

醛糖还原酶在组织中的表达与意义及对护理研究的启迪¹⁾

Expression and significance of aldose reductase in tissues and its enlightenment for nursing research

罗羽, 邓洁, 王仙园, 杨云青

Luo Yu, Deng Jie, Wang Xianyuan, et al

(Nursing College of Third Military Medical University of PLA, Chongqing 400038 China)

关键词: 醛糖还原酶; 糖尿病; 非乙醇性脂肪肝; 发病机制; 护理干预; 护理研究

中图分类号: R47 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1009-6493.2013.32.002 文章编号: 1009-6493(2013)11B-3587-03

醛糖还原酶(aldose reductase, AR)属还原型辅酶 II 依赖的醛-酮还原酶家族,定位于细胞质,是机体葡萄糖代谢过程中多元醇通路的第一个作用酶和限速酶,在哺乳动物各组织器官中广泛分布,在人类的肾髓质中表达最高。AR 的异常激活和高表达在糖尿病(diabetes mellitus, DM)及并发症的发生发展中起重要作用已获证实。最近研究又进一步表明,即使正常生理情况下,在 AR 表达与活性都不高的部分组织中,某些生理或病理因素仍可极大上调 AR 的表达与活性,这充分说明 AR 在特定环境和场合下的重要作用;AR 还被发现可能参与渗透调节、糖脂代谢失衡、非乙醇性脂肪肝的形成,甚至与某些癌症的转移和耐药性产生都有密切关系^[1-3]。这些分子医学和分子生物学研究成果在极大开阔护理研究视野的同时也提供了拓展护理研究新空间的机会,值得护理同行关注。

1 AR 简介

1.1 AR 的结构 AR 的活性部位处于整个蛋白质的中心部位,是由 7 个芳香性氨基酸(Trp20、Tye48、Trp79、Trp111、Phe121、Phe122 和 Trp219)、4 个非极性氨基酸(Val147、Pro218、Leu300 和 Leu301)及 3 个极性氨基酸(Gln49、Cys298 和 His110)组成的一个椭圆形、疏水性三维口袋结构^[4]。其底物、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)、AR 抑制剂的结合和底物的催化过程均在该活性中心完成,其中 Cys298 影响着酶的催化活性和对抑制剂的敏感性^[5]。酶-NADP⁺复合体的解离是整个酶促反应的限速步骤。AR 的基因启动子区含有包括渗透应答元件(osmotic response element, ORE)、抗氧化应答元件(antioxidant response element, ARE)、固醇应答元件(sterol response element, SRE)、雌激素应答元件(estrogen response element, ERE)和异生物应答元件(xenobiotic response element, XRE)等多个应答元件,可分别受到包括渗透应激调控转录因子(osmotic response element binding protein, OREBP)、Nrf2 等多个转录因子的调控,AR 因而可以对渗透胁迫、氧化胁迫、异生物质、脂类和激素刺激做出应答。虽然 AR 在多元醇糖代谢支路中主要负责将葡萄糖还原为山梨醇,但葡萄糖并非 AR 的唯一底物,亲脂性醛酮类化合物、甾类激素、前列腺素及一些异生物质(xenobiotics)都可能是其底物^[6]。

1.2 AR 的作用机制 AR 作为多元醇通路的关键限速酶,能催化葡萄糖转变为山梨醇,而山梨醇在果糖还原酶的作用下转化为易通过细胞膜的果糖^[7]。在高糖状态下 AR 可被激活,使

葡萄糖经多元醇通路的比例增加^[8]。由于山梨醇极性较强,不易通过细胞膜,易造成在细胞内聚集,导致细胞内渗透压升高,最终使细胞膜结构和功能受损,细胞肿胀、变性、坏死^[9]。同时, NADPH 大量消耗,能竞争性地抑制另一同样以 NADPH 为辅酶的氧化亚氮合成酶的正常合成,由于氧化亚氮对维持血管内皮和神经组织的生理功能具有重要作用,因而 NADPH 的大量消耗会导致氧化亚氮合成数量急剧减少,最终损伤机体氧化还原系统和神经组织^[10,11];同时,AR 的活性增高导致的 NADPH 消耗增多,又能引起谷胱甘肽还原酶降低,谷胱甘肽水平明显下降,使细胞更易遭受自由基的损伤^[12]。

2 AR 的重要生理功能

AR 最早发现于精囊,广泛存在于人的脑、血管、晶状体、肺、骨骼肌、胃、脾、小肠、心脏等组织器官^[13]。其在体内分布广泛、结构可变性大、易受多种因素调控等特征均决定了 AR 在体内发挥着多种重要生理作用。①为精子运动提供能量, Hers 于 1956 年首次发现,AR 在精囊中能催化血液葡萄糖产生果糖,为精子提供能量^[14];②为细胞提供抗渗透性保护作用^[15];③具有解毒功能^[16];④参与甾体类激素及前列腺素的合成;⑤参与细胞代谢的调控。AR 可通过激活 cAMP/PKA/CREB 通路来调控葡萄糖转运体 3 的表达,对葡萄糖的摄取和炎症反应产生影响^[17]。AR 还被证实参与了肾小球纤维化过程,其可能的影响机制与 AR 高表达、TGF- β 1 上调、p38 等多条信号转导通路激活、转录因子激活,最终引起肾小球系膜细胞增殖和细胞外基质沉积有关^[18]。

3 AR 在组织中的表达与意义

3.1 AR 与 DM 并发症的发生与发展 Brownlee^[12]于 2001 年在《Nature》发表权威评论,将多元醇糖代谢支路列为介导 DM 并发症发生发展的最重要生化机制。该糖代谢支路由 AR 和山梨醇脱氢酶(sothitol dehydrogenase, SDH)共同组成,AR 是该代谢途径的限速酶。在正常生理条件下,AR 对葡萄糖的亲合力较低,细胞内的葡萄糖大部分被己糖激酶活化进入糖酵解-三核苷酸循环所消耗,仅约 5%的葡萄糖经由多元醇代谢支路代谢。但当葡萄糖浓度大幅增高时,糖酵解途径受柠檬酸和 ATP 的反馈抑制,多达 30%~50%的葡萄糖被导入多元醇糖代谢支路,使 AR 的代谢速率增加 2 倍~4 倍,而此时 SDH 的活性并未能成比例增加,致使体内山梨醇聚集,进入细胞内的肌醇减少, Na⁺/K⁺-ATP 酶活性下降;NADPH 及 NAD⁺大量消耗,糖脂

1) 为国家 973 项目,编号:2009CB9416010;国家自然科学基金项目,编号:30970649、31271239;福建省科研基金项目,编号:2010L0002;厦门大学细胞应激生物学国家重点实验室开放课题基金、细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室访问学者基金资助。

代谢稳态及细胞氧化还原稳态改变等^[6],促进了DM并发症的发生发展。

人类遗传学证据显示,携AR高表达等位基因的DM病人更易发生糖尿病肾病(DN)、DM性心血管病及视网膜病及外周神经病变等,相反,携带AR低表达等位基因的病人却极少发生上述并发症^[19]。动物实验也证实,AR在转基因小鼠中的过量表达与激活可分别引起或加重其心血管病变、肾脏病变^[20,21]。另有动物实验表明,AR缺失能改善或防止动物发生DM性视网膜病变、糖尿病外周神经病变及缺血性脑损伤^[22-24]。这些研究结果已清楚表明AR的过度激活与DM并发症发生发展之间的因果关系。

3.2 AR对机体代谢的影响 高糖状态下,有学者通过同位素实验证实,二酰甘油(diacylglycerol, DAG)的含量会通过重新合成的方式增加;此外,SDH造成的NADH/NAD⁺比例增加也能诱发磷酸二羟丙酮被还原成甘油三磷酸,为DAG的合成提供更多前体^[25],进而激活蛋白激酶-C(PKCs),启动有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK),磷酸化系列转录因子、调节基因的表达,最终促使细胞凋亡等^[26]。

AR异常激活能影响DM病人及动物的脂代谢平衡。血脂异常是糖尿病、肥胖、动脉粥样硬化等疾病的重要诱因,DM病人的血脂异常包括三酰甘油(TG)、脂肪酸(nonesterified fatty acids, NEFA)的升高、高密度脂蛋白与低密度脂蛋白及胆固醇比例失调。研究发现,DM病人血与尿中三梨醇和果糖含量均显著升高,这也正是多元醇糖代谢支路过度激活的表现。还有研究发现,DM病人单核细胞的AR活性与其TG水平呈正相关;而AR抑制剂(ARI)则能降低动物的TG水平^[27-29];Roglans等^[30]的研究发现,给大鼠喂饲大量果糖能阻碍肝脏中转录因子Stat3的转录活性,并影响代谢性受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR)PPAR α 的活性,引发脂代谢失衡。

3.3 AR与肝脏疾病的相关性 正常情况下肝脏AR表达较低^[31,32],但在不同情况下肝脏AR的表达呈动态变化状态^[33]。有研究发现,诱导AR在Long Evans Cinnamon小鼠肝脏中高表达能促进其肝炎和肝癌的发生发展^[34]。约29%肝癌病人存在AR过度表达,约54%存在与AR有相似酶活性的AR样基因的高表达,其氨基酸序列与AR有着高达70%的相似度。有研究显示,AR能诱发大鼠肝癌的发生,而AR活性较高的细胞对抗癌药物的抵抗作用更强^[35]。有人在用N-甲基-N-亚硝基脲诱导的小鼠肝癌中分离出一种AR样蛋白质,经免疫组化证实,这种蛋白在癌前病变及肝癌中高表达,但在肝癌旁正常组织中则无法检测到其表达,提示该AR样蛋白极可能是诱导肝癌形成的重要因子,与肝癌发生有极大关系^[36]。Zeindl-Eberhart等^[37,38]则比较了不同化学物质诱导产生的大鼠肝肿瘤的蛋白质图谱,通过质谱技术和免疫组化证实,在15例被检测的肝细胞癌(HCC)样品中,超过90%的病人醛糖脱氢酶样蛋白呈阳性。

3.4 AR在其他组织中的表达及意义 AR还被发现参与了神经衰退性疾病、卵巢畸形。此外,AR的催化活性在炎症疾病,如动脉粥样硬化、败血症、哮喘、葡萄膜炎和结肠癌的发生中扮演了重要角色,并且在结直肠癌、乳腺癌、子宫内膜癌和卵巢癌中高表达。而在所有最易发生DM并发症的组织中(如神经、视网膜、肾及血管等)AR的表达与活性都相当高^[39]。由此可以推

断,AR的角色肯定远不止传统所了解的仅在葡萄糖代谢过程中的某一步骤起到限速的局部作用,而极可能是影响机体病理生理状况下整个机体糖脂代谢、能量供应以及多条重要信号通路的关键因子,深入研究AR在不同病理生理条件下的作用机制对多学科而言均具有十分重要的理论和现实意义。

4 AR分子生物学机制的明确对护理研究的启迪

4.1 能为DM等代谢性疾病的新护理措施研发提供思路 随着人们生活质量的提高、生活方式的迅速转变,我国肥胖病人和DM病人不断增多,糖尿病专科护士和专科门诊在DM及并发症的防治中肩负着有效预防、科学干预等重要任务。糖尿病作为最受关注的社区重大慢性病之一,对DM及并发症的社区预防和社区护理、健康干预也越来越受到重视。但传统的护理技术和预防手段缺乏针对性和高效性,迫切需要进行护理新技术的研发,但现有的护理研究无论从研究手段还是研究思路都难以提供有效支撑。而随着分子医学界对AR在包括DM并发症、糖脂代谢失衡等在内的多种代谢性疾病分子病理机制研究的逐步深入,越来越多地明确了AR在这些代谢性疾病中的重要作用,而这些分子理论机制和研究结果除了为临床医学、药学开发针对性的治疗新药物提供依据外,同时也为正处于专业化发展进程中的护理学科和相对狭小的护理研究提供了更多创新性研究的新思路和新空间。研讨护理干预如何有效降低AR表达和活性,以及护理干预能否通过抑制AR活性以达到减轻脂肪肝、非乙醇性肝硬化、癌症耐药性及控制血清三酰甘油水平、体重等目的代谢专科护理的护理研究,能为更好地防治和护理相关疾病提供更有针对性的可靠理论依据。

4.2 能为护理研究提供有效的实验动物模型 分子医学研究的一些建模方法也可作为护理研究所借鉴,如根据与AR的相关研究发现,在Ay/a小鼠中,由于Agouti基因和一个位于该基因5'端的另一基因间存在大段基因缺失,使得Agouti信号蛋白出现异位过量表达,因而阻断了黑素皮质素受体(melanocortin receptors)介导的正常信号传导;研究又发现Ay等位基因(lethal yellow)是一种致死突变,其纯合子(Ay/Ay)在胚胎植入之前或稍后即死亡,只有杂合子(Ay/a)方可正常发育,而且由于皮毛呈黄色而易于基因型鉴定。鉴于黑素皮质素受体是能量代谢中重要的调控蛋白之一,因而数周后小鼠受基因调控开始出现多食表现,继而出现肥胖,并逐步显现葡萄糖耐受下降、胰岛素抵抗及肿瘤敏感等症状,可作为护理研究的动物模型。此外,直接破坏小鼠胰岛细胞,也可在短时间内直接制作出DM小鼠模型,而拥有DM遗传基因的db/db小鼠等特殊基因型的小鼠均可根据护理研究的需要而进行再设计,如与其他基因缺失或特异性基因表达的小鼠进行品系间杂交,由此而繁殖出拥有不同基因型的特殊品种小鼠,也可成为护理研究的理想实验动物。

4.3 能促使护理研究手段跃上更高层次 护理研究者可用这些特殊基因型动物为实验组、野生型动物为对照组,辅以护理干预措施开展相关研究,经过护理干预获得的标本可运用于细胞化学检测、免疫组织化学检测以及real time-PCR、Western Blot、Northern等现代分子生物学、分子医学研究手段,检测护理干预对目标组织和细胞造成的影响及分子机制,达到研发新护理措施和对常规护理措施的作用机制进行更深层次挖掘的目的。这样的科学设计和研究既能摆脱既往护理措施仅凭经验总结的落后状态,又能充分探索护理关怀和照护对病人健康产生

独特作用的理论依据,更符合当前国际护理界提出大力发展基因组护理学(genomic nursing)研究的大趋势,更好地促进我国护理学科国际化、现代化和专业化发展进程。

参考文献:

- [1] Alexiou P, Pegklidou K, Chatzopoulou M, *et al.* Aldose reductase enzyme and its implication to major health problems of the 21(st) century[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16: 734-752.
- [2] Tang WH, Kravtsov GM, Sauert M, *et al.* Polyol pathway impairs the function of SERCA and RyR in ischemic-reperfused rat hearts by increasing oxidative modifications of these proteins[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 49: 58-69.
- [3] Tammali R, Ramana KV, Srivastava SK. Aldose reductase regulates TNF-alpha-induced PGE2 production in human colon cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2007, 252: 299-306.
- [4] Fournier B, Bendeifel E, Guillot B, *et al.* Charge density and electrostatic interactions of fidarestat, an inhibitor of human aldose reductase[J]. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 10929-10941.
- [5] Tarle I, Borhani DW, Wilson DK, *et al.* Probing the active site of human aldose reductase. Site-directed mutagenesis of Asp-43, Tyr-48, Lys-77, and His-110[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268: 25687-25693.
- [6] Penning TM, Drury JE. Human aldo-keto reductases: Function, gene regulation, and single nucleotide polymorphisms[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 464: 241-250.
- [7] Hers HG. The mechanism of the transformation of glucose in fructose in the seminal vesicles[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1956, 22: 202-203.
- [8] Burg MB. Coordinate regulation of organic osmolytes in renal cells [J]. *Kidney Int*, 1996, 49: 1684-1685.
- [9] Srivastava SK, Ramana KV, Bhatnagar A. Role of aldose reductase and oxidative damage in diabetes and the consequent potential for therapeutic options[J]. *Endocr Rev*, 2005, 26: 380-392.
- [10] Reddy AB, Srivastava SK, Ramana KV. Aldose reductase inhibition prevents lipopolysaccharide-induced glucose uptake and glucose transporter 3 expression in RAW264.7 macrophages[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42: 1039-1045.
- [11] Zhang Y, Huang P, Jiang T, *et al.* Role of aldose reductase in TGF-beta1-induced fibronectin synthesis in human mesangial cells[J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37: 2735-2742.
- [12] Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications[J]. *Nature*, 2001, 414: 813-820.
- [13] 谷娟, 严谨, 吴卫华, 等. 醛糖还原酶的研究进展[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2010, 35(4): 395-400.
- [14] Gao L, Mann GE. Vascular NAD(P) Hoxidase activation in diabetes; A double-edged sword in bedox signaling[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 82(1): 9-20.
- [15] Yabe-Nishimura C. Aldose reductase in glucose toxicity: A potential target for the prevention of diabetes complications[J]. *Pharmacol Rev*, 1998, 50(1): 21-33.
- [16] Lee HS, Son SM, Kim YK, *et al.* NAD(P) hoxidase participates in the signaling events in high glucose-induced proliferation of vascular smooth muscle cells[J]. *Life Sci*, 2003, 72(24): 2719-2730.
- [17] 杨金奎. 糖尿病并发症发病机制新认识——2007年第43届欧洲糖尿病学会年会专题报告解读[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2008, 28(1): 18-21.
- [18] 薛丽, 杨红英, 番寿蕊, 等. 实验性糖尿病鼠脑组织神经病变与醛糖还原酶表达的相关性研究[J]. *实用糖尿病杂志*, 2011, 7(3): 22-24.
- [19] Oates PJ. Aldose reductase, still a compelling target for diabetic neuropathy[J]. *Curr Drug Targets*, 2008, 9: 14-36.
- [20] Vikramadithyan RK, Hu Y, Noh HL, *et al.* Human aldose reductase expression accelerates diabetic atherosclerosis in transgenic mice[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115: 2434-2443.
- [21] Yamaoka T, Nishimura C, Yamashita K, *et al.* Acute onset of diabetic pathological changes in transgenic mice with human aldose reductase cDNA[J]. *Diabetologia*, 1995, 38: 255-261.
- [22] Cheung AK, Fung MK, Lo AC, *et al.* Aldose reductase deficiency prevents diabetes-induced blood-retinal barrier breakdown, apoptosis, and glial reactivation in the retina of db/db mice[J]. *Diabetes*, 2005, 54: 3119-3125.
- [23] Ho S. Research funding key issue for ADA in 2006[J]. *Nephrol News Issues*, 2006, 20: 21.
- [24] Lo AC, Cheung AK, Hung VK, *et al.* Deletion of aldose reductase leads to protection against cerebral ischemic injury[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27: 1496-1509.
- [25] Ramana KV, Friedrich B, Tammali R, *et al.* Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerol in vascular smooth muscle cells [J]. *Diabetes*, 2005, 54: 818-829.
- [26] Ramana KV, Friedrich B, Srivastava S, *et al.* Activation of nuclear factor-kappa B by hyperglycemia in vascular smooth muscle cells is regulated by aldose reductase [J]. *Diabetes*, 2004, 53: 2910-2920.
- [27] Kawasaki T, Akanuma H, Yamanouchi T. Increased fructose concentrations in blood and urine in patients with diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2002, 25: 353-357.
- [28] Poli T, Lapolla A, Valerio A, *et al.* Plasma and red cell sorbitol assay in diabetic subjects[J]. *Acta Diabetol Lat*, 1985, 22: 17-23.
- [29] Yoshii H, Uchino H, Ohmura C, *et al.* Clinical usefulness of measuring urinary polyol excretion by gas-chromatography/mass-spectrometry in type 2 diabetes to assess polyol pathway activity[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2001, 51: 115-123.
- [30] Roglans N, Vila L, Farre M, *et al.* Impairment of hepatic stat-3 activation and reduction of PPAR alpha activity in fructose-fed rats[J]. *Hepatology*, 2007, 45: 778-788.
- [31] Markus HB, Raducha M. Tissue distribution of mammalian aldose reductase and related enzymes[J]. *Biochemical Medicine*, 1983, 29(1): 31-35.
- [32] Clements RS, Weaver JP, Winegrad AL. The distribution of polyol/NADP oxidoreductase in mammalian tissues[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1969, 37(2): 347-353.
- [33] Qiu Longxin, Lin Jianhui, Xu Fangui, *et al.* Inhibition of aldose reductase activates hepatic peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and ameliorates hepatosteatosis in diabetic db/dbMice [J]. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 1-8.
- [34] Takahashi M, Hoshi A, Fujii J, *et al.* Induction of aldose reductase gene expression in LEC rats during the development of the hereditary hepatitis and hepatoma[J]. *Japanese Journal of Cancer Research*, 1996, 87(4): 337-341.
- [35] Lee KWY, Ko BCB, Jiang Z, *et al.* Over expression of aldose reductase in liver cancers may contribute to drug resistance[J]. *Anti Cancer Drugs*, 2001, 12(2): 129-132.
- [36] Jungblut PR, Zimny AU, Zerndl EE, *et al.* Proteomics in human disease; Cancer, heart and infectious diseases[J]. *Electrophoresis*, 1999, 20: 2100-2110.
- [37] Zeindl-Eberhart E, Klugbauer S, Dimitrijevic N, *et al.* Proteome analysis of rat hepatomas: Carcinogen-dependent tumor-associated protein variants [J]. *Electrophoresis*, 2001, 22(14): 3009-3018.
- [38] Zeindl-Eberhart E, Haraida S, Liebmann S, *et al.* Detection and identification of tumor-associated protein variants in human hepatocellular carcinomas[J]. *Hepatology*, 2004, 39(2): 540-549.
- [39] Ramana KV, Srivastava SK. Aldose reductase: A novel therapeutic target for inflammatory pathologies[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(1): 17-20.

作者简介 罗羽, 教授, 博士研究生, 单位: 400038, 中国人民解放军第三军医大学护理学院; 邓洁、王仙园(通讯作者)单位: 400038, 中国人民解放军第三军医大学护理学院; 杨云青(通讯作者)单位: 361102, 厦门大学生命科学院细胞应激国家重点实验室。

(收稿日期: 2013-03-01; 修回日期: 2013-08-20)

(本文编辑 范秋霞)