

ABSTRACT

Project Code: RSA6080061

Project Title: Adenosine receptor-mediated signalling for the inhibition of cardiac fibrosis induced by angiotensin II and endothelin-1

Investigator: Assoc. Prof. Supachoke Mangmool, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Project Period: May 30, 2017 to May 29, 2019

Background and Purpose:

Cardiac fibrosis is characterized by an increase in fibroblast proliferation, overproduction of extracellular matrix proteins, and the formation of myofibroblast that express α -smooth muscle actin (α -SMA). Endothelin-1 (ET-1) and angiotensin II (Ang II) are involved in the pathogenesis of cardiac fibrosis. Overstimulation of endothelin receptors induced cell proliferation, collagen synthesis, and α -SMA expression in cardiac fibroblasts. In addition, Prolong and overstimulation of angiotensin II type 1 receptor with Ang II induced collagen synthesis and myofibroblast differentiation in cardiac fibroblasts, leading to cardiac fibrosis. Although adenosine was shown to have cardioprotective effects, the molecular mechanisms by which adenosine A_2 receptors (A_2Rs) inhibit both ET-1- and Ang II-induced cardiac fibrosis is not clearly understood.

Experimental Approach:

This study aimed at evaluating the mechanisms of cardioprotective effects of adenosine receptor agonist in neonatal rat cardiac fibroblasts by measurements of cell proliferation, and mRNA and protein levels of collagens and α -SMA.

Key results:

Stimulation of adenosine subtype 2B receptor ($A_{2B}R$) resulted in the inhibition of ET-1-induced fibroblast proliferation, and a reduction of ET-1-induced α -SMA expression that is dependent on cAMP/Epac/PI3K/Akt signaling pathways in cardiac fibroblasts. The data in this study confirm a critical role for Epac signaling on A_{2B} receptor-mediated inhibition of ET-1-induced cardiac fibrosis via PI3K and Akt activation.

Moreover, elevation of endogenous adenosine levels resulted in the inhibition of Ang II-induced collagen type I and III, and α -SMA synthesis in cardiac fibroblasts. Furthermore, treatment with exogenous adenosine which selectively stimulated A_2Rs also suppressed Ang II-induced collagen synthesis and α -SMA production. These antifibrotic effects of both

endogenous and exogenous adenosines are mediated through the $A_{2B}R$ subtype. Stimulation of $A_{2B}R$ exhibited antifibrotic effects via the cAMP-dependent and Epac-dependent pathways. Our results provide new mechanistic insights regarding the role for cAMP and Epac on $A_{2B}R$ -mediated antifibrotic effects. Thus, $A_{2B}R$ is one of the potential therapeutic targets against cardiac fibrosis.

Conclusion and Implications:

This is the first work reporting a novel signaling pathway for the inhibition of ET-1-induced cardiac fibrosis mediated through the A_{2B} receptor/cAMP/Epac/PI3K/Akt signaling pathway. Epac also required for A_{2B} receptor-mediated inhibition of Ang II-induced cardiac fibrosis. Thus, $A_{2B}R$ agonists represent a promising perspective as therapeutic targets for the prevention of cardiac fibrosis.

Keywords:

α -SMA, A_{2B} receptor, adenosine, angiotensin II, cAMP, cardiac fibroblasts, collagen, endothelin-1, Epac

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA6080061

ชื่อโครงการ: การส่งสัญญาณของตัวรับอะดีโนซีนมีผลยับยั้งการเกิดภาวะพังผืดหัวใจที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยแองจิโอเทนซินสองและเอนโดทีลินหนึ่ง

ชื่อหลักวิจัยและสถาบัน: รศ. ดร. ภก. ศุภโชค มั่งมุล คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ระยะเวลาโครงการ: 30 พฤษภาคม พ.ศ. 2560 ถึง 29 พฤษภาคม พ.ศ. 2562

ความเป็นมาและวัตถุประสงค์

ภาวะพังผืดหัวใจ เป็นภาวะที่พบการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยหัวใจ การเพิ่มขึ้นของ extracellular matrix และพบว่าเซลล์สร้างเส้นใยหัวใจเปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์ myofibroblast ที่มีการแสดงออกของ α -smooth muscle actin (α -SMA; แอลฟา-เอสเอ็มเอ) เพิ่มขึ้น ทั้งเอนโดทีลินหนึ่งและแองจิโอเทนซินสอง สามารถกระตุ้นการเกิดภาวะพังผืดที่หัวใจได้ โดยพบว่าการกระตุ้นตัวรับชนิดเอนโดทีลินที่มากเกินไปจะกระตุ้นการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเซลล์สร้างเส้นใยหัวใจ รวมถึงกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนและแอลฟา-เอสเอ็มเอของเซลล์สร้างเส้นใยหัวใจ ในขณะที่การกระตุ้นตัวรับชนิดแองจิโอเทนซินสองอย่างต่อเนื่องและมากเกินไป เป็นสาเหตุของการเพิ่มการสร้างคอลลาเจน และกระตุ้นการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ไปเป็นเซลล์ myofibroblast ดังนั้นจึงส่งผลให้เกิดภาวะพังผืดหัวใจ ถึงแม้ว่า การกระตุ้นตัวรับชนิดอะดีโนซีนจะแสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ ปกป้องหัวใจ โดยสามารถยับยั้งการเกิดภาวะพังผืดหัวใจได้ อย่างไรก็ตาม ชนิดย่อยของตัวรับอะดีโนซีนและกลไกการออกฤทธิ์ ของอะดีโนซีนในการยับยั้งภาวะพังผืดหัวใจที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยแองจิโอเทนซินสองและเอนโดทีลินหนึ่งในเซลล์สร้างเส้นใยหัวใจไม่ทราบแน่ชัด

วิธีการทดลอง:

ในการวิจัยนี้ทำการศึกษาฤทธิ์ด้านการเกิดภาวะพังผืดหัวใจและกลไกการออกฤทธิ์ ของอะดีโนซีนในเซลล์สร้างเส้นใยหัวใจของหนูแรทแรกเกิด โดยการวัดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ วัดการสร้างเอ็มอาร์เอ็นเอและโปรตีนของคอลลาเจนและแอลฟา-เอสเอ็มเอ

ผลการทดลอง:

การกระตุ้นตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} ส่งผลยับยั้งฤทธิ์ ของเอนโดทีลินหนึ่งในการเหนี่ยวนำการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์สร้างเส้นใยหัวใจ และยังมีผลยับยั้งฤทธิ์ ของเอนโดทีลินหนึ่งในการกระตุ้นการสร้างแอลฟา-เอสเอ็มเอซึ่งฤทธิ์ ด้านการเกิดภาวะพังผืดหัวใจเกิดขึ้นผ่านทาง cAMP/Epac/PI3K/Akt นั้นแสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} ยับยั้งภาวะพังผืดหัวใจที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยเอนโดทีลินหนึ่ง โดยไปกระตุ้นการทำงานของทั้ง PI3K และ Akt นอกจากนี้ การเพิ่มขึ้นของปริมาณอะดีโนซีนภายในเซลล์สร้างเส้นใยหัวใจส่งผลยับยั้งฤทธิ์ ของแองจิโอเทนซินสองในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจนชนิดที่หนึ่งและสาม และการสร้าง α -SMA

การกระตุ้นตัวรับอะดีโนซีนโดยสารที่ออกฤทธิ์จำเพาะต่อตัวรับอะดีโนซีนชนิด A₂ (A₂ receptor agonist) ยังสามารถยับยั้งฤทธิ์ของแองจิโอเทนซินสองได้อีกด้วย นอกจากนี้ ปริมาณของอะดีโนซีนที่เพิ่มขึ้นภายในเซลล์หรือ adenosine receptor agonist นั้นมีฤทธิ์ต้านการเกิดภาวะพังผืดหัวใจผ่านทางตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} ซึ่งการกระตุ้นตัวรับชนิดนี้ทำให้เกิดฤทธิ์ต้านภาวะพังผืดหัวใจที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยแองจิโอเทนซินสอง ผ่านทาง cAMP และ Epac นั้นแสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} ยับยั้งภาวะพังผืดหัวใจที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยแองจิโอเทนซินสอง โดยไปกระตุ้นการทำงานของ Epac

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง:

จากการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงกลไกการออกฤทธิ์ และขั้นตอนการส่งสัญญาณของตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} ในการยับยั้งฤทธิ์ของแอนโดทีลินหนึ่งในการกระตุ้นภาวะพังผืดหัวใจ ซึ่งการกระตุ้นตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} จะส่งผลกระทบต่อการส่งสัญญาณของตัวรับผ่านทาง A_{2B} receptor/cAMP/Epac/PI3K/Akt pathway และการศึกษาายังพบอีกว่า Epac นั้นจำเป็นสำหรับฤทธิ์ต้านภาวะพังผืดหัวใจของตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} ซึ่งกระตุ้นตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} จะส่งผลกระทบต่อการส่งสัญญาณของตัวรับผ่านทาง A_{2B} receptor/cAMP/Epac pathway ในการยับยั้งฤทธิ์ของแองจิโอเทนซินสองที่เหนี่ยวนำให้เกิดภาวะพังผืดหัวใจ สรุปได้ว่า ตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B} นั้นเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการพัฒนาสารหรือยาที่ออกฤทธิ์ยับยั้งภาวะพังผืดหัวใจ

คำหลัก แอลฟา-เอสเอ็มเอ, ตัวรับอะดีโนซีนชนิด A_{2B}, แองจิโอเทนซินสอง, ไซคลิก-เอเอ็มพี, เซลล์สร้างเส้นใยหัวใจ คอลลาเจน, แอนโดทีลินหนึ่ง, อีแพ็ค