

## · 文献综述 ·

## L-精氨酸的抗动脉粥样硬化作用

吴志坚 综述 钱学贤 审校

(第一军医大学珠江医院心内科, 广州 510280)

**摘要** 内皮源性一氧化氮不仅是血管内皮依赖性舒张的主要介导分子,还具有抑制血小板和中性粒细胞在血管内膜的粘附、聚集和激活,抑制血管平滑肌细胞迁移和增殖等功能。一氧化氮的前体物质L-精氨酸具有抗实验性动脉粥样硬化和改善高胆固醇血症患者血管内皮依赖性舒张作用,提示其在抗人动脉粥样硬化中具有潜在的临床应用前景。

**关键词** 高胆固醇血症; 动脉粥样硬化; 一氧化氮; L-精氨酸

血管内皮细胞“L-精氨酸:一氧化氮通路”的发现,使L-精氨酸潜在的心血管治疗作用受到重视。内皮细胞功能障碍(endothelial dysfunction)作为一种与冠心病危险因素相伴随的血管功能性异常现象,已为动物实验和临床流行病学资料所充分证实。内皮细胞功能障碍是动脉粥样硬化的早期病理改变,高胆固醇血症或动脉粥样硬化时,补充L-精氨酸可明显增强内皮源性一氧化氮(endothelium-derived nitric oxide, EDNO)生物活性并抑制实验性动脉粥样硬化形成。本文综述L-精氨酸的抗实验性动脉粥样硬化作用,并探讨其可能机制及其在临床动脉粥样硬化防治中的潜在意义。

## 1 内皮细胞“L-精氨酸:一氧化氮通路”

L-精氨酸是体内NO的生成底物,内皮细胞内组成型NO合成酶(constitutive NO synthetase, cNOS)及其辅助因子(cofactors)作用下,L-精氨酸N端胍基脱氨氧化生成NO,该通路称为内皮细胞“L-精氨酸:NO通路”,所生成的NO称为内皮源性NO(EDNO)。其主要生理保护作用有<sup>[1]</sup>:①保持血管内皮依赖性舒张(endothelium-dependent relaxation, EDR)活性,参与组织血流灌注调节,预防发生血管痉挛或动力性狭窄;②维持血管内膜非血栓形成表面,抑制血小板、中性粒细胞在内膜粘附、聚集和激活,防止附壁血栓形成;③维持血管内膜非增殖状态,防止内膜异常增生。

## 2 动脉粥样硬化危险因子与血管内皮源性一氧化氮活性减弱

动物实验和临床研究证实,所有动脉粥样硬化危险因子均共同存在使血管内皮依赖性舒张减弱,后者是动脉粥样硬化的早期血管功能性改变,而动脉粥样硬化性血管形态学异常亦与血管内皮依赖性舒张减弱相伴随存在,二者间存在显著相关性。

高胆固醇血症新西兰兔输送血管和阻力血管内皮依赖性舒张均减弱,乙酰胆碱介导的血管内皮依赖性舒张(acetylcholine induced EDR, Ach-EDR)与非特异性NO合成酶抑制剂N<sup>G</sup>-硝基-L-精氨酸甲基酯(N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine ester, L-NAME)所引起的内皮依赖性收缩的相关性消失<sup>[2]</sup>,表明高胆固醇血症时EDNO在血管张力调节中的作用减弱。高胆固醇血症患者前臂微血管Ach-EDR明显减弱。NO合成酶抑制剂L-NMMA显著减弱正常人前臂微血管Ach-EDR,而对高胆固醇血症患者前臂微血管Ach-EDR不产生影响<sup>[3]</sup>,提示高胆固醇血症患者前臂微血管基础EDNO活性减弱。

上述病理条件下存在血管内皮依赖性舒张减弱时,硝酸酯介导的非内皮依赖性舒张(non-EDR)却大多仍保持正常或趋于正常。由于EDNO是正常血管组织NO的主要来源,并且是血管内皮依赖性舒张的主要介导分子,而硝酸酯在体内的最终效应分子亦为NO,因此,血管EDNO生成绝对减少或/和EDNO生成后生物活性减弱被认为是心血管疾病状态下血管内皮依赖性舒张减弱的重要机制,其可能的发生环节见表1。

不同动脉粥样硬化危险因子的作用以及动脉粥样硬化不同的病理阶段,血管EDNO活性减弱的发生环节可能不同。确立不同病理条件下血管EDNO活性减弱的发生环节对寻找新的动脉粥样硬化防治措施将具有重要的意义。

表 1. 血管 EDNO 生物活性减弱的可能发生环节

EDNO 生成量绝对减少	EDNO 生物活性减弱
1. 内皮细胞内 cNOS 表达或/和活性异常	1. 超氧阴离子对 EDNO 的灭活作用增强
2. 内皮细胞内 cNOS 辅助因子表达或/和活性异常	2. 前列腺素 G <sub>2</sub> /H <sub>2</sub> 、血栓素 A <sub>2</sub> 、血管紧张素 I、内皮素-1 等对 EDNO 拮抗作用增强
3. 内皮细胞内 cNOS 抑制物增加	3. 细胞内可溶性鸟苷酸环化酶活性减弱
4. 内皮细胞膜受体或/和受体激活后的细胞内钙离子升高异常	4. EDNO-cGMP 介导的细胞间信使通路异常
5. 内皮细胞内 L-精氨酸生物利用度下降	5. 平滑肌细胞离子通道异常

### 3 L-精氨酸的抗实验性动脉粥样硬化作用

动脉粥样硬化危险因素所引起的血管 EDNO 活性减弱,不仅导致血管内皮依赖性舒张障碍,而且将促进血小板、中性粒细胞等血液有形成分在血管内膜的粘附、聚集和激活,并导致内膜非增殖特性破坏。上述改变在动脉粥样硬化的病理生理中发挥重要作用。

实验性高胆固醇血症新西兰兔,静脉输注 L-精氨酸产生即刻的改善血管内皮依赖性舒张作用<sup>[4,5]</sup>,在饮水中长期补充 L-精氨酸(2.25%~2.5%),虽对血脂成分不产生影响,但不仅可抑制动脉粥样硬化形成<sup>[6~11]</sup>,而且可促进动脉粥样硬化病变消退<sup>[11]</sup>。同时微血管或/和外周输送血管内皮依赖性舒张明显改善;而长期给予 NO 合成酶抑制剂抑制内源性 NO 生成,却可明显促进主动脉粥样硬化形成<sup>[12,13]</sup>。高胆固醇血症新西兰兔髂动脉球囊成形术实验模型中,饮水中补充 L-精氨酸(2.25%)不仅抑制髂动脉球囊成形术后内膜增生,而且血管成形术节段局部富含脂质的巨噬细胞量明显减少<sup>[14]</sup>。实验性静脉移植和心脏移植模型中<sup>[15,16]</sup>,亦发现长期补充 L-精氨酸具有抗动脉粥样硬化形成作用。内皮细胞粘附分子表达增强在动脉粥样硬化中具有重要的病理生理意义<sup>[17,18]</sup>,离体内皮细胞实验中,L-精氨酸可抑制血管细胞粘附分子-1 表达,并抑制氧化型低密度脂蛋白的促中性粒细胞粘附作用<sup>[19]</sup>。

小鼠低密度脂蛋白受体敲除(low density lipoprotein receptor knockout)后,高脂饮食可产生严重高胆固醇血症,伴黄瘤(xanthoma)生成及迅速发生动脉粥样硬化。Aji 等<sup>[20]</sup>在该实验模型中亦证实补充 L-精氨酸起到明显的减轻内膜动脉粥样硬化病变和抑制黄瘤生成作用;而补充 L-精氨酸的同时给予 NO 合成酶抑制剂 L-NAME,L-精氨酸的抗动脉粥样硬化作用消失。从而进一步证实 L-精氨酸主要是通过增加体内 NO 生成而产生抗动脉粥样硬化作用。

### 4 L-精氨酸对高胆固醇血症患者血管内皮依赖性舒张

临床流行病学资料显示,血管内皮依赖性舒张异常是动脉粥样硬化的早期病理改变。冠心病主要危险因素人群,包括高胆固醇血症患者、高血压者、糖尿病患者、吸烟者、高龄男性、绝经后未行雌激素替代治疗的妇女、同型半胱氨酸尿症患者等,早在血管出现动脉粥样硬化病变形态学改变或出现冠心病临床症状之前即可存在明显的血管内皮依赖性舒张异常。

近年来临床研究表明,血管内输注 L-精氨酸对高胆固醇血症患者心肌和前壁微血管内皮依赖性舒张可产生即刻改善作用<sup>[21~23]</sup>,但对输送血管内皮依赖性舒张的不产生即刻改善作用或作用轻微。晚近一项临床随机、安慰剂对照、交叉试验结果初步表明<sup>[24]</sup>,口服 L-精氨酸对年轻高胆固醇血症患者肱动脉流量介导的舒张(flow-mediated dilation,FMD)具有改善作用,研究中 27 例高胆固醇血症伴肱动脉内皮细胞功能障碍患者,口服 L-精氨酸(7 g, tid)4 周,肱动脉 FMD 从 1.7%±1.3%增加至 5.6%±3.0%( $P<0.001$ ),血浆 L-精氨酸从 115±103 μmol/L 升高至 231±125 μmol/L( $P<0.001$ ),治疗前后硝酸甘油介导的非内皮依赖性血管舒张作用不改变。安慰剂组肱动脉 FMD 和对硝酸甘油的反应性无变化。

### 5 L-精氨酸抗动脉粥样硬化的可能机制

#### 5.1 内皮细胞“L-精氨酸:一氧化氮通路”机制

动物实验中 L-精氨酸抑制实验性动脉粥样硬化的同时明显改善 EDNO 依赖性血管舒张,NO 合成酶抑制剂使 L-精氨酸的上述作用减弱或丧失,表明 L-精氨酸的抗动脉粥样硬化作用与增强“L-精氨酸:NO 通路”活性有关。研究中提出的机制主要包括:①增加内皮细胞内 L-精氨酸利用度;②拮抗内源性 NO 合成酶抑制剂;③增强内皮细胞 NO 合成酶活性。内皮细胞 L-精氨酸

酸合成 EDNO 的 Km(米氏常数)值 $<5 \mu\text{mol/L}$ ,而 L-精氨酸浓度通常在  $100\sim 800 \mu\text{mol/L}$  之间,因此正常条件下内皮细胞内有充足的 L-精氨酸底物供 EDNO 合成,增加底物浓度并不能进一步增加 EDNO 生成。离体血管或体外培养的内皮细胞,若不预先使细胞内 L-精氨酸耗竭,增加 L-精氨酸并不相应进一步增加 EDNO 生成。但研究表明生理浓度 L-谷氨酸( $0.6\sim 2 \text{mmol/L}$ )不仅抑制缓激肽诱导牛内皮细胞 EDNO 生成,而且抑制 Ach、ADP 诱导的离体血管内皮依赖性舒张。L-精氨酸( $0.01\sim 10 \text{mmol/L}$ )本身虽不增加缓激肽诱导的 EDNO 生成,亦不影响离体血管环 Ach 介导血管内皮依赖性舒张,但可逆转 L-谷氨酸的上述抑制作用<sup>[27]</sup>。提示在一定条件下 L-精氨酸生成 NO 的 Km 值可明显增加,增加体内 L-精氨酸浓度可起到增强 EDNO 活性的作用。

有研究资料显示高胆固醇血症兔血中 L-精氨酸类似物非对称性二甲基精氨酸(asymmetric dimethyl arginine,  $\text{N}^G$ -dimethylarginine, ADMA)含量升高<sup>[28]</sup>,大鼠球囊损伤后的再生内皮细胞内 L-精氨酸含量减少,L-精氨酸类似物  $\text{N}^G$ -单甲基-L-精氨酸(L-NMMA)和 ADMA 含量增高<sup>[29]</sup>,年轻高胆固醇血症患者血中 ADMA 含量比正常人高 2 倍<sup>[30]</sup>,上述 L-精氨酸类似物(内源性 NO 合成酶抑制物)对血管内皮依赖性舒张的抑制作用可为大剂量 L-精氨酸所逆转。

离体细胞培养研究中,L-赖氨酸(L-lysine)和 L-鸟氨酸(L-ornithine)对猪血管内皮细胞膜 L-精氨酸的转运具有抑制作用<sup>[31]</sup>。持续存在高血糖时,胰岛素对人血管内皮细胞膜 L-精氨酸转运的正常刺激作用发生损害<sup>[32]</sup>。动脉粥样硬化危险因素作用下体内是否可出现细胞膜 L-精氨酸转运系统改变,以及补充 L-精氨酸对其的影响作用尚不清楚。

最近国内一项研究<sup>[33]</sup>观察到口服 L-精氨酸( $1.0, \text{tid}$ )一个月后血浆 L-精氨酸水平平均增加 4.6 倍,同时观察到罕见的良好降低总胆固醇、低密度脂蛋白和升高高密度脂蛋白的作用,作者推测与增强体内 NO 生成有关。

## 5.2 非内皮细胞的“L-精氨酸:一氧化氮通路”机制

在缺乏 L-精氨酸的情况下,NO 合成酶仍能够转移电子,以单分子氧为底物生成超氧阴离子( $\text{O}_2^{\cdot -}$ ),采用 NO 合成酶抑制剂或补充 L-精氨酸可抑制  $\text{O}_2^{\cdot -}$  生成。研究中还观察到 L-精氨酸还具有直接的清除氧自由基和抑制脂质过氧化等作用<sup>[34]</sup>。

L-精氨酸对体内其它细胞(如血小板、粒细胞、病理条件下的平滑肌细胞等)“L-精氨酸:NO 通路”活性

的影响可能与其抗动脉粥样硬化作用有关,但尚有待证实。

## 6 L-精氨酸抗动脉粥样硬化作用的临床前景

临床高胆固醇血症患者 EDR 损害是一可逆性血管功能性改变,在有效血脂调节治疗后迅速改善,但在中断治疗后血管内皮依赖性舒张异常可再次出现<sup>[35,36]</sup>。临床试验中血脂调节治疗虽然对冠状动脉粥样硬化病变的逆转作用轻微,但却显著降低冠心病的死亡率。血脂调节治疗对血管内皮依赖性舒张的改善作用在其中可能起到了决定性的作用。虽然目前 L-精氨酸对动脉粥样硬化是否可产生预防或/和逆转作用尚不清楚,但其对高胆固醇血症患者血管 EDNO 活性的增强作用显然对抗动脉粥样硬化具有积极的意义。

## 参考文献

- 1 Wu ZJ, Qian XX, Cai DH, et al. Long-term oral administration of L-arginine enhances endothelium-dependent vasorelaxation and inhibits neointimal thickening after endothelial denudation in rats. *Chin Med J*, 1996, **109** (8): 592~598.
- 2 Laight DW, Matz J, Caesar B, et al. Investigation of endogenous nitric oxide vascular function in the carotid artery of cholesterol-fed rabbits. *Br J Pharmacol*, 1996, **117**: 1 471~474.
- 3 Casino PR, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, et al. The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients. *Circulation*, 1993, **88**: 2 541~ 547.
- 4 Girerd XJ, Hirsch AT, Cooke JP, et al. L-arginine augments endothelium-dependent vasodilation in cholesterol-fed rabbits. *Circ Res*, 1990, **67**: 1 301~308.
- 5 Randall MD, Ujjie H, Criffith TM. L-arginine reverses the impairment of nitric oxide-dependent collateral perfusion in dietary-induced hypercholesterolemia in the rabbit. *Clin Sci Colch*, 1994, **87**: 53~59.
- 6 Cook JP, Singer AH, Tsao PS, et al. Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesteromic rabbit. *J Clin Invest*, 1992, **90**: 1 168~172.
- 7 Lefer AM, Ma XL. Decreased basal nitric oxide release in hypercholesterolemia increases neutrophil adherence to rabbit coronary endothelium. *Arterioscler Thromb*, 1993, **13**: 771~776.
- 8 Wang BY, Singer AH, Tsao PS, et al. Dietary arginine prevents atherogenesis in the coronary artery of the hyper-

- cholesteromic rabbit. *J Am Coll Cardiol*, 1994, **23**: 452~458.
- 9 Tsao PS, Mc Evoy LM, Drexler H, et al. Enhanced endothelial adhesiveness in hypercholesterolemia is attenuated by L-arginine. *Circulation*, 1994, **89**: 2 176~182.
  - 10 Jeremy RW, Mc Carron H, Sullivan D. Effects of dietary L-arginine on atherosclerosis and endothelium-dependent vasodilation in the hypercholesterolemic rabbits. Response according to treatment duration, anatomic site and sex. *Circulation*, 1996, **94**: 498~506.
  - 11 Candipan RC, Wang BY, Buitrago R, et al. Regression or progression. Dependency on vascular nitric oxide. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16**: 44~50.
  - 12 Cayatte AJ, Palacino JJ, Horten K, et al. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates neointimal formation and impairs endothelial function in hypercholesterolemic rabbits. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**: 753~759.
  - 13 Naruse K, Shimizu K, Muramatsu M, et al. Long-term inhibition of NO synthesis promotes atherosclerosis in the hypercholesterolemic rabbit thoracic aorta. PGH2 does not contribute to impaired endothelium-dependent relaxation. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**: 746~752.
  - 14 Davies MG, Dalen H, Kim JH, et al. Control of accelerated vein graft atheroma with the nitric oxide precursor: L-arginine. *J Surg Res*, 1995, **59**: 35~42.
  - 15 Lou H, Kodama T, Wang YN, et al. L-arginine prevents heart transplant arteriosclerosis by modulating the vascular cell proliferative response to insulin-like growth factor-I and interleukin-6. *J heart Lung Transplant*, 1996, **15**: 1 248~257.
  - 16 Wang BY, Candipan RC, Arjomandi M, et al. Arginine restores nitric oxide activity and inhibits monocyte accumulation after vascular injury in hypercholesterolemic rabbits. *J Am Coll Cardiol*, 1996, **28**: 1 573~579.
  - 17 Bevilacqua MP, Nelson RM, Mannori G, et al. Endothelial-leukocyte adhesion molecules in human disease. *Ann Rev Med*, 1994, **45**: 361~378.
  - 18 Gauthier TW, Scalia R, Murohara T, et al. Nitric oxide protects against leukocyte-endothelium interactions in the early stages of hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 1 652~659.
  - 19 林曙光, 陈颜芳, 伍淑英, 等. L-精氨酸抑制内皮细胞粘附分子-1 表达与氧化型低密度脂蛋白促单核细胞粘附作用下降有关. *中国动脉硬化杂志*, 1996, **4** (3): 176~180.
  - 20 Aji W, Ravalli S, Szabolcs M, et al. L-arginine prevents xanthoma development and inhibits atherosclerosis in LDL receptor knockout mice. *Circulation*, 1997, **95**: 430~437.
  - 21 Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, et al. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients with L-arginine. *Lancet*, 1991, **338**: 1 546~550.
  - 22 Creager MA, Gallagher SJ, Giererd XJ, et al. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest*, 1992, **90**: 1 248~253.
  - 23 Dubois Rande JL, Zelinsky R, Roudot F, et al. Effects of infusion of L-arginine into the left anterior descending coronary artery on acetylcholine-induced vasoconstriction of human atheromatous coronary arteries. *Am J Cardiol*, 1992, **70**: 1 269~275.
  - 24 Dubois Rande JL, Zelinsky R, Chabrier PE, et al. L-arginine improves endothelium-dependent relaxation of conductance and resistance coronary arteries in coronary artery disease. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1992, **70**: 1 269~275.
  - 25 Goode GK, Heagerty AM. In vitro response of human peripheral small arteries in hypercholesterolemia and effects of therapy. *Circulation*, 1995, **91**: 2 898~903.
  - 26 Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, et al. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest*, 1996, **97** (8): 1 989~994.
  - 27 Arnal JF, Munzel T, Venema RC, et al. Interaction between L-arginine and L-glutamin change endothelial NO production. An effect independent of NO synthetase substrate availability. *J Clin Invest*, 1995, **95**: 2 565~572.
  - 28 Bode-Boger SM, Boger RH, Kienke S, et al. Elevated L-arginine/dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, **219**: 598~603.
  - 29 Azuma H, Sato J, Hamasaki H, et al. Accumulation of endogenous inhibitors for nitric oxide synthesis and decreased content of L-arginine in regenerated endothelial cells. *Br J Pharmacol*, 1995, 1 001~004.
  - 30 Cook JP, Tsao PS. Arginine: A new therapy for atherosclerosis? *Circulation*, 1997, **95**: 311~312.
  - 31 Bogle RG, Baydoun AR, Pearson JD, et al. Regulation of L-arginine transport and nitric oxide release in super-

- fused porcine aortic endothelial cells. *J Physiol (Lond)*, 1996, **490** (Pt 1): 229~241.
- 32 Sobrevia L, Nadal A, Yudilevich DL, et al. Activation of L-arginine transport(system Y+)and nitric oxide synthetase by elevated glucose and insulin in human endothelial cells. *J Physiol(Lond)*, 1996, **490** (Pt 3): 775~781.
- 33 谭小进,戴爱国,文芳,等. L-精氨酸对冠心病高脂血症患者血脂、脂过氧化物及血液流变学的影响. *中国动脉硬化杂志*, 1997, **5**(1): 41~44.
- 34 Wascher TC, Posch K, Wallner S, et al. Vascular effects of L-arginine; anything beyond a substrate for the NO-synthetase? *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, **234**: 35~38.
- 35 Stroes ES, Koomans HA, de Bruin TW, et al. Vascular function in the forearm of hypercholesterolemic patients of and on lipid-lowing medication. *Lancet*, 1995, **346**: 467~.
- 36 Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. Changes in flow-mediated brachial artery vasoactivity with lowering of desirable cholesterol levels in healthy middleaged men. *Am J Cardiol*, 1996, **77** (1): 37~40.

(1997-09-29 收到, 1998-01-21 修回)