

神经酰胺的功能及其在肺动脉高压中的作用

李发美, 余再新*

(中南大学湘雅医院 心血管内科, 湖南 长沙 410008)

摘要: 神经酰胺是一种鞘磷脂分子,作为细胞内第二信使,调控细胞增殖、分化、衰老和凋亡等生命活动。肺动脉高压是一类以肺小动脉重构和肺血管阻力增加为特征的疾病,神经酰胺通过介导肺血管重构、炎性反应过程和产生脂毒性参与肺动脉高压的发生、发展。了解神经酰胺的生物学功能及其参与肺动脉高压发生发展的具体机制,有助于给肺动脉高压的治疗提供新思路。

关键词: 神经酰胺;合成与代谢;生物学功能;肺动脉高压

中图分类号:Q545+.3;R543.2 文献标志码:A

Functions of ceramide and its role in pulmonary arterial hypertension

LI Fa-mei, YU Zai-xin*

(Department of Cardiovascular Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: Ceramide is a kind of sphingomyelin molecule, as a second messenger in cells, regulates cell proliferation, differentiation, senescence, apoptosis and other life activities. Pulmonary arterial hypertension is a disease characterized by pulmonary arterioles remodeling and increased increased vascular resistance. Ceramide is involved in the occurrence and development of pulmonary arterial hypertension by mediating pulmonary vascular remodeling, inflammatory response and lipotoxicity. Understanding the biological functions of ceramide and its mechanism involved in the development of pulmonary arterial hypertension may provide new idea for the treatment of pulmonary arterial hypertension.

Key words: ceramide; synthesis and metabolism; biological functions; pulmonary arterial hypertension

神经酰胺是一类高度疏水性物质,由鞘氨醇长链碱基和不同碳数的脂肪酸通过酰胺键组成。它是鞘磷脂信号途径的中心分子,是细胞内脂质第二信使,在细胞增殖、分化、衰老、迁移、凋亡和炎性反应等过程中发挥重要调节作用。肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)是临床上一类以肺小动脉重构和肺血管阻力增加为主要特征性疾病,最终导致右心衰竭,其致残率和致死率较高。

神经酰胺参与PAH的发生、发展,本文将对神经酰胺的结构、合成与代谢、生物学功能及其在PAH中的作用作一综述。

1 神经酰胺的结构

神经酰胺是长链鞘氨醇第二个碳原子的氨基和脂肪酸共价结合形成的大分子,其中鞘氨醇和脂肪酸的碳链长度、不饱和度和羟基数目都可以变化。鞘

收稿日期:2020-08-28 修回日期:2020-11-06

基金项目:国家自然科学基金(81873416)

*通信作者(corresponding author): yuzaixin@126.com

氨醇长链是神经酰胺的基本骨架,一般为含有不饱和和双键的神经鞘氨醇、含有饱和双键的二氢神经鞘氨醇和含有3个羟基的4-羟双氢神经鞘氨醇。脂肪酸碳链长度从14~32不等,大多数为饱和脂肪酸。

2 神经酰胺的合成与代谢

神经酰胺是鞘脂代谢的核心,其合成与代谢(图1)对细胞内稳态具有重要意义。

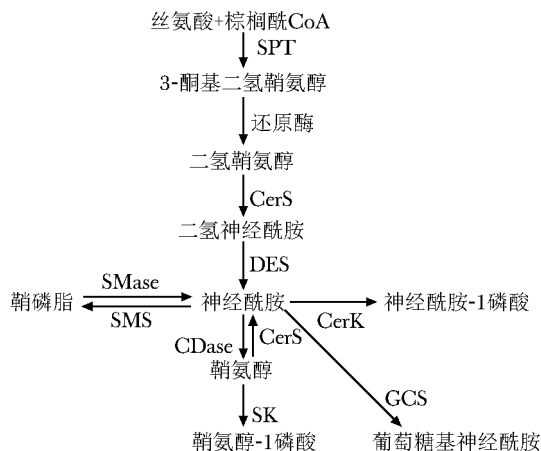


图1 神经酰胺的合成与代谢

Fig 1 Synthesis and metabolism of ceramide

2.1 神经酰胺的合成途径

神经酰胺可以通过4种途径合成,其中从头合成和鞘磷脂水解是主要途径。第一途径从头合成主要发生在内质网,丝氨酸和棕榈酰CoA在丝氨酸棕榈酰转移酶(serine palmitoyl transferase, SPT)的催化下缩合成3-酮基二氢神经鞘氨醇,后者在还原酶作用下生成二氢神经鞘氨醇,再由神经酰胺合成酶(ceramide synthases, CerS)酰化二氢神经鞘氨醇生成二氢神经酰胺,最后,二氢神经酰胺去饱和酶(dihydroceramide dehydrogenase, DES)在4~5反式位置引入双键将二氢神经酰胺转化为神经酰胺^[1]。CerS是关键调控酶,人体中有6种CerS,不同的CerS产生不同长度脂肪酸链的神经酰胺。神经酰胺合成后通过囊泡转运或神经酰胺转运蛋白(ceramide transfer protein, CERT)等载体蛋白输送到高尔基体^[2]。第二途径鞘磷脂水解途径,鞘磷脂酶水解质膜或溶酶体内的鞘磷脂产生神经酰胺。鞘磷脂酶(sphingomyelinases, SMase)是关键的调控酶,根据最适pH、是否依赖金属离子和亚细胞定位,可分为5种:酸性溶酶体

SMase(acid SMase, aSMase)、锌依赖性aSMase、中性镁依赖性SMase(neutral SMase, nSMase)、中性镁非依赖性SMase和碱性SMase。氧化应激、炎症反应和电离辐射等胞外信号能刺激鞘磷脂酶迅速产生神经酰胺。此外,神经酰胺还能通过补救途径和回收途径合成。补救途径是溶酶体或晚期内小体中的复杂鞘脂(如葡萄糖鞘脂)在葡萄糖苷酶和酸性神经酰胺酶的作用下降解为鞘氨醇,然后通过内质网的CerS生成神经酰胺。而回收途径中,神经酰胺酶对外源性短链神经酰胺进行去酰化产生鞘氨醇,再通过CerS合成神经酰胺^[3]。

2.2 神经酰胺的代谢

细胞内神经酰胺主要通过神经酰胺酶(ceramidase, CDase)降解。神经酰胺激酶(ceramide kinases, CerK)磷酸化神经酰胺生成的神经酰胺-1磷酸(ceramide-1-phosphate, C1P),经CDase催化生成鞘氨醇,随后在鞘氨醇激酶(sphingosine kinases, SK)的作用下生成鞘氨醇-1磷酸(sphingosine-1-phosphate, S1P)^[3]。神经酰胺还可以逆转为鞘磷脂,即神经酰胺和磷酸胆碱在鞘磷脂合成酶(sphingomyelin synthase, SMS)的作用下产生鞘磷脂。另外,从头合成的神经酰胺转运到高尔基体后,能被葡萄糖基神经酰胺合成酶(glucosylceramide synthase, GCS)转化成葡萄糖基神经酰胺(glucosylceramide, GlcCer)^[4]。

3 神经酰胺的生物学功能

神经酰胺作为脂质第二信使,调控细胞增殖、分化、凋亡和炎症反应等重要生命活动。

3.1 增殖

不同种类的神经酰胺通过不同的信号通路促进或抑制细胞增殖,如C16-神经酰胺促进肿瘤细胞增殖,C2-神经酰胺通过阻滞细胞周期抑制肿瘤细胞增殖^[5]。C2-神经酰胺通过阻滞T细胞周期抑制ConA或PMA+Ion刺激的T淋巴细胞增殖^[6]。此外,神经酰胺与血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)诱导的血管平滑肌细胞增殖反应有关。

3.2 分化

神经酰胺能促进多种类型细胞分化:1, 25-(OH)₂D₃刺激神经酰胺生成有助于诱导白血病

HL-60 细胞分化;神经酰胺水平增加促使全反式维甲酸诱导的人成神经细胞瘤 SH-SY5Y 细胞向神经细胞分化^[7]。这说明了神经酰胺在细胞分化中的调节作用。

3.3 凋亡

细胞凋亡指为维持内环境稳定,由基因调控的程序性细胞死亡。神经酰胺诱导多种细胞凋亡:神经酰胺诱导人白血病 HL-60 细胞凋亡;外源性 C8-神经酰胺通过调节超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, SOD1) 和超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, SOD2) 的比值增加内源性活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 促进人非小细胞肺癌 H1299 细胞凋亡^[8]。而且,在血管内皮细胞中,外源性 C16-神经酰胺通过诱导质膜重组激活 p38MAPK 通路,导致细胞凋亡^[9]。

尽管神经酰胺诱导大多数细胞凋亡,但也具有抑制细胞凋亡的作用。C2-神经酰胺和 SMase 能防止去除神经生长因子导致的交感神经元细胞凋亡。CerS6 生成的 C16-神经酰胺能保护头颈部鳞癌细胞免受内质网应激介导的凋亡^[10];CerS2 过度表达增加了 C24-神经酰胺的合成,阻止电离辐射诱导的 HeLa 细胞凋亡^[11]。

3.4 炎症反应

神经酰胺参与多种炎症反应。促炎细胞因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 刺激神经酰胺调节小胶质细胞中 NOD 样受体家族 3 (NOD-like receptor 3, NLRP3) 炎性小体组装^[12]。C2-神经酰胺通过干扰脂多糖和 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 相互作用抑制 TLR4 诱导的炎症反应^[13]。棕榈酸和脂多糖处理巨噬细胞后促进神经酰胺的合成,促进炎症因子 IL-1 β 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 释放,也说明了神经酰胺能调节炎症反应^[13]。

4 神经酰胺和肺动脉高压

PAH 是一类以肺小动脉重构和肺血管阻力增加为特征的进展性恶性肺血管疾病,最终导致右心衰竭而死亡。目前认为内皮功能紊乱、肺动脉平滑肌细胞增殖凋亡失衡、血管舒缩因子释放失调和免疫炎症反应是主要的发病机制。神经酰胺信号通路参与肺动脉高压的发生、发展。

PAH 患者神经酰胺水平升高,产生脂毒性,诱导细胞凋亡,最终导致右心衰竭。PAH 患者循环游离脂肪酸和长链酰基肉碱水平显著升高,并与脂肪酸在心肌中的积累有关^[14]。PAH 患者脂肪酸氧化能力降低导致脂质过度堆积,而神经酰胺作为鞘磷脂分子,在血浆和心脏组织中显著增高。右心组织过度堆积的神经酰胺产生脂毒性,诱导心肌细胞凋亡,最终导致右心衰竭。而且,PAH 患者脂肪酸转运体分子 CD36 摄取脂肪酸增加,脂肪酸氧化速率下降,使得神经酰胺、三酰甘油等脂毒性脂质增加,神经酰胺通过增加 Ca²⁺ 内流、中断线粒体网络和抑制线粒体 Ca²⁺ 缓冲能力激活钙蛋白酶而诱导细胞凋亡,导致右室功能障碍^[15, 16]。另外,遗传性 PAH 患者中骨形态发生蛋白受体 II (bone morphogenetic protein receptor type II, BMPR2) 突变导致脂肪酸氧化缺陷,神经酰胺合成增加和沉积,损害右室应激反应^[17]。

神经酰胺介导肺动脉平滑肌细胞增殖反应,在 PAH 肺血管重构中发挥作用。内质网——线粒体相关膜 (mitochondrial associated membranes, MAMs) 表达神经酰胺从头合成和鞘磷脂水解相关的酶,低氧时平滑肌 MAMs 界面鞘脂类代谢通路激活, Nogo-B 蛋白表达增加,参与神经酰胺、鞘氨醇和 S1P 代谢及内质网——线粒体钙转移,促进平滑肌细胞增殖,从而参与 PAH 血管重构。而抑制 Nogo-B 通路,能抑制低氧时平滑肌细胞增殖,进而改善血管重构。这为研究内质网——线粒体功能、神经酰胺和 PAH 的关系提供了新的方向。

神经酰胺通过参与肺血管内的炎症反应导致 PAH。大鼠和人急性肺损伤相关 PAH 模型中,肺动脉平滑肌细胞中 aSMase 激活生成神经酰胺和白介素-6,介导炎症反应,引起肺血管收缩和 PAH^[18],而应用 aSMase 抑制剂 D609 能抑制 PAH 发生。这表明神经酰胺通过参与炎症反应致 PAH,抑制 SMase-ceramide-IL-6 通路可能是治疗急性肺损伤相关 PAH 的有效途径。

另外,神经酰胺代谢物 S1P 及其上游酶 SK1 也参与 PAH 发生,SK1 参与低氧诱导的平滑肌细胞增殖及肺血管重构。低氧性 PAH 小鼠和患者重构的血管中,SK1 的 mRNA 和蛋白水平表达增加,生成的 S1P 也增多,而 SK1 缺乏或使用 SK1 抑制剂的小

鼠都表现为 PAH 得到改善^[19]。而且, S1P 呈剂量依赖性地促进平滑肌细胞增殖。另外, 在低氧性 PAH 小鼠中应用 SK1 抑制剂 PF-543 能减轻右室肥厚及心肌细胞凋亡, 这可能与其抑制 p53 表达和增强抗氧化核因子 2 表达有关^[20], 提示 SK1/S1P 轴很有可能成为治疗 PAH 或 PAH 性右心衰竭的新靶点。

5 问题与展望

神经酰胺作为脂质第二信使, 激活多条信号通路, 调控细胞增殖、分化、衰老和凋亡等过程, 通过介

导肺血管重构、炎症反应过程和产生脂毒性参与 PAH 的发生、发展。虽然对于神经酰胺在 PAH 中的作用得到越来越多的认识和研究, 但仍然存在许多不足, 目前的研究处于起始阶段, 仅限于初步探究神经酰胺与肺动脉高压的关系, 未进行上下游具体信号通路的深入研究, 进一步作出假设、开展实验以阐明神经酰胺信号途径参与 PAH 发生发展的具体作用机制, 有可能发现 PAH 中神经酰胺信号通路上的新靶点, 设计出新型药物, 给 PAH 的治疗提供新方法。

参考文献:

- [1] Garcia-gonzalez V, Diaz-villanueva JF, Galindo-herandez O, *et al.* Ceramide metabolism balance, a multifaceted factor in critical steps of breast cancer development[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 2527-2550.
- [2] Leonardini A, D'oria R, Incalza MA, *et al.* GLP-1 receptor activation inhibits palmitate-induced apoptosis via ceramide in human cardiac progenitor cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2017, 102: 4136-4147.
- [3] Miller LG, Young JA, Ray SK, *et al.* Sphingosine toxicity in EAE and MS: evidence for ceramide generation via serine-palmitoyltransferase activation [J]. *Neurochem Res*, 2017, 42: 2755-2768.
- [4] Hannun YA, Obeid LM. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19: 175-191.
- [5] Ahn EH, Yang H, Hsieh CY, *et al.* Evaluation of chemotherapeutic and cancer-protective properties of sphingosine and C2-ceramide in a human breast stem cell derived carcinogenesis model[J]. *Int J Oncol*, 2019, 54: 655-664.
- [6] 慕静静, 曾耀英, 黄秀艳, 等. C2-神经酰胺对小鼠 T 淋巴细胞体外活化和增殖的影响[J]. *暨南大学学报(医学版)*, 2009, 30: 133-138.
- [7] Karsai G, Kraft F, Haag N, *et al.* DEGS1-associated aberrant sphingolipid metabolism impairs nervous system function in humans [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129: 1229-1239.
- [8] Chang YC, Fong Y, Tsai EM, *et al.* Exogenous C(8)-ceramide induces apoptosis by overproduction of ROS and the switch of superoxide dismutases SOD1 to SOD2 in human lung cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3010-3022.
- [9] Niaudet I, Bonnau S, Guillon M, *et al.* Plasma membrane reorganization links acid sphingomyelinase/ceramide to p38 MAPK pathways in endothelial cells apoptosis[J]. *Cell Signal*, 2017, 33: 10-21.
- [10] Mignard V, Dubois N, Lanoé D, *et al.* Sphingolipid distribution at mitochondria-associated membranes (MAMs) upon induction of apoptosis[J]. *J Lipid Res*, 2020, 61: 1025-1037.
- [11] Ogretmen B. Sphingolipid metabolism in cancer signalling and therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18: 33-50.
- [12] Scheiblich H, Schlutter A, Golenbock DT, *et al.* Activation of the NLRP3 inflammasome in microglia: the role of ceramide[J]. *J Neurochem*, 2017, 143: 534-550.
- [13] Albeituni S, Stiban J. Roles of ceramides and other sphingolipids in immune cell function and inflammation [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1161: 169-191.
- [14] Brittain EL, Talati M, Fessel JP, *et al.* Fatty acid metabolic defects and right ventricular lipotoxicity in human pulmonary arterial hypertension [J]. *Circulation*, 2016, 133: 1936-1944.
- [15] Granzotto A, Bombà M, Castelli V, *et al.* Inhibition of de novo ceramide biosynthesis affects aging phenotype in an in vitro model of neuronal senescence[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11: 6336-6357.
- [16] Talati M, Hemnes A. Fatty acid metabolism in pulmonary

arterial hypertension: role in right ventricular dysfunction and hypertrophy[J]. *Pulm Circ*, 2015, 5: 269-278.

[17] Hemnes AR, Fessel JP, Chen X, *et al.* BMPR2 dysfunction impairs insulin signaling and glucose homeostasis in cardiomyocytes[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2020, 318: L429-L1441.

[18] Pandolfi R, Barreira B, Moreno E, *et al.* Role of acid sphingomyelinase and IL-6 as mediators of endotoxin-induced pulmonary vascular dysfunction[J]. *Thorax*, 2017, 72: 460-471.

[19] Andrieu G, Ledoux A, Branka S, *et al.* Sphingosine 1-phosphate signaling through its receptor SIP(5) promotes chromosome segregation and mitotic progression[J]. *Sci Signal*, 2017, 10:4007-4018.

[20] Macritchie N, Volpert G, Al washih M, *et al.* Effect of the sphingosine kinase 1 selective inhibitor, PF-543 on arterial and cardiac remodelling in a hypoxic model of pulmonary arterial hypertension[J]. *Cell Signal*, 2016, 28: 946-955.

