

脂蛋白在动脉粥样硬化发病中的分子机制及其干预

陈雅琴, 赵水平

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 脂蛋白; 基质分子; 脂蛋白脂酶; 分泌性鞘磷脂酶; 蛋白多糖

[摘要] “滞留-应答”学说提出动脉粥样硬化的起始步骤是含载脂蛋白 B 的脂蛋白与内皮下基质相互作用导致脂蛋白在内膜下滞留。鉴于动脉粥样硬化发病的分子机制, 直接干预血浆脂蛋白已取得显著的临床效益。阻止含载脂蛋白 B 的脂蛋白与特异性内皮下基质分子的相互作用及阻断辅助分子, 如脂蛋白脂酶、分泌性鞘磷脂酶, 为治疗动脉粥样硬化性疾病提供新的干预靶点。

[中图分类号]

[文献标识码] A

目前, 以动脉粥样硬化为病理基础的心脑血管疾病是发病率和病死率最高的疾病, 但动脉粥样硬化的发病机制至今尚未明确。1995年, Williams等对动脉粥样硬化的发病机制提出了“滞留-应答”学说, 强调动脉粥样硬化的起始步骤是含载脂蛋白 B 的脂蛋白 (主要是低密度脂蛋白) 在动脉壁易损区滞留。继而滞留的脂蛋白被修饰并诱发生物学应答^[1], 促进动脉粥样硬化的发展。随着对脂蛋白滞留分子机制认识的逐渐加深, 该学说得到逐步公认。

1 脂蛋白与基质分子的相互作用

内皮下脂蛋白滞留是由致动脉粥样硬化脂蛋白和内皮下基质分子之间的物理作用所介导的。内皮下基质分子包括蛋白聚糖、弹力蛋白、纤维连接蛋白等, 分布在细胞外间质及内膜细胞表面^[2]。其中, 细胞外蛋白聚糖是致内皮下脂蛋白滞留最重要的基质分子。蛋白聚糖负电荷的糖基与脂蛋白 (主要是载脂蛋白 B) 的蛋白成分正极区域的相互作用很可能参与了脂蛋白的滞留反应。在粥样硬化早期, 包含硫酸软骨素侧链的蛋白聚糖在脂蛋白滞留过程中至关重要。最近有研究比较人类动脉粥样硬化易感区和抵抗区的内膜蛋白聚糖, 发现含硫酸软骨素侧链的蛋白聚糖在易感区沉积^[3]。而对蛋白聚糖结合域缺陷小鼠的一系列体内研究显示, 硫酸软骨素结合位点突变将导致低密度脂蛋白与蛋白聚糖的结合力减弱, 极大的减轻了早期动脉粥样硬化^[4]。这些研究证实脂蛋白-蛋白聚糖相互作用导致了早期粥样硬化的发生。

尽管硫酸软骨素结合位点突变的小鼠早期动脉粥样硬化减轻, 在病程发展过程中, 其动脉粥样硬化的进展最终与对照组无明显差异, 这种“后来居上”现象提示在病变发展过程中脂蛋白滞留的分子机制发生变化。事实上, 致粥样硬化脂蛋白更容易滞留在病变的血管壁内。这种现象可能与

病变区致滞留的脂蛋白修饰^[5]、参与脂蛋白滞留过程的损伤特异性分子合成^[6]和损伤巨噬细胞分泌的辅助分子增多^[7]有关。而滞留机制的变化加速了动脉粥样硬化的发展进程。

另外, 缺乏蛋白聚糖中核心蛋白多糖的高血脂鼠动脉粥样硬化病变范围增大, 而高表达核心蛋白多糖的高血脂症鼠病变范围减小^[8], 提示蛋白聚糖中核心蛋白的抗动脉粥样硬化作用。

2 辅助分子的作用

体内、外研究表明某些基质分子也参与了脂蛋白滞留过程, 包括脂蛋白脂酶、分泌性鞘磷脂酶、分泌性磷脂酶 A2 等。研究这些分子在脂蛋白滞留过程中的作用机制有助于进一步明确动脉粥样硬化发病机制, 也为其疾病的治疗提供新靶点。

2.1 脂蛋白脂酶

体外研究显示, 脂蛋白脂酶存在与脂蛋白及蛋白聚糖结合的位点, 可以通过非酶性桥接机制显著加强两者的相互作用^[1,2], 并且脂蛋白脂酶可增强分泌性鞘磷脂酶致脂蛋白滞留的能力, 然而体内试验研究提示脂蛋白脂酶缺失或过表达对动脉粥样硬化的作用具有两面性: 即在动脉壁内桥接载脂蛋白 B 脂蛋白和基质分子产生致动脉粥样硬化作用, 在血浆中通过脂蛋白脂酶介导的脂解作用和促进肝脏清除脂蛋白产生抗动脉粥样硬化作用。研究显示, 脂蛋白脂酶球形杂合子缺失的载脂蛋白 E -/- 小鼠尽管存在血脂紊乱, 但粥样硬化斑块体积减小, 而血浆中脂蛋白脂酶过表达小鼠血浆甘油三酯及胆固醇水平下降, 斑块体积也减小^[9]。再一次证明了脂蛋白脂酶在粥样硬化中的双重效应。胆固醇饲养家兔模型中过表达失活的脂蛋白脂酶, 颈动脉中的粥样斑块体积显著增大^[10], 而骨髓移植技术证明低密度脂蛋白受体^{-/-}小鼠巨噬细胞释放的脂蛋白脂酶具有致动脉粥样硬化作用, 这些证据支持脂蛋白脂酶的双面性, 即在血管壁中脂蛋白脂酶具致动脉粥样硬化性, 与其增强脂蛋白-基质桥接的致滞留作用一致; 血浆中的脂蛋白脂酶促进致粥样硬化脂蛋白的代

[收稿日期] 2008-10-16 [修回日期] 2009-02-01

[作者简介] 陈雅琴, 硕士研究生, 研究方向为血脂与动脉粥样硬化, Email为 aviva9903@yahoo.com.cn 赵水平, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为血脂与动脉粥样硬化。

谢,因而具抗动脉粥样硬化作用。

2.2 分泌性鞘磷脂酶

由内皮细胞和巨噬细胞分泌的分泌性鞘磷脂酶可粘附低密度脂蛋白表面的鞘磷脂,导致脂蛋白颗粒聚集融合,使脂蛋白体积增大至不能从动脉壁移出。低密度脂蛋白聚集后更易被巨噬细胞摄入,形成巨噬细胞源性泡沫细胞。此外,低密度脂蛋白鞘磷脂水解直接增强低密度脂蛋白对动脉壁蛋白聚糖的亲合力。体内试验证据支持分泌性鞘磷脂酶的致动脉粥样硬化作用,如在动脉粥样硬化病变中存在分泌性鞘磷脂酶,并且从人体及动物粥样斑块中提取聚集的脂蛋白,发现分泌性鞘磷脂酶的代谢产物——神经酰胺增加。在体外,脂蛋白脂酶与分泌性鞘磷脂酶协同作用,促进脂蛋白滞留和泡沫细胞形成。最近研究发现,缺失分泌性鞘磷脂酶的载脂蛋白 E-/-小鼠与血浆脂蛋白水平相似的载脂蛋白 E-/-小鼠配对比较,脂蛋白滞留减少,早期动脉粥样硬化损伤减轻,支持分泌性鞘磷脂酶致脂蛋白滞留作用^[11]。

2.3 分泌性磷脂酶 A2

分泌性磷脂酶 A2可粘附脂蛋白磷脂卵磷脂、溶血性磷脂酰胆碱和游离脂肪酸。与分泌性鞘磷脂酶相似,分泌性磷脂酶 A2在动物及人类动脉粥样硬化病变中表达,并在粥样斑块中介导脂蛋白水解。体外分泌性磷脂酶 A2水解的脂蛋白更易融合,对动脉壁蛋白聚糖亲合力增强,促进巨噬细胞源性泡沫细胞形成。研究表明,表达(h)型分泌性磷脂酶 A2的低密度脂蛋白-/-小鼠粥样斑块体积增大而特异性骨髓源性细胞中缺乏分泌性磷脂酶 A2的低密度脂蛋白受体-/-小鼠动脉粥样硬化斑块体积减小^[12-13]。然而,由于酶具有多样性生物学效应,体内分泌性磷脂酶 A2与粥样硬化的关系有待进一步探讨。

3 干预脂蛋白的现状

脂蛋白滞留-应答学说的提出和发展是人们对动脉粥样硬化发病机制的新认识,为动脉粥样硬化性疾病的降脂治疗提供了坚实的理论依据。基于降低血浆载脂蛋白 B脂蛋白以减少其进入并滞留在内皮下的可能性,目前最有效的防治动脉粥样硬化血管疾病的措施是降低血浆低密度脂蛋白。HMG-CoA 抑制剂——他汀类药物既能抑制胆固醇的生物合成,又能加速肝脏清除血浆低密度脂蛋白,是目前降低密度脂蛋白胆固醇最强效的药物。5项具有里程碑意义的大规模临床试验(4S、CARE、LIPID、WOSCOPS、AFCAPS/Tex-CAPS)证实他汀类药物可以大幅度降低血浆低密度脂蛋白,延缓动脉粥样硬化进程,降低冠心病的发病率及死亡率。纳入14项他汀试验共计90056例患者的胆固醇治疗试验协作组(CTT)的荟萃分析表明,他汀类药物干预5年可有效降低低密度脂蛋白胆固醇达55%,减少心血管事件达21%^[14]。对于冠心病及其高危人群,强化降脂能得到更大的临床效益。在PROVE-IT试验中,急性冠状动脉综合征亚组低密度脂蛋白胆固醇水平在0.5~1 mmol/L (20~40 mg/dL)的患者,心血管事件发生率最低^[15]。另一项对平均低密度脂蛋白胆固醇水平约<1.3 mmol/L (50 mg/dL)的冠心病

或糖尿病患者使用他汀类药物治疗2年,预后得到改善^[16]。贝特、烟酸类药物及胆酸螯合剂也是临床常用的降脂药物,对降低血浆低密度脂蛋白胆固醇有一定的疗效。普罗布考又名丙丁酚,对于家族性高胆固醇血症具有特别疗效,其降脂作用确切,短期用药(<3个月)降低总胆固醇10%~20%,降低低密度脂蛋白胆固醇10%~20%,长期用药可降低总胆固醇20%~25%。肠道胆固醇吸收的选择性抑制剂——依折麦布与其他降脂药物的作用机制完全不同,为临床降脂治疗提供了一个新的选择。依折麦布可有效降低血浆低密度脂蛋白胆固醇水平18%~25%。这些降脂药物可以联合应用,以获得更好的降脂疗效,减少药物副作用^[17]。

在粥样硬化领域,他汀及其他降脂药物的发展成功地将动脉粥样硬化发病的分子机制转化为患者的临床受益,不仅为脂蛋白滞留-应答学说提供了直接证据,同时也坚定了将理论提供的新治疗靶点转化为临床治疗措施的信心。

4 干预脂蛋白及致滞留分子的展望

对脂蛋白滞留分子机制的新认识,为防治动脉粥样硬化疾病提供了理论干预靶点。

4.1 干预脂蛋白的进展

作为调节血浆脂蛋白浓度的药物,已经取得新的进展。鲨烯合酶抑制剂已进入Ⅲ期临床,甲状腺激素β受体激动剂、抑制载脂蛋白B100合成的反义核苷酸类药物及微粒体甘油三酯转运蛋白抑制剂均已进入Ⅲ期临床试验。前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/9型Kexin丝氨酸蛋白酶(PCSK9)靶向作用于细胞表面的低密度脂蛋白受体,使其降解以减少低密度脂蛋白胆固醇的代谢,PCSK9基因抑制剂也正在临床前期研究中^[18]。

4.2 特异性抑制脂蛋白和内皮下基质分子相互作用

鉴于致动脉粥样硬化脂蛋白的滞留机制,阻止内皮下脂蛋白-蛋白聚糖相互作用的措施有可能阻止粥样硬化的产生。有研究表明胶原蛋白XIII蛋白水解释放的片段——内皮他汀在体外干扰低密度脂蛋白与基质分子相互作用,在体内阻止低密度脂蛋白滞留及动脉粥样硬化的发生,进一步研究发现内皮他汀在粥样硬化病变进展期表达降低,支持以内皮他汀为基础的复合物的潜在治疗作用^[19]。载脂蛋白B100含有硫酸软骨素结合位点,可增强小而密低密度脂蛋白及分泌性磷脂酶A2修饰后的低密度脂蛋白与蛋白聚糖的结合活性。有趣的是,接种含硫酸软骨素结合位点的载脂蛋白B100免疫制剂的小鼠,动脉粥样硬化斑块减少约60%。因此以载脂蛋白B100特异性位点为靶目标,阻止内皮下脂蛋白滞留而不影响正常的低密度脂蛋白在肝脏中的代谢值得研究^[20]。

调控蛋白聚糖或其多糖成分合成的关键步骤也可能成为干预靶点。蛋白聚糖的生物合成包括核心蛋白的合成、糖基转移酶、硫转移酶反应,并受多种因子调节,包括转移生长因子β、血小板源性生长因子、氧化型低密度脂蛋白和血管紧张素Ⅱ^[21]。因此,可以研发药物直接改变蛋白聚糖合成或干预调节因子。如果药物调控可以抑制致滞留蛋白聚糖

的合成,则可减少脂蛋白滞留,延缓动脉粥样硬化的发展。然而,内皮下脂解和富含甘油三酯的脂蛋白的肝代谢也包含脂蛋白-蛋白聚糖作用,但这些生理作用与粥样硬化过程中的滞留反应有差别^[22]。因此,特异性阻断内皮下基质分子与脂蛋白相互作用有可行性。

4.3 抑制辅助分子的作用

以辅助分子为靶点为治疗动脉粥样硬化性疾病带来新的希望。降低分泌性鞘磷脂酶、分泌性磷脂酶 A2 的酶活性可能阻断其辅助滞留作用。分泌性鞘磷脂酶暂时未发现明确的生理功能。敲除分泌性鞘磷脂酶的基因工程鼠模型也未显示中枢神经系统功能障碍及系统疾病,因此抑制分泌性鞘磷脂酶活性具可行性。但是分泌性磷脂酶 A2 具有重要的生理功能,因此酶抑制剂必须特异性作用于促病变进展的靶点。事实上,脂蛋白相关分泌性磷脂酶 A2 抑制剂——Dara-pladib 已研发,最新临床试验显示它能阻止粥样斑块坏死核心的进展^[23]。而脂蛋白脂酶与乳糜微粒的作用对于乳糜微粒水解和肝脏摄取脂质残粒十分重要,特异性阻断脂蛋白脂酶与蛋白聚糖和/或脂蛋白的物理作用(如非酶性桥接作用)可避免直接抑制酶活性导致的乳糜微粒代谢障碍。最近有研究提示内皮组织中脂蛋白脂酶-乳糜微粒架构分子不是蛋白聚糖^[24]。因此,研究特异性阻断脂蛋白脂酶对脂蛋白和蛋白聚糖桥梁作用的药物将会使动脉粥样硬化性疾病的防治取得新进展。

总之,将脂蛋白“滞留-应答”学说转化为临床实践,一方面继续针对心血管疾病患者及高危人群进行降脂治疗,阻断或逆转动脉粥样硬化病变进展,从而使更多的冠心病及其高危者受益;另一方面,进一步完善对动脉粥样硬化发病机制的认识,把新的理论干预靶点变为现实,从根本上防治动脉粥样硬化的发生发展,为最终克服被称为“头号杀手”的冠心病带来希望。

[参考文献]

- [1] Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995; **15**: 551-561.
- [2] Kwon GP, Schroeder JL, Marcelo J, et al. Contribution of macromolecular structure to the retention of low-density lipoprotein at arterial branch points [J]. *Circulation*. 2008; **117**: 2 919-927.
- [3] Takusan P, Bedri S, Yang S, et al. Analysis of intimal proteoglycans in atherosclerosis-prone and atherosclerosis-resistant human arteries by mass spectrometry [J]. *Mol Cell Proteomics*. 2005; **4**: 1 350-357.
- [4] V kramadithyan RK, Kako Y, Chen G, et al. Atherosclerosis in perlecan heterozygous mice [J]. *J Lipid Res*. 2004; **45**: 1 806-812.
- [5] Williams KJ, Feig JE, Fisher EA. Rapid regression of atherosclerosis insights from the clinical and experimental literature [J]. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2008; **5** (2): 91-102.
- [6] Lees AM, Deconinck AE, Campbell BD, et al. Atherin: a newly identified lesion-specific LDL-binding protein in human atherosclerosis [J].

Atherosclerosis. 2005; **182**: 219-230.

- [7] Gustafsson M, Levin M, Skolek K, et al. Retention of low-density lipoprotein in atherosclerotic of the mouse: evidence for a role of lipoprotein lipase [J]. *Circ Res*. 3Q 2007; DOI 10.1161/CIRCRESAHA.107.149666.
- [8] Al Haj ZA, Caligiuri G, Sainz J, et al. Decorin overexpression reduces atherosclerosis development in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Atherosclerosis*. 2006; **187**: 31-39.
- [9] Wang J, Xian X, Huang W, et al. Expression of LPL in endothelial-intact artery results in lipid deposition and vascular cell adhesion molecule-1 up-regulation in both LPL and ApoE-deficient mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007; **27**: 197-203.
- [10] 吴晓君,王瑾瑜,陈明哲,等. 家兔动脉壁损伤后野生型脂蛋白脂酶的高表达与动脉粥样硬化早期病变形成的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003; **11** (5): 65-73.
- [11] Devlin CM, Leventhal AR, Kuriakose G, et al. Acid sphingomyelinase promotes lipoprotein retention within early atheromata and accelerates lesion progression [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008; **28**: 1 723-730.
- [12] Bostrom MA, Boyanovsky BR, Jordan CT, et al. Group V secretory phospholipase A2 promotes atherosclerosis: evidence from genetically altered mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007; **27**: 600 - 606.
- [13] 周秀萍,高应东. ③A 分泌型磷脂酶 A2 与心血管疾病 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005; **13** (2): 239-241.
- [14] Keamey IM, Blackwell L, Collins R, et al. Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18 686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis [J]. *Lancet*. 2008; **371**: 117.
- [15] W iwiott SD, Cannon CP, Morrow DA, et al. Can low-density lipoprotein be too low? The safety and efficacy of achieving very low low-density lipoprotein with intensive statin therapy: a PROVE IT-TIMI 22 substudy [J]. *J Am Coll Cardiol*. 2005; **46**: 1 411-416.
- [16] Leeper NJ, Ardehali R, Degoma EM, et al. Statin use in patients with extremely low low-density lipoprotein levels is associated with improved survival [J]. *Circulation*. 2007; **116**: 613-618.
- [17] 张新波,王绿娅. 新型胆固醇吸收抑制剂 Ezetimibe 的研究进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2007; **12** (3): 258-261.
- [18] Rader DJ, Daugherty A. Translating molecular discoveries into new therapies for atherosclerosis [J]. *Nature*. 2008; **451** (7181): 904-913.
- [19] Zeng X, Chen J, Miller YI, et al. Endostatin binds biglycan and LDL and interferes with LDL retention to the subendothelial matrix during atherosclerosis [J]. *J Lipid Res*. 2005; **46**: 1 849-859.
- [20] Tabas I, Williams KJ, Boren J. Subendothelial lipoprotein retention as the initiating process in atherosclerosis: update and therapeutic implications [J]. *Circulation*. 2007; **116** (16): 1 832-844.
- [21] Huang F, Thompson JC, Wilson PG, et al. Angiotensin ③ increases vascular proteoglycan content preceding and contributing to atherosclerosis development [J]. *J Lipid Res*. 2008; **49**: 521-530.
- [22] MacArthur M, Bishop JR, Stanford KI, et al. Liver heparan sulfate proteoglycans mediate clearance of triglyceride-rich lipoproteins independently of LDL receptor family members [J]. *J Clin Invest*. 2007; **117**: 153-164.
- [23] Sernuys W, Garcia-Garcia HM, Busman P, et al. Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A2 inhibitor darapladib on human coronary atherosclerotic plaque [J]. *Circulation*. 2008; **118**: 1 172-182.
- [24] Beigneux AP, Davies BS, Gin P, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored high density lipoprotein-binding protein 1 plays a critical role in the lipolytic processing of chylomicrons [J]. *Cell Metab*. 2007; **5**: 279-291.

(此文编辑 文玉珊)