

## 可溶性环氧化物水解酶与心血管疾病

陈琛, 赵水平, 许丹焰

(中南大学湘雅二医院心内科, 长沙 410011)

**[摘要]** 可溶性环氧化物水解酶(soluble epoxide hydrolase, sEH)是哺乳动物体内广泛存在的一种酶。sEH通过水解环氧二十碳三烯酸(epoxyeicosatrienoic acids, EETs)发挥作用。近来研究发现sEH与高血压、终末器官损伤、心肌肥厚及缺血/再灌注损伤关系密切,极有可能成为一种预防和治疗心血管疾病的新靶点。

**[关键词]** 可溶性环氧化物水解酶; 环氧二十碳三烯酸; 心血管疾病

**[中图分类号]** R541 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2008)05-0443-04

## Soluble epoxide hydrolase and cardiovascular diseases

CHEN Chen, ZHAO Shui-ping, XU Dan-yan

(Department of Internal Cardiology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

**[Abstract]** Soluble epoxide hydrolase (sEH) which is widely distributed in mammalian tissues, hydrates epoxyeicosatrienoic acid (EETs) into their corresponding less effective substances. Since sEH is closely related to hypertension, end-organ damage, cardiac hypertrophy and ischemia/reperfusion injury, that it appears to be a promising target for the prevention and treatment of cardiovascular diseases.

**[Key words]** soluble epoxide hydrolase; epoxyeicosatrienoic acids; cardiovascular diseases  
[Int J Pathol Clin Med, 2008, 28(5):0443-04]

可溶性环氧化物水解酶(soluble epoxide hydrolase, sEH)最早于1973年由Gill等<sup>[1]</sup>在研究类似昆虫保幼激素萜类环氧化物的代谢时发现,因其主要位于细胞的可溶性成分如细胞质和过氧化物酶体中而命名<sup>[2-3]</sup>。

### 1 sEH的生物学特性

**1.1 sEH的分布** sEH在哺乳动物组织中广泛存在,在肝脏、肾脏、肠和血管中活性较高,而在睾丸、肺、脑和脾脏中活性则较低<sup>[4]</sup>。sEH在肝脏中呈散在分布,在其他组织中多为局灶性分布,如集中分布于肾皮质的微血管系统和肺的血管组织中。在许多组织中它与细胞色素P450 2C9共同集中分布。细胞色素P450 2C9是将花生四烯酸转化为环氧二十碳三烯酸(epoxyeicosatrienoic acids, EETs)的主要

亚型,而EETs主要经sEH降解,因此sEH和P450 2C9对维持不同组织中EETs的水平具有重要作用。

**1.2 sEH的结构** 哺乳动物sEH是由两个62 kD单体构成的同型二聚体,等电位点5~6。每个单体包含两个不同的结构区域,由富含脯氨酸的肽片段连接<sup>[5]</sup>。两个区域均具催化活性:C-末端区域,含有典型的 $\alpha/\beta$ -水解酶折叠结构,具有环氧化物水解酶的活性,与细菌卤代烷脱卤素酶、植物可溶性EHs及微粒体EHs具有同源性。N-末端区域具有脂质磷酸酶活性,但其具体生物学作用尚不清楚。人类的sEH已经被克隆并表达,其与小鼠的氨基酸序列极为相似。对各种有机体sEH基因转录序列的分析发现此酶具有高度保守性。

收稿日期:2008-07-17 修回日期:2008-08-21

作者简介:陈琛(1983-),女,山东滨州人,硕士研究生,主要从事冠心病方面的研究。

通讯作者:许丹焰, E-mail: xudanyan02@sina.com

基金项目:国家自然科学基金(30770856) This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (30770856)

## 2 sEH的多态性及其表达调节

**2.1 sEH的多态性** sEH由EPHX2编码,定位于染色体8p21-p12,全长约45 kb,包含19个27~265 bp的外显子,共编码555个氨基酸。人类EPHX2具有多态性,包括5'侧翼区的插入/缺失多态构象,36种单核苷酸构象已在日本人的EPHX2基因中得到证实。最近在社区动脉粥样硬化相关研究中发现EPHX2的遗传变异,尤其是K55R多种不同等位基因的出现,可能是白种人先天性心脏病临床事件发生的重要危险因素<sup>[6]</sup>。因此人类个体间sEH活性的高度差异可能是由sEH的多态性造成的。

**2.2 sEH表达的调节** 哺乳动物的sEH基因表达受多种因素调控,如吸烟可短时间内降低sEH的活性,且其活性的降低与吸烟的数量有关。白齿类动物过氧化物酶体增殖物活化受体 $\alpha$ (peroxisomal proliferator-activated receptor  $\alpha$ , PPAR $\alpha$ )的激活可上调sEH的表达。降固醇酸(一种可引起过氧化物酶体增殖的促使血清脂质减少的药物)可使小鼠肝脏中sEH mRNA水平升高8倍,同时其肾脏和心脏中sEH mRNA水平也有所提高<sup>[4]</sup>。给予含有过氧化物酶体增殖因子(如乙基己酸等)的食物,可提高小鼠肝脏中sEH的活性,与PPAR $\alpha$ 激动剂对sEH的诱导作用一致,试验性糖尿病和饥饿均可提高大鼠肝脏中sEH的活性,且给予胰岛素可恢复sEH的天然活性<sup>[7]</sup>。此外,sEH的调节还与糖异生(丙酮酸脱氢酶激酶)及脂质氧化(乙酰辅酶A合成酶)相关。

体内sEH水平亦受激素调节。小鼠sEH的活性具有雌雄异型性,且肾脏较肝脏中的差异更加显著。阉割可降低肝肾中sEH的活性,给予睾酮可使其恢复<sup>[8]</sup>。与此一致,在雄性大鼠阉割/睾酮补充给药法试验中发现雄激素可诱导sEH的基因转录;且sEH下降的同时伴有谷胱甘肽还原酶等氧化应激相关因子的生成<sup>[9]</sup>。给予雌性小鼠睾酮,其肾脏中sEH的活性较肝脏中有更加显著的提高,但对正常的雄性小鼠没有影响;此外,卵巢切除可使雌性小鼠肝脏和肾脏中sEH的活性均提高30%<sup>[8]</sup>。相反,给予雌二醇可降低雄性小鼠肝脏中sEH活性,但对正常雌性没有影响<sup>[10]</sup>。垂体摘除可提高雌性小鼠肝脏中sEH的活性,而在雄性sEH的活性却降低,推断这些效应可能与促性腺激素有关;与此推测一致的是给予生长激素对sEH的活性并无影响<sup>[11]</sup>,由此

说明组织中sEH的表达可能是受下丘脑-垂体-性腺轴调控的。

最近研究发现,血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)在体内外均有上调血管内皮sEH的作用。Ai等<sup>[12]</sup>用Ang II孵育人脐静脉内皮细胞和牛的主动脉内皮细胞,发现sEH的mRNA和蛋白的表达均增加,瞬时转染分析显示人内皮细胞上sEH启动子的活性增加。进一步分析sEH基因的启动子区域发现给予Ang II,与c-Jun/c-Fos的过表达相似,通过结合转录活化蛋白-1(activator protein-1, AP-1)活化sEH的启动子。自发性高血压大鼠及经Ang II灌注的Wistar大鼠主动脉内膜中sEH的水平均有提高。用氯沙坦阻断Ang II与Ang II受体1的结合可消除其对sEH的诱导作用。因此,Ang II通过激活内皮细胞上的AP-1从而上调sEH转录可能是促成Ang II诱导的高血压形成的原因。

## 3 sEH与心血管疾病

**3.1 sEH与高血压** EETs是一类具有强大生物活性的内生性脂质环氧化物,主要由细胞内花生四烯酸经细胞色素P450环氧化酶催化产生<sup>[13]</sup>,其4种同分异构体分别为5,6-,8,9-,11,12-和14,15-EET。5,6-EET性质不稳定;8,9-,11,12-,14,15-EET性质稳定,是较好的酶作用物。EETs在细胞内半衰期较短,主要经sEH迅速催化降解为相应的生物活性较弱的物质<sup>[14]</sup>,且其转化具有区域选择性。因此使用sEH抑制剂被认为是增加EETs在细胞内浓度和效用的有效途径<sup>[15-16]</sup>。

EETs是内皮衍生的超级化因子的主要成分,具有调节离子转运和基因表达、扩张血管、抗炎及促纤溶等作用。EETs在血管、肾脏和心脏水平调节血压<sup>[17]</sup>。磷脂酶活化后储存在磷脂中的EETs释放出来。EETs激活钙活化的钾通道( $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels, BK通路)后,经Gas蛋白与膜受体相耦联产生扩血管和降压作用,故抑制sEH可能是治疗高血压的一种新的有效方法。在自发性高血压大鼠、Ang II型高血压大鼠及醋酸脱氧皮质酮-盐[deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt]高血压大鼠模型中应用药物抑制sEH,均可降低大鼠的血压<sup>[18-20]</sup>。sEH基因敲除小鼠血压的显著降低<sup>[21]</sup>,进一步支持sEH在血压调节中的作用及抑制sEH可作为一种潜在的新的治疗高血压的方式。应用sEH抑制剂(soluble epoxide hydrolase inhibitor, sEHI)降低血压的机

制可能包括以下三个方面:第一,EETs扩张肾脏血管。高血压时肾脏微血管对Ang II反应性提高,给予11,12-EET的类似物后可使其降低,推测增加内源性EET也会有类似的效应。给予sEH抑制剂可减少EETs的水解,维持较高水平的内源性EETs,从而减少肾脏血管的收缩,降低肾素-Ang II-醛固酮相关的高血压的发生。第二,抑制sEH可增加EET与磷脂的结合,当细胞受到刺激时可使更多的EET得到动员,EET释放的增加使血管扩张成为可能。第三,当sEH受到抑制时,增加的EET通过 $\beta$ -氧化转变为短链的环氧脂肪酸。短链环氧脂肪酸在细胞液中蓄积,引起有效的血管扩张。

**3.2 sEH与终末器官损伤** 抑制sEH对心血管疾病相关的终末器官损伤具有保护作用。长期给予sEHI降低Ang II型高血压对肾血管和肾小球的损伤<sup>[22-23]</sup>。此外,sEHI的肾脏保护作用可能不依赖于血压的降低,而与sEHI的抗炎作用有关。应用白齿类动物模型,研究者发现sEHI治疗炎症性疾病有效<sup>[24-26]</sup>。对应用脂多糖引起全身炎症反应的小鼠予sEHI治疗,降低了氧化亚氮、细胞因子和促炎症反应脂质介质的生成并显著提高了小鼠的存活率。

**3.3 sEH与心肌肥厚** Xu等<sup>[27]</sup>发现sEHI通过阻断核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B)的激活起到预防和逆转心肌肥厚的作用。使用sEHI可提高EETs的生物活性,是治疗心肌肥厚的一种新的方法,且它可有效预防心肌肥厚相关的心率失常的发生。

**3.4 sEH与缺血/再灌注损伤** 在小鼠离体心脏,Seubert等<sup>[28]</sup>发现与野生型小鼠相比,sEH基因敲除小鼠心肌保护性EETs的利用率增加,缺血/再灌注损伤后的心肌功能提高,心肌梗死的形成减少。但最近Hutchens等<sup>[29]</sup>研究发现,sEH基因敲除(sEH knockout, sEHKO)小鼠和C57BL/6野生型(wild-type, WT)小鼠心跳停止(cardiac arrest, CA)10 min后给予心肺复苏(cardiopulmonary resuscitation, CPR),结果显示WT小鼠的存活率在CA/CPR( $n=15$ )后10 min和24 h时分别为93%和80%,而sEHKO小鼠的存活率远远低于WT小鼠,其在10 min时为56%( $n=15$ ,与WT相比, $P=0.014$ ),24 h时为0(与WT相比, $P<0.0001$ )。由于sEHKO小鼠的死亡率是100%,该实验组未能对其周围组织做进一步的组织学分析以明确sEH基因缺失是否具有缺血/再灌注保护作用。因该实验所用模型是

全身缺血模型,sEHKO小鼠多器官受累,故很难确定其主要死因,但推测可能是由于其体内EETs大量增加使血管过度扩张而致坍塌,使血压无法恢复;或是因为其血管对包括肾上腺素在内的外源性血管收缩剂升压作用的抵抗性;还可能与EETs尚未被认知的作用有关。例如,抑制sEH已证实可增加肺循环血管阻力<sup>[30]</sup>,如果发生在CA后的sEHKO小鼠,可能会导致肺动脉高压和右心室衰竭,并且可能会妨碍复苏。由此可知sEH在心血管系统的调节中具有重要作用,sEH基因缺失虽然对离体心肌的缺血损伤具有保护作用,但是在活体内降低sEH水平或其功能可能会导致严重的后果。

#### 4 前景与存在的问题

sEH是近年在心血管领域中兴起研究的热点,对sEH的研究具有广阔的生物前景。虽然人类和鼠类sEH的氨基酸序列极为相似,但是它们活化位点结构的差异还是会其引起性质的差别,因此应用鼠类的sEH作为模型研究人类的sEH具有局限性。此外,目前对sEH在体内的作用机制还不十分清楚,而且对抑制sEH后可能产生的不良反应也缺乏认识,因此对sEH的全面认识还有待于进一步的研究。

#### 参 考 文 献

- [1] Gill SS, Hammock BD, Casida JE. Mammalian metabolism and environmental degradation of the juvenoid 1-(4-ethylphenoxy)-3,7-dimethyl-6,7-epoxy-trans-2-octene and related compounds[J]. J Agric Food Chem, 1974, 22(3):386-395.
- [2] Gill SS, Hammock BD. Distribution and properties of a mammalian soluble epoxide hydrolase[J]. Biochem Pharmacol, 1980, 29(3):389-395.
- [3] Arand M, Knehr M, Thomas H, et al. An impaired peroxisomal targeting sequence leading to an unusual bicompartamental distribution of cytosolic epoxide hydrolase[J]. FEBS Lett, 1991, 294(1-2):19-22.
- [4] Yu Z, Xu F, Huse LM, et al. Soluble epoxide hydrolase regulates hydrolysis of vasoactive epoxyeicosatrienoic acids[J]. Circ Res, 2000, 87(11):992-998.
- [5] Beetham JK, Grant D, Arand M, et al. Gene evolution of epoxide hydrolases and recommended nomenclature[J]. DNA Cell Biol, 1995, 14(1):61-71.
- [6] Lee CR, North KE, Bray MS, et al. Genetic variation in soluble epoxide hydrolase (EPHX2) and risk of coronary heart disease: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study[J]. Hum Mol Genet, 2006, 15(10):1640-1649.
- [7] Thomas H, Schladt L, Knehr M, et al. Effect of diabetes and star-

- vation on the activity of rat liver epoxide hydrolases, glutathione S-transferases and peroxisomal beta-oxidation[J]. *Biochem Pharmacol*, 1989,38(23):4291-4297.
- [8] Pinot F, Grant DF, Spearow JL, et al. Differential regulation of soluble epoxide hydrolase by clofibrate and sexual hormones in the liver and kidneys of mice[J]. *Biochem Pharmacol*, 1995,50(4):501-508.
- [9] Pang ST, Dillner K, Wu X, et al. Gene expression profiling of androgen deficiency predicts a pathway of prostate apoptosis that involves genes related to oxidative stress[J]. *Endocrinology*, 2002,143(12):4897-4906.
- [10] Inoue N, Yamada K, Imai K, et al. Sex hormone-related control of hepatic epoxide hydrolase activities in mice[J]. *Biol Pharm Bull*, 1993,16(10):1004-1007.
- [11] Inoue N, Fujiwara K, Iwata T, et al. Involvement of pituitary hormone in the sex-related regulation of hepatic epoxide hydrolase activity in mice[J]. *Biol Pharm Bull*, 1995,18(4):536-539.
- [12] Ai D, Fu Y, Guo D, et al. Angiotensin II up-regulates soluble epoxide hydrolase in Vascular endothelium in vitro and in vivo[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007,104(21):9018-9023.
- [13] Roman RJ. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function[J]. *Physiol Rev*, 2002,82(1):131-85.
- [14] Morisseau C, Hammock BD. Epoxide hydrolases: mechanisms, inhibitor design, and biological roles[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2005,45:311-333.
- [15] Spector AA, Norris AW. Action of epoxyeicosatrienoic acids on cellular function[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007,292(3):C996-C1012.
- [16] Inceoglu B, Schmelzer KR, Morisseau C, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibition reveals novel biological functions of epoxyeicosatrienoic acids (EETs) [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2007,82(1-4):42-49.
- [17] Fleming I. Cytochrome p450 and vascular homeostasis[J]. *Circ Res*, 2001,89(9):753-762.
- [18] Ghosh S, Chiang PC, Wahlstrom JL, et al. Oral delivery of 1,3-dicyclohexylurea nanosuspension enhances exposure and lowers blood pressure in hypertensive rats[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008,102(5):453-458.
- [19] Imig JD, Zhao X, Capdevila JH, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibition lowers arterial blood pressure in angiotensin II hypertension[J]. *Hypertension*, 2002,39(2 pt2):690-694.
- [20] Loch D, Hoey A, Morisseau C, et al. Prevention of hypertension in DOCA-Salt rats by an inhibitor of soluble epoxide hydrolase [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2007,47(1):87-98.
- [21] Sinal CJ, Miyata M, Tohkin M, et al. Targeted disruption of soluble epoxide hydrolase reveals a role in blood pressure regulation[J]. *J Biol Chem*, 2000,275(51):40504-40510.
- [22] Zhao X, Yamamoto T, Newman JW, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibition protects the kidney from hypertension-induced damage [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004,15(5):1244-1253.
- [23] Imig JD, Zhao X, Zaharis CZ, et al. An orally active epoxide hydrolase inhibitor lowers blood pressure and provides renal protection in salt-sensitive hypertension[J]. *Hypertension*, 2005,46(4):975-981.
- [24] Inceoglu B, Jinks SL, Schmelzer KR, et al. Inhibition of soluble epoxide hydrolase reduces LPS-induced thermal hyperalgesia and mechanical allodynia in a rat model of inflammatory pain[J]. *Life Sci*, 2006,79(24):2311-2319.
- [25] Inceoglu B, Schmelzer KR, Morisseau C, et al. Soluble epoxide hydrolase inhibition reveals novel biological functions of epoxyeicosatrienoic acids (EETs) [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2007,82(1-4):42-49.
- [26] Schmelzer KR, Kubala L, Newman JW, et al. Soluble epoxide hydrolase is a therapeutic target for acute inflammation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005,102(28):9772-9777.
- [27] Xu D, Li N, Timofeyev V, et al. Prevention and reversal of cardiac hypertrophy by soluble epoxide hydrolase inhibitors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006,103(49):18733-18738.
- [28] Seubert JM, Sinal CJ, Graves J, et al. Role of soluble epoxide hydrolase in postischemic recovery of heart contractile function [J]. *Circ Res*, 2006,99(4):442-450.
- [29] Hutchens MP, Nakano T, Dunlap J, et al. Soluble epoxide hydrolase gene deletion reduces survival after cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation[J]. *Resuscitation*, 2008,76(1):89-94.
- [30] Pokreisz P, Fleming I, Kiss L, et al. Cytochrome P450 epoxygenase gene function in hypoxic pulmonary vasoconstriction and pulmonary vascular remodeling[J]. *Hypertension*, 2006,47(4):762-770.