

# 氧化型低密度脂蛋白与动脉粥样硬化

姜志胜 刘乃奎 唐朝枢

(北京医科大学心血管基础研究所,北京 100083)

**摘要** 许多资料表明,氧化型低密度脂蛋白在动脉粥样硬化的发生和发展中起着十分重要的作用。本文

就低密度脂蛋白的体内氧化、氧化型低密度脂蛋白受体的种类、性质和功能以及抗氧化剂对动脉粥样硬化

的影响等方面的最新研究进展作一阐述,以进一步了  
解动脉粥样硬化的发生机制,探索新的防治途径。

**关键词** 氧化型低密度脂蛋白; 动脉粥样硬化;  
抗氧化剂

从 80 年代开始,越来越多的资料表明动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)与天然低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)通过 Brown/Goldstein LDL 受体的摄取关系不大,而与一些修饰的 LDL 通过一种或多种其它受体的摄取关系密切。有人观察到,缺乏 LDL 受体的病人或动物和有正常 LDL 受体的病人或动物一样,仍可聚集胆固醇于泡沫细胞中,而一些可演变为泡沫细胞的单核/巨噬细胞和平滑肌细胞有体内高浓度 LDL 作用下并能聚集胆固醇<sup>[1]</sup>。当循环 LDL 发生某种形式的修饰时,可导致泡沫细胞的形成。尽管体外 LDL 的乙酰化可增加细胞摄取脂质,但目前尚无确切证据表明体内存在乙酰化 LDL。体内 LDL 的氧化已为许多实验所证实:(1)从 As 病变中分离出的 LDL 至少部分发生了氧化修饰<sup>[2]</sup>;(2)血管病变中含有抗氧化型 LDL 的抗体<sup>[3]</sup>;(3)血循环中存在与氧化型 LDL 反应的抗体<sup>[3]</sup>;(4)对实验动物应用抗氧化剂能延缓 As 病变的进展<sup>[4]</sup>。本文就 LDL 体内的氧化、氧化型 LDL 受体及其在 As 中的作用、抗氧化剂应用最新进展情况等作一综述。

### 1 体内低密度脂蛋白的氧化

体内参与 LDL 氧化的细胞包括内皮细胞、平滑肌细胞、单核细胞、巨噬细胞、纤维母细胞、中性粒细胞等。LDL 的氧化发生于一隔离的微环境中,在此环境中 LDL 不易被抗氧化剂(如蛋白质、维生素 C、尿酸等)所保护。当巨噬细胞等与 LDL 接触时,细胞膜的 microdomains 形成环状,产生了一种形似“口袋”的微环境,可大大降低局部抗氧化剂的含量,促使 LDL 的氧化。就氧化场所而言,LDL 在动脉壁内的氧化已得到认同。此外,局部炎症部位血管通透性增加,可使炎症液中 LDL 浓度明显高于正常细胞外液,同时伴有中性粒细胞和单核/巨噬细胞的滤出,因而这些场所将 LDL 迅速转变成氧化型 LDL 而进入血液循环,其半衰期延长,并随后被摄入动脉壁而引起粥样硬化病变的形成与发展。参与 LDL 氧化的酶有 MADPH 氧化酶、15-脂氧化酶、髓过氧化物酶、线粒体电子传递系统等<sup>[6]</sup>。其中脂氧化酶<sup>[7]</sup>及髓过氧化物酶<sup>[8]</sup>的作用更为多见。

低密度脂蛋白(LDL)颗粒含有 700 分子磷脂、600

分子游离胆固醇、1 600 分子胆固醇酯、185 分子甘油三酯和一分子含 4 536 个氨基酸残基的载脂蛋白 B。它的氧化十分复杂,其蛋白质和脂质部分都可发生氧化。在脂质部分,胆固醇酯、磷脂和甘油三酯中的多不饱和脂肪酸易发生自由基启动的氧化,并能参与链式反应以扩大对生物膜的损伤程度。LDL 氧化具有两个重要性。其一,氧化的不均匀性。LDL 的氧化成份不同可产生不同的氧化型 LDL。一般而言,富含多不饱和脂肪酸的 LDL 颗粒比富含饱和脂肪酸或单不饱和脂肪酸的 LDL 更易于氧化<sup>[9]</sup>。氧化程度不同,产生的氧化型 LDL 亦不同。例如,LDL 在体外与 Cu<sup>2+</sup>孵育过夜,可形成“极强氧化 LDL”,即通常所称的氧化型 LDL,它不能与正常 LDL 受体结合;LDL 的轻度氧化修饰产生“轻度修饰 LDL”,即 mm-LDL,它仍能与 LDL 受体结合。其二,LDL 氧化可使分子上的多不饱和脂肪酸降解为一系列长度为 3~9 碳的小片段,包括可与其它脂质或载脂蛋白 B 相连的醛和酮。例如,氧化过程中产生的丙二醛或其它醛类可与赖氨酸残基的氨基端形成希夫碱,并能在脂质和蛋白质分子间继续发生交联;4-hydroxynonenal 和其它不饱和醛类可通过 Michael addition 相互结合<sup>[10]</sup>。在 LDL 氧化过程中,40%~50%的活性赖氨酸残基被遮蔽。在体外,将 LDL 用醋酐处理,可使 60%的赖氨酸残基亦产生能为清道夫受体所识别的 LDL,这是氧化型 LDL 与乙酰化 LDL 在受体结合特异性方面有所重叠的原因所在<sup>[6]</sup>。

氧化型 LDL 不仅可以促进泡沫细胞的形成;而且可以趋化单核细胞,抑制组织巨噬细胞的游走,损伤内皮细胞,刺激内皮细胞释放巨噬细胞趋化蛋白-1 和巨噬细胞集落刺激因子,抑制一氧化氮诱导的血管舒张,促进巨噬细胞和平滑肌细胞发生丝裂;还可产生自身抗体,引起抗原-抗体反应。这些都可以促进 As 的形成和发展。

### 2 氧化型低密度脂蛋白受体种类、性质和功能

巨噬细胞上氧化型 LDL 受体有四种。(1)清道夫受体。它是由 Kodama 等于巨噬细胞上纯化出的介导乙酰化 LDL 摄取的受体,故亦称乙酰化 LDL 受体。该受体为一分子量 220 kDa 的三聚体,由 77 kDa 的糖蛋白亚单位组成。表达乙酰化 LDL 受体的仓鼠卵细胞可摄取氧化型 LDL,此过程可被乙酰化 LDL 完全阻断,说明氧化型 LDL 为乙酰化 LDL 受体的配体之一。有研究发现,巨噬细胞结合氧化型 LDL 的能力(1.2~1.6 mg/L)明显高于乙酰化 LDL 的结合能力(0.7~0.8

mg/L),经乙酰化 LDL 受体摄取的氧化型 LDL 只占总摄取量的 30%~40%。枯否氏细胞和巨噬细胞对氧化型 LDL 的摄取也不能为乙酰化 LDL 所完全阻断,表明体内还存在其它氧化型 LDL 受体。(2) CD<sub>36</sub>。为一分子量 88 kDa 的糖蛋白,存在于血小板、单核/巨噬细胞和毛细血管内皮细胞<sup>[11]</sup>。其生理功能尚不十分清楚。有人认为它是 thrombospondin 和胶原的受体,可介导红细胞的粘附<sup>[12]</sup>。表达 CD<sub>36</sub> cDNA 的细胞能与氧化型 LDL 高亲和结合<sup>[13]</sup>(Kd=1~1.5 mg/L)。巨噬细胞通过 CD<sub>36</sub>受体途径摄取的氧化型 LDL 占其总摄取量的 40%<sup>[14]</sup>。CD<sub>36</sub>受体缺陷细胞对氧化型 LDL 的摄取、降解均明显减少。(3) Fc 受体。这是从小鼠巨噬细胞文库中克隆出的一种氧化型 LDL 受体蛋白<sup>[15]</sup>,分子量为 50 kDa,属糖蛋白,含一个跨膜区。可与氧化型 LDL 高亲和结合(Kd=3~6 mg/L)。(4)macrosialin。为一分子量 87~115 kDa、重度糖基化的跨膜蛋白<sup>[16]</sup>,主要存在于小鼠组织巨噬细胞,在树突状细胞(dendritic cells)及郎格汉斯细胞(Langerhans cells)也有少

量表达。具有相似的分子量和糖基化程度,主要分布于细胞核内体(endosomes)和溶酶体,在细胞表面也有少量分布。因而通常将 macrosialin 称为人 CD<sub>68</sub>的类似物。1993 年,Holness 等<sup>[16]</sup>克隆出 macrosialin cDNA,其结构显示该蛋白属于 LAMP(lysosomal-associated membrane proteins)家族。它可发挥氧化型 LDL 受体的作用,其单克隆抗体可使细胞摄取和降解氧化型 LDL 能力减少 30%~50%。

应该指出,巨噬细胞上氧化型 LDL 受体不仅可影响细胞的代谢,还可影响细胞清除功能。氧化型 LDL 可竞争性抑制氧化损伤的红细胞及凋亡的胸腺细胞与巨噬细胞的结合<sup>[17]</sup>,使巨噬细胞清除体内受损、凋亡细胞的功能受阻。在氧化型 LDL 受体缺陷时则表现出双重效应。另一方面,受体缺陷所引起的氧化型 LDL 摄取速率及摄取量的降低可延缓血管病变的进展,具抗 As 效应;另一方面,氧化型 LDL 摄取、降解减少,可在细胞外堆积,产生细胞毒性,并可促进平滑肌细胞增殖,诱发血栓形成,表现出致 As 效应。

附表. 抗氧化剂对实验性动脉粥样硬化的作用.

| 抗氧化剂   | 动物模型        | 效果 | 作者及报道时间                     |
|--------|-------------|----|-----------------------------|
| 丙丁酚    | LDL 受体缺陷兔   | 有效 | Mao S, et al,1991           |
|        |             | 可疑 | Daugherty A, et al, 1991    |
|        |             | 有效 | Fruebis J, et al, 1994      |
|        |             | 有效 | Morel DW, et al, 1994       |
|        | LDL 受体缺陷小鼠  | 有效 | Tangirala RK, et al,1996    |
|        | 非人灵长类       | 有效 | Sasahara M, et al, 1994     |
|        | 饲喂胆固醇兔      | 有效 | Prasad K, et al, 1994       |
| 丙丁酚类似物 | 仓鼠          | 有效 | Parker RA, et al, 1995      |
|        | LDL 受体缺陷兔   | 有效 | Mao S, et al,1991           |
|        |             | 无效 | Fruebis J, et al, 1994      |
|        |             | 有效 | PrAsad K, et al,1993        |
| 维生素 E  | 兔           | 有效 | PrAsad K, et al,1993        |
|        |             | 无效 | Morel DW, et al, 1994       |
|        |             | 无效 | Kleinveld HA, et al, 1995   |
|        | 仓鼠          | 无效 | Fruebis J, et al, 1995      |
|        |             | 有效 | Parker RA, et al, 1995      |
|        |             | 可疑 | Verlangieri AJ, et al, 1992 |
| DPPD   | 兔           | 有效 | Sparrow CP, et al, 1992     |
|        | 载脂蛋白 E 缺陷小鼠 | 有效 | Tangirala RK, et al, 1995   |
| BHT    | 兔           | 有效 | Bjorkhem I,et al,1991       |

DPPD: N ,N'-diphenyl-phenylenediamine, BHT: Bulylated hydroxytoluene.

除氧化型 LDL 受体可以促进细胞对脂质的摄取外,最近,Carstea 等<sup>[18]</sup>和 Loftus 等<sup>[19]</sup>分别从 I 型尼曼-匹克病(Niemann-Pick type 1)病人和小鼠模型上同时克隆出一种调节胆固醇代谢的新基因 NPC1,并已测出 NPC1 蛋白 1 278 个氨基酸的序列,其主要作用是调节细胞内胆固醇的转运,它的生理、病理意义尚在进一步研究中。

### 3 抗氧化剂影响动脉粥样硬化的形成与发展

鉴于 LDL 氧化修饰在 As 发病中的作用,用适当的抗氧化剂抑制其氧化应可延缓病变的进展,有关文献见附表所示。临床研究发现,血浆脂质过氧化物水平、氧化型 LDL 的抗体滴度、LDL 对氧化的敏感性均与冠心病的发展速度或其它危险因子密切相关;膳食中多摄入抗氧化剂以增加血浆抗氧化剂水平,可降低冠心病的危险性。Stephens 等<sup>[20]</sup>报道,使用维生素 E (400~800 IU/天),能非常有效地保护 LDL 抗氧化,使冠心病非致死性心肌梗塞的发生率及心血管原因导致的死亡率降低 47%。此外,抗氧化剂还可抑制白细胞介素-1 的释放和增加胆固醇酯转运蛋白的表达,防止内皮细胞损伤和血栓形成,也可参与阻止 As 病变的形成与发展。

### 4 存在的问题

关于氧化型 LDL 的研究已经历了 17 年的历史,但还有许多问题尚不了解,这些问题是:(1)LDL 的氧化修饰除可发生于动脉壁和炎症部位外,有无其它场所?氧化速度如何?(2)细胞中有哪些酶系参与 LDL 的氧化?氧化的具体过程是什么?(3)LDL 的氧化能否作为动脉病变发展速度的可靠预报因子?(4)除维生素 E 以外,还有哪些抗氧化剂可以安全、更有效地阻止 LDL 的氧化、抑制 As 的形成与发展?此外,氧化型 LDL 致 As 的机制亦有待进一步研究。

### 参考文献

- 1 Basu SK, Brown MS, Ko YK, et al. Degradation of low density lipoprotein-dextran sulfate complexes associated with deposition of cholesteryl esters in mouse. *J Biol Chem*, 1979, **254**: 7 141~146.
- 2 Yla-Hettuala S, Palinski W, Rosenfeld ME, et al. Lipoproteins in normal and atherosclerosis aorta. *Eur Heart J*, 1990, **11** (Suppl E): 88~99.

- 3 Palinski W, Rosenfeld ME, Yla-Hettuala S, et al. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**: 1 372~376.
- 4 Carew TE, Schwenke DC, Steinberg D, et al. Antiatherogenic effect of probucol unrelated to its hypocholesterolemic effect; evidence that antioxidants in vivo can selectively inhibit low density lipoprotein degradation in macrophage-rich fatty streaks and slow the progression of atherosclerosis in the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, **84**: 7 725~729.
- 5 McPherson R, Hogue M, Milne RW, et al. Increase in plasma cholesteryl ester transfer protein during probucol treatment relation to changes in high density lipoprotein composition. *Arterioscler Thromb*, 1991, **11**: 476~481.
- 6 Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 20 963~966.
- 7 Folcik VA, Nivar-Aristy RA, Krajewski LP, et al. Lipoxidase contributes to the oxidation of lipids in human atherosclerosis plaques. *J Clin Invest*, 1995, **96**: 504~510.
- 8 Leeuwenburgh C, Rasmussen J, Hsu F, et al. Mass spectrometric quantification of markers for protein oxidation by tyrosyl radical, copper, and hydroxyl radical in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic plaques. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 3 520~526.
- 9 Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ, et al. Feasibility of using an oleate-rich diet to reduce the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation modification in humans. *Am J Nutr*, 1991, **54**: 701~706.
- 10 Uchida K, Toyokuni S, Nishikawa K, et al. Michael addition-type 4-hydroxy-2-nonenal adducts in modified low-density lipoproteins; markers for atherosclerosis. *Biochemistry*, 1994, **33**: 12 487~494.
- 11 Greenwalt DE, Lipsy RH, Ockenhouse CF, et al. Membrane glycoprotein CD36: a review of its roles in adherence, signal transduction and transduction medicine. *Blood*, 1992, **80**: 1 105~115.
- 12 McKeown L, Vail M, Kramer W, et al. Platelet adhesion to collagen in individuals lacking glycoprotein IIb/IIIa. *Blood*, 1994, **83**: 2 866~871.
- 13 Endemann G, Stanton LW, Madden KS, et al. CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 11 811~816.
- 14 Nozaki S, Kashiwagi H, Yamashita S, et al. Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-

- derived macrophages from CD36-deficient subjects. *Clin Invest*, 1995, **96**: 1 859~865.
- 15 Santon LW, White RT, Bryant CM, et al. A macrophage Fc receptor for IgG is also a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 22 446~451.
- 16 Holness CL, da Silva RP, Fawcett J, et al. Macrosialin, a mouse macrophage-restricted glycoprotein, is a member of the lamp/Igp family. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 661~666.
- 17 Sambrano GR, Steinberg D. Recognition of oxidatively damaged and apoptotic cells by an oxidized low density lipoprotein receptor on mouse peritoneal macrophages: role of membrane phosphatidylserine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 1 396~400.
- 18 Carstea ED, Morris JA, Coleman KG, et al. Niemann-Pick C1 disease gene: homology to mediators of cholesterol homeostasis. *Science*, 1997, **277**: 228~231.
- 19 Loftus SK, Morris JA, Carstea ED, et al. Murine model of Nieman-Pick C disease: mutation in a cholesterol homeostasis gene. *Science*, 1997, **277**: 232~235.
- 20 Stephens NG, Parson A, Schofield PM, et al. Randomised controlled trial of vitamin E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidation Study (CHAOS). *Lancet*, 1996, **347**: 781~785.
- (1997-09-09 收到, 1998-02-20 修回)