

内皮脂肪酶与高密度脂蛋白及动脉粥样硬化的关系

郑明慧 综述, 赵慧颖 审校

(吉林大学第一医院心血管中心, 吉林省长春市 130021)

[关键词] 内皮脂肪酶; 高密度脂蛋白; 动脉粥样硬化

[摘要] 高密度脂蛋白具有一定的抗动脉粥样硬化的作用, 而内皮脂肪酶可水解高密度脂蛋白, 进而影响动脉粥样硬化的进展, 故深入探讨三者关系, 可能为动脉粥样硬化相关疾病的防治提供崭新的靶点。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Relationship of Endothelial Lipase with High Density Lipoprotein and Atherosclerosis

ZHENG Ming-Hui, and ZHAO Hui-Ying

(Center of Cardiovascular, The First Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin 130021, China)

[KEY WORDS] Endothelial Lipase(EL); High Density Lipoprotein(HDL); Atherosclerosis

[ABSTRACT] Research shows that high density lipoprotein (HDL) has a certain resistance to atherosclerosis, but endothelial lipase could hydrolyse high density lipoprotein, then it would influence progression of atherosclerosis, so further discussions of the relationship among the three roles, possibly could provide the new targets for the prevention of atherosclerosis related disease.

内皮脂肪酶(endothelial lipase EL)为脂肪酶家族的新成员,由 Hirata 等于 1999 年首次从培养的人脐静脉内皮细胞中克隆出来。内皮脂肪酶的作用同其他的脂肪酶家族成员类似,调控着脂蛋白的新陈代谢,其中 EL 主要调控体内高密度脂蛋白(HDL)的代谢和高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)的水平,而血浆 HDL 水平与冠心病的发生存在着负性相关^[1],故揭示内皮脂肪酶与 HDL 及冠心病之间的关系,可能为冠心病的防治开辟新的切入点。

1 内皮脂肪酶的生理、生化及分子生物学特性

内皮脂肪酶主要由内皮细胞合成并分泌,基因位于 18 号染色体,由 LIPG 基因编码,成熟的 EL 由 482 个氨基酸组成,结构特点为 68 kDa 的糖蛋白,在内皮细胞、巨噬细胞、胎盘、肝脏、肺、卵巢、肾脏、冠状动脉粥样硬化斑块、甲状腺及睾丸中均有表达,有较强的磷脂酶活性和较弱的甘油三酯酶活性,通过作用于内皮细胞的局部,调控着脂蛋白的新陈代谢,

其中主要调控 HDL 的代谢和 HDLC 的水平,表现为水解 HDL 并促进其从循环中的清除,进而降低 HDL 受体介导的胆固醇的逆转运,同时在血管壁的局部促进循环血中白细胞的黏附、迁移和含载脂蛋白 B 的脂蛋白的沉积,其与脂蛋白脂肪酶(LPL)和肝脂肪酶(HL)分别有 44% 和 41% 的同源性^[2]。内皮脂肪酶本身的表达量随着个体的发育成熟呈逐步下降趋势,同时,有研究发现人类 EL mRNA 旁侧序列 5'端的 11.4 kb 和 3'端的 9.9 kb 是小肠、卵巢、睾丸、乳腺、脑、肺脏、主动脉、肾上腺和脂肪组织表达 EL 的调控序列,而 5'端的 11.4 ~ 27.4 kb 和 3'端的 9.9 ~ 11.4 kb 是肾脏表达 EL 的调控序列^[3]。

2 内皮脂肪酶表达和活性的调控

内皮脂肪酶的表达及活性均受多种因素调控。影响其表达的调控因素如下:脂多糖通过 Toll 样受体的激活可诱导巨噬细胞 EL 的表达^[4];TNF- α 、IL-1 β 和生物学因素可诱导内皮细胞 EL 的表达;TNF-

[收稿日期] 2011-07-15

[作者简介] 郑明慧,硕士,主要从事高血压、动脉硬化的基础与临床研究,电话 15044059769, E-mail 为 418034323@qq.com。通讯作者赵慧颖,博士,教授,硕士研究生导师,主要从事高血压、动脉硬化的基础与临床研究, E-mail 为 zhaohuiying163@163.com。

α 、IL-1 β 、血管紧张素 II 和高血压可诱导平滑肌细胞 EL 的表达^[5];实验性低内毒素血症可使人体 EL 浓度明显增加^[6];炎症标记物 C 反应蛋白、IL-6 和 SPLA2-IIa 浓度与人体血浆 EL 含量明显相关;他汀类药物减少内皮细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞 EL 的表达^[7-8];细胞胆固醇含量可能调控肝脏 EL 的表达;野生型小鼠高脂饮食饲养能减少肝脏 EL 的表达,而有报道在 apoE^{-/-} 鼠类,肝脏的 EL 表达下降而动脉的 EL 表达增高;另有研究表明,肝脏仅在内皮细胞中有高水平的 EL 表达,而肝实质细胞中不见其表达。此外,EL 也受到 NF- κ B 介导的炎症反应的调控^[9]。同时,有实验发现,在人类颈动脉内膜动脉硬化处的坏死核和纤维帽中可检测到内皮脂肪酶信使 RNA 和蛋白质,且当单核细胞转化成巨噬细胞时 EL mRNA 的表达量增多,而当巨噬细胞变成泡沫细胞时,其表达量则减少^[10]。综上可见,EL 的表达受多种因素影响。同时,内皮脂肪酶的活性亦受较多因素的影响,例如:①内皮脂肪酶的糖基化作用可影响其磷脂酶活性。EL 有 5 个潜在的 N 端糖基化位点,通过天冬酰胺(Asn)的定点突变可明确每个位点的效应。Skropeta 等^[11]报道内皮脂肪酶 N118A、N375A 和 N473A 突变减少了磷脂酶活性,而 N62A 突变的 EL 相较于野生型的 EL,其磷脂酶活性却增加了 6 倍。有报道 Asn-62 突变显著减少 EL 的分泌;Asn-373 突变减少 EL 的活性和它的酯连功能;Asn-116 突变增加了其磷脂酶的活性。这些数据在 EL 的糖基化效应上存在矛盾,部分原因可能是研究所用的底物不同。②载脂蛋白 A-II (ApoA-II)可能为内源性 EL 的活性抑制剂。研究显示 ApoA-II 可抑制多种与 HDL 新陈代谢相关的酶,Brcedl 等^[12]报道人类 apoA-I/A-II 双基因转染的小鼠较 apoA-I 单基因转染的小鼠,其 EL 活性更低。③Griffon 等^[13]报道 EL 在人类血浆中形成二聚体,这些二聚体的形成是维持 EL 活性的必需因素。④EL 被 PC(蛋白原转化酶)调控,PC 诱导的特定位点的蛋白质的水解,在许多生物学代谢通路中发挥了关键作用。有研究发现 PC 可把 EL 分解成为 40 kDa 和 28 kDa 的碎片并使其失活,而 Profurin(一种 PC 的抑制剂)的过量表达导致野生型小鼠血浆 HDLC 水平的下降,但是这种效应在 EL^{-/-} 的鼠类中并没有观察到。Profurin 的调控作用主要表现在抑制 EL 的体内清除并增加磷脂酶的活性^[1]。⑤Shimamura 等^[14]发现,EL 的内源性抑制剂 ANGPTL3 缺陷小鼠体内血浆 HDL 水平较低,而磷脂酶活性增高,说明在这些小鼠体内,EL 的活性被提高,

故考虑 ANGPTL3 可能通过结构域 N 末端肝素结合位点抑制 EL 的磷脂酶活性。PC 通过裂解 EL 以抑制其作用降低了 ANGPTL3 的活化,进而可能减弱 ANGPTL3 对 EL 活性的抑制作用。因此,PC 对 EL 的调控的直接方式为裂解 EL 蛋白,间接方式为调控肝脏内 ANGPTL3 的水平。故表明肝脏的 PC-ANGPTL3-EL-HDL 通路是控制 HDL 新陈代谢和胆固醇的体内平衡的一个新型机制^[15]。⑥ Ben-zeer 等^[16]经试验证实,内皮脂肪酶的活化需要脂肪酶成熟因子 1(Lmfl)的参与,在内皮脂肪酶成熟因子 1 基因缺失突变的细胞中不能产生有活性的 EL,但经外源引入野生型 Lmfl 基因进行重构后,即可恢复产生活性酶的功能,EL 在内质网上的成熟依赖于脂肪酶成熟因子 1 的参与,从而证明脂肪酶成熟因子是 EL 发挥活性的必须因素。

3 内皮脂肪酶与血浆高密度脂蛋白及动脉粥样硬化的关系

目前,越来越多的研究证实,EL 是血浆 HDLC 的主要决定因素。EL 主要表达磷脂酶 A1 的活性,同时在 Sn-1 位点水解高密度脂蛋白磷脂成分。EL 在细胞表面介导 HDL 与蛋白多糖结合后,水解 HDL 产生溶血卵磷脂、游离脂肪酸和低脂的 apoA-I,而 HDL 本身的微粒体积则会由于磷脂含量的减少而变小。有报道 EL 能有效地把 HDL 磷脂裂解为非酯型游离脂肪酸(NEFA)并把其提供给表达 EL 的细胞。EL 的过量表达加速肾脏对 apoA-I 的代谢和 SR-BI 介导的肝脏对胆固醇的摄取,并促进了 HDL 颗粒的重构及其在体内的代谢^[1]。实验表明,血浆 HDLC 水平在内皮脂肪酶基因敲除的小鼠中增高,在转染内皮脂肪酶基因的小鼠中下降,表明 EL 与血浆 HDLC 水平负性相关的计量效应。在 EL^{-/-} 的小鼠 HDL 的微粒体积增加并且其从血浆的清空延迟。而进一步的研究显示,人类血浆 EL 的量与 HDLC 的水平也存在负性相关。故通过抑制 EL 可减缓 HDL 和 apoA-I 的分解代谢进而升高血浆 HDLC 的水平。另外,EL 的基因多态性与 HDLC 水平也存在着一定的相关性,尤其 Thr111 Ile 突变可导致血浆 HDLC 水平升高^[3]。

由此可知 EL 的量与血浆 HDLC 的水平存在着此消彼长的负性相关效应,而 HDL 存在着明确的抗动脉粥样硬化(As)作用,其机制与促进胆固醇的逆转运有关,它能介导细胞内游离胆固醇从胞浆转运至胞膜,进而转移至细胞外并最终转运回肝脏,防止

胆固醇在血管壁的沉积^[17]。此外,HDL 微粒本身及其主要的相关蛋白 apoA-I 还存在广泛的抗氧化、抗恶性细胞增殖、抗内毒素、抗炎症反应及抑制免疫反应的作用^[18,19]。而胆固醇在血管壁的沉积、氧化应激、炎症反应、内毒素作用,免疫反应等促进 As 的发生、发展。

HDLC 作为抗 As 的有益胆固醇,EL 表达水平的升高可通过一系列的分解及代谢过程,导致其血浆水平的下降,由此可以推测,EL 有一定的促 As 作用,而部分的研究报道也支持此观点。有报道显示 EL^{-/-}小鼠的巨噬细胞或 EL 基因未表达的巨噬细胞,其摄取 LDL 和对 ox-LDL 的脂解能力明显降低^[20],故考虑 EL 在血管内皮细胞表面可对 LDLC 向动脉壁内的积聚存在一定的促进作用。Kojima 等^[21]报道,EL^{-/-}小鼠单核细胞在内皮细胞的黏附减少,而 EL 基因转染的小鼠中增加。而单核细胞在内皮细胞的黏附,巨噬细胞对低密度脂蛋白的摄取,为 As 病变形成的初始阶段,上述实验结果提示,EL 对此阶段的发生存在一定的促进作用。同时 EL 在炎症刺激后表达升高,考虑其可能在 As 病变处存在的炎症反应的恶性循环中扮演了关键角色。实验发现,他汀类药物通过抑制 EL 而减少了磷脂的水解及促炎因子 Lyso-PC 的产生,由此考虑 EL 可能增加促炎因子 Lyso-PC 的产生^[22]。另有报道显示,EL 介导的脂蛋白磷脂水解后产生的溶血卵磷脂可抑制内皮依赖性血管舒张,激活内皮细胞表达血管细胞黏附分子 I 和细胞间黏附分子 I,并刺激平滑肌细胞的增殖。此外,由于 EL 介导 HDLC 水解,使 HDLC 抑制 LDLC 氧化作用减弱,HDLC 水解后磷脂含量减少,刺激肝外组织特别是血管壁平滑肌细胞及巨噬细胞胆固醇外流减少,进而加重 As 的发生、发展^[23]。而 Riederer 等^[24]研究提示内皮脂肪酶及内皮脂肪酶介导产生的溶血卵磷脂可促进内皮细胞 IL-8 的表达,而 IL-8 为炎症反应的趋化因子,故 EL 对其的调控作用亦表明其自身在 As 发展中的促进作用。研究发现,EL 也可促进循环血中白细胞黏附到血管内皮上,引起血管内皮细胞功能损害,触发了 As 过程的始动环节。有研究表明,通过质粒转染方法高表达 EL 的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)可促进内皮细胞迁移,但内皮细胞增殖能力明显减弱,生长速度降低,凋亡率增加,但是却能促进共培养的平滑肌细胞的增殖,加重迁移,但平滑肌细胞所表达的 EL 量减弱,说明当血管内皮细胞受到致 As 的因素作用后,除可引起自身增殖减慢、迁移增强、凋亡增加外,还可引起相邻的平滑肌细胞迁移增加、增值加

快,导致内膜增生,加重 As 形成^[25,26]。有研究通过建立高脂饮食诱导大鼠 As 模型观察到 12 周高脂饮食诱导大鼠血脂紊乱和血管粥样斑块形成,并发现 EL 在发生 As 的血管中表达增加。综合上述研究结果,提示 EL 确实有一定的促 As 作用,尤其在 As 病变的局部。

虽然绝大多数的实验提示内皮脂肪酶存在一定的促 As 作用,但是在较少数的实验里却发现 EL 亦存在一定的抗 As 作用,例如:EL 的过量表达减少小鼠血浆中 apoB 的水平。在 apoE 或者 LDL 受体缺失背景下,EL 缺失增加了 VLDLC 的水平。考虑出现该种情况的原因可能由于个体细胞类型,炎症程度及生物种类的不同,EL 在 As 病变形成中发挥了不同的作用。例如:在 apoE^{-/-}小鼠,血管 EL 的上升加速了 As 的发展,而在 LDLR^{-/-}小鼠,肝脏 EL 缺陷导致的 VLDL 的部分上升却可能是 As 发展的关键因素^[27]。上述可说明,EL 在不同组织类型中发挥的作用可能对 As 的发生、发展过程分别起到保护或促进的功能。

综上,EL 似乎通过多种途径调节 As 病变的发生、发展,在不同表达 EL 的组织、细胞或者炎症存在的情况下,其效应和机制及所产生的结果是复杂而不同的。目前对 EL 的抑制存在两种方法:①基因敲除。②通过药物作用使其失活。Hara 等^[28]通过小鼠试验,发现 EL^{-/-}的小鼠,其 HDL 颗粒的抗炎及抗 As 功能明显增强,说明抑制 EL 可增高血浆中有益胆固醇的含量。另有报道显示:血管中的 EL 可通过介导脂质进入血管壁并下降血浆 HDLC 水平而发挥一定的促 As 作用,而肝脏的 EL 可能促进肝对胆固醇的摄取而发挥一定的抗 As 作用^[1],故通过药物选择性的抑制血管管壁中的 EL 可能对防治 As 产生有益的作用。而最近的实验表明,存在于十字花科植物里的具有抗氧化和抗炎症作用的萝卜硫素(SFN)可通过抑制 NF- κ B 途径抑制人脐静脉内皮细胞上 EL 的表达和活化,从而对 HDL 水平产生有益影响^[9]。综上,我们认为 EL 有可能成为一个潜在的治疗靶点,通过抑制其活性或表达而增加 HDLC 的水平,防治或延缓 As 的发生、发展。针对此,研究者可以进一步的研发相关的 EL 的抑制剂或拮抗剂,例如选择性作用于局部血管壁的 EL 抑制剂或者类似于萝卜硫素这种从上游途径阻断 EL 形成的化学物质或生物制剂,进而减少其表达和活化,直接性的抑制其介导的炎症因子的表达或间接性的增高 HDL 的水平,从而减缓 As 的发生、发展,保护自身的脉管系统,从而为动脉硬化性疾病的

防治寻找一个新的途径。

4 结 语

内皮脂肪酶作为甘油三酯酶家族的新成员,其与血浆 HDLC 水平呈负性相关,各种炎性因子刺激、免疫反应、高脂饮食,均可使其表达含量增加,进而降低了 HDL 的水平,而血浆 HDL 有明确的抗 As 作用,血浆低水平的 HDL-C 已经成为 As 发生的独立危险因素,由此考虑抑制血浆 EL,进而间接升高血浆 HDL 可对冠状 As 病变产生有益影响,但目前多种研究报道综合显示:EL 对 As 的发生、发展所产生的影响作用尚未完全明确,绝大多数的研究结果主要显示其促 As 作用,但亦有少数资料提示其可能存在一定程度的抗 As 作用,二者的差异可能与其发挥作用的部位不同有关。然而,即使 EL 可能在 As 的发生、发展中存在着矛盾的作用,但越来越多的试验资料已表明,抑制 EL 的表达,可使 HDL 的水平升高,并减缓 As 病变的发生、发展,故通过对其进一步的深入研究及研发相关的 EL 抑制剂或拮抗剂,可为临床上 As 相关疾病的防治开辟一个崭新的方向。

【参考文献】

- [1] Yasuda T, Ishida T, Rader DJ, et al. Update on the role of endothelial lipase in high-density lipoprotein metabolism, reverse cholesterol transport, and atherosclerosis[J]. *Circ J*, 2010, 74: 2 263-270.
- [2] Annema W, Tietge UJ. Role of hepatic lipase and endothelial lipase in high-density lipoprotein - mediated reverse cholesterol transport [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2011, 13(3): 257-265.
- [3] 陈永宏, 周建忠. 内皮脂肪酶与动脉粥样硬化关系[J]. *心血管病学进展*, 2009, 30(3): 470-473.
- [4] Wang X, Jin W, Rader DJ. Upregulation of macrophage endothelial lipase by toll-like receptors 4 and 3 modulates macrophage interleukin-10 and -12 production [J]. *Circ Res*, 2007, 100: 1 008-015.
- [5] 杨晓静, 成丽英, 边云飞, 等. 白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 对大鼠主动脉平滑肌细胞内脂肪酶表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(3): 181-184.
- [6] Badellino KO, Wolfe ML, Reilly MP, et al. Endothelial lipase is increased in vivo by inflammation in humans [J]. *Circulation*, 2008, 117: 678-685.
- [7] Kojima Y, Ishida T, Sun L, et al. Pitavastatin decreases the expression of endothelial lipase both in vitro and in vivo [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87: 385-393.
- [8] 边云飞, 成丽英, 杨晓静, 等. 阿托伐他汀对肿瘤坏死因子 α 诱导的大鼠主动脉平滑肌细胞内脂肪酶的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008, 16(12): 957-960.
- [9] Kivela AM, Makinen PI, Jyrkkanen HK, et al. Suiforaphane inhibits endothelial lipase expression through NF- κ B in endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 213(1): 122-128.
- [10] Huang J, Qian HY, Li ZZ, et al. Role of endothelial lipase in ath-

erosclerosis [J]. *Transl Res*, 2010, 156(1): 1-6.

- [11] Skropeta D, Settasatian C, McMahon MR, et al. N-Glycosylation regulates endothelial lipasemediated phospholipid hydrolysis in apoE- and apoA-I-containing high density lipoproteins [J]. *Lipid Res*, 2007, 48: 2 047-057.
- [12] Broedl UC, Jin W, Fuki IV, et al. Endothelial lipase is less effective at influencing HDL metabolism in vivo in mice expressing apoA-II [J]. *Lipid Res*, 2006, 47: 2 191-197.
- [13] Griffon N, Jin W, Petty TJ, et al. Identification of the active form of endothelial lipase, a homodimer in a head-to-tail conformation [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284: 23 322-330.
- [14] Shimamura M, Matsuda M, Yasumo H, et al. Angiopoietin-like protein3 regulates plasma HDL cholesterol through suppression of endothelial lipase [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27: 366-372.
- [15] Jin W, Wang X, Millar JS, et al. Hepatic proprotein convertases modulate HDL metabolism [J]. *Cell Metab*, 2007, 6: 129-136.
- [16] Ben-zeev O, Hosseini M, Lai CM, et al. Lipase maturation factor 1 is required for endothelial lipase activity [J]. *Lipid Res*. 2011, 52(6): 1 162-169.
- [17] 贺全国, 蒋佩, 严鹏科, 等. 胆固醇流出对氧化性低密度脂蛋白诱导的巨噬细胞源性泡沫细胞凋亡的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2007, 17(22): 2 724-727.
- [18] 桑慧, 秦树存. 高密度脂蛋白的抗氧化作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(10): 871-873.
- [19] 赵战芝, 姜志胜. 高密度脂蛋白在动脉粥样硬化相关免疫及炎症反应中的双重作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15(12): 953-957.
- [20] Yasuda T, Hirata K, Ishida T, et al. Endothelial lipase is increased by inflammation and promotes LDL uptake in macrophages [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2007, 14: 192-201.
- [21] 杨欣, 任卫东, 马娜. 动脉粥样硬化兔血管内皮功能与黏附分子 VCAM-1 表达关系的研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2007, 17(3): 309-311.
- [22] Qiu G, Hill JS. Atorvastatin decreases lipoprotein lipase and endothelial lipase expression in human THP-1 macrophages [J]. *J Lipid Res*, 2007, 48: 2 112-122.
- [23] 朱敏华, 高广明, 刘群. 高血压患者内皮脂肪酶与肱动脉血流介导的内皮依赖性血管舒张功能的关系 [J]. *中华高血压杂志*, 2010, 18(2): 139-142.
- [24] Riederer M, Lechleitner M, Hrzenjak A, et al. Endothelial lipase and EL-generated lysophosphatidylcholines promote IL-8 expression in endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 214(2): 338-344.
- [25] 蔡高军, 何国平. 内皮脂肪酶与心血管疾病 [J]. *心脏杂志*, 2011, 23(3): 417-419.
- [26] 方玉强, 黄岚, 赵晓辉, 等. 高表达内皮脂酶对平滑肌细胞生物学特性的影响 [J]. *重庆医学*, 2009, 38(4): 429-433.
- [27] VanderLaan PA, Reardon CA, Thisted RA, et al. VLDL best predicts aortic root atherosclerosis in LDL receptor deficient mice [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50: 376-385.
- [28] Hara T, Ishida T, Kojima Y, et al. Targeted deletion of endothelial lipase increases HDL particles with anti-inflammatory properties both in vitro and in vivo [J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(1): 57-67.

(此文编辑 李小玲)