

氧化型高密度脂蛋白研究进展

江 渝 刘秉文

(华西医科大学生物化学与分子生物学研究所, 成都 610041)

主题词 脂蛋白. 高密度: 氧化修饰: 氧化动力学: 受体: 动脉粥样硬化

摘 要 高密度脂蛋白发生氧化修饰后, 抗原性发生了变化, 不被高密度脂蛋白受体所识别; 234 nm 光吸收、硫代巴比妥酸反应物质含量、脂氢过氧化物含量及电泳迁移率均增加。体外用 Cu^{2+} 介导高密度脂蛋白发生氧化修饰, 具有特殊的氧化动力学: 在其氧化修饰过程中脂氢过氧化物、共轭二烯、硫代巴比妥酸反应物质及电泳迁移率均显示延滞期。

大量研究表明, 氧化型脂蛋白在动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 形成过程中起着十分重要的作用。血脂中低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 与 As 呈正相关, 而血浆高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 与 As 呈负相关, 且 HDL 具有抗 As 作用^[1]。国内外已有不少关于氧化型 LDL (oxidized LDL, ox-LDL) 的文献综述, 但尚未见有关氧化型 HDL (oxidized HDL, ox-HDL) 的综述报道, 本文就近年来关于 ox-HDL 的研究进展作一综述。

1 氧化型高密度脂蛋白的体外氧化和性质

氧化型脂蛋白中研究最早和最多的是 ox-LDL。大量研究表明, HDL 和 LDL 一样, 也能在体外发生氧化修饰。引起 HDL 氧化修饰的条件包括: 与金属离子, 如 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 温育; ④与血管内皮细胞、血管平滑肌细胞和单核/巨噬细胞保温; ④与脂加氧酶温育; 与自由基、超氧离子保温; γ -射线照射。

由于 HDL 在化学组成上与 LDL 相似, 因此 HDL 发生氧化修饰后也发生类似于 ox-LDL 的变化, 我们及国外研究均发现, HDL 在 Cu^{2+} 诱导下氧化修饰后, 共轭二烯烃 (conjugated dienes, CD) 形成, 导致 234 nm 光吸收增加。④氧化修饰过程中, 脂肪酸氧化断裂生成具有极高反应活性的中间产物, 如醛类和酮类物质, 该物质与 HDL 载脂蛋白 AI 结合, 导致 HDL 负电荷增加, 电泳迁移率比天然 HDL 增加^[2]。④当 HDL 发生氧化修饰后, 丙二醛增加, 其硫代巴比妥酸反应物 (thiobarbituric acid reaction substance, TBARS) 也随之增加。HDL 发生氧化修饰后, 其胆固醇酯发生氧化生成氧化型胆固醇酯^[3~5]。Jira 等^[6]报道: Fe^{2+} 或 Cu^{2+} 介导 HDL 体外发生氧化修饰, 其磷脂发生氧化^[7,8]。Ferretti 等^[9]通过荧光研究显示, 体外 Cu^{2+} 氧化修饰 HDL, 可降低其表面分子有序性和微环境的极性, 从而降低其分子的流动性, 进而抑制胆固醇的逆向转运。Artola 等^[10]进一步研究显示, 当 HDL 发生氧化修饰后, 载脂蛋白 AI 发生氧化形成寡聚体, 在 SDS-PAGE 上, 载脂蛋白 AI 寡聚体泳动较天然载脂蛋白 AI 慢。

2 高密度脂蛋白氧化修饰的动力学

Rifici 等^[11]对体外 Cu^{2+} 氧化修饰 HDL 的动力学研究显

示, HDL 的氧化效率取决于 Cu^{2+} 浓度和作用时间, 其 TBARS 和 CD 显示一个延滞期和增长期。我们用 Cu^{2+} 体外引发 HDL 氧化修饰, 研究了 HDL 氧化修饰过程中脂氢过氧化物 (lipid hydroperoxides, LOOH)、CD、TBARS 和琼脂糖凝胶电泳迁移率 (relative electrophoretic, REM) 变化动力学, 结果显示: LOOH 和 CD 的动力学变化呈现三个时相: 即延滞期、增长期和降解期。开始一段时间 LOOH (约 4 小时) 维持在低水平 (30 μmol LOOH/g protein HDL), 几乎没有变化, 称为延滞期。随后 LOOH 含量迅速上升, 称为增长期, 约 12 小时达到峰值 (130 μmol LOOH/g protein HDL), 以后下降, 称为降解期。CD 开始一段时间 (约 3 小时) 几乎没发生变化 ($A_{234\text{ nm}} = 1\ 000/\text{g protein HDL}$), 称为延滞期, 随后迅速上升称为增长期, 约 12 小时达到峰值 ($A_{234\text{ nm}} = 2\ 030/\text{g protein HDL}$), 而到第 22、24 小时 CD 下降平缓, 为降解期; 而 TBARS 和 REM 延滞期为 2 小时, 之后随修饰时间的延长呈增加趋势。该结果与刘尚喜等^[12]报道体外 Cu^{2+} 氧化 LDL 动力学结果相似, 只是在 HDL 氧化修饰过程中 LOOH、CD、TBARS 及 RME 4 个指标均有延滞期, 且 LOOH 和 CD 的延滞期比 LDL 的 LOOH 和 CD 要长 2 ~ 3 小时, 这可能与 HDL 具有较强抗氧化能力有关。

3 高密度脂蛋白的体内氧化修饰

关于 HDL 氧化修饰的资料大部分是从体外实验获得, 究竟活体内是否存在 HDL 的氧化修饰, 是人们关注的问题。本室江渝等^[13]1997 年首先报道高脂血症家兔动物模型, 其血清 LDL、极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 和 HDL 的 TBARS 含量及 234 nm 光密度值均较正常对照组显著增加 ($P < 0.01$)。高脂实验组兔血清 HDL、LDL 及 VLDL 的 REM 均较相应的正常脂蛋白大。表明高脂血症家兔活体内不仅存在有 ox-LDL、ox-VLDL, 而且存在 ox-HDL。随后 Artola 等^[10]研究显示, 在高胆固醇血症鸡动物模型中, 血清 HDL 中 TBARS 含量增加, 其载脂蛋白 AI 聚合成寡聚体, 亦证明活体内存在 ox-HDL。之后本室江渝等^[14]1997 年继续报道, 内源性高甘油三酯血症患者血浆 LDL、VLDL、HDL 的 TBARS 值及 234 nm 光吸收均较正常对照组显著增加 ($P < 0.01$), 高甘油三酯血症患者血浆 HDL、LDL、VLDL 的 REM 均较正常脂蛋白为大, 说明内源性高甘油三酯血症患者体内不仅有氧化型

LDL 和 VLDL, 而且存在氧化型 HDL^[15]。Lavy 等^[16]用体外 Cu^{2+} 介导人血浆脂蛋白氧化修饰发现, 高胆固醇血症患者的 LDL、VLDL 和 HDL 比正常人血浆相应脂蛋白更容易发生氧化修饰。Ghiselli 等^[17]报道, HDL 与内皮细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞及成纤维细胞保温后, 可发生氧化修饰。我们以往研究发现, HDL 与人动脉平滑肌细胞一起保温后, HDL 也可发生氧化修饰。由此我们推测, 与 LDL 氧化修饰机制一样, 机体在某些特定的情况下如高脂血症、自由基的存在时, HDL 通过血管内皮细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞内的脂加氧酶作用, 在活体内也 发生氧化修饰。

4 氧化型高密度脂蛋白受体

高密度脂蛋白受体具有不均一性和多样性, 不同种属和不同组织细胞中 HDL 受体存在差异性。这与 HDL 与不同组织细胞结合, 发挥不同功能有关。现已证实机体组织中不同细胞广泛存在 HDL 受体并测定出其分子量, 其中大部份是含糖链的寡聚体, 有些亚基含有二硫键, 在还原条件下受体丧失结合 HDL 的功能, 这些 HDL 受体活性不依赖 Ca^{2+} , 其结构和功能的研究有待深入^[18]。

氧化型高密度脂蛋白通过何种途径进入细胞内是一尚待研究的问题。由于 HDL 氧化修饰后, 其脂质及载脂蛋白发生改变, 因而 ox-HDL 可能不再为 HDL 受体所识别^[19], Nakajima 等^[20]通过单克隆抗体检测 ox-HDL, 发现主要是 ox-HDL 分子内的溶血性磷脂酰胆碱产生了新的抗原决定簇, 因而不能被 HDL 受体识别。Martin-Nizard 等^[21]研究显示, ox-HDL 通过内皮细胞清道夫受体刺激内皮素的分泌。Ville 等^[22]用配体-配体实验显示, ox-HDL 是通过巨噬细胞的清道夫受体发生结合反应, 引起巨噬细胞胆固醇堆积。Musanti 等^[23]采用交叉竞争结合取代实验, 说明 ox-HDL 是通过小鼠巨噬细胞清道夫受体而发挥作用。清道夫受体是 ox-LDL 的一种。巨噬细胞膜上至少有四种 ox-LDL 受体: 清道夫受体, 为一相对分子质量 2.2×10^5 的三聚体, 由 7.7×10^4 的糖蛋白亚基组成。它能介导乙酰化 LDL 和 ox-LDL 的摄取。④CD₃₆受体为一相对分子质量 8.8×10^4 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表面。巨噬细胞通过 CD₃₆受体途径摄取的 ox-LDL 占其总摄取量的 40%^[24]。④Fc受体, 这是从小鼠巨噬细胞文库中克隆出的相对分子质量为 5.0×10^4 一种 ox-LDL 受体蛋白^[25], 含一个跨膜区, 属糖蛋白。Macrosialin, 为一相对分子质量 $8.7 \sim 1.15 \times 10^4$ 、重度糖基化的跨膜蛋白, Holness 等^[26]已克隆出 Macrosialin cDNA。最近 Acton 等^[27]清道夫受体 B iv能特异结合 HDL。目前对 ox-HDL 受体研究刚开始, 初步认为 ox-HDL 受体是清道夫受体, ox-HDL 受体是否与 ox-LDL 为同一受体, 还需进一步研究证实。

综上所述, HDL 经氧化修饰后, 其脂质(主要是磷脂和胆固醇及酯)和载脂蛋白(主要是载脂蛋白 AI)发生改变, 引起一系列理化性质的变化, 使 HDL 丧失了原有抗 As 作用, 而具有致 As 作用。

参考文献

- 刘秉文, 曾成林. 高密度脂蛋白抗动脉粥样硬化作用. 中国动脉硬化杂志, 1994, 2 (1): 44~ 50
- Nagano Y, Arai H, Kita T. High density lipoprotein loses its effect to stimulate effect of cholesterol from foam cells after oxidative modification. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 6 457~ 461
- Fluiter K, Vietsch H, Biessen EA, et al. Increased selective uptake in vivo and in vitro of oxidized cholesterol esters from high density lipoprotein by rat liver parenchymal cells. *Biochem J*, 1996, 319 (pt2): 471~ 476
- Kenar JA, Havrilla CM, Porter NA, et al. Identification and quantification of regioisomeric cholesterol linoleate hydroperoxides in oxidized human low density lipoprotein and high density lipoprotein. *Chem Res Toxicol*, 1996, 9 (4): 737~ 744
- Tanaka M, Kanamaru S. Capillary gas chromatography quantification of cholesterol in copper-oxidized low density lipoprotein. *Biol Pharm Bull*, 1993, 16 (6): 538~ 543
- Jira W, Spiteller G. Plasmalogens and their oxidative degradation products in low and high density lipoprotein. *Chem Phys Lipids*, 1996, 79 (2): 95~ 100
- Morel DW. Reduced cholesterol efflux to mildly oxidized high density lipoprotein. *Biochem Biophys Res Commun*, 1994, 200 (1): 408~ 416
- Bradman S, Barengi L, Giudici GA, et al. Free radicals promote modification in plasma high-density lipoprotein: nuclear magnetic resonance analysis. *Free Radic Biol Med*, 1992, 12 (3): 193~ 203
- Ferretti G, Taus M, Dousset N. Physico-chemical properties of copper-oxidized high density lipoprotein: a fluorescence study. *Biochem Mol Biol Int*, 1993, 30 (4): 713~ 719
- Artola RL, Conde CB, Bagatolli L, et al. High density lipoprotein from hypercholesterolemic animals has peroxidized lipid and oligomeric apolipoprotein AI: its putative role in atherogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 239 (2): 570~ 574
- Rifici VA, Khachadurian AK. Oxidation of high density lipoproteins: characterization and effects on cholesterol efflux from J 774 macrophages. *Biochim Biophys Acta*, 1996, 1299 (1): 87~ 94
- 刘尚喜, 陈 媛, 周 玫. 低密度脂蛋白体外氧化修饰过程中几种产物变化的动力学研究. 中国动脉硬化杂志, 1996, 4 (4): 250~ 254
- 江 渝, 刘秉文, 傅明德. 高脂膳食诱发家兔血清过氧化脂质升高及 LDL、VLDL 和 HDL 在活体内的氧化修饰. 华西医科大学学报, 1997, 28 (1): 1~ 5
- 江 渝, 刘秉文, 范 萍, 等. 内源性高甘油三酯血症患者体内存在氧化型低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白和高密度脂蛋白. 中国动脉硬化杂志, 1997, 5 (2): 99~ 102
- Liu BW, Jiang Y, Fu MD. Oxidative modification of serum LDL, VLDL and HDL in vivo. *Atherosclerosis*, 1997, 134 (1- 2): 224
- Lavy A, Broek GJ, Dankner G. Enhanced in vitro oxidation of plasma lipoproteins derived from hypercholesterolemic patients. *Metabolism*, 1991, 40 (8): 794~ 799
- Ghiselli G, Giorgini L, Gelati M, et al. Oxidatively modified HDLs are potent inhibitors of cholesterol biosynthesis in human skin fibroblasts. *Arterioscler Thromb*, 1992, 12: 929~ 935

- 18 Johnson WJ, Mahlberg FH, Rothblat GH, et al. Cholesterol transport between cells and high- density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta*, 1991, **1085**: 273- 298
- 19 张华征. 脂蛋白与动脉粥样硬化. 见: 王克勤 (主编), 脂蛋白与动脉粥样硬化. 北京: 人民卫生出版社, 1995; 433
- 20 Nakajima T, Sakagishi Y, Katahira T. Characterization of specific monoclonal antibody 9F 5- 3a and the development of assay system for oxidized HDL. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, **217** (2): 407 ~ 411
- 21 Martin- Nizard F, Sculli- Houssaini H, Walters- Laporte E. Oxidized high density lipoproteins modulate endothelin secretion by adult bovine aortic endothelial cells. *J Cardiovasc Risk*, 1995, **2** (3): 263 ~ 267
- 22 Ville AE La, Sola R. In vitro oxidized HDL is recognized by the scavenger receptor of macrophages: implications for its protective role in *in vivo*. *Atherosclerosis*, 1994, **105**: 179~ 189
- 23 Musanti R, Ghiselli G. Interaction of oxidized HDLs with J774- A1 macrophages causes intracellular accumulation of unesterified cholesterol. *Arterioscler Thromb*, 1993, **13**: 1 334~ 345
- 24 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
- 25 Santon LW, White RT, Bryant CM, et al. A macrophages Fc receptor for IgG is also a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 22 446~ 451
- 26 Holness CL, Siluva RP, Fawcett J, et al. Macrosialin, a mouse macrophage- restricted glycoprotein is a member of the lamn/IgG family. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 661~ 666
- 27 Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, et al. Identification of scavenger receptor SR- B1 as a high density lipoprotein receptor. *Science*, 1996, **271**: 518~ 520
- (此文 1999- 01- 06 收到, 1999- 07- 30 修回)
- (此文编辑 朱雯霞)