

基质金属蛋白酶与动脉粥样硬化及斑块破裂的关系

于 滢 综述, 杨向红 审校

(中国医科大学实验病理学教研室, 辽宁省沈阳市 110001)

[关键词] 病理学; 基质金属蛋白酶与动脉粥样硬化的关系; 综述; 动脉粥样硬化; 基质金属蛋白酶; 斑块破裂

[摘要] 基质金属蛋白酶是一组能够降解血管细胞外基质成分的酶类。在动脉粥样硬化斑块的特定区域过度表达,可引起斑块基质的降解,从而导致斑块破裂,引发急性冠状动脉综合征。本文就基质金属蛋白酶在动脉粥样硬化及斑块破裂中的作用作一综述。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

1 基质金属蛋白酶的基本特征

基质金属蛋白酶(matrix metalloprotein, MMP)是一族锌离子依赖性内肽酶,它们分子大小各异,底物不尽相同。在正常成人的组织中通常是低水平表达,但在一些正常或病理性重建的过程中表达上调。所有MMP家族成员均有以下共同特性:可降解细胞外基质成分;④以酶原的形式分泌至细胞外,并在适当条件下被激活而发挥生物作用;④在活性位点存在锌离子,并需要钙离子维持其活性与稳定性;在pH为中性时发挥作用;可以被特异性组织型基质金属蛋白酶抑制因子(tissue inhibitor of matrix metalloproteins, TIMP)所抑制^[1]。已发现的MMP家族成员有20多种,根据它们的结构

和底物特异性将MMP分为四组:间质胶原酶、明胶酶、间质溶素和膜型基质金属蛋白酶(membrane-type matrix metalloprotein, MT-MMP)。其中,又将间质胶原酶、明胶酶和间质溶素统称为“经典型”MMP,而将MT-MMP称为“新型”MMP。“经典型”MMP以无活性的酶原形式合成,需经进一步反应活化暴露其活性部位而具有生物活性。“新型”MMP则以活性形式合成,除降解细胞外基质外,还在“经典型”MMP的活化中发挥作用^[2]。

MMP的氨基酸序列检测表明,同组内的各酶间约有70%的相似性,不同组间的酶约有50%的相似性^[3]。除了MMP-7分子相对较小以外,每个胶原酶或间质溶素均由五个结构域组成:信号肽域;④前肽域,内含有一个半胱氨酸残基,对MMP酶原形式的维持起重要作用,在活化后此残基即被水解;④催化域,包含锌离子结合位点;所谓的“铰链区”用于连接催化域和COOH末端域;血红素结合蛋白样或纤维结合素样的COOH末端域,可能和底物的特异性有关^[4]。明胶酶也有以上五个结构域,但在它们的催化域内有三个纤

[收稿日期] 2002-11-19 [修回日期] 2003-08-02

[作者简介] 于滢,女,1977年11月出生,吉林省吉林市人,硕士研究生。E-mail: Yuying1977@163.com。杨向红,女,1962年10月出生,博士,教授,博士研究生导师,主要从事动脉粥样硬化和高血压等心血管疾病发病机制和防治的研究。

维结合素①型重复序列,这些序列使明胶酶更易于和底物结合^[5,6]。MT-MMP 不仅有其它 MMP 所共有的五个结构域,还有一个独特的跨膜域,从而使 MT-MMP 固定于细胞膜上^[7]。

2 基质金属蛋白酶的调节

基质金属蛋白酶(MMP)的表达和活性受到三个水平的调控:酶原合成的调控,酶原激活的调控以及抑制剂对其活性的调控^[8]。

多种生长因子(如表皮生长因子和转化生长因子 β)与细胞因子(如白细胞介素 1 β 、肿瘤坏死因子 α 和 CD40 配基)是 MMP 酶原合成阶段在转录水平最主要的调节因素。有研究证实白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 均能促进单核/巨噬细胞表达 MMP^[9]。Galis 等^[10]研究发现,白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 也能刺激平滑肌细胞分泌 MMP。而动脉粥样斑块病变处的单核细胞源性巨噬细胞可以分泌上述细胞因子。另有研究证实,人单核细胞通过白细胞介素 1 依赖的途径,增加人血管平滑肌细胞 MMP-1 和 MMP-3 的分泌^[11]。活化的 T 淋巴细胞表达 CD40L,与其受体 CD40 结合,促进血管平滑肌细胞、巨噬细胞及内皮细胞表达和释放 MMP-1、MMP-3 和 MMP-9 等一系列 MMP^[12-14]。而且,CD40L 使细胞产生的非激活明胶酶 A(MMP-2)以激活形式释放^[14]。最新的体内研究也发现,动脉粥样硬化斑块内 CD40 及金属蛋白酶同时表达,证实 CD40 信号可能参与粥样斑块内金属蛋白酶的调节^[15]。并且 CD40L 介导 MMP 表达要远远强于白细胞介素 1 和肿瘤坏死因子 α 的作用。除此之外,一种被称为细胞外基质金属蛋白酶诱导剂(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN)的细胞表面蛋白也可以诱导 MMP 的表达^[16]。

“经典型”MMP 以酶原的形式分泌至胞外后共有四种机制参与了其酶原活化的调节^[17]: ①通过其他 MMP(包括 MT-MMP)的胞外活化途径; ②通过非 MMP 蛋白(如纤维蛋白溶酶、血栓素和弹性蛋白酶)的胞外活化途径; ③通过 Furin(一种贯穿高尔基网络的丝氨酸蛋白酶)作用的 MT-MMP 的胞内活化途径; ④MMP-2 的 MT-MMP 膜结合性活化途径,该途径包括一系列发生于细胞表面的复杂过程。

在 MMP 的抑制剂中研究较多的是一组被称为 TIMP 的内源性物质,它们在生理性组织重建中起调控基质转换的作用。TIMP 在体内分布广泛,目前已经发现的有 4 种亚型(TIM-1、2、3 及 4)^[18],它们可与活化的 MMP 以 1:1 的比例结合,而抑制其活性。目前研究较多的是 TIMP-1 和 TIMP-2。除了 TIMP 家族,还有一些其他的 MMP 抑制剂,其中以 α 巨球蛋白的作用最为突出。 α 巨球蛋白是一种由肝脏产生的大分子蛋白(750 kDa),它可以抑制包括 MMP 在内的所有蛋白酶类。然而,由于 α 巨球蛋白的大分子特性限制其进入组织发挥抑制剂的作用。

3 基质金属蛋白酶和动脉粥样硬化血管基质重建

细胞外基质是正常血管壁的主要成分,约占内膜体积的 60%。基质主要由不同类型的蛋白聚糖和胶原构成。在血

管壁的细胞外基质中存在四种类型的蛋白聚糖:硫酸软骨素蛋白聚糖、硫酸乙酰肝素蛋白聚糖、硫酸软骨素 B 蛋白聚糖和硫酸角质素蛋白聚糖,均由内皮细胞和平滑肌细胞合成^[19,20]。在动脉粥样硬化病变中,硫酸软骨素和硫酸软骨素 B 蛋白聚糖含量显著增高^[21],这两种蛋白聚糖可结合血浆 LDL,促进其在内膜中的沉积。在正常的血管壁中存在的大多数胶原以纤维胶原 iv 型和 α 型的形式存在,由平滑肌细胞和内皮细胞产生。两种纤维胶原在进展期的动脉粥样病变中数量显著增加。正常的动脉壁基质中还含有数量较少的 α 型、v 型和 α 型胶原以及一定量的弹性蛋白、纤维连接蛋白和层粘连蛋白等^[19,22]。

血管基质的重建包括基质成分的合成与降解,是维持血管结构完整性的重要机制。动脉粥样硬化性动脉与正常动脉结构显著的区别在于动脉粥样硬化的形成中涉及广泛的血管基质的重建。在动脉粥样硬化形成的过程中,细胞外基质合成与降解的比率在不同的病变部位并不相同,并且这种平衡在疾病的不同阶段也有改变。在病变的初级阶段,细胞迁移增殖,伴随基质降解;在斑块生长的过程中,基质的合成大于分解,持续的基质沉积引起管腔狭窄;随着病变的发展,细胞外基质的降解又可使斑块对机械外力的抵抗作用减弱,发生斑块破裂。因此动脉粥样硬化形成及发展的过程也是细胞外基质重建的过程,而在这些过程中 MMP 发挥了重要的作用。Galis 等^[23,24]研究了几种 MMP 的表达,发现动脉粥样斑块与非病变的动脉有着不同的 MMP 表达形式。在非病变的动脉中,明胶酶 A、TIMP-1 和 TIMP-2 在平滑肌细胞表达,而没有检测到间质胶原酶、明胶酶 B 和间质溶素。在动脉粥样硬化病变中,则可检测到所有的 MMP 和 TIMP,可见于病变的巨噬细胞、淋巴细胞、平滑肌细胞和内皮细胞中。表明 MMP 参与了动脉粥样硬化的发生和发展中的基质重建过程。

4 基质金属蛋白酶与不稳定性斑块及斑块破裂的关系

典型的动脉粥样斑块由粥样核心和纤维帽组成。粥样核心的成分为脂质(主要为低密度脂蛋白)及坏死物质;纤维帽主要成分为胶原纤维和平滑肌细胞。动脉粥样硬化斑块在形态上有差异^[22]。一类是有较厚纤维帽的斑块,内含大量的细胞外基质;另一类是有较薄纤维帽的病变,虽然管腔狭窄不明显,但这类斑块对机械力的抵抗力较弱,更易于破裂,被称为不稳定性斑块。目前认为不稳定性斑块有以下一些特征: ①偏心的管腔边缘; ②脂质丰富; ③含有厚度易变或较薄的纤维帽; ④局部炎症细胞浸润、巨噬细胞和活化 T 淋巴细胞增加; ⑤较多的新生微血管; ⑥平滑肌细胞减少; ⑦炎症标志物、基质金属蛋白酶表达及组织因子增加等。

心肌梗死等急性冠状动脉综合征引发的猝死多是由于冠状动脉粥样硬化斑块的破裂引起。而斑块的破裂易发生于纤维帽的边缘处。这些易破裂的区域含有大量的巨噬细胞,而 MMP 主要存在于巨噬细胞丰富的肩部区域,因此普遍认为这些细胞及它们释放的 MMP 引起斑块结构的破坏。大

量的实验证实巨噬细胞源性的 MMP 参与斑块的破裂^[25-28]。

MMP-3 可降解广泛的细胞外基质成分,并能够将其其它 MMP 由酶原形式转化成活性 MMP。运用原位杂交技术, Henney 等^[25] 检测到冠状动脉粥样硬化斑块中 MMP-3 的转录物与巨噬细胞共同存在于斑块的肩部。近来, Silence 等^[29] 的研究也证实 MMP-3 可通过降解基质成分而与斑块的不稳定性有关。

胶原是动脉粥样硬化斑块中的主要成分,斑块的稳定性主要依赖于间质的胶原含量。胶原的丢失,尤其是 iv 型胶原——斑块中的主要负荷分子的减少,是斑块易于破裂的重要原因^[30]。由于间质胶原可以抵抗大多数蛋白酶的分解作用,因此能分解这种稳定致密的三联纤维网状胶原的间质胶原酶(MMP-1、MMP-8 和 MMP-13)受到关注。大量研究证实,在易于破裂的斑块肩部,胶原分解的增强与巨噬细胞产生的 MMP-1 和 MMP-13 密切相关^[26,27,30,31]。多形核细胞胶原酶(MMP-8)分解胶原的能力是其他间质胶原酶的 3 倍多,以前的观点认为 MMP-8 只产生于嗜中性粒细胞,而在动脉粥样硬化斑块中嗜中性粒细胞含量很少,因此忽略了 MMP-8 在斑块不稳定性中的作用^[32]。近来, Heman 等^[33] 研究发现,人动脉粥样硬化斑块的內皮细胞、平滑肌细胞与巨噬细胞均表达 MMP-8,与 iv 型胶原的分解片段共存于易于破裂的斑块肩部,提示 MMP-8 在斑块的破裂中也起重要的作用。在胶原被分解为一些 1/4 和 3/4 的片段后,明胶酶 A(MMP-2)和明

胶酶 B(MMP-9)可进一步分解这些胶原片段。相关的实验也已证实,在人动脉粥样硬化不稳定性斑块中 MMP-2 和 MMP-9 过度表达,活性增强^[26,28,34-36]。除此之外,巨噬细胞源性的基质溶素(MMP-7)和巨噬细胞弹性蛋白酶(MMP-12)也与斑块的破裂有关^[37]。

动脉粥样硬化斑块中含有丰富的 TIMP-1、2 和 3,主要存在于巨噬细胞中,少量存在于平滑肌细胞中。TIMP-1 和 TIMP-2 以可溶性的形式分泌,分泌后即和细胞外基质成分结合形成不溶性复合物,调节 MMP 活性^[38,39]。在动脉粥样斑块中 TIMP 的分布和 MMP 的表达相关。例如,间质胶原酶(MMP-1)、明胶酶 B(MMP-9)和间质溶素 1(MMP-3)在病变的纤维帽、肩部以及脂核的基底部表达,基质溶素(MMP-7)主要在脂质核心表面的巨噬细胞中表达。近来的研究证实,TIMP-1、2 和 3 也定位于这些区域,尤其是斑块肩部、纤维帽和坏死核心之间的巨噬细胞中。因此 MMP 和 TIMP 之间的不平衡性将决定斑块的稳定性。

总之,MMP 是一类与斑块不稳定及破裂关系十分密切的蛋白水解酶类。在防治动脉粥样硬化的过程中,适度地抑制 MMP 活性可以提高斑块的稳定性,减少斑块破裂的发生。MMP 活性调节是一个十分复杂的过程,涉及多种刺激及抑制因素,目前对其了解还不十分全面。但适度地调节 MMP 活性,改善细胞外基质重构将成为动脉粥样硬化防治研究的方向之一。

表 1. 基质金属蛋白酶简介

名 称	排序	相对分子质量	主要底物
间质胶原酶			
间质胶原酶	MMP-1	52 000	iv、Ⅲ、Ⅳ 和 Ⅴ型胶原;明胶;TNF-α
多形核细胞胶原酶	MMP-8	75 000	iv、Ⅲ和 Ⅳ型胶原
胶原酶 3	MMP-13	52 000	iv型胶原
胶原酶 4	MMP-18	不详	不详
间质溶素			
间质溶素 1	MMP-3	55 000	纤维连接蛋白;层粘蛋白;蛋白多糖核心蛋白
间质溶素 2	MMP-10	55 000	纤维连接蛋白;层粘蛋白;蛋白多糖核心蛋白
间质溶素 3	MMP-11	61 000	纤维连接蛋白;层粘蛋白
基质溶素	MMP-7	28 000	纤维连接蛋白;层粘蛋白;蛋白多糖核心蛋白
明胶酶			
明胶酶 A	MMP-2	72 000	明胶; iv、Ⅲ、Ⅳ 和 Ⅴ型胶原;弹性蛋白;纤维连接蛋白;TNF-α
明胶酶 B	MMP-9	92 000	明胶; Ⅲ和 Ⅳ型胶原;弹性蛋白;TNF-α
膜型金属蛋白酶			
iv型膜型金属蛋白酶	MMP-14	63 000	明胶酶 A 前体
Ⅲ型膜型金属蛋白酶	MMP-15	72 000	不详
Ⅳ型膜型金属蛋白酶	MMP-16	64 000	明胶酶 A 前体
Ⅴ型膜型金属蛋白酶	MMP-17	70 000	不详
其他			
端肽酶	MMP-4	不详	iv型胶原的 α1 链;纤维连接蛋白
3/4 胶原內肽酶	MMP-5	不详	iv、Ⅲ和 Ⅳ型胶原降解后的 3/4 片段;明胶
酸性金属蛋白酶	MMP-6	不详	软骨;蛋白聚糖;胰岛素的 β 链
巨噬细胞弹性蛋白酶	MMP-12	54 000	弹性蛋白;纤维连接蛋白;层粘蛋白
Cossins/Pendas	MMP-19	不详	不详
Enamelysin	MMP-20	不详	不详

[参考文献]

- [1] Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodelling. *Trends Genetics*, 1990, **6**: 121-125
- [2] Murphy G, Stanton H, Cowell S, et al. Mechanisms for pro matrix metalloproteinase activation. *APMS*, 1999, **107**: 38-44
- [3] Alexander CM, Werb Z. Extracellular matrix degradation. In: Hay ED, ed. *Cell biology of extracellular matrix*. New York: Plenum Press, 1991, 255-302
- [4] Birkedal-Hansen H, Moore WGL, Bodden MK, et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*, 1993, **4**: 197-250
- [5] Huhtala P, Chow LT, Tryggvason K. Structure of the human Type IV collagenase gene. *J Biol Chem*, 1990, **265**: 11 077-082
- [6] Huhtala P, Tuuttila A, Chow T, et al. Complete structure of the human gene for 92-kDa type IV collagenase. Divergent regulation of expression for the 92- and 72-kilodalton enzyme genes in HT-1080 cells. *J Biol Chem*, 1991, **266**: 16 485-490
- [7] Sato H, Takino T, Okada Y, et al. A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumour cells. *Nature (London)*, 1994, **370**: 61-65
- [8] Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem*, 1997, **378**: 151-160
- [9] Saren P, Welgus HG, Kovanen PT. TNF- α and IL-1 β selectively induce expression of 92-kDa gelatinase by human macrophages. *J Immunol*, 1996, **157**: 4 159-165
- [10] Galis ZS, Muszynski M, Sukhova GK, et al. Cytokine-stimulated human vascular smooth muscle cells synthesize a complement of enzymes required for extracellular matrix digestion. *Circ Res*, 1994, **75**: 181-189
- [11] Lee E, Grodzinsky AJ, Libby P, et al. Human vascular smooth muscle cell-monocyte interactions and metalloproteinase secretion in culture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 2 284-289
- [12] Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? *Circ Res*, 1997, **81**: 448-454
- [13] Mach F, Schonbeck U, Bonnefoy JY, et al. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. *Circulation*, 1997, **96**: 396-399
- [14] Mach F, Schonbeck U, Fabunmi RP, et al. T lymphocytes induce endothelial cell matrix metalloproteinase expression by a CD40L-dependent mechanism: implications for tubule formation. *Am J Pathol*, 1999, **154**: 229-238
- [15] Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK, et al. Expression of stromelysin-3 in atherosclerotic lesions: regulation via CD40-CD40 ligand signaling in vitro and in vivo. *J Exp Med*, 1999, **189**: 843-853
- [16] Spinale FG, Coker ML, Heung LJ, et al. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is up-regulated in heart failure. *Circulation*, 2000, **102**: 1 944-949
- [17] Ferrans VJ. New insights into the world of MMPs. *Circulation*, 2002, **105**: 405-407
- [18] Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation, and biological functions. *Eur J Cell Biol*, 1997, **74**: 111-122
- [19] Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler B, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. *Arterioscler Thromb*, 1992, **12**: 120-134
- [20] Wight TN, Schonherr E, Jarvelainen H, et al. Regulation of proteoglycan synthesis by vascular cells. In: Woodford FP, Davignon J, Sniderman A, eds. *Atherosclerosis*. Amsterdam: Elsevier Science, 1995, 350-354
- [21] Stary HC, Chandler AB, Glagov S, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb*, 1994, **14**: 840-856
- [22] Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation*, 1995, **91**: 2 844-850
- [23] Galis ZS, Muszynski M, Sukhova GK, et al. Enhanced expression of vascular matrix metalloproteinases induced in vitro by cytokines and in regions of human atherosclerotic lesions. *Ann N Y Acad Sci*, 1995, **748**: 501-507
- [24] Galis ZS, Sukhova GK, Kranzhofer R, et al. Macrophage foam cells from experimental atheroma constitutively produce matrix-degrading proteinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 402-406
- [25] Henney AM, Wakeley PR, Davies MJ, et al. Localization of stromelysin gene expression in atherosclerotic plaques by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 8 154-158
- [26] Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*, 1994, **94**: 2 493-503
- [27] Ninkari ST, O'Brien KD, Furguson M, et al. Interstitial collagenase (MMP-1) expression in human carotid atherosclerosis. *Circulation*, 1995, **92**: 1 393-398
- [28] Li Z, Li L, Zielke HR, et al. Increased expression of 72-kd type I collagenase (MMP-2) in human aortic atherosclerotic lesions. *Am J Pathol*, 1996, **148**: 121-128
- [29] Silence J, Lupu F, Collen D, et al. Persistence of atherosclerotic plaque but reduced aneurysm formation in mice with stromelysin 1 (MMP-3) gene inactivation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21**: 1 440-445
- [30] Rekhter MD, Zhang K, Narayanan AS, et al. Type IV collagen gene expression in human atherosclerosis: localization to specific plaque regions. *Am J Pathol*, 1993, **143**: 1 634-648
- [31] Sukhova GK, Schonbeck U, Rabkin E, et al. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atherosclerotic plaques. *Circulation*, 1999, **99**: 2 503-509
- [32] Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead. *Cell*, 2001, **104**: 503-516
- [33] Herman MP, Sukhova GK, Libby P, et al. Expression of neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase-8) in human atheroma: a novel collagenolytic pathway suggested by transcriptional profiling. *Circulation*, 2001, **104**: 1 899-904
- [34] Brown DL, Hibbs MS, Kearney M, et al. Identification of 92-kD gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions: association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation*, 1995, **91**: 2 125-131
- [35] Shah PK, Falk E, Badimon JJ, et al. Human monocyte-derived macrophage induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation*, 1995, **92**: 1 565-569
- [36] Zaltsman AB, Newby AC. Increased secretion of gelatinases A and B from the aortas of cholesterol fed rabbits: relationship to lesion severity. *Atherosclerosis*, 1997, **130**: 61-70
- [37] Halpert I, Sires UI, Roby JD, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophage at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**: 9 748-753
- [38] Yu WH, Yu S, Meng Q, et al. TIMP-3 binds to sulfated glycosaminoglycans of the extracellular matrix. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 31 226-232
- [39] Anand-Apte B, Bao L, Smith R, et al. A review of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) and experimental analysis of its effect on primary tumor growth. *Biochem Cell Biol*, 1996, **74**: 853-862

(此文编辑 文玉珊)