小颗粒致密低密度脂蛋白与动脉粥样硬化

王敏 综述 潘其兴 审校
(山东医科大学附属医院心内科, 济南 250012)

摘要 血脂异常是动脉粥样硬化发生的危险因素, 近年来许多研究表明小颗粒致密低密度脂蛋白较其它指标相比与冠心病的发生、发展和病变程度的相关性更为显著。本文概述了低密度脂蛋白亚组份的组成、形成及其同冠心病和动脉粥样硬化的关系, 与其它有关脂蛋白的关系, 以及遗传、环境和行为因素对小颗粒致密低密度脂蛋白的影响。

关键词 低密度脂蛋白, 亚组份; 冠心病; 动脉粥样硬化

1988 年 Austin 等首先报道了血浆小颗粒致密低密度脂蛋白(small dense low density lipoprotein, sLDL)较一般低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)发生心肌梗塞的危险性高, 这与高甘油三酯血症是否有致动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)作用的问题紧密地结合起来。近年来, 随着分子生物学的迅速发展, 对 sLDL 的研究有了长足的发展, 现就此作一综述。

1 低密度脂蛋白亚组份的组成

在血浆中, 低密度脂蛋白是不均一的。LDL 由不溶于水的核心(主要含胆固醇酯、甘油三酯和脂溶性维生素)及具有极性的表面层(主要由单层磷脂、镶嵌的游离胆固醇及载脂蛋白 B 100)组成[1,2], 另外尚有少量载脂蛋白 E、载脂蛋白 C Ⅲ、载脂蛋白(a)以及极少量的一类磷酯、神经节苷脂等存在[3]。由此可知, LDL 是一个多分子复合物, 由于其组成比例及结构的差异, 导致其颗粒在大小、密度、物理化学特性及生物学功能方面有所不同。用密度梯度超速离心法、非变性梯度凝胶电泳法和亲和层析法将 LDL 按密度和颗粒大小可以分成 2～15 个亚组份[4]。LDL 的密度范围在 1.019～1.063 之间。尽管有多种分类方法, 在临床上一般将 LDL 亚组份中颗粒较小(直径约 25 nm)、密度较大(接近 1.06)的 LDL 称为小颗粒致密 LDL(sLDL); 将颗粒较大(直径约 27 nm)、密度较小(接近 1.02)的 LDL 称为大颗粒疏松 LDL(large buoyant LDL, lLDL); 介于二者之间的亚组份称为中密度 LDL(iLDL)。lLDL 又称为 LDL 表型 A(phenotype A), sLDL 又称为 LDL 表型 B (phenotype B)。sLDL 颗粒内的胆固醇(包括酯化的与未酯化的)含量较少, 每一分子 sLDL 颗粒内约含 2 100 分子胆固醇, 而 lLDL 约含 2 750 分子胆固醇(包括酯化与未酯化的)[3]。

2 低密度脂蛋白亚组份的生成

从代谢角度来讲, 血脂正常的人群中, sLDL 的生成有两条途径[5,6]。①部分来自极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)。该途径受肝细胞内合成的甘油三酯(triglyceride, TG)量的控制。当肝细胞合成 TG 减少时, 肝脏释放小颗粒、含 TG 低的 VLDL 入血, 在脂蛋白脂酶、肝酯酶的作用下该 VLDL 内的 TG 逐渐被水解, 转变为 lLDL 及 iLDL; 当肝细胞合成 TG 多时, 肝脏释放颗粒大、含 TG 高的 VLDL 入血, 在脂蛋白脂酶的作用下该 VLDL 内的 TG 被水解, 主要转变为 sLDL。②随血浆 TG 升高而增加。血浆中各种脂蛋白的脂类不断交换, 处于动态平衡之中。当血浆 TG 水平超过 1.5 mmol/L 时, 总 LDL 水平与 LDL 的合成未变, 但 LDL 的胆固醇酯在胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transter protein, CETP)作用下转移至 VLDL, 而 VLDL 的 TG 转移至 LDL。当 LDL 中 TG 增加至一定程度时被肝脂酶水解除去 TG, 整个交换的结果是 LDL 的核心成分—胆固醇酯减少, 颗粒变小, lLDL 及 iLDL 转变成 sLDL。TG 水平越高, VLDL 与 LDL 的脂类交换越活跃, 生成的 sLDL 越多。

3 小颗粒致密低密度脂蛋白与冠心病的关系

近年来对 LDL 亚组份与冠心病的关系进行了深入的研究, 认为 sLDL 在动脉粥样硬化的发生中起重要作用, 是冠心病的危险因子。

Austin 等[6]用梯度凝胶电泳法分析了 109 例心肌梗塞存活者和 121 例对照者的血浆 LDL 亚组份, 发现心肌梗塞患者血浆主要含 sLDL, 对照者血浆主要含 lLDL。并且表明含 sLDL 的个体较含 lLDL 的个体发生心肌梗塞的危险性高 3 倍, 与年龄、性别、相对体重不

相关,而与低高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)及高 TG 水平相关。

Griffin 等[7]用密度梯度离心法分离 LDL 亚组份,发现 46 例经冠状动脉造影确诊的冠心病患者血浆 sLDL 超过 2.6 mmol/L 者占 54%,24 例冠状动脉造影阴性者中仅占 21%;40 例心肌梗塞存活者中占 74%,而 58 例正常对照者中仅占 28%。血浆 sLDL 水平升高时,发生冠心病和心肌梗塞的危险性分别比正常对照者高 4.5 倍及 6.9 倍。且经校正 TG、年龄、体重指数、吸烟及药物等多变量分析表明,sLDL 仍然同冠心病和心肌梗塞呈高度相关。

在 STAR 临床试验中,观察治疗 74 例男性高胆固醇血症冠心病患者 38 个月,用超速离心法分析其 LDL 亚组分,并于治疗前后分别行冠状动脉造影测量管腔变化,结果发现血浆 sLDL 水平低(少于 1.8 mmol/L)的患者,病变消退最明显,并且独立于年龄、吸烟、体重和血压因素[8]。Miller 等[9]将 212 例男性冠心病患者划分为两组,治疗前及治疗 4 年后用定量冠状动脉造影法测量其最小动脉直径的年变化率,也发现经药物治疗后血浆 sLDL 水平下降者有明显效果。

在 Quebec 的临床试验中,将 sLDL 颗粒作为预测缺血性心脏病危险因子的前瞻性研究,对 2 103 名男性随访 5 年,其中 114 名发生缺血性心脏病,与其相应的健康者配对后测定 LDL 颗粒峰值。逻辑回归分析结果显示,LDL 颗粒较小者比较大者发生缺血性心脏病的危险性增加 3.6 倍[10]。

近期 JAMA 上发表的 2 个关于 sLDL 颗粒是否预示冠心病发生的前瞻性调查报告[4,11],认为 sLDL 颗粒与冠心病的危险性联系确切但内在机制不明确[12]。Gardner 等[4]从 11 年 5 个横断面调查的人群中选择 124 例冠心病患者及相同例数对照者。用配对病例对照研究的统计学方法分析入选时冻存的血浆 LDL 颗粒直径峰值,发现无论采集标本到冠心病发病的时间长短如何,病例组平均 LDL 直径均小于对照组。而且 LDL 大小与 HDL 胆固醇(HDLC)、非 HDLC、TG、吸烟、收缩压及体重指数均不相关。所有危险因子中 LDL 大小是判断冠心病最好的指标。用总胆固醇(total cholesterol, TC)与 HDLC 之比调整后,失去其"独立"意义,但并没有失去作为致冠心病危险因子的意义。Stampfer 等[11]用前瞻采集标本进行配对病例对照研究,对 14 916 名男性随访 7 年,诊断心肌梗塞 266 例,与其相匹配的对照者比较,病人组的 LDL 平均直径显著减少。在对脂质和各种冠状动脉危险因素同时进行校正后,LDL 颗粒直径就不再有统计学显著性的危险指标,而 TG 却仍具有显著性。然而,sLDL 生成与 TG 水平有非常密切的关系,TG 升高导致 sLDL 升高,因此单纯用统计学方法判断其是否为独立因素是非常困难的。

4　小颗粒致密低密度脂蛋白致动脉粥样硬化的作用

随着脂类代谢分子生物学研究的发展,对 sLDL 致动脉粥样硬化的作用机制进行了许多研究,经体内及体外试验表明 sLDL 比 lLDL 有更强的致 As 作用。

在动脉粥样硬化的发生与发展中,脂蛋白在动脉管壁沉积是一系列的过程,它首先存留于管壁一定部位,然后被单核巨噬细胞或平滑肌细胞摄取。血管内膜细胞外基质含有硫酸软骨素蛋白聚糖(chondroitin sulfate proteoglycans, CSPG),可与脂蛋白结合形成复合物,从而延长脂蛋白滞留于血管内膜下的时间[13]。体外试验表明这种与 CSPG 结合的 LDL 容易被单核巨噬细胞摄取[14],使脂类聚集而转变为泡沫细胞。Anber 等[15]发现冠心病患者血浆 LDL 与动脉壁 CSPG 的结合能力与其所含 LDL 亚组份有关,与 sLDL 百分比成正比,与 lLDL 百分比成反比。血浆 sLDL 水平超过 2.6 mmol/L 者较低于 2.6 mmol/L 者形成的 CSPG-LDL 复合物明显为多。sLDL 的这种特性可能在致 As 过程中起重要作用。

正常血浆中 LDL 的降解通过细胞的 LDL 受体途径。Nigon 等[1]在体外培育人类单核细胞,分别与^{125}I 标记的 LDL 亚组份共同孵育,发现 sLDL 与细胞表面 LDL 受体的结合力显著低于 lLDL,因而从血浆中清除的速率慢。Galeano 等[16]也发现 sLDL 与人成纤维细胞表面 LDL 受体的结合力低,并且观察到 sLDL 较 lLDL 被 LDL 受体识别的、对应于载脂蛋白 B 100 位点的单克隆抗体反应性弱。Schaefer 等[17]研究家族性载脂蛋白 B 100 缺乏症时观察到 sLDL 升高,显著缺乏时 sLDL 甚至完全丧失与人成纤维细胞表面 LDL 受体结合力,在血浆中的存留时间也明显延长。说明 sLDL 较 lLDL 难以在循环中被清除,有更多的机会进入动脉管壁。

近年来关于 As 发生机制的研究表明,氧化型 LDL 致 As 的作用增强[18]。氧化型 LDL 既可以被单核巨噬细胞吞噬形成 As 早期的病变——泡沫细胞,又具有细胞毒性而损伤内皮,内皮损伤正是 As 最早期的变化;还可以刺激血管平滑肌细胞增殖及向内膜迁移;并激活血小板致血栓形成。因此,氧化型 LDL 可能参与 As 发生发展的全过程。在体外,氧化型 LDL 可以由 Cu^{2+}

诱导的模拟氧化系统产生。将 LDL 与 Cu^{2+} 共同孵育，通过紫外线分光光度计测量共轭双链非饱和碳氢化合物(conjugated diene, CD)的形成，作为 LDL 被氧化修饰的标志。CD 形成的潜伏时间(lag time)作为抗氧化能力的标志，潜伏期越长，说明抗氧化能力越强[2,19]。De Graaf 等[19]研究正常人体发现，在体外，LDL 亚组份(密度由低到高)与 CD 存在正直线相关关系，与潜伏期有负直线相关关系，说明 sLDL 容易被氧化。而高 TG 血症患者 sLDL 高于正常对照者，并且抗氧能力明显降低。Tribble 等[20]通过监测血浆硫代巴比妥酸反应物质(thiobarbituric acid-reactive substances, TBARS)生成率发现，sLDL 的血浆 TBARS 生成率较 lLDL 高，提示在自由基的作用下，sLDL 较 lLDL 易被氧化。Rijke 等[21]对家族性混合型高脂血症患者及正常者进行的对照研究也得出同样的结论。同时监测抗氧化剂维生素 E 和辅酶 Q_{10} 的代谢变化，发现 sLDL 分子中维生素 E 和辅酶 Q_{10} 含量低，因而内在抗氧化能力减弱。以上研究均说明 sLDL 有较强的致 As 作用。

5 小颗粒致密低密度脂蛋白与其它脂蛋白的关系

如前所述，LDL 是一个不均一复合物，在 CETP 的作用下不断与 VLDL 进行胆固醇酯和 TG 之间的交换。sLDL 升高，常伴有 TG、VLDL、载脂蛋白 B 升高及 HDLC、载脂蛋白 A I 降低，这是一种高危险性的脂类代谢紊乱的血脂蛋白综合症，称之为致动脉粥样硬化性脂蛋白表型。家族性混合型高脂血症及高载脂蛋白 B 血症多具有这种脂蛋白表型，其冠心病危险性明显增加。糖尿病患者有严重的脂质代谢紊乱，其冠心病发病率也升高。Siege 等[22]分析了 174 例糖尿病患者及 3757 例非糖尿病者，发现糖尿病患者 sLDL、TG 及 VLDL 水平比非糖尿病者高，而 HDLC 及载脂蛋白 A I 比非糖尿病者低。因此，有人认为 sLDL 致糖尿病和冠心病的作用也有其它脂蛋白参与。sLDL 是致冠心病的独立的高危险因子，但经 TG 校正后，就不再是独立的危险因子，说明 sLDL 的致病作用与 TG、VLDL、HDLC 及载脂蛋白 B 难以分开。

6 小颗粒致密低密度脂蛋白与遗传、环境和行为因素的关系

许多研究证明 sLDL 受遗传、环境和行为因素的影响。Austin 等[23,24]用复杂的分离分析(一种统计学模型方法，用于测试主基因对某些遗传特征的作用)和双生子遗传率分析，检查了多个健康家庭和家族性高脂血症家庭，认为 sLDL 亚组份受单个主基因控制，其常见等位基因频率为 0.25～0.30，而且在不同的年龄和性别组中外显率不同，也就是说，在个别家庭成员中由于年龄、性别及女性绝经后状况的差异，控制 sLDL 的等位基因存在着不完全表达。因而，认为环境、行为因素在一定的条件下对 sLDL 的等位基因的表达起作用。

Jerome 等[25]用非参数定量近亲配对和邻亲配对连锁分析(遗传学上，用来检验一基因位点所控制的一定量利益特征与一特定多形性标志基因位点之间是否存在着连锁)检查了 25 个冠心病患者家系共 306 人，发现在脂蛋白代谢中控制 LDL 亚组份受体基因位点与有关载脂蛋白及酶基因位点连锁，包括多个候选基因位点，分别是载脂蛋白 B、A I、载脂蛋白(a)、载脂蛋白 E-C I-C II、脂蛋白脂酶、HDL、载脂蛋白 A I-C III-A IV、CETP 及锰超氧化物歧化酶。因此认为 LDL 亚组份可能受多基因控制。总之，sLDL 可能是基因和多种因素共同作用的结果。

然而，另有许多研究不支持 LDL 亚组份受基因控制的观点，因为运动、饮食、年龄及药物等因素对 LDL 亚组份也起一定作用。在关于运动对 LDL 颗粒大小影响的对照及纵向研究中，一致性地显示运动可以使 LDL 颗粒增大，并且可以不受体重变化影响[26]。摄取少量动物脂肪、饱和脂肪酸及胆固醇者，血浆以 lLDL 为主。sLDL 升高与年龄增加呈正相关。女性绝经后 sLDL 水平高于绝经前[27]。调脂药物对 LDL 亚组份也有一定的影响，由于 LDL 亚组份与血浆 TG 水平密切相关，用来降低血浆 TG 水平的药物对改变 LDL 亚组份表型具有潜在的作用。苯氧芳酸类和烟酸在显著地降低 TG 的同时可以增大 LDL 颗粒。相反，他汀类对 LDL 颗粒大小的影响极小。

综上所述，小颗粒致密低密度脂蛋白同冠心病及其它与 As 有关的疾病有着非常密切的关系；sLDL 致 As 的作用可能与其容易沉积在血管壁，不易和正常受体结合，抗氧化能力减弱等有关；sLDL 升高时，常伴有与 As 有关的脂质异常；sLDL 升高可能是遗传、环境和行为因素共同作用的结果。

参考文献

1 Nigon F, Lesnik P, Rouis M, et al. Discrete subspecies of human low density lipoprotein are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res*, 1991, **32**: 1 741～753.

2 Tribble DL, Krauss RM, Lansberg MG, et al. Greater

oxidative susceptibility of the surface monolayer in small dense LDL may contribute to differences in copper-induced oxidation among LDL density subfractions. *J Lipid Res*, 1995, **36**: 662～671.

3 Chapman MJ, Laplaud PM, Luc G, et al. Further resolution of the low density lipoprotein spectrum in normal human plasma: physichemical characteristics of discrete subspecies separated by density gradient ultracentrifugation. *J Lipid Res*, 1988, **29**: 442～458.

4 Gardner CD, Fortmann SP, Krauss RM. Association of small low density lipoprotein particles with the incidence of coronary artery disease in men and women. *JAMA*, 1996, **276** (11): 875～881.

5 Caslake MJ, Packard CJ, Series JJ, et al. Plasma triglyceride and low density lipoprotein metabolism. *Eur J Clin Invest*, 1992, **22**: 96～104.

6 Austin MA, Breslov JL, Hennekens CH, et al. Low density lipoprotein subclass pattern and risk of myocardial infraction. *JAMA*, 1988, **206**: 1 917～921.

7 Griffin BA, Freeman DJ, Tait GW, et al. Role of plasma triglyceride in regulation of plasma low density lipoprotein in coronary heart disease risk. *Atherosclerosis*, 1994, **106**: 241～253.

8 Watts GF, Mandalia S, Brunt JNH, et al. Independent associations between plasma lipoprotein subfraction level and the course coronary artery disease in the St. Thomas' atherosclerosis regression study (stars). *Metabolism*, 1993, **42** (11): 1 461～467.

9 Miller BD, Aldeman EL, Haskell WL, et al. Predominance of dense low density lipoprotein particles predicts angiographic benefit of therapy in the standford coronary risk intervention project. *Circulation*, 1996, **94** (9): 2 146～153.

10 Lamarche B, Tchernof A, Moorjani J, et al. Small dense low density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease men. Prospective result from the Qubc Cardiovascular Study. *Circulation*, 1997, **85**: 69～75.

11 Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, et al. A prospective study of triglyceride level, low density lipoprotein particle diameter and risk of myocardial infaction. *JAMA*, 1996, **276**: 882～888.

12 Coresh J, Kwitervich JRP. Small dense low lipoprotein paricles and coronary heart disease risk, a clear association with uncertain implications. *JAMA*, 1996, **276**: 914～915.

13 Wight TN. Cell biology of arterial proteoglycans. *Arteriosclerosis*, 1989, **9**: 1.

14 Hurt-Camejo E, Camdjo G, Rosengern B, et al. Differential uptake of proteoglycan-selected subfractions of low density lipoprotein by human macrophages. *J Lipid Res*, 1990, **31** (8): 1 387～398.

15 Anber B, Griffin BA, Mc Comnell M, et al. Influence of plasma lipid and LDL subfraction profile on the interaction between low density lipoprotein with human arterial wall proteoglycans. *Atherosclerosis*, 1996, **124**: 261～269.

16 Galea NF, Milne R, Marcel YL, et al. Apolipoprotein B structure and receptor recognition of triglyceride-rich low density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem*, 1994, **269** (1): 511～519.

17 Schaefer JR, Scharnagl M, Baumstark MW, et al. Homozygous familial defective apolipoprotein B-100. Enhanced removal of apolipoprotein E－containing VLDLs and decreased production of LDLs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 348～353.

18 Witztum JL. Role of oxidized LDL in atherogenesis. *Br Heart J*, 1993, **69**: 512.

19 De Graaf J, Hak Lemmers HL, Hectors MP, et al. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arterioscler Thromb*, 1991, **11** (2): 298～306.

20 Tribble DL, Holl LG, Wood, PD, et al. Variations in oxidative susceptibility among six low density lipoprotein subfractions of differing density and particle size. *Atherosclerosis*, 1992, **93** (3): 189～199.

21 De Rijke YB, Bredie SJ, Demacker PN, et al. The redox status of coenzyme Q10 in total LDL as an indicator of in vitro oxidative modification. Studied on subjects with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 127～133.

22 Siege RD, Cupples A, Schaefer EJ, et al. Lipoproteins, apolipoproteins and low density lipoprotein size among diabetics in the Framingham Offspring Study. *Metabolism*, 1996, **45** (10): 1 272～276.

23 Austin MA, Wijsman E, Guo SW, et al. Lack of evidence for linkage between low density lipoprotein subclass phenoptypes and the apolipoprotein B locus in familial hyperlipidemia. *Genet Epidemiol*, 1991, **8**(5): 287～297.

(1997-11-03 收到, 1998-03-23 修回)