

分类号_____

密级_____

U D C _____

编号_____

厦 门 大 学

博 士 后 研 究 工 作 报 告

葛根素对血管内皮细胞损伤的保护作用及其机制研究

韩 鹏

工作完成日期： 2012 年 2 月

报告提交日期： 2013 年 5 月

厦门大学

2013 年 5 月

葛根素对血管内皮细胞损伤的保护作用及其机制研究

The Protective Effect and Mechanism of Puerarin on Vascular Endothelial Cells Injury

博 士 后 姓 名 韩 鹏
流动站（一级学科）名称 生物学
专 业（二级学科）名称 生物化学与分子生物学

研究工作起始时间 2009 年 8 月
研究工作期满时间 2013 年 5 月

厦门大学

2013 年 5 月

厦门大学博士后研究工作报告著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用博士后研究工作报告的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交该报告的纸质版和电子版，有权将该报告用于非赢利目的的少量复制并允许该报告进入学校图书馆被查阅，有权将该报告的内容编入有关数据库进行检索，有权将博士后研究工作报告的标题和摘要汇编出版。保密的博士后研究工作报告在解密后适用本规定。

本研究报告属于： 1、保密（ ）， 2、不保密（ ）

纸本在 年解密后适用本授权书；

电子版在 年解密后适用本授权书。

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名： 日期： 年 月 日

导师签名： 日期： 年 月 日

摘要

葛根素是从传统中药葛根中提取的一种异黄酮,具有抗炎、抗动脉粥样硬化、抗氧化、降血糖、降血压、降血脂等多种药理活性,广泛用于糖尿病及心血管病的预防和治疗。表观遗传学相关的组蛋白甲基化作为基因表达的调控者,直接参与了糖尿病血管内皮细胞炎性损伤的过程,成为糖尿病血管病发生的一个基本的机制和防治的新途径。

本文采用高糖体外培养人血管内皮细胞模拟糖尿病时血管内皮细胞所处的高血糖环境,加入葛根素进行干预,利用 RT-PCR 技术检测细胞中与血管功能和血管炎症相关基因的表达,进一步采用染色质免疫沉淀技术检测细胞中内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 和单核细胞趋化蛋白 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 基因启动子区的组蛋白甲基化。

结果表明,高糖导致血管内皮细胞中 eNOS 和 MCP-1 基因表达的增加与启动子区域的 H3K4me2 和 H3K4me3 甲基化增强以及与 H3K9me1 甲基化减弱有关。葛根素能够逆转高糖导致的 eNOS 和 MCP-1 基因启动子区 H3K4me2 和 H3K4me3 甲基化改变但不能逆转 H3K9me1 甲基化的改变。此外还发现,葛根素对高糖导致的 eNOS 和 MCP-1 基因启动子区的 H3K4me2 和 H3K4me3 甲基化水平的逆转与组蛋白甲基转移酶 SET7/9、MLL 和 menin 以及组蛋白去甲基化酶 LSD1 有关。

糖尿病常伴有慢性炎症,炎症导致血管内皮损伤也是糖尿病血管并发症发生和发展的一个重要原因。本文采用炎症因子 $\text{TNF}\alpha$ 作用于体外培养的人血管内皮细胞模拟糖尿病血管病发生时血管内皮细胞所处的炎症环境,并加入葛根素进行干预,采用 ELISA 和 RT-PCR 方法检测 MCP-1 蛋白的分泌和基因的表达,采用促分裂素原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 和核转录因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB) 信号通路抑制剂寻找葛根素可能参与调控的信号通路,利用 Western blot 方法检测葛根素改善 $\text{TNF}\alpha$ 诱导的血管内皮细胞 MCP-1 表达的信号调节机制。

结果表明,葛根素抑制了 $\text{TNF}\alpha$ 诱导的血管内皮细胞 MCP-1 蛋白的分泌和 mRNA 的表达,进一步研究发现葛根素对 MCP-1 表达的抑制与其对 MAPK 和 NF- κB 信号通路的抑制有关。

以上研究结果表明：葛根素能够保护血管内皮细胞免受高糖所引起的损伤，其机制与葛根素对基因启动子区组蛋白甲基化的影响有关；葛根素还能保护血管内皮细胞免受 $\text{TNF}\alpha$ 刺激所引起的损伤，其机制与葛根素对 MAPK 和 NF- κ B 信号通路的调节有关。这些结果为葛根素应用在糖尿病相关血管病的预防和治疗中提供了基础理论依据。

关键词：葛根素，血管内皮细胞，炎症，表观遗传学，信号调节机制

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Puerarin is an isoflavone extracted from traditional Chinese medicine in *Pueraria lobata*, it has many pharmacological activities including anti-inflammatory, anti-atherosclerosis, antioxidant. It is widely used in the treatment of diabetes mellitus and cardiovascular disorders. Histone methylation, one of epigenetic mechanisms, regulates gene expression directly, participate the process of inflammatory injury in diabetic vascular endothelium. Histone methylation acted as a basic mechanism and a new prevention and treatment approach on diabetic vascular disease.

In this study, RT-PCR method was used to evaluate the effect of puerarin on vascular function and inflammatory gene expression in human vascular endothelial cells stimulated by high glucose. ChIP method was used to evaluate the epigenetic mechanism underlying the anti-inflammatory activities of puerarin.

The results show that the increase expression of eNOS and MCP-1 genes in vascular endothelial cells induced by high glucose is closely related to the increase of H3K4me2 and H3K4me3 and the decrease of H3K9me1. Puerarin could reverse H3K4me2 and H3K4me3 but not H3K9me1 on the promoter region of eNOS and MCP-1 gene. In addition, we found that the reverse effect of puerarin on histone methylation is related to the recruitment of histone methyltransferases (SET7/9, MLL, menin) and histone demethylase (LSD1) in the promoter region of eNOS and MCP-1 gene.

Diabetes is often accompanied by chronic inflammation, inflammation is an important cause of vascular endothelium injury. In this study, we also use the pro-inflammatory factor TNF α stimulated cultured human vascular endothelial cells to mimic the diabetic vascular complications inflammatory state, and study the effect of puerarin. ELISA and RT-PCR methods was used to detect MCP-1 protein secretion and gene expression, the inhibitor of MAPK and NF- κ B signal pathway was used to evaluated the possible pathway that puerarin participated. Western blot method was used to detect the signal regulation mechanism of puerarin on TNF α -incuded MCP-1 expression in vascular endothelial cells.

The results show that, puerarin inhibited the protein secretion and mRNA expression of MCP-1. Furthermore, we found that it is related to the inhibitory effect of puerarin on MAPK and NF- κ B signal pathway.

Puerarin could protect vascular endothelial cells injury induced by high glucose via histone methylation mechanism; It also could protect endothelial cells injury induced by TNF α via MAPK and NF- κ B pathway. All these results provide basic theory for puerarin in the prevention and treatment of diabetes related vascular disorders.

Keywords: puerarin, vascular endothelial cells, inflammation, epigenetics, signal pathway mechanism

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目 录

第一章 前言	1
1.1 糖尿病血管并发症	1
1.2 糖尿病血管并发症的发病机制	1
1.2.1 血管内皮功能和内皮功能障碍	1
1.2.2 糖尿病内皮功能障碍及其机制	4
1.2.2.1 高血糖与糖尿病血管并发症	4
1.2.2.2 炎症与糖尿病血管并发症	9
1.3 糖尿病血管并发症的表观遗传学机制	10
1.3.1 高糖记忆与糖尿病血管并发症	10
1.3.2 表观遗传学的概念	11
1.3.3 表观遗传修饰对基因表达的调控	12
1.3.4 糖尿病血管并发症的表观遗传学机制	16
1.4 葛根素抗糖尿病的机制	20
1.5 研究目的、思路、意义	21
第二章 材料和方法	21
2.1 实验材料及试剂	21
2.2 实验仪器	21
2.3 试剂的配置	21
2.4 实验方法	23
2.4.1 细胞培养	23
2.4.2 实时荧光定量 PCR(Real time PCR)	23
2.4.3 染色质免疫沉淀(ChIP)	24
2.4.4 ELISA	24
2.4.5 Western blot	24
第三章 结果	26
第一部分 葛根素对高糖导致血管内皮细胞损伤的保护作用及其机制研究	
3.1 高糖对血管内皮细胞中血管功能及血管炎症相关基因表达的影响	26
3.1.1 高糖对血管内皮细胞功能相关基因表达的影响	26

3.1.2 高糖对血管内皮细胞炎症相关基因表达的影响.....	28
3.2 葛根素对高糖所致血管内皮细胞中血管功能及炎症相关基因表达改变的影响.....	32
3.2.1 葛根素对高糖所致血管内皮细胞功能相关基因表达改变的影响.....	32
3.2.2 葛根素对高糖所致血管内皮细胞炎症相关基因表达改变的影响.....	36
3.3 高糖对 eNOS 和 MCP-1 基因启动子区组蛋白甲基化的影响及葛根素的干预作用.....	40
3.3.1 eNOS 启动子区 H3K4 和 H3K9 甲基化的改变.....	40
3.3.2 MCP-1 启动子区 H3K4 和 H3K9 甲基化的改变.....	41
3.4 高糖对 eNOS 和 MCP-1 基因启动子区组蛋白甲基转移酶和组蛋白去甲基化酶的影响及葛根素的干预作用.....	43
3.4.1 eNOS 启动子区 SET7/9、MLL、menin 的改变.....	43
3.4.2 eNOS 启动子区 LSD1 的改变.....	45
3.4.3 MCP-1 启动子区 SET7/9、MLL、menin 的改变.....	45
3.4.4 MCP-1 启动子区 LSD1 的改变.....	47
第二部分 葛根素对 TNFα 诱导的内皮细胞 MCP-1 表达的影响及其信号调节机制	
3.5 葛根素对 TNFα 诱导的 HAEC 细胞 MCP-1 表达的影响.....	48
3.5.1 HAEC 细胞 MCP-1 mRNA 的表达.....	48
3.5.2 HAEC 细胞 MCP-1 蛋白的分泌.....	48
3.6 MAPK 和 NF-κB 信号通路抑制剂对 TNFα 诱导下 HAEC 细胞 MCP-1 表达的影响.....	49
3.6.1 信号通路抑制剂对 TNF α 诱导下 HAEC 细胞 MCP-1 mRNA 表达的影响.....	49
3.6.2 信号通路抑制剂对 TNF α 诱导下 HAEC 细胞 MCP-1 蛋白分泌的影响.....	50
3.7 TNFα 及葛根素对 HAEC 细胞 MAPK 信号通路的影响.....	51
3.7.1 TNF α 及葛根素对 HAEC 细胞磷酸化 p38 和总 p38 蛋白表达的影响.....	51
3.7.2 TNF α 及葛根素对 HAEC 细胞磷酸化 ERK 和总 ERK 蛋白表达的影响.....	51
3.7.3 TNF α 及葛根素对 HAEC 细胞磷酸化 JNK 和总 JNK 蛋白表达的影响.....	52
3.8 TNFα 及葛根素对 HAEC 细胞 NF-κB 信号通路的影响.....	53
3.8.1 TNF α 及葛根素对 HAEC 细胞磷酸化 I κ B α 和总 I κ B α 蛋白表达的影响.....	53

3.8.2 TNF α 及葛根素对 HAEC 细胞磷酸化 IKK α 和总 IKK α 蛋白表达的影响...	53
第四章 讨论.....	55
第一部分 葛根素通过影响与内皮功能和内皮炎症相关基因启动子区的组蛋白 甲基化 H3K4me2 和 H3K4me3 调控血管内皮细胞基因的表达	
4.1 高糖对血管内皮细胞中血管功能和血管炎症相关基因表达的影响及葛根素的 干预作用.....	55
4.2 高糖导致血管内皮细胞 eNOS 和 MCP-1 基因表达变化及葛根素干预作用的 表观遗传学机制.....	59
第二部分 葛根素对 TNF α 诱导的血管内皮细胞 MCP-1 表达的影响及其信号调 节机制	
4.3 葛根素抑制 TNF- α 导致的血管内皮细胞 MCP-1 蛋白和基因的表达.....	67
4.4 葛根素抑制 TNF- α 导致的血管内皮细胞 MCP-1 表达的信号调节机制.....	67
参考文献.....	70
致谢.....	90
博士生期间发表的学术论文.....	91
博士后期间发表的论文.....	92
个人简历.....	93

第一章 前言

1.1 糖尿病血管并发症

糖尿病 (Diabetes Mellitus) 是严重威胁人类健康的常见病和多发病。全球糖尿病患病率正在不断的增加, 糖尿病已成为危害人类健康的第三大慢性非传染性疾病[1]。糖尿病是由于胰岛素分泌和 (或) 作用缺陷引起的以血糖增高为特征的代谢病。随着胰岛素问世以及糖尿病治疗新方法、新技术的不断推陈出新, 糖尿病急性并发症 (如糖尿病酮症酸中毒和乳酸性酸中毒等) 的发生率及病死率日益减少, 而长期慢性并发症 (如糖尿病视网膜病变导致失明、糖尿病肾病导致肾功能衰竭、糖尿病足病导致截肢以及大血管病变导致心肌梗死和脑血管病等) 则日益突出, 成为糖尿病的核心问题。

糖尿病血管并发症以全身血管损害为特点, 是导致糖尿病多种慢性并发症的病理基础。主要包括糖尿病微血管病变和大血管病变: 微血管病变包括糖尿病视网膜病、肾病和神经病变[2]; 大血管病变包括糖尿病脑血管病、心血管病和下肢血管病[3,4]。临床研究显示, 与非糖尿病病人相比较, 糖尿病患者患高血压、动脉粥样硬化等心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 的几率高出2-4倍[5], 80%的糖尿病患者死于心血管病变[6]。心血管病发症是导致糖尿病患者致残、致死的主要原因, 严重的影响和威胁着糖尿病患者的健康和生命[7,8]。因此, 国内外糖尿病研究学者将研究热点集中在了糖尿病血管病变的病理生理、预防及治疗上。

1.2 糖尿病血管并发症的发病机制

糖尿病与动脉粥样硬化关系密切, 糖尿病的血管病变是动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 的形成和发展过程, 糖尿病作为一个独立的危险因素加速动脉粥样硬化的进程, 而血管内皮细胞功能的损伤不但是动脉粥样硬化致心血管疾病的主要原因, 也是糖尿病血管并发症的早期病理生理变化的关键和始动环节[9,10]。

1.2.1 血管内皮功能和内皮功能障碍

血管内皮细胞 (Vascular Endothelium Cell, VEC) 是覆盖于血管内面的一层扁平细胞, 介于血管腔和血管平滑肌细胞之间 (图 1.1), 是血液和血管壁之间的一道屏障。

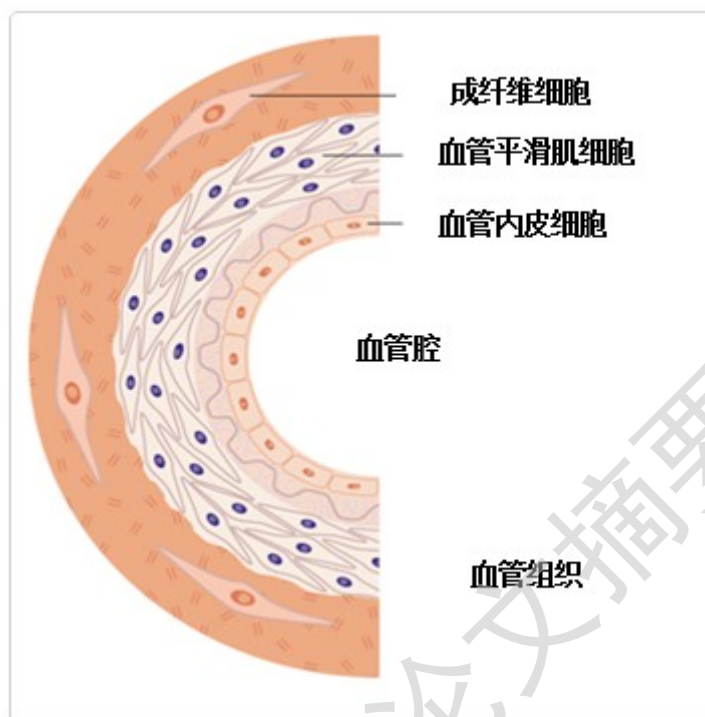


图 1.1 血管结构示意图

血管内皮细胞具有多种重要的生物学功能，它不仅是调节血管通透性的屏障，也是机体内最大而且功能活跃的内分泌和旁分泌器官[11-15]。内皮细胞感受血流压力变化、炎症信号及循环中激素水平的变化，合成和分泌多种血管活性物质，如一氧化氮 (nitric oxide, NO)、前列环素 (prostacyclin)、内皮素 (endothelin, ET)、血管紧张素 II (angiotensin-II)、纤溶酶激活抑制物 (Plasminogen activator inhibitor, PAI)、成纤维细胞生长因子 (Fibroblast growth factor, FGF)、转化生长因子 (Transforming growth factor, TGF)、血小板生长因子 (Platelet-derived growth factor, PDGF) 和各种粘附分子等调节血管平衡。这些因子之间相互作用，维持血管舒张和收缩状态、调节血管紧张度；抑制血小板聚集、维持机体凝血纤溶系统平衡、维持血液流动性防止血栓形成；调节粘附分子的表达、调控血管平滑肌细胞生长、增殖和迁移；对外界刺激产生免疫，防止炎性的浸润及有害物质的渗入[16-21]。

NO和eNOS在维持血管内皮功能中起着重要的作用。NO是最早被发现的也是最重要的血管内皮细胞舒张因子。1980年Furchgott和Zawadzki首先发现乙酰胆碱引起的兔主动脉血管平滑肌的舒张依赖于血管内皮细胞的存在，进而认为

这可能是通过内皮细胞分泌的某种物质所介导的,并把这种物质称为内皮性舒张因子(EDRF)[22]。1987年Moncada与Lgnarro等分别证明EDRF与NO确有关系,现在认为EDRF的本质就是NO。目前已经证实NO是体内的一种信号分子,其前体是L-精氨酸,L-精氨酸通过一氧化氮合酶(NOS)的催化生成L-瓜氨酸并释放NO。NO生成后激活可溶性鸟苷酸环化酶,在此酶的作用下,三磷酸鸟苷大量生成环磷酸鸟苷(cGMP),从而激活cGMP依赖性蛋白酶,使肌球蛋白轻链去磷酸化,并降低细胞内游离钙离子水平,使收缩蛋白与钙离子结合减少,导致平滑肌松弛,血管扩张[23]。NO在抑制VSMC增殖和迁移、血小板聚集和血栓形成、单核细胞粘附、炎性反应及氧化应激中都发挥着重要的作用[24-26]。一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)是合成NO的关键限速酶,有三种亚型:内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和神经型(neural nitric oxide synthase, nNOS)。eNOS为Ca²⁺依赖型,主要分布在内皮细胞,受Ca²⁺和钙调素调控,能被缓激肽、组胺、血小板激活因子、P物质和血流切应力激活,催化产生的少量NO调节血管扩张,保护血管壁不受血小板和中性粒细胞粘附;iNOS为非Ca²⁺依赖型,不受Ca²⁺和钙调素调控,主要分布在巨噬细胞和内皮细胞,能被内毒素及某些细胞因子(如IFN- γ 、TNF- α 、IL-1 β)激活,长时间催化产生大量NO具有细胞毒性作用。iNOS表达产生NO下调iNOS基因表达,此种负反馈主要通过抑制核转录因子NF- κ B与DNA的结合活性来实现,可能是病理生理条件下限制NO过度产生的原因,NO对机体的影响主要依赖于刺激因素的性质、强度、剂量和反应位点[27]。

内皮素(ET)是一种重要的血管收缩因子。它是由21个氨基酸组成的多肽,它的产生受许多激动剂的调控,血管内皮是它主要的分泌场所。内皮素有三种异构肽:ET-1、ET-2、ET-3,受体有ET α 、ET β 两种亚型。ET-1促进血管平滑肌细胞增殖和迁移、增加血管通透性、刺激单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、白介素-6(IL-6)及其它炎症因子的产生[28]。NO与ET共同维持着血管正常的舒缩功能[29,30]。

血管内皮细胞产生的粘附分子如细胞间粘附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞粘附分子(vascular adhesion molecule-1, VCAM-1)、E-选择素(E-selectin)和MCP-1等调节血细胞在血管壁上的粘附和聚集[31,32]。

血管内皮容易受到各种不同因素的诱导而受损,血流动力学的机械损伤、化学因素如烟草、药物、病原微生物、免疫复合物沉积和脂质沉积等都能导致内皮细胞功能障碍。在这些影响内皮细胞功能的危险因素作用下,内皮细胞合成和分泌多种活性物质和细胞因子间的平衡遭到破坏导致血管舒缩异常、白细胞粘附浸润、血栓形成及血管平滑肌细胞增殖等一系列病理变化。很多疾病特别是动脉粥样硬化的启动和发生与内皮功能障碍有着重要的关系[33-37]。

内皮通过释放大量的活性分子调节着血管的各项功能,因此将这些活性物质如 NO、eNOS、ET-1、VCAM、ICAM、MCP-1、vWF、PAI-1 和 CRP 等作为标志物来检测内皮功能是否受到损害。

内皮细胞功能障碍有两个特征:(1)血管收缩活性的改变,其部分原因与 NO 的作用减少有关;(2)粘附分子分泌增加,高血糖、糖基化终末产物蛋白、脂蛋白和炎症因子均可诱导粘附分子的表达,因而在动脉粥样硬化早期可通过测定血中粘附分子的浓度作为评定内皮细胞活性的标志。许多研究已经表明,ICAM-1、VCAM-1、E-selectin、MCP-1 等粘附和趋化因子均与动脉粥样硬化和心血管疾病的指标密切相关[38]。

1.2.2 糖尿病所致内皮细胞功能障碍及其机制

1.2.2.1 高血糖与糖尿病血管并发症

长期高血糖可能通过损伤血管内皮,促进血管平滑肌细胞过度增殖以及产生胰岛素抵抗,从而使 NO-ET 系统功能失衡,由此加重糖尿病血管并发症的发生和发展[39]。虽然糖尿病血管并发症发病机制错综复杂,目前尚未完全阐明,但血流动力学、血液流变学异常及内皮细胞损伤是各型糖尿病血管并发症的共同病理表现及重要原因[39-40]。

近年来研究结果表明,血管内皮功能异常在糖尿病前期就已经存在[41]。糖尿病的许多异常代谢状态,如高血糖、高血脂、胰岛素抵抗、糖基化终末产物的增加及慢性炎症等,损害了患者的血管内皮结构及功能,导致动脉粥样硬化的不断恶化,最终导致心血管事件的发生[42]。深入认识糖尿病血管内皮功能异常,探索其发病机理,对于制定糖尿病血管并发症的综合防治措施,提高糖尿病患者的生存率及生存质量十分重要[43,44]。

在糖尿病引起的血管病变中,高血糖是导致血管内皮功能障碍的主要因素之一,血管内皮细胞功能障碍不但是动脉粥样硬化致心血管疾病的主要原因,亦是

糖尿病血管并发症的始动环节[45-47]。冠心病以及糖尿病患者血管内皮功能的损伤先于动脉壁形态的变化，是动脉粥样硬化的最早事件。因此研究高糖状态下内皮细胞的基本功能变化，对深入探讨糖尿病血管并发症的机理具有十分重要的意义。

糖尿病血管并发症主要是由高血糖引起多种代谢途径发生变化，使血管细胞的结构和功能发生改变，多年来关于高糖导致糖尿病血管并发症的发病机制的病理生化基础主要集中于4条通路：多元醇通路、氨基己糖通路、蛋白激酶C（PKC）通路和糖基化终末产物（AGEs）通路[48]（图1.2）。

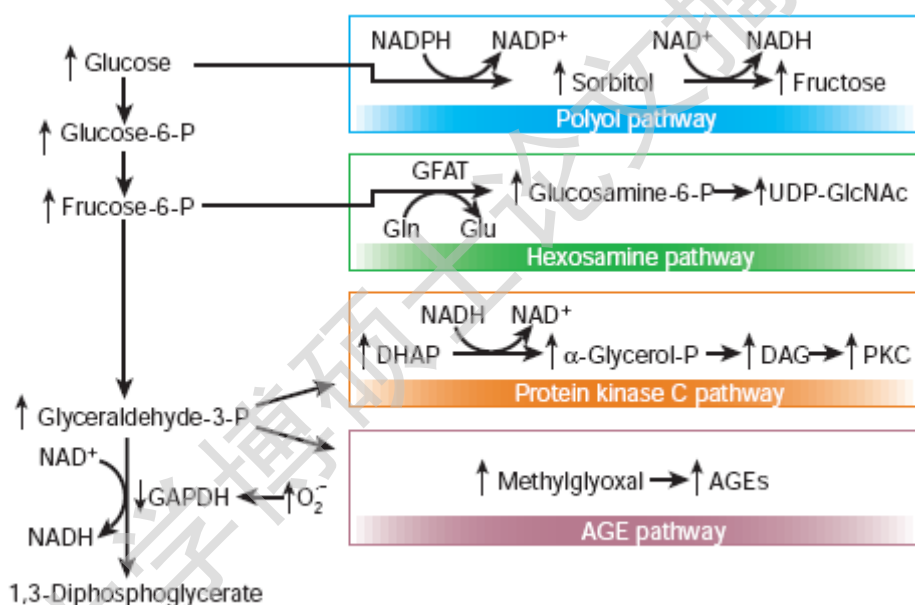


图1.2 高糖诱导线粒体超氧化物产生激活血管内皮损伤的四个通路[48]

多元醇通路活跃。正常状态下，少量的葡萄糖在醛糖还原酶（AR）催化下转变为山梨醇，山梨醇在果糖还原酶的作用下转化为果糖。在高糖状态下，AR活性增加，多元醇代谢活跃，使多种组织细胞内山梨醇、果糖过度堆积，细胞内渗透压升高，细胞水肿，可产生下列变化：首先，细胞因渗透压增高而发生功能异常；其次，细胞内渗透压增高使肌醇的摄入量代偿性减少，肌醇是合成磷脂肌醇的原料，后者经磷脂酶C催化二酰甘油（DAG）和三磷酸肌醇（IP3）。二者分别构成DAG-PKC和IP3-Ca²⁺信号转导途径。因此，多元醇途径活性增强可影响细胞的信号转导，导致酶活性降低等异常变化。再次，醛糖还原酶活化时辅酶

NADPH 转化为 NADP^+ ，使NADPH消耗增多，NADPH/ NADP^+ 比值降低。NADPH也是谷胱胱肽还原酶的辅酶，在促使氧化型谷胱胱肽（GSSG）向还原型谷胱胱肽（GSH）的转化、维持GSH在正常范围中起着至关重要的作用。NADPH/ NADP^+ 比值降低不利于GSSG 转化为GSH，使机体的抗氧化能力减弱。这些改变促使糖尿病微血管并发症的发生和发展。

高血糖使进入己糖胺代谢的葡萄糖量大大增加，导致细胞内葡萄糖胺含量增高，加重患者肝脏、肌肉及脂肪等外周组织的胰岛素抵抗，还可剂量依赖式抑制胰岛 β 细胞磷脂酶C的活性，降低磷酸肌醇水解，减少IP₃ 和DAG的合成，抑制IP₃/ Ca^{2+} 和DAG信号转导系统，抑制胰岛素分泌。

在高血糖代谢过程中，许多中间代谢产物可以从头合成DAG， DAG是体内PKC的唯一激活剂。细胞内PKC通路广泛参与血管功能的调节（包括舒缩反应、通透性、基底膜更新、内皮细胞生长、新生血管形成和血液流变学、血凝机制），以上各种机能异常正是糖尿病血管并发症的重要基础和生化机制。PKC也可调节血小板功能，刺激Von Willebrand因子的分泌，增加PAI-1的含量和活性，促进了糖尿病病人高凝、低活性纤溶和高血粘度的发生和发展。目前认为，PKC激活是糖尿病时血管损伤的共同通路（图1.3）。

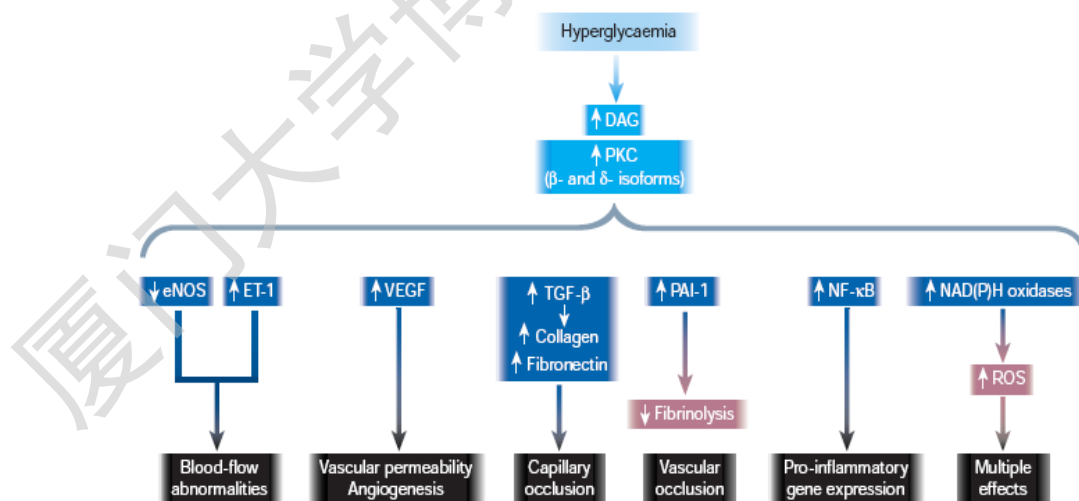


图1.3 高糖激活蛋白激酶C通路刺激血管分泌多种活性物质导致血管功能受损[48]

蛋白质非酶糖基化。蛋白质非酶促糖化是指葡萄糖与蛋白质的游离氨基通过一系列的非酶促反应，最终形成糖基化终末产物（AGEs）的过程。其糖化产物附着于血管系统，特别是毛细血管基底膜，造成基底膜不断增厚及毛细血管的阻

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库