

· 文献综述 ·

[文章编号] 1007-3949(2008)16-11-0922-03

# 脂蛋白相关磷脂酶 A2最新研究进展

高应东, 赵昕亚 综述, 王书奎 审校

(南京医科大学附属南京第一医院医学检验科, 江苏省南京市 210006)

[关键词] 临床诊断学; 脂蛋白相关磷脂酶 A2; 综述; 低密度脂蛋白; 动脉粥样硬化; 心血管疾病; 经皮冠状动脉腔内成形术

[摘要] 动脉粥样硬化疾病的发生常常与具有生物活性的脂质介质生成相关联并常伴随有血管炎症的发生。脂蛋白相关磷脂酶 A2是由炎症细胞产生, 水解低密度脂蛋白中的氧化修饰磷脂, 主要与循环低密度脂蛋白相关。近年来的研究认为脂蛋白相关磷脂酶 A2可能在动脉粥样硬化发生发展过程中发挥重要作用, 是心血管疾病独立的风险预示因子。脂蛋白相关磷脂酶 A2抑制剂的潜在临床价值也有待进一步研究开发。

[中图分类号] R44

[文献标识码] A

随着心血管疾病发病率的增加, 有价值的预测因子受到越来越多的关注。现已证实炎症在动脉粥样硬化斑块的形成和发展中起到关键作用。作为与心血管疾病密切相关的新的炎性标志物, 脂蛋白相关磷脂酶 A2 (lipoprotein-associated phospholipase A2, Lp-PLA2) 与冠状动脉疾病之间的关系逐渐成为研究热点。

## 1 脂蛋白相关磷脂酶 A2生理和生化特性

### 1.1 脂蛋白相关磷脂酶 A2的活性

脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 属于磷脂酶 A2 超家族, 主要由炎症细胞 (如巨噬细胞、淋巴细胞等) 分泌。Lp-PLA2 是由 441 个氨基酸组成的蛋白质, 分子量为 45 kDa 与磷脂酶 A2 家族其余成员不同的是, Lp-PLA2 不需要钙离子维持其催化活性。Lp-PLA2 具有降解血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF) 的活性, 因此也被称为血小板活化因子乙酰水解酶 (platelet-activating factor acetylhydrolase, PAF-AH)。血小板活化因子有促进血小板聚集、中性粒细胞和单核细胞趋化以及促进白三烯等炎症介质释放, 从而促进血栓形成和炎症反应。而 Lp-PLA2 能将 PAF 水解为无活性的溶血 PAF, 故能减少炎症和血栓的形成, 具有抗炎和抗动脉粥样硬化作用。

脂蛋白相关磷脂酶 A2 除水解 PAF 外, 还能水解 Sn-2 位含有多不饱和脂肪酸基的氧化磷脂, 循环中低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 相关 Lp-PLA2 复合物经管腔进入内膜, 在内膜 LDL 被氧化, LDL 上的卵磷脂变成氧化卵磷脂。Lp-PLA2 随即水解氧化卵磷脂生成溶血卵磷脂和氧化型游离脂肪酸<sup>[1]</sup>, 后二者是促炎介质, 能刺激粘附因子和

细胞因子的产生, 从而促进单核细胞由管腔向内膜聚集。单核细胞在内膜聚集后衍生为巨噬细胞, 巨噬细胞吞噬氧化型 LDL 变成泡沫细胞。泡沫细胞聚集成动脉粥样硬化性斑块, 脆弱斑块的破裂, 易导致血栓形成和心血管事件的发生。因此, Lp-PLA2 同时又具有促动脉粥样硬化形成的作用。

尽管 Lp-PLA2 能水解 PAF 而抗炎, 但其在血浆中占优势的作用是水解氧化卵磷脂生成大量溶血卵磷脂和氧化型游离脂肪酸, 而后二者又表现出很强的促动脉粥样硬化形成的作用, 临床及实验室的研究结果均证实了这一点。

### 1.2 脂蛋白相关磷脂酶 A2的血浆浓度

目前很多试验均采用酶联免疫吸附实验对 Lp-PLA2 的血浆含量进行测定。推荐将 235  $\mu\text{g/L}$  作为与心血管疾病发展风险相关的分界点<sup>[2]</sup>。此临界点并非治疗靶值而是作为临床考虑患者心血管事件高风险的参考值, 并独立于传统风险预示因子, 如高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)、LDL 及高敏 C 反应蛋白等。但 Lp-PLA2 质量与活性并不平行, 如 Gazi 等<sup>[3]</sup> 的研究将 176 个研究对象分为两组, 一组 69 例, 其小而密低密度脂蛋白 (small dense LDL, sdLDL) 含量  $\leq 0.155 \text{ mmol/L}$ , 另一组 107 例, sdLDL 含量  $> 0.155 \text{ mmol/L}$ 。通过比较两组总 Lp-PLA2 的质量与酶活性得出结论: Lp-PLA2 的酶活性而非质量是人体血浆内 sdLDL 分子的标志物。

另一些研究人员认为不同种族和性别 Lp-PLA2 阈值水平的设定应不同。Brilakis 等<sup>[4]</sup> 测试 332 例年龄在 30~65 岁参加 Dallas Heart 研究的样本, 平均年龄  $45 \pm 9$  岁, 男性占 44%; 白种人占 30%, 西班牙人占 17%, 其余 53% 为黑人。平均 Lp-PLA2 活性和质量分别为  $146 \pm 40 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$  和  $191 \pm 60 \mu\text{g/L}$ 。女性 Lp-PLA2 活性低于男性 [ $134 \pm 35 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$  与  $161 \pm 40 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ ,  $P = 0.001$ ], 黑人 Lp-PLA2 酶活性最低 ( $136 \pm 38 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ ), 其次是西班牙人 [ $151 \pm 36 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ ], 白人最高 [ $161 \pm 39 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$ ]。在调整年龄、体质指数、吸烟、总胆固醇、LDL、HDL、甘油三酯及高敏 C 反应蛋白后的多变量直线回归模型, 男性 Lp-PLA2 活性比女性高出  $19 \mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$

[收稿日期] 2008-07-29 [修回日期] 2008-10-18

[作者简介] 高应东, 硕士, 主管技师, 讲师, 研究方向为生化诊断, 联系电话为 025-52271422 或 13809043762 E-mail 为 kvdca@126.com。赵昕亚, 学士, 技师, 研究方向为临床检验, E-mail 为 zhaol186xs@sohu.com。通讯作者王书奎, 博士, 主任技师, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事细胞生物学及实验医学的研究, 联系电话为 025-83067238 E-mail 为 wsk\_zz@hotmail.com。

( $P < 0.001$ ); 经校正后的 Lp-PLA2 活性在白人和西班牙人中分别比黑人高出  $11 \mu\text{mol}/(\text{m} \cdot \text{L})$  和  $20 \mu\text{mol}/(\text{m} \cdot \text{L})$  ( $P$  均小于  $0.001$ )。在测定 Lp-PLA2 质量时也有相似的种族、性别差异。可见种族和性别是 Lp-PLA2 的质量与活性的独立影响因素, Lp-PLA2 阈值水平的设定可能需要区分种族和性别。

### 1.3 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与脂蛋白、载脂蛋白的相关性

由于 Lp-PLA2 氨基端与载脂蛋白 B 的羧基端蛋白质间特殊的内在活性, 人类约 70% ~ 80% 的 Lp-PLA2 与 LDL 相关联。在所有 LDL 颗粒中, Lp-PLA2 优先于那些被认为更具有促动脉粥样硬化作用的更小、密度更高的颗粒相关。最新的基因多态性研究<sup>[15]</sup>显示定位于 2p 上 QTL 多态性可用于解释 Lp-PLA2 活性与 LDL 浓度之间的基因效应。

关于剩余与 HDL 结合的分泌型 Lp-PLA2 部分所知甚少, 也许关系到人体 Lp-PLA2 翻译后修饰。在一些动物 (比如小鼠、狗、兔) 中, Lp-PLA2 与载脂蛋白 B 氨基酸顺序种属差异都主要集中于 HDL 中的 PLA2<sup>[16]</sup>。运用腺病毒介导人类 Lp-PLA2 基因转移至小鼠, 引起易位表达 (比如在肝而不是在白细胞中表达), 这些研究提出 HDL 相关 Lp-PLA2 在动脉粥样硬化中具有保护机体的作用<sup>[17]</sup>。而鼠类大部分 Lp-PLA2 与 HDL 相关, 这也是动物实验中 Lp-PLA2 具有抗动脉粥样硬化作用的原因之一, 但尚缺乏与人类相似的简单动脉粥样硬化模型及研究资料。

在人体正常血浆脂质的情况下, Lp-PLA2 大部分与 LDL 相关联, 另有一小部分酶活性与 HDL 有关。如果脂蛋白 (a) [Lipoprotein (a), Lp(a)] 血浆水平高于  $0.3 \text{ g/L}$ , Lp-PLA2 在 LDL 和 HDL 中的浓度分布会受到影响, Lp-PLA2 也与 Lp(a) 相关联<sup>[18]</sup>。并且与等摩尔 LDL 相比, Lp(a) 中更富含 Lp-PLA2 质量是其 1.5~2 倍, 活性是其 15 倍甚至更多<sup>[19]</sup>。Lp(a) 相关 PLA2 蛋白高度糖基化, 并与 LDL 相关 PLA2 具有相似的生理特性及催化活性。Lp-PLA2 主要靠载脂蛋白 B-100 分子与 Lp(a) 相连, 载脂蛋白 (a) 虽然本身不与酶相接, 但却对 Lp-PLA2 与 Lp(a) 间的联系有影响作用。

## 2 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与心血管疾病

### 2.1 脂蛋白相关磷脂酶 A2 是独立的心血管风险预示因子

最近流行病学和临床前瞻性研究<sup>[10-13]</sup>均发现, 发生冠心病事件者与对照组相比 Lp-PLA2 质量或活性显著升高, 可得出血浆 Lp-PLA2 质量或活性升高是冠状动脉粥样硬化或冠心病事件的独立危险因素。

Yang 等<sup>[14]</sup>研究了 172 例无明显冠状动脉疾病样本的内皮功能, 方法是测量冠状动脉血流量以及冠状动脉直径对冠状动脉内乙酰胆碱的反应变化, 并比较这些人血浆 Lp-PLA2 含量, 据此分成低、中、高三组。对乙酰胆碱的反应, 中高水组冠状动脉血流变化明显较小 ( $63.8\% \pm 7.2\%$  和  $32.0\% \pm 7.1\%$  比  $78.7\% \pm 7.2\%$ ,  $P < 0.001$ )。而心外膜冠状动脉血管收缩变化较大 ( $-14.1\% \pm 14.7\%$  和  $-23.5\% \pm 25.1\%$  比  $-9.5\% \pm 15.2\%$ ,  $P < 0.001$ ), 冠状动脉内皮功能障碍的患者血浆 Lp-PLA2 含量明显高于那些内皮功能正常者

( $246.2 \pm 71.6 \mu\text{g/L}$  比  $209 \pm 56.7 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0.001$ )。Lp-PLA2 水平最高组样本冠状动脉内皮功能障碍的优势比为 3.3 (95% 可信区间 1.6~6.6)。可见 Lp-PLA2 与冠状动脉内皮功能障碍相关, 是人类内皮功能障碍的预示因子。而冠状动脉内皮功能障碍可看作是早期动脉粥样硬化的标志, 并与缺血性心肌事件及休克的风险增加有关。

一项关于人类动脉粥样硬化自然进程中 Lp-PLA2 蛋白质表达的研究发现, 在脆弱易破裂斑块的坏死中心及周围的巨噬细胞中 Lp-PLA2 表达显著增加, 而那些进展缓慢的斑块中表达较少<sup>[15]</sup>。可见 Lp-PLA2 在促进斑块不稳定性方面具有潜在的作用。一项病例-对照研究<sup>[16]</sup>旨在观察年轻人钙化的动脉斑块与 Lp-PLA2 之间的关联, 266 例 CT 显示有钙化动脉斑块的病例与 266 例对照按年龄、种族 1:1 配对研究, 结果显示病例组 Lp-PLA2 质量、活性 [ $296 \pm 101 \mu\text{g/L}$ ,  $36.4 \pm 12.3 \mu\text{mol}/(\text{m} \cdot \text{L})$ ] 均明显高于对照组 [ $267 \pm 80 \mu\text{g/L}$ ,  $32.9 \pm 11.8 \mu\text{mol}/(\text{m} \cdot \text{L})$ ]。LDL、HDL、C 反应蛋白和甘油三酯等多元相关变异因子校正后, Lp-PLA2 酶质量而非酶活性具有显著的统计学差异 (OR = 1.8 95% CI 为 1.03~1.60)。可见年轻人 Lp-PLA2 浓度与钙化动脉斑块的存在独立相关, 是亚临床冠心病风险有价值的标志物。

### 2.2 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与再狭窄

血管成形术后再狭窄是一种多因素过程, 涉及炎症、刺激生长因子表达等多种机制。Goudevenos 等<sup>[17]</sup>研究稳定型心绞痛患者在经皮冠状动脉腔内成形术 (percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA) 后 Lp-PLA2 活性的连续性变化, 病例组研究对象为 27 例稳定型心绞痛 PTCA 后的患者, 30 例性别和年龄匹配的人群为对照组, 研究人员分别测量了 PTCA 前、术后 4 h、48 h 以及 6 个月的酶活性, 病例组 PTCA 前酶活性明显高于对照组, 术后 4 h 酶活性无明显变化, 48 h 后酶活性明显升高, 6 个月后酶活性下降至对照组水平。可见, 在稳定型心绞痛患者体内 Lp-PLA2 酶活性较高, 且 PTCA 术后可完全回复。

另一项研究<sup>[18]</sup>通过腺病毒介导 Lp-PLA2 基因在兔血管内表达, 与对照组比较可得出此法可显著减少球囊扩张术后兔主动脉新内膜生成, 提示其对防止动脉成形术后再狭窄也许有保护性价值。但尚缺乏人体支架内再狭窄与 Lp-PLA2 相关性研究。

### 2.3 脂蛋白相关磷脂酶 A2 临床应用价值

Lp-PLA2 具有促动脉粥样硬化作用, 可作为新的心血管事件风险预示因子, 为临床医师预测个体冠心病等发病风险提供新方法。有研究指出虽然各种降脂疗法, 比如他汀类药物, 可表现出降低 Lp-PLA2 浓度的作用, 但没有实验能证明这种药物具有降低 Lp-PLA2 在斑块发展中调节巨噬细胞的中介作用的活性<sup>[19]</sup>。也有研究<sup>[20]</sup>指出 Lp-PLA2 选择性抑制剂可抑制循环中及人类动脉斑块中 Lp-PLA2 的酶活性, 为治疗血管炎性进程, 减少高危个体心血管事件的风险提供了可能。还有研究<sup>[21]</sup>认为对中度危险因子的缺血性卒中患者, 测定 Lp-PLA2 水平有助于指导预防策略。由此可见, Lp-PLA2 在治疗动脉粥样硬化和预防心血管疾病方面的潜在价

值有待进一步研究。

### 3 展望

脂蛋白相关磷脂酶 A2在动脉粥样硬化中发挥的作用至今还不能下定论,仍有研究<sup>[22]</sup>显示腺病毒介导 Lp-PLA2基因在体外表达后,通过免疫印迹分析、RT-PCR和动物实验等一系列方法观察白细胞介素 6、LDL和泡沫细胞形成等指标可得出结论,在体外发生氧化后,Lp-PLA2活性的增加可减少后续的巨噬细胞中脂蛋白降解和泡沫细胞生成等过程。提示在早期脂肪纹中 Lp-PLA2通过减少斑块巨噬细胞促炎症反应变化及泡沫细胞形成发挥抗动脉粥样硬化作用。

现在的研究重点逐渐转向 Lp-PLA2基因方面,开始关注基因与环境对 Lp-PLA2活性的共同影响,比如 1号染色体基因座位基因型与肥胖相互关系连锁分析<sup>[23]</sup>等。基因多态性与心血管疾病相关性的研究也已展开,一项关于编码 PAF-AH (PLA2G7)和 PAF受体基因突变与冠心病及其并发症风险的研究<sup>[24]</sup>结果提示,V379等位基因可能起到保护作用,从而阻止冠心病的发展。

总之,建立与人类 Lp-PLA2浓度分布相似的动物模型、Lp-PLA2基因的深入研究以及 Lp-PLA2抑制剂及其临床应用价值等方面研究进一步开展,以便使这一标志物能早日应用于临床。

#### [参考文献]

- [1] Lavi S, McConnell JB, Prasad A, et al. Local production of lipoprotein-associated phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine in the coronary circulation: association with early coronary atherosclerosis and endothelial dysfunction in Humans [J]. *Circulation*, 2007, **115** (21): 2715-721.
- [2] Larm an RB, Wolfert RL, Fleming JK, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2: review and recommendation of a clinical cut point for adults [J]. *Prevent Cardiol* 2006 **9** (3): 138-143.
- [3] Gazi I, Lourila ES, Filippatos T, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is a marker of small dense LDL particles in human plasma [J]. *Clinic Chemistry*, 2005 **51** (12): 2264-273.
- [4] Brilakis ES, Khera A, McGuire DK, et al. Influence of race and sex on lipoprotein-associated phospholipase A2 levels: observations from the Dallas heart study [J]. *Atherosclerosis* 2008 **199** (1): 110-115.
- [5] Vinson A, Mahaney MC, Cox LA, et al. A pleiotropic QTL on 2p influences serum Lp-PLA2 activity and LDL cholesterol concentration in a baboon model for the genetics of atherosclerosis risk factors [J]. *Atherosclerosis* 2008 **196** (2): 667-673.
- [6] Mertens A, Verhamme P, Bielicki JK, et al. Increased low-density lipoprotein oxidation and impaired high-density lipoprotein antioxidant defense are associated with increased macrophage homing and atherosclerosis in dyslipidemic obese mice [J]. *Circulation*, 2003 **107** (12): 1640-646.
- [7] Singh U, Zhong S, Xiong M, et al. Increased plasma non-esterified fatty acids and platelet-activating factor acetylhydrolase are associated with susceptibility to atherosclerosis in mice [J]. *Clinic Sci (Lond)*, 2004 **106** (4): 421-432.
- [8] Tsimikas S, Tsironis LD, Tselepis AD. New insights into the role of lipoprotein(a)-associated lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis and cardiovascular disease [J]. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2007 **27** (10): 2094-099.
- [9] Tsironis LD, Katsouras CS, Lourila ES, et al. Reduced PAF-acetylhydrolase activity associated with Lp(a) in patients with coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis* 2004 **177** (1): 193-201.
- [10] May HT, Home BD, Anderson JL, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 independently predicts the angiographic diagnosis of coronary artery disease and coronary death [J]. *Am Heart J*, 2006 **152** (5): 997-1003.
- [11] Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study [J]. *Circulation*, 2004 **109** (7): 837-842.
- [12] 张绍艳, 王滨有. 老年人血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2活性与其基因型、性别和年龄的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007 **15** (11): 854-856.
- [13] 夏国志, 田国平, 匡希斌. 脂蛋白相关磷脂酶 A2与临床冠心病的关系 [J]. *临床内科杂志*, 2007 **24** (12): 817-819.
- [14] Yang EH, McConnell JB, Lennon RJ, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 is an independent marker for coronary endothelial dysfunction in Humans [J]. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2006 **26** (1): 106-111.
- [15] Kolodgie FD, Burke AP, Skorija KS, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 protein expression in the natural progression of human coronary atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2006 **26** (11): 2523-529.
- [16] Irribarren C, Gross MD, Darbinian JA, et al. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 mass and activity with calcified coronary plaque in young adults: the CARDIA study [J]. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2005 **25** (1): 216-221.
- [17] Goudevenos J, Tselepis AD, ViniMP, et al. Platelet-associated and secreted PAF-acetylhydrolase activity in patients with stable angina: sequential changes of the enzyme activity after angioplasty [J]. *Eur J Clin Invest* 2001 **31** (1): 15-23.
- [18] Tununen P, Puhakka H, Rutanen J, et al. Intravascular adenovirus-mediated lipoprotein-associated phospholipase A2 gene transfer reduces neointima formation in balloon-denuded rabbit aorta [J]. *Atherosclerosis* 2005 **179** (1): 27-33.
- [19] Macphee CH, Nelson JJ, Zaleski A. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as a target of therapy [J]. *Current Opin Lipid*, 2005 **16** (4): 442-446.
- [20] Carlquist JF, Muhlestein JB, Anderson JL. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a new biomarker for cardiovascular risk assessment and potential therapeutic target [J]. *Expert Review Molec Diagnost* 2007 **7** (5): 511-517.
- [21] 梁江红, 魏麓云. 脂蛋白相关磷脂酶 A2在缺血性卒中风险评估中的价值 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008 **16** (1): 72-74.
- [22] Tununen P, Jalkanen J, Heikura T, et al. Adenovirus-mediated gene transfer of Lp-PLA2 reduces LDL degradation and foam cell formation in vitro [J]. *J Lipid Resear*, 2004 **45** (9): 1633-639.
- [23] Diego VP, Rainwater DL, Wang XL, et al. Genotype × adiposity interaction linkage analyses reveal a locus on chromosome 1 for lipoprotein-associated phospholipase A2: a marker of inflammation and oxidative stress [J]. *AM J Human Genet* 2007 **80** (1): 168-177.
- [24] Ninio E, Tregouet D, Carrier JL, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase and PAF-receptor gene haplotypes in relation to future cardiovascular event in patients with coronary artery disease [J]. *Human Molecular Genet* 2004 **13** (13): 1341-351.

(此文编辑 李玲玲)