄率降低,且该多态性与血压没有直接关联^[10]。此外, *CYP4A11*上的rs9332982、rs4660980, *CYP4F2*上的378T>C(rs3093098)、421G>C

(rs3093100)均被证实与中国汉族人高血压发病及血压水平相关^[11]。同样, *CYP2J2*启动子区域的50G>T(rs890293)也与高血压相关,在非糖尿病和肥胖的人群中, T等位基因携带者患高血压的风险更高, OR = 8.4 (P = 0.0002)^[12],这可能是由于该多态性使其上游启动子与转录因子结合障碍由此引起*CYP2J2*酶活性的降低。当然,由于人种、性别、环境因素、研究样本等因素,关于CYP家族基因多态性与高血压关联研究的结果并不一致,因此还需要大样本验证及相关功能学研究证实。

2 CYP代谢途径在高血压中作用的分子机制

2.1 20-HETE

AA的CYP代谢途径对血压的调节作用主要通过下游小分子20-HETE和EET发挥效应。20-HETE主要在血管平滑肌细胞、中性粒细胞、外周血及骨髓中的髓样细胞中产生,其参与调节血压的机制十分复杂。

2.1.1 微循环 在微循环(肾、大脑、肠系膜、骨骼肌小动脉)中,20-HETE作为第二信使,主要通过收缩血管、使内皮细胞功能障碍、促进内皮细胞活化以及作用于肾素-血管紧张素-醛固酮系统等4个方面来发挥升高血压的效应。

第一,20-HETE通过活化PKC-MAPK通路从而抑制平滑肌细胞膜上Ca²⁺激活的K⁺通道,使膜去极化并引起[Ca²⁺]_i升高,导致平滑肌张力增加引起血压升高,该作用还可能与L型Ca²⁺通道激活有关。20-HETE可以活化Rho激酶,使肌球蛋白轻链20(myosin light chain 20, MLC20)磷酸化,从而提高平滑肌细胞对Ca²⁺促收缩作用的敏感性^[13]。瞬时受体电位C通道6(transient receptor potential C channel 6, TRPC6)在细胞膜上构成Ca²⁺可通透的非选择性阳离子通道,近期Inoue等^[14]的研究发现,20-HETE对TRPC6的协同活化作用可以增加Ca²⁺内流,促进血管平滑肌收缩升高血压。此外,有研究指出,20-HETE通过激活血管周围神经纤维中的瞬时受体电位香草酸亚型1通道(transient receptor potential family vanilloid subtype 1, TRPV1),引起了缩血管神经肽P物质的释放,从而部分介导了其收缩血管、升高血压的效应。在野生型雄小鼠中,随着输注20-HETE浓度增加,其平均动脉压也随之增加。20-HETE这种剂量依赖性升高血压的作用却在TRPV1敲除的雄小鼠中被抑制;同时,向野生型雄小鼠中注入神经肽P物质受体拮抗剂RP67580后表现出相似的阻断效应^[15]。当然,20-HETE/TRPV1

途径并未在雌小鼠中证实。

第二, 20-HETE作用于内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS)-NO、活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 系统, 通过减少舒血管因子NO、增加超氧阴离子 ($\cdot\text{O}^{2-}$) 导致血管内皮功能障碍^[16]。内皮细胞来源的NO由L-精氨酸、氧经eNOS催化形成, eNOS正常发挥作用依赖于分子伴侣HSP90的存在。而20-HETE作用于eNOS-HSP90复合体导致其解偶联, 从而引起NO含量及生物活性降低; 同时, $\cdot\text{O}^{2-}$ 是ROS的成员, 大多由NADPH在NADPH氧化酶的作用下产生。研究发现, 20-HETE会引起小鼠体内NADPH氧化酶的组分gp91 phox增加, 小鼠肾叶间动脉内皮细胞的 $\cdot\text{O}^{2-}$ 增加^[17]。这些均使内皮细胞发生氧化应激导致内皮细胞功能障碍, 从而引起血压升高。

第三, 20-HETE可通过活化MAPK-ERK1/2通路来刺激内皮细胞活化。该通路通过下游级联反应IKK—I κ B磷酸化—核因子- κ B (nuclear factor- κ B) 转位, 进而引起促炎症细胞因子和血管内皮细胞黏附分子的增加, 血管内皮细胞的持续活化造成的慢性炎症状态进而引发血压升高。研究者发现使用IKK抑制剂白菊可以明显减轻20-HETE介导的血压升高, 实验组高血压小鼠平均血压从(133.7 \pm 3.1) mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa) 降到(109.8 \pm 3.0) mmHg^[16]。同时, 向SHR的脑血管内皮细胞输注外源性的20-HETE 24h后, 细胞内NF- κ B转录活性增加, 血管中炎症因子肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 、IL-6的表达水平也增加, 而20-HETE抑制剂HET0016可使三者表达均减少^[18]。最近, Cheng等^[1]发现20-HETE引起内皮细胞功能障碍、内皮细胞活化的作用共用TK-MAPK-IKK这条上游通路。使用TK抑制剂染料木黄酮 (genistein) 或者MAPK磷酸化抑制剂U0126, 均导致20-HETE抑制NO的作用减弱了30%。

第四, 20-HETE还可通过IKK通路作用于肾素-血管紧张素-醛固酮系统。20-HETE可诱导内皮细胞产生血管紧张素转换酶 (angiotensin-converting enzyme, ACE), 使血管紧张素II水平 (Ang II) 升高, 进而通过血管紧张素1型受体 (angiotensin type 1 receptor, AT1R) 发挥收缩小动脉平滑肌、增加外周血管阻力、刺激肾上腺皮质球状带分泌醛固酮使水钠潴留的升压效应。向正常血压的Sprague-Dawley小鼠的尾静脉中注射过表达CYP4A2的慢病毒, 其血压于注射后第3、5、10天

分别升高到(139 \pm 1)、(145 \pm 3)、(150 \pm 2) mmHg, 血管内20-HETE含量明显增加, 同时ACE、AT1R蛋白水平均升高为对照组的2倍, 而三者经HET0016处理后, 含量均较前明显减少^[19]。

2.1.2 肾小管 20-HETE除了升压效应外, 在肾小管内则起降压作用。20-HETE通过抑制近端小管对Na⁺和水的重吸收, 在髓袢升支粗段 (ascending thick limb of Henle's loop, TALH) 抑制Na⁺-K⁺-ATP酶活性、Na⁺/H⁺交换体 (NHE3)、Na⁺-K⁺-2Cl⁻共转运体同种型2 (Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter isoform 2, NKCC2) 从而发挥降压的作用^[20]。其中, 20-HETE通过激活PKC的 α 亚单位磷酸化从而使Na⁺-K⁺-ATP酶活性受抑制导致Na⁺排出增加。而NKCC2位于TALH顶膜区域, 可将2个Cl⁻、1个Na⁺和1个K⁺同向转运到细胞内, 并且专司进入TALH的80%的Na⁺的转运, 因此其功能受抑制导致了尿Na⁺排出增加。研究表明, 正常盐浓度喂养的过表达CYP4F2的转基因小鼠体内NKCC2的mRNA水平显著降低, 同时肾脏的免疫荧光图像也显示NKCC2蛋白含量平行减少, 而这种现象可被HET0016逆转。具体机制可能是20-HETE促进NKCC2蛋白通过泛素-蛋白酶体途径降解^[21]。

2.2 EET

EET经CYP表氧化酶代谢途径产生, 可被可溶性表氧化水解酶水解为弱生物学活性的二羟基-20碳三烯酸。现有研究表明, EET是有力的扩血管物, 其作用同内皮超级化衍生因子, 通过活化冠状动脉、肾、脑血管的平滑肌细胞的Ca²⁺激活的K⁺通道, 使Ca²⁺内流增加、K⁺外流增加, 从而使细胞膜超极化而产生血管舒张作用, 介导血压降低^[22]。同时, CYP表氧化酶在肾中高度表达, 大量研究表明EET可抑制位于肾远曲小管和皮质集合管的上皮钠通道 (epithelial sodium channel, ENaC) 的活性, 使ENaC对Na⁺重吸收作用受到抑制继而降低血压。Pavlvo等^[23]向体外培养的皮质集合管细胞 (mpkCCD) 中输注150 nmol/L 11, 12-EET, 用配对细胞贴附膜片钳夹实验方法检测ENaC活性, 结果ENaC活性 (NP0) 在5 min内迅速从(2.14 \pm 0.85) 降到(0.56 \pm 0.33), 而事先应用CYP表氧化酶抑制剂MS-PPOH处理后, ENaC活性未改变。由于用EET长时间处理mpkCCD或在表达ENaC的仓鼠卵巢细胞中过表达CYP2C8基因能显著减少细胞膜上ENaC蛋白的表达, 考虑到EET抑制ENaC的作用机制涉及到减少细胞膜上ENaC蛋白的表达。此外, EET还可激活EGFR介导

的信号级联反应,促进MEK/ERK1/2介导的ENaC的 β 、 γ 亚单位苏氨酸磷酸化从而抑制通道活性^[24]。除了作用于ENaC, EET还抑制皮质集合管基底膜的主要K通道——18ps内向整流K通道,使细胞膜电位去极化,从而减弱顶膜上驱使Na⁺内流的动力。与之相反, EET却能激活皮质集合管顶膜中Ca²⁺活化的大电导K⁺通道。该通道的 α 亚单位存在1个插入了59个氨基酸的剪接异构体——选择性剪接压力调节外显子STREX, PKA可通过插入STREX来抑制K⁺通道,而STREX的去磷酸化可以使该通道被激活。11, 12-EET可激活蛋白磷酸酶2A介导STREX去磷酸化,开放K⁺通道使入球小动脉平滑肌细胞超极化而产生舒张血管^[25]。

3 展 望

鉴于参与AA代谢的CYP途径通过各种机制在高血压的发生发展中发挥着重要效应,因而编码CYP家族参与AA代谢的关键基因CYP及代谢通路中的下游小分子20-HETE、EET都有望成为治疗高血压的新靶点。例如, 17-ODYA、DDMS、DDBB、HET0016可以抑制20-HETE合成, 20-HETE拮抗剂6-,15-,20-HEDE、6-,15-,20-HEDGE具有抑制20-HETE的收缩血管作用, 20-HETE类似物5-,14-,20-HEDE、5-,14-,20-HEDGE, PPAR- α 激动剂(贝特类)以及通过基因治疗可以增加20-HETE在肾小管中的水平,从而发挥降压效应。此外,对CYP基因多态性与高血压的遗传学研究还仅仅局限于常见变异,对其在人群中的功能学研究也仅有少数报道。如何发现与高血压相关的CYP罕见变异并且解析这些功能性变异参与疾病发生的病理生理学机制,继而为治疗高血压提供新的思路仍是我们亟需解决的难题。

【参考文献】

- [1] Cheng J, Wu CC, Gotlinger KH, *et al.* 20-Hydroxy-5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic acid mediates endothelial dysfunction via Ikappa B kinase-dependent endothelial nitric-oxide synthase uncoupling[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 332(1): 57-65.
- [2] Holla VR, Adas F, Imig JD, *et al.* Alterations in the regulation of androgen-sensitive Cyp 4a monooxygenases cause hypertension[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(9): 5211-5216.
- [3] Liu X, Wu J, Liu H, *et al.* Disturbed ratio of renal 20-HETE/EETs is involved in androgen-induced hypertension in cytochrome P450 4F2 transgenic mice[J]. *Gene*, 2012, 505(2): 352-359.
- [4] Zhao X, Pollock DM, Zeldin DC, *et al.* Salt-sensitive hypertension after exposure to angiotensin is associated with inability to upregulate renal epoxygenases[J]. *Hypertension*, 2003, 42(4): 775-780.
- [5] Ward NC, Rivera J, Hodgson J, *et al.* Urinary 20-hydroxyeicosatetraenoic acid is associated with endothelial dysfunction in humans[J]. *Circulation*, 2004, 110(4): 438-443.
- [6] Yang X, Croft KD, Lee YP, *et al.* The effects of a lupin-enriched diet on oxidative stress and factors influencing vascular function in overweight subjects[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 13(10): 1517-1524.
- [7] Laffer CL, Laniado-Schwartzman M, Wang MH, *et al.* Differential regulation of natriuresis by 20-hydroxyeicosatetraenoic acid in human salt-sensitive versus salt-resistant hypertension[J]. *Circulation*, 2003, 107(4): 574-578.
- [8] Williams JS, Hopkins PN, Jeunemaitre X, *et al.* CYP4A11 T8590C polymorphism, salt-sensitive hypertension, and renal blood flow[J]. *J Hypertens*, 2011, 29(10): 1913-1918.
- [9] Laffer CL, Gainer JV, Waterman MR, *et al.* The T8590C polymorphism of CYP4A11 and 20-hydroxyeicosatetraenoic acid in essential hypertension[J]. *Hypertension*, 2008, 51(3): 767-772.
- [10] Ward NC, Tsai IJ, Barden A, *et al.* A single nucleotide polymorphism in the CYP4F2 but not CYP4A11 gene is associated with increased 20-HETE excretion and blood pressure[J]. *Hypertension*, 2008, 51(5): 1393-1398.
- [11] Zhang R, Lu J, Hu C, *et al.* A common polymorphism of CYP4A11 is associated with blood pressure in a Chinese population[J]. *Hypertens Res*, 2011, 34(5): 645-648.
- [12] Alghasham A, Ali A, Ismail H, *et al.* CYP2J2 -50 G/T and ADRB2 G46A gene polymorphisms in Saudi subjects with hypertension[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012, 16(9): 1027-1031.
- [13] Williams JM, Murphy S, Burke M, *et al.* 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid: a new target for the treatment of hypertension[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, 56(4): 336-344.
- [14] Inoue R, Jensen LJ, Jian Z, *et al.* Synergistic activation of vascular TRPC6 channel by receptor and mechanical stimulation via phospholipase C/diacylglycerol and phospholipase A2/omega-hydroxylase/20-HETE pathways[J]. *Circ Res*, 2009, 104(12): 1399-1409.
- [15] Bubb KJ, Wen H, Panayiotou CM, *et al.* Activation of neuronal transient receptor potential vanilloid 1 channel underlies 20-hydroxyeicosatetraenoic acid-induced

- vasoactivity: role for protein kinase A[J]. *Hypertension*, 2013, 62(2): 426-433.
- [16] Wu CC, Cheng J, Zhang FF, *et al.* Androgen-dependent hypertension is mediated by 20-hydroxy-5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic acid-induced vascular dysfunction: role of inhibitor of kappaB kinase[J]. *Hypertension*, 2011, 57(4): 788-794.
- [17] Han Y, Zhao H, Tang H, *et al.* 20-hydroxyeicosatetraenoic acid mediates isolated heart ischemia/reperfusion injury by increasing NADPH oxidase-derived reactive oxygen species production[J]. *Circ J*, 2013, 77(7): 1807-1816.
- [18] Toth P, Csiszar A, Sosnowska D, *et al.* Treatment with the cytochrome P450 omega-hydroxylase inhibitor HET0016 attenuates cerebrovascular inflammation, oxidative stress and improves vasomotor function in spontaneously hypertensive rats[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 168(8): 1878-1888.
- [19] Sodhi K, Wu CC, Cheng J, *et al.* CYP4A2-induced hypertension is 20-hydroxyeicosatetraenoic acid- and angiotensin II -dependent[J]. *Hypertension*, 2010, 56(5): 871-878.
- [20] Fernandez MM, Gonzalez D, Williams JM, *et al.* Inhibitors of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) formation attenuate the natriuretic effect of dopamine[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 686(1-3): 97-103.
- [21] Wu J, Liu X, Lai G, *et al.* Synergistical effect of 20-HETE and high salt on NKCC2 protein and blood pressure via ubiquitin-proteasome pathway[J]. *Hum Genet*, 2013, 132(2): 179-187.
- [22] Sporkova A, Kopkan L, Varcabova S, *et al.* Role of cytochrome P-450 metabolites in the regulation of renal function and blood pressure in 2-kidney 1-clip hypertensive rats[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300(6): R1468-R1475.
- [23] Pavlvo TS, Ilatovskaya DV, Levchenko V, *et al.* Effects of cytochrome P-450 metabolites of arachidonic acid on the epithelial sodium channel (ENaC)[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2011, 301(3): F672-F681.
- [24] Pidkovka N, Rao R, Mei S, *et al.* Epoxyeicosatrienoic acids (EETs) regulate epithelial sodium channel activity by extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2)-mediated phosphorylation[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(7): 5223-5231.
- [25] Imig JD. Epoxyeicosatrienoic acids, 20-hydroxyeicosatetraenoic acid, and renal microvascular function[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2013, 104-105: 2-7.

(编辑: 周宇红)