

粘附分子与动脉粥样硬化的关系

杨向东 综述

杨永宗 审校

(衡阳医学院分子生物学研究中心, 衡阳 421001)

摘要 粘附分子包括粘素超家族、选择素家族、免疫球蛋白超家族、钙离子依赖的细胞粘附素家族及其它未归类的粘附分子,它参与机体许多重要的病理和生理过程。粘附分子介导的单核细胞对 endothelial 细胞的粘附、迁移和分化,在动脉粥样硬化早期病变中有重要作用。氧化型低密度脂蛋白可促进粘附分子的表达,抗氧化剂可抑制其表达。提示抗氧化剂防治动脉粥样硬化既与其抗脂质过氧化有关,也与抑制粘附分子的表达有关。

关键词 粘附分子; 动脉粥样硬化; 氧化型低密度脂蛋白

细胞粘附分子 (cellular adhesion molecule, CAM) 是指由细胞合成存在于细胞膜上或胞外基质中,介导细胞间或细胞与基质间相互接触和结合的一大类分子的总称。粘附分子大多为糖蛋白,以配体-受体相对应的形式发挥作用,参与细胞的信号传导与活化、细胞的伸展与移动、细胞的生长与分化、胚胎发育、伤口愈合及肿瘤转移等一系列重要的生理和病理过程。

1 粘附分子的分类

1.1 粘素超家族

粘素超家族 (integrin superfamily) 的粘附分子主要介导细胞与细胞外基质的粘附,还介导白细胞与血管内皮细胞的粘附,粘素分子都为有 α 、 β 两条链以非共价键连接组成的异种二聚体。根据所含链的不同可将粘素家族分成多个亚类: ① VLA (very late antigen) 类粘素,含 β_1 链; ② 白细胞粘素,含有 β_2 链,包括淋巴细胞功能相关抗原 (LFA-1) 即 CD11a/CD18, Mac-1/CR3 即 CD11b/CD18, P150 即 CD11c/CD18; ③ 血小板糖蛋白类,含 β_3 链,主要有 gp II b/III a。粘素分子分布广泛,不同的粘素分子可以识别相同的短肽序列或同一个配体中不同的短肽序列,因此一种粘素分子可能有几种细胞间质成分做为配体,而每一种细胞间质中的配体也可能被几种不同的粘素分子所识别。

1.2 选择素家族

选择素家族 (selectin family) 的粘附分子是高度糖基化的单链跨膜糖蛋白,可分为胞膜外区、穿膜区和胞浆区。胞膜外部分有较高的同源性,结构类似。一般根据最初被发现时的细胞种类命名为 E-选择素 (内皮细胞)、P-选择素 (血小板) 和 L-选择素 (淋巴细胞)。选择素分子识别的配体都是一些寡糖基团,主要是具有唾液酸化的路易斯寡糖 (sialy-lewis) 或类似结构的分子。E-选择素仅在活化的内皮细胞表面出现,分布集中于毛细血管及后微静脉, E-选择素可活化多形核粒细胞 CD11b 粘素复合体,介导其与内皮细胞的粘附^[1]。P-选择素主要在血小板的 α 颗粒或内皮细胞的 Weibel-Palade 小体合成并移位到细胞膜上。P-选择素作为中性粒细胞和单核细胞表面粘附分子的受体,通过钙离子的参与来调节细胞粘附过程, P-选择素促使粒细胞在内皮细胞表面较慢滚动前进,这一过程是血中粒细胞穿过内皮细胞间向血管外浸润的前奏^[2]。L-选择素存在于抑制性 T-淋巴细胞、中性粒细胞及单核细胞的表面,通过不同的糖基化而含有大量的唾液酸化的寡糖,参与对内皮细胞的粘附过程,在炎症反应中有重要作用^[3]。

1.3 免疫球蛋白超家族

免疫球蛋白超家族 (immunoglobulin superfamily, IGSF) 为 I 类膜蛋白,与免疫球蛋白同源,具有与 IgV 区或 C 区相似的折叠结构,氨基酸组成也有一定的同源性。IGSF 包括细胞间粘附分子 (inter CAM, ICAM)、血管细胞间粘附分子 (vascular CAM-1, VCAM-1) 和血小板内皮细胞粘附分子 (platelet endothelial CAM, PECAM)。ICAM-1 和 VCAM-1 广泛分布于内皮细胞、表皮细胞和巨噬细胞。ICAM-1/LFA-1 是首先证实的介导白细胞间和白细胞与内皮细胞粘附的分子对,对白细胞粘附及移位有重要作用。VCAM-1/VLA-4 有介导 T 细胞粘附、迁移的功能。

1.4 钙离子依赖的粘附分子家族

钙离子依赖的粘附分子 (Ca^{2+} dependent cell adhesion molecule family, Cadherin) 均为单链糖蛋白,由胞

浆区、穿膜区和胞膜外区三部分组成,不同的 Cadherin 分子在氨基酸水平上有 43%~58% 的同源性。目前已知 Cadherin 家族共有三个成员: E-Cadherin, N-Cadherin 和 P-Cadherin, 不同的 Cadherin 分子在体内有独特的组织分布,它们的表达随细胞生长发育状态的不同而改变, Cadherin 分子以其独特的方式相互作用,其配体是与自身相同的 Cadherin 分子。

1.5 其它尚未归类的粘附分子有 CD15, CD15s 和粘蛋白类。

2 粘附分子的表达与动脉粥样硬化早期病变的关系

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 的形成涉及许多过程,包括脂质代谢障碍,血管内皮细胞损伤,单核细胞的迁移并分化为巨噬细胞,平滑肌细胞从中膜迁移到内膜并增殖,泡沫细胞的形成,细胞的坏死和脂质沉积等^[4]。基础研究、临床研究和流行病学调查表明,氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, 氧化型低密度脂蛋白) 在众多致 As 病变因素中作用最为重要。1989 年 Steinberg 等^[5]提出氧化型低密度脂蛋白致 As 的 4 个效应: ① 对内皮细胞的毒性效用,早期使血管内皮细胞损伤,功能改变,促使氧化型低密度脂蛋白和单核细胞迁入膜内,晚期导致内皮细胞坏死,脱落; ② 促使内皮细胞分泌单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1), 对单核细胞有化学趋向性,吸引外周单核细胞; ③ 促进内膜单核细胞的分化,抑制内膜下巨噬细胞迁移至外周; ④ 通过清道夫受体巨噬细胞摄取氧化型低密度脂蛋白变成泡沫细胞。此外氧化型低密度脂蛋白还可增强血小板在损伤内膜处的聚集,诱导中膜平滑肌细胞的迁移和增殖,刺激细胞分泌细胞因子和生长因子。通过氧化型低密度脂蛋白将有关 As 发生的两种主要学说脂质浸润学说和内皮细胞损伤—反应学说联系起来,有利于进一步研究 As 的发病机制。

最近的研究表明,氧化型 LDL 能够诱导血管内皮细胞和白细胞生成粘附分子,介导白细胞和血管内皮细胞的粘附作用,粘附分子在 As 发病中有着重要的作用。Berliner 等^[6]用轻度修饰的低密度脂蛋白 (minimally modified low density lipoprotein, mm-LDL) 与内皮细胞温育,发现 mm-LDL (0.12 mg/L) 即可使内皮细胞生成单核细胞趋化蛋白 (MCP-1) 增加 7 倍,内皮细胞和单核细胞结合量增加 3~5 倍,都有明显的量效关系。单核细胞的结合量可以受到蛋白合成抑制剂放线菌酮的抑制。Cushing 等^[7]发现不仅内皮细胞,而且平

滑肌细胞也能受 mm-LDL 作用生成 MCP-1,诱导单核细胞向内膜下迁移。Frostegard 等^[8]同时发现受氧化型 LDL 作用的单核细胞也易于粘着内皮细胞,并观察到氧化型 LDL 可使单核细胞表面人白细胞抗原-DR (HLA-DR) 表达增加和 CD4 表达降低,反映了巨噬细胞样高度分化的表型。实验结果说明氧化修饰的低密度脂蛋白可促使单核细胞对内皮细胞的粘附、迁移,并促使其向巨噬细胞分化,有利于 As 早期病变的形成。

越来越多的研究资料表明,氧化型 LDL 促使单核细胞与内膜粘附迁移,与其促进细胞表达粘附分子有关,粘附分子对 As 早期病变形成有重要作用。低密度脂蛋白在磷酸脂酶 A₂ 作用下,LDL 中脂质过氧化物量显著升高,自由基数目增多,LDL 中大量卵磷脂转化为溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholine, LysoPc)。LysoPc 亦是 mm-LDL 和氧化型 LDL 的重要组分。Kume 等^[9]报道 LysoPc 与培养的人胸主动脉内皮温育,可以诱导内皮粘附分子 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达。Martin 等^[10]发现 LDL 与人胸主动脉内皮温育,可以增加内皮细胞可溶性 ICAM-1 的表达。实验还发现^[11],在高胆固醇 As 兔 mm-LDL 可以在血管内膜下巨噬细胞聚集并吞噬脂质形成泡沫细胞前诱导内皮细胞 VCAM-1 的表达。Sakai 等^[12]研究了高胆固醇 As 兔和 Watanabe 遗传性高脂血症兔两种模型,发现 P-选择素和 VCAM-1 在胸主动脉内皮的表达先于内膜下单核吞噬细胞和 T 淋巴细胞聚集,而 E-选择素此时尚检测不到, O'Brine 等^[13]亦发现在人冠状动脉 As 斑块中 E-选择素表达的量少于 VCAM-1。Lehr 等^[14]报导在豚鼠肠系膜血管内注入从人血分离的氧化型 LDL 可增加白细胞对血管壁的滚动和粘附,这种作用主要为氧化型 LDL 诱导的 P-选择素介导,可被特异的抗 P-选择素抗体明显减弱。这些结果说明氧化修饰的低密度脂蛋白通过促进细胞粘附分子的表达,增强单核细胞对内膜的粘附、迁移,在 As 病变早期起着关键作用。粘附分子的表达具有一定时相性,在粘附早期 P-选择素起主要作用,在粘附后期主要是内皮细胞表面的 ICAM-1 和 VCAM-1 等表达增加。其中某些粘附分子如 P-选择素、VCAM-1 和 ICAM-1 作用可能较别的粘附分子更为重要。

氧化型低密度脂蛋白促使细胞粘附分子的表达其确切机制目前尚不清楚,研究发现,蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 途径可能是 LysoPc 诱导粘附分子表达的细胞内信号传递的关键^[15~18]。LysoPc 可激活细胞内 PKC 促进 VCAM-1 和 ICAM-1 的表达,增加氧自由基的产生,抑制内皮细胞一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的

释放。Murohara 等^[19]发现 10 $\mu\text{mol/L}$ LysoPc 能显著激活血小板内 PKC, 快速增加 P-选择素表达, 这种作用可被 PKC 抑制剂 UCN-01 减弱。Geng 等^[20]发现用 PKC 激活剂佛波醇酯(PMA)能显著增强 P-选择素的表达, 促进中性粒细胞对内皮细胞的粘附。PKC 激活后, 可以使 NF-K β 的抑制因子 IK β 和 Rel 蛋白前体 p105 磷酸化并与泛素(ubiquitin)连接、降解, 从而使 NF-K β 游离活化进入核内, 结合靶基因特定序列, 与其它转录活化因子连接形成操纵子复合体, 从而激活基因的转录反应。LysoPc 对 PKC 的作用与其浓度有关, 在 0~30 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, PKC 活性随 LysoPc 浓度增大而增强, 但高浓度 LysoPc (100 $\mu\text{mol/L}$) 不仅不能激活 PKC 反而有抑制作用^[16~19]。Patal^[21]等发现氧自由基可诱导内皮细胞表达, P-选择素亦与 PKC 有关。

3 抗氧化剂抑制粘附分子表达

抗氧化剂维生素 E (vitamin E, VE) 和丙丁酚 (probucol) 等很早就用于 As 的防治, 抗氧化剂对血中胆固醇量没有明显影响, 但有强的抗脂质氧化作用, 减少过氧化物丙二醛的产生, 保护细胞膜的稳定性, 清除氧自由基。最近研究发现抗氧化剂在 As 病变早期作用与其抑制细胞粘附分子表达有关。Martin 等^[10]用 LDL (400~1 930 mg/L) LDL 与人胸主动脉内皮温育, 发现单核细胞对内皮细胞的粘附呈剂量依赖性, 随 LDL 浓度增加, 可溶性的 ICAM-1 的量亦增加。如先用 VE (21~42 $\mu\text{mol/L}$) 与内皮温育再经 LDL 处理, 可见单核细胞对内皮细胞的粘附随 VE 剂量增大而减少, ICAM-1 的量亦减少, VE 的抗粘附作用与减少 ICAM-1 的表达有关。Marui 等^[22]发现抗氧化药物 Pyrrolidinedithiocarbamate (PDTC) 和 N-acetylcysteine 可以减少白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1) 诱导的人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 表达 VCAM-1。Faruqi 等^[23]报导 VE、Probucol 和 N-acetylcysteine 也能抑制 IL-1。内毒素和 PMA 诱导的 LI937 单核细胞株对 HUVECs 的粘附, 其作用与减少 E-选择素表达有关。最近研究发现^[24]丙丁酚能剂量依赖性降低内毒素诱导的 HUVEC 表达 E-选择素, 不仅其蛋白合成减少, 而且 mRNA 的量也减少, 丙丁酚也可以减少 VCAM-1 mRNA、M-CSF mRNA (macrophage colony-stimulating factor mRNA) 的表达, 但对 ICAM-1 的表达作用不明显。抗氧化剂抑制粘附分子的表达可能与其调节粘附分子 mRNA 转录有关。PDTC 是一种强的抗氧化剂, 能特异性与核因子 KB 结合, 抑制 NF-KB 的活化, 而 NF-KB 与调控 VCAM-1 和 ICAM-1 的启动子紧密结合。PDTC 可以

减少 VCAM-1 mRNA 的表达和 VCAM-1 蛋白合成, 抑制肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 诱导的单核细胞对 HUVECs 的粘附^[25]。PDTC 还可以抑制 NADPH 的氧化和细胞色素 P450 的活性, 减少氧自由基的产生, 抑制粘附分子的表达。一氧化氮是内源性舒血管物质, 是一种自由基分子, NO 能抑制内皮对 LDL 氧化作用, 抑制 PMN 和血小板的粘附聚集。Murohara 等^[19]研究发现 NO 供体 (CAS1690 和 sodium nitroprusside) 能显著降低 LysoPc 诱导的血小板表面 P-选择素的表达, 而且 CAS1609 能显著降低血小板 PKC 活性, 减少内皮细胞表达 P-选择素, 抑制 LysoPc 诱导的中性粒细胞对冠状动脉的粘附作用。NO 抑制粘附分子的表达可能和以下机制有关: ①NO 能通过使巯基亚硝基化, 抑制 PKC 活性; ②NO 通过 cGMP 抑制磷脂酰肌醇水解, 从而抑制 PKC 活性; ③NO 能清除氧自由基。NO 也是抗 As 病变的重要分子。现有研究资料表明抗氧化剂抑制粘附分子表达的作用机制可能与 PKC 有关, 但 PKC 家族的亚型较多, 其介导粘附分子表达的机制, 仍需进一步研究。

动脉粥样硬化是严重危害人民群众身体健康的疾病, 鉴于其复杂多样的致病因素和病变的难消退性, 因而及早、有针对性的去除各种危险因素是防治 As 的关键。低密度脂蛋白的氧化修饰, 粘附分子的表达增强在 As 早期病变中作用显著。抗氧化剂可以抑制脂蛋白氧化, 抑制诸多因素诱导的粘附分子的表达, 其作用机制有待继续研究。开发一种新的、有针对性的、强效的抗粘附分子表达的药物, 可能是防治动脉粥样硬化早期病变的关键措施。

参考文献

- 1 Lo SK, Lee SN, Ramos RA, et al. Endothelial leukocyte adhesion molecule-1 stimulates the adhesive activity of leukocyte Integrin CR3 (CD116/CD18) on human neutrophils. *J Exp Med*, 1991, **173**(12): 1 493~500.
- 2 Koedam JA, Cramer EM, Briend E, et al. P-selectin A gramude membrane protein of platelets and ENDOTHELIAL CELLS follows the regulated secretory pathway in T-20 Cells. *J Cell Biol*, 1992, **116**(3): 617~625.
- 3 Becker AM, Van Huijsduijnen RH, Los BC, et al. Murine endothelial leukocyte adhesion molecule-1 is a close structure and functional homologue of human protein. *Eur J Biochem*, 1992, **206**: 401.
- 4 Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 1993, **362**: 801~809.
- 5 Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, et al. Beyond

- cholesterol: modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*, 1989, **320** (14): 915~924.
- 6 Berliner JA, Territo M, Sevanian A, et al. Minimally modified low density lipoprotein stimulate monocyte-endothelial interaction. *J Clin Invest*, 1990, **85**(4): 1 260~266.
 - 7 Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ et al. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein-1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 5 134~138.
 - 8 Frostegard J, Nilsson J, Haegerstrand A, et al. Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocyte cell line U937. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 904~908.
 - 9 Kume N, Cybulsky M, Gimbrone MJ, et al. Lysophosphatidyl choline a component of atherogenic lipoprotein, induces mononuclear leukocyte adhesion molecules in cultured human and rabbit arterial endothelial cells. *J Clin Invest*, 1992, **90**(3): 1 138~144.
 - 10 Martin A, Foxall T, Blumberg JB, et al. Vitamin E inhibits low-density lipoprotein induced adhesion of monocytes to human aortic endothelial cells in Vitro. *Arterioscler Thromb*, 1997, **17**(2): 429~436.
 - 11 Li H, Cybulsky M, Gimbrone MJ, et al. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb*, 1993, **13** (2): 197~204.
 - 12 Sakai A, Kume N, Nisui E et al. P-selectin and Vascular cell adhesion molecule-1 are focally expressed in aortas of Hypercholesterolemic rabbits before intimal accumulation of macrophages and T lymphocytes. *Arterioscler Thromb*, 1997, **17**(2): 310~316.
 - 13 O'Brien KD, McDonald T, Chait A, et al. Neovascular expression of E-selectin intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in human atherosclerosis and their relation to intimal leukocyte content. *Circulation*, 1996, **93**(3): 672~682.
 - 14 Lehr H-A, Olofsson AM, Carew TE, et al. P-selectin mediates the interaction of circulation leukocytes with platelets and microvascular endothelium in response to oxidized lipoprotein in Vivo. *Lab Invest*, 1994, **71**: 380~386.
 - 15 Sugiyama S, Kugiyama K, Ohgushi M, et al. Lysophosphatidyl l-choline in oxidized low-density lipoprotein increase endothelial susceptibility to polymorphonuclear leukocyte-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries: role of protein kinase C. *Circ Res*, 1994, **74**: 565~575.
 - 16 Oishi K, Raynor RL, Chapp PA, et al. Regulation of protein Kinase C by lysophospholipids: potential role in signal transduction. *J Biol Chem*, 1988, **263**(14): 6 865~871.
 - 17 Kugiyama K, Ohgushi M, Sugiyama S, et al. Lysophosphatidylcholine inhibits surface receptor mediated intracellular signals in endothelial cells by a pathway involving protein Kinase C. *Circ Res*, 1992, **71**: 1 422~428.
 - 18 Ohara Y, Peterson TE, Zheng B, et al. Lysophosphatidylcholine increase vascular superoxide anion production via protein Kinase C activation. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**(6): 1 007~013.
 - 19 Murohara T, Scalia R, Lefer AM, et al. Lysophosphatidylcholine promotes P-selectin expression in platelets and endothelial cells. Possible involvement of Protein Kinase C activation and its inhibition by nitric oxide donors. *Circ Res*, 1996, **78**: 780~789.
 - 20 Geng JG, Bevilacqua MP, Moore KL, et al. Rapid neutrophil adhesion to activated endothelium mediated by GMP-140. *Nature*, 1990, **343**: 757~760.
 - 21 Patel KD, Limmeerman GA, Prescott SM, et al. Oxygen radicals induce human endothelial cells to express GMP-140. *J Cell Biol*, 1991, **112**(4): 749~759.
 - 22 Marui N, Offerman M, Swerlick R, et al. Vascular cells adhesion molecule-1 gene transcription and expression are regulated through antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest*, 1993, **92**(4): 1 866~874.
 - 23 Faruqi R, Delamote C, Dicorteto P (tocopherol inhibits agonist-induced monocyte cell adhesion to cultured human endothelial cells. *J Clin Invest*, 1994, **94**(2): 592~600.
 - 24 Kane KO M, Hayashi J, Saito I, et al. Probucol down-regulates E-selectin expression on cultured human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb*, 1996, **16**(7): 1 047~051.
 - 25 Weber C, Erl W, Pietsh A, et al. Antioxidants inhibits monocyte adhesion by suppressing nuclear factor-KB mobilization and induction of vascular cell adhesion molecule-1 in endothelial cells stimulated to generate radicals. *Arterioscler Thromb*, 1994, **145**(10): 1 665~763.

(1998-04-13 收稿, 1998-06-20 修回. 编辑: 朱雯霞)