

G 蛋白偶联雌激素受体在心血管疾病中的作用

张 文 付 炜 张海波

【摘要】 流行病学研究发现雌激素可能在心血管系统中起保护作用,但绝经后的女性雌激素替代治疗的临床效果却不尽如人意。G 蛋白偶联雌激素受体(G protein-coupled estrogen receptor,GPER)是一种能介导快速非基因组效应的新型雌激素受体,体内外研究发现它能参与心室重构、血压调节、脂代谢和动脉粥样硬化的进程,有望成为心血管疾病预防与治疗的新靶点。

【关键词】 雌激素;G 蛋白偶联雌激素受体;心血管疾病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2016.02.010

流行病学研究发现,心血管疾病的发生与发展存在性别差异,例如女性在绝经前缺血性心脏病的发病时间显著晚于男性,但绝经后的发病率却显著上升,这提示雌激素可能在心血管疾病中发挥关键作用^[1]。针对绝经后女性雌激素替代治疗的临床试验已开展十余年,然而,对于这种疗法能否起到心血管保护作用的争议始终不断。近期一项荟萃分析表明,绝经后雌激素替代治疗在预防心血管事件发生方面几乎没有益处,反而会增加卒中和深静脉血栓的风险^[2]。这迫切需要进一步阐明雌激素在心血管系统中确切的作用机制。17 β -雌二醇(17 β -estradiol,E2)是雌激素中活性最强的成分,通常认为 E2 通过结合核内的雌激素受体(estrogen receptor,ER) α 或 β ,调控相关基因表达,被称为基因组效应。近年来发现 E2 的某些快速信号转导效应并非通过经典的 ER α 或 ER β 途径。G 蛋白偶联雌激素受体(G protein-coupled estrogen receptor,GPER)是一类可以介导快速非基因组效应的 ER,广泛存在于全身各组织中^[3]。通过利用 GPER 特异性激动剂或拮抗剂以及基因敲除模型,GPER 的功能被不断阐明。本文主要介绍心血管疾病中 GPER 的作用。

1 GPER 概述

1.1 结构与定位

GPER 是一种 7 次跨膜蛋白,在心肌细胞^[4]、心脏成纤维细胞^[5]、血管内皮细胞^[6]和血管平滑肌细

胞^[7]中均有表达,但对其确切的亚细胞定位仍有争议。早期研究认为 GPER 位于细胞膜上,但随后的研究表明对于大部分细胞来说,GPER 定位于细胞内的膜结构上,包括内质网和高尔基体。Cheng 等^[8]发现,GPER 可能通过网格蛋白介导的固有内吞过程,最终到达反面高尔基体,不会再回到细胞膜表面。在脐静脉内皮细胞与低分化乳腺癌细胞中则发现 GPER 定位于细胞核中^[9-10],这提示 GPER 的亚细胞定位具有细胞特异性,并受细胞状态的影响。

2.2 功能与效应

最初发现 GPER 的时候并没有找到其相对应的配体,就根据孤儿受体的命名原则将其称作 G 蛋白偶联受体 30(G protein-coupled receptor 30,GPR30)。E2 是 GPER 的内源性自然配体,亲和力为 3~6 nmol/L,是 E2 对 ER α 或 ER β 的亲力的 1/10 左右^[11]。一些选择性雌激素受体调节剂,如 4-羟他莫昔芬、雷洛昔芬、ICI182780,以及环境雌激素,如双酚 A、二氯二苯三氯乙烷(Dichlorodiphenyl-trichloroethane,DDT)、多氯联苯等,均能与 GPER 相互作用。随着 GPER 选择性激动剂 G1 与选择性拮抗剂 G15、G36 的发现,以及 GPER 基因敲除模型的建立^[12],GPER 的生物学功能不断被揭示。

GPER 的激活能够引起 Src 介导的基质金属蛋白酶活化,促使原本与肝素结合的表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)释放,与 EGF 受体(EGFR)结合后激活细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2)及其下游级联反应^[13]。相反的是,GPER 还能激活腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase,AC),减弱 ERK1/2 的活性,促进血管舒张^[14]。

作者单位:200127 上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心心胸外科

通信作者:张海波,Email: zhanghaibosh@126.com

GPER 也能通过转化激活 EGFR, 激活磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)途径, 活化内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)产生一氧化氮^[14-15]。此外, GPER 也能调控细胞周期相关蛋白如 cyclin A、cyclin D1 和 cyclin E 的表达, 促进或抑制不同种类细胞的增殖^[5, 16-17]。

2 GPER 在心血管疾病中的作用

2.1 心室重构

GPER 激活后能够促进缺血再灌注损伤心肌的功能恢复, 减少心肌梗死面积。E2 或 G1 能够抑制心肌细胞凋亡, 增加超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和三磷酸腺苷(ATP)酶的水平^[18], 减少促炎因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 和 IL-6 的产生^[19]。GPER 激活后, 通过丝裂原活化蛋白/细胞外信号调节激酶/糖原合成酶激酶-3 β (MEK/ERK/GSK-3 β)途径, 抑制线粒体通透转换孔(mPTP)的活性^[20]。GPER 也能抑制心脏成纤维细胞细胞周期蛋白 cyclin B1 和细胞周期蛋白依赖性激酶 1(cyclin-dependent kinase 1, CDK1)的表达, 抑制成纤维细胞增殖^[5], 进而减少纤维瘢痕形成, 并抑制因雌激素缺失所造成的心室重构与舒张功能减退^[21]。在卵巢切除的大鼠心肌梗死模型中, GPER 的激活能够联合膜雌激素受体 ER α 通过 PI3K/Akt/eNOS 途径降低心室肥厚的程度^[22]。

2.2 血压调节

绝经前后高血压发病率存在显著差异, 这提示雌激素水平可能与血压调节相关^[23]。GPER 在调节血管舒缩功能方面起重要作用。雄性大鼠及年老雌性大鼠肠系膜动脉中 GPER 的表达要比年轻雌性大鼠降低约 50%, 提示其可能受性别和年龄的双重影响^[24]。Feldman 等^[25]发现 GPER 基因在 P16L 位点的单核苷酸错义突变能降低 GPER 的功能, 携带此等位基因的女性患者的血压显著高于普通人群。利用选择性拮抗剂 G15 阻断 GPER 则能降低 eNOS 的生物活性, 增强内皮依赖的血管收缩效应^[15], 提示 GPER 能在生理状态下介导固有的血管舒张特性。GPER 也可通过激活 AC, 促进下游环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)介导的血管平滑肌细胞舒张^[14], 同时也能抑制由内皮素-1(endothelin-1, ET-1)介导的血管收

缩, 这可能与血管平滑肌对钙离子的敏感性降低有关^[26]。

2.3 脂代谢与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一种慢性、系统性的血管炎性反应, 与脂代谢紊乱相关。P16L 位点突变的人群中低密度脂蛋白水平增高, 提示 GPER 在调节脂代谢中起重要作用, 可能是通过下调前蛋白转化酶枯草溶菌素 9(proprotein convertase subtilisin kexin type 9, PCSK9)导致低密度脂蛋白受体的上调^[27]。在 GPER 基因敲除小鼠模型中发现类似现象, 基因敲除小鼠即使保留卵巢, 动脉粥样硬化的进程也比正常小鼠快, 总胆固醇和低密度脂蛋白水平升高, 高密度脂蛋白水平降低, 同时 eNOS 的生物活性也降低; 在卵巢切除后的小鼠中, 这一现象更为严重^[6, 28]。在 GPER 基因敲除的雄性小鼠中也可观察到总胆固醇与三酰甘油水平的升高^[29]。GPER 的激活能够通过抑制 ERK1/2 和 Akt 的磷酸化延缓细胞周期进程, 抑制冠状动脉平滑肌细胞的增生与迁移^[7]。激活内皮细胞中的 GPER 则能减弱 TNF- α 诱导的炎症因子表达上调, 减轻内皮炎症反应^[9]。

3 结语

尽管在雌激素替代治疗预防心血管事件的效果令人失望, 但是利用高选择性的 GPER 激动剂模拟 E2 的配体激动作用却证实了其对心血管系统的保护作用。GPER 的选择性激活未对生殖系统产生严重不良反应, 未来可以作为新药研发的靶点。上述研究都是在体外或动物模型上进行, 由于 GPER 分布于全身各个系统中, 其对人体的效果尚不得而知。GPER 确切的亚细胞定位以及信号转导途径也需进一步阐明。

参 考 文 献

- [1] Ostadal B, Ostadal P. Sex-based differences in cardiac ischaemic injury and protection: therapeutic implications[J]. Br J Pharmacol, 2014, 171(3):541-554.
- [2] Boardman HM, Hartley L, Eisinga A, et al. Hormone therapy for preventing cardiovascular disease in postmenopausal women[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015, 3:CD002229.
- [3] Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease [J]. Nat Rev Endocrinol, 2011, 7(12):715-726.
- [4] Recchia AG, De Francesco EM, Vivacqua A, et al. The G protein-coupled receptor 30 is up-regulated by hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) in breast cancer cells and cardiomyocytes[J]. J Biol Chem, 2011, 286(12):10773-10782.

- [5] Wang H, Zhao Z, Lin M, et al. Activation of GPR30 inhibits cardiac fibroblast proliferation[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 405(1-2):135-148.
- [6] Meyer MR, Fredette NC, Howard TA, et al. G protein-coupled estrogen receptor protects from atherosclerosis[J]. *Sci Rep*, 2014, 4:7564.
- [7] Li F, Yu X, Szykarski CK, et al. Activation of GPER induces differentiation and inhibition of coronary artery smooth muscle cell proliferation[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e64771.
- [8] Cheng SB, Quinn JA, Graeber CT, et al. Down-modulation of the G-protein-coupled estrogen receptor, GPER, from the cell surface occurs via a trans-Golgi-proteasome pathway[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(25):22441-22455.
- [9] Chakrabarti S, Davidge ST. G-protein coupled receptor 30 (GPR30): a novel regulator of endothelial inflammation[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12):e52357.
- [10] Samartzis EP, Noske A, Meisel A, et al. The G protein-coupled estrogen receptor (GPER) is expressed in two different subcellular localizations reflecting distinct tumor properties in breast cancer [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e83296.
- [11] Prossnitz ER, Arterburn JB. International union of basic and clinical pharmacology. XCIV. G protein-coupled estrogen receptor and its pharmacologic modulators[J]. *Pharmacol Rev*, 2015, 67(3):505-540.
- [12] Prossnitz ER, Hathaway HJ. What have we learned about GPER function in physiology and disease from knockout mice? [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2015, 153:114-126.
- [13] Filardo EJ, Quinn JA, Frackelton AR Jr, et al. Estrogen action via the G protein-coupled receptor, GPR30: stimulation of adenylyl cyclase and cAMP-mediated attenuation of the epidermal growth factor receptor-to-MAPK signaling axis[J]. *Mol Endocrinol*, 2002, 16(1):70-84.
- [14] Lindsey SH, Liu L, Chappell MC. Vasodilation by GPER in mesenteric arteries involves both endothelial nitric oxide and smooth muscle cAMP signaling[J]. *Steroids*, 2014, 81: 99-102.
- [15] Meyer MR, Amann K, Field AS, et al. Deletion of G protein-coupled estrogen receptor increases endothelial vasoconstriction[J]. *Hypertension*, 2012, 59(2):507-512.
- [16] Albanito L, Madeo A, Lappano R, et al. G protein-coupled receptor 30 (GPR30) mediates gene expression changes and growth response to 17beta-estradiol and selective GPR30 ligand G-1 in ovarian cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4):1859-1866.
- [17] Vivacqua A, Bonfiglio D, Albanito L, et al. 17beta-estradiol, genistein, and 4-hydroxytamoxifen induce the proliferation of thyroid cancer cells through the g protein-coupled receptor GPR30[J]. *Mol Pharmacol*, 2006, 70(4): 1414-1423.
- [18] Li WL, Xiang W, Ping Y. Activation of novel estrogen receptor GPER results in inhibition of cardiocyte apoptosis and cardioprotection [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 2425-2430.
- [19] Weil BR, Manukyan MC, Herrmann JL, et al. Signaling via GPR30 protects the myocardium from ischemia/reperfusion injury[J]. *Surgery*, 2010, 148(2):436-443.
- [20] Kabir ME, Singh H, Lu R, et al. G protein-coupled estrogen receptor 1 mediates acute estrogen-induced cardioprotection via MEK/ERK/GSK-3beta pathway after ischemia/reperfusion[J]. *PLoS One*, 2015, 10(9):e0135988.
- [21] Wang H, Jessup JA, Lin MS, et al. Activation of GPR30 attenuates diastolic dysfunction and left ventricle remodelling in oophorectomized mRen2. Lewis rats[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(1):96-104.
- [22] Lee TM, Lin SZ, Chang NC. Both GPER and membrane oestrogen receptor-alpha activation protect ventricular remodelling in 17beta oestradiol-treated ovariectomized infarcted rats[J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(12):2454-2465.
- [23] Maric-Bilkan C, Gilbert EL, Ryan MJ. Impact of ovarian function on cardiovascular health in women: focus on hypertension[J]. *Int J Womens Health*, 2014, 6:131-139.
- [24] Lindsey SH, da Silva AS, Silva MS, et al. Reduced vasorelaxation to estradiol and G-1 in aged female and adult male rats is associated with GPR30 downregulation[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2013, 305(1):E113-E118.
- [25] Feldman RD, Gros R, Ding Q, et al. A common hypofunctional genetic variant of GPER is associated with increased blood pressure in women[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2014, 78(6):1441-1452.
- [26] Meyer MR, Field AS, Kanagy NL, et al. GPER regulates endothelin-dependent vascular tone and intracellular calcium [J]. *Life Sci*, 2012, 91(13-14):623-627.
- [27] Hussain Y, Ding Q, Connelly PW, et al. G-protein estrogen receptor as a regulator of low-density lipoprotein cholesterol metabolism: cellular and population genetic studies [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(1):213-221.
- [28] Meoli L, Isensee J, Zazzu V, et al. Sex- and age-dependent effects of Gpr30 genetic deletion on the metabolic and cardiovascular profiles of diet-induced obese mice[J]. *Gene*, 2014, 540(2):210-216.
- [29] Sharma G, Hu C, Brigman JL, et al. GPER deficiency in male mice results in insulin resistance, dyslipidemia, and a proinflammatory state[J]. *Endocrinology*, 2013, 154(11): 4136-4145.

(收稿:2015-10-19 修回:2016-01-26)

(本文编辑:梁英超)