

# 载脂蛋白 A iv 模拟肽的研究进展

黄全跃, 赵水平

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 内科学: 载脂蛋白 A iv 模拟肽的研究: 综述: 载脂蛋白 A iv: 模拟肽

[摘要] 高密度脂蛋白和载脂蛋白 A iv 与动脉粥样硬化呈负相关。载脂蛋白 A iv 模拟肽具有载脂蛋白 A iv 的相同作用。动物实验表明, L-氨基酸合成的载脂蛋白 A iv 模拟肽只能注射, D-氨基酸合成的载脂蛋白 A iv 模拟肽可口服, 它们均能改善血管内皮功能或减轻动脉粥样硬化。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

大量流行病学研究资料表明, 血浆高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 和载脂蛋白 A iv (apolipoprotein A iv, apoA iv) 水平与冠状动脉粥样硬化性心脏病呈负相关<sup>[1]</sup>。载脂蛋白 A iv 是 HDL 中主要的蛋白质成分, 通过多种机制对抗动脉粥样硬化作用<sup>[2,3]</sup>。人类载脂蛋白 A iv 由 243 个氨基酸残基组成, 含有 8 个 22-mer 两性  $\alpha$  螺旋重复结构, 其中大部分具有 A 类模序。A 类两性  $\alpha$  螺旋的电荷分布有其特点: 在  $\alpha$  螺旋极性和非极性交界处有大量正电荷氨基酸, 在极性表面的中心则有较多的负电荷氨基酸<sup>[4]</sup>。研究认为这种独特的二级结构模序与载脂蛋白 A iv 结合脂质的能力有关<sup>[2]</sup>。由于人类载脂蛋白 A iv 来源有限, 应用于临床十分困难。因此, 近年来, 有人合成了载脂蛋白 A iv 模拟肽, 能以单体、或以串联二聚体形式存在, 并且证实其拥有强大的脂质亲和力。本文对载脂蛋白 A iv 模拟肽的物理化学性质、生物学特性及其在动物实验研究中的应用情况及有关作用机理作一初步介绍。

## 1 载脂蛋白 A iv 模拟肽的结构与功能特点<sup>[5]</sup>

新近对载脂蛋白 A iv 模拟肽研究得较充分的是被称为载脂蛋白 A iv 模拟“母”分子、含 18 个氨基酸的多肽 18A, 将其羧基端乙酰化及氨基端酰胺化中和其电荷后成为 Ac-18A-NH<sub>2</sub> (Ac-D-W-L-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-L-K-E-A-F-NH<sub>2</sub>), 后者含有二个苯丙氨酸, 分别位于第 6 位和第 18 位, 因此叫做 2F。2F 有自身结合形成二聚体的趋势。有人对 2F 中的几处氨基酸以疏水性作用最大的苯丙氨酸取而代之, 已合成了一系列载脂蛋白 A iv 模拟肽: 3F<sup>3</sup> (Ac-F<sup>3</sup>18A-NH<sub>2</sub>)、3F<sup>14</sup> (Ac-F<sup>14</sup>18A-NH<sub>2</sub>)、4F (Ac-F<sup>3,14</sup>18A-NH<sub>2</sub>)、5F (Ac-F<sup>11,14,17</sup>18A-NH<sub>2</sub>)、6F (Ac-F<sup>10,11,14,17</sup>18A-NH<sub>2</sub>) 和 7F (Ac-F<sup>3,10,11,14,17</sup>18A-NH<sub>2</sub>)。

随着 18 肽中苯丙氨酸数目的增多, 载脂蛋白 A iv 模拟肽的物理化学性质发生了变化。具体表现如下: 理论上非

极性表面每个基团的疏水性增加 (从 2F 的 2.05 到 7F 的 3.15), 与脂质结合能力的理论值逐渐升高, 尤以 4F、5F 之间升高明显; ④分子重量逐渐增大, 3F<sup>3</sup> 和 3F<sup>14</sup> 的相等; ⑤在 PBS 中的溶解性逐渐降低, 2F、3F<sup>3</sup>、3F<sup>14</sup> 和 4F 的溶解性明显大于 5F、6F 和 7F; ⑥单层排斥压力 2F、3F<sup>3</sup>、3F<sup>14</sup> 和 4F (38~40 dyn/cm) 相似, 5F、6F 和 7F (45~46 dyn/cm) 相似, 均高于载脂蛋白 A 和母肽 18A; ⑦4F 和 5F 之间的单层排斥压力突然明显增加; 在水溶性或脂溶性环境中, 各种载脂蛋白 A iv 模拟肽的螺旋化程度百分比不同, 以 4F 的较为适中且几乎相等 (分别为 45% 和 44%)。

与此同时, 苯丙氨酸数目的增多也使载脂蛋白 A iv 模拟肽的生物学性质发生改变。随着磷脂单层排斥压力值的增高, 多肽与磷脂单层的相互作用和亲和力逐渐增强。卵磷脂胆固醇酰基转移酶 (lecithin cholesterol acyl transferase, LCAT) 的激活是一个复杂的过程, 不但有赖于脂质亲和力, 而且有赖于两性螺旋蛋白与 LCAT 的相互作用。载脂蛋白 A iv 模拟肽同类物激活 LCAT 的能力各不相同, 5F 最强, 这与前述的 4F 和 5F 之间的单层排斥压力突然增加有关, 而 6F 和 7F 的激活效力不如 5F, 可用肽一肽之间相互作用增加从而干扰肽一脂质或肽-LCAT 的相互作用来解释。已经有人研究发现, HDL 中的两性肽可清除低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 氧化的“种子”分子, 载脂蛋白 A iv 模拟肽 4F、5F 和 6F 几乎能同等程度地抑制 LDL 诱导的单核细胞化学趋化性, 7F 的抑制效果不如前三者, 这仍然可用自身二聚体来解释, 但 3F 反而使单核细胞化学趋化性增高的机理不清。

## 2 载脂蛋白 A iv 模拟肽在动物实验中的应用

业已证实, 蛋白酶能识别并且消化 L-氨基酸合成的蛋白质或多肽, 但不能识别 D-氨基酸合成的产品。因此, 由 L-氨基酸合成的载脂蛋白 A iv 模拟肽只能注射使用, 而 D-氨基酸的制品则可口服, 十分方便。

Navab 等<sup>[6]</sup>对 D-氨基酸合成的 4F 的抗动脉粥样硬化作用机理进行了观察。他们以转基因低密度脂蛋白受体缺乏小鼠 (LDL R<sup>-/-</sup>) 或载脂蛋白 E 受体缺乏小鼠 (载脂蛋白 E R<sup>-/-</sup>) 为动物模型, 对 LDL R<sup>-/-</sup> 自出生起饲以 chow 饮食至 4

[收稿日期] 2003-09-08 [修回日期] 2003-12-30

[作者简介] 黄全跃, 在读博士研究生, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事血栓与动脉粥样硬化的研究。E-mail: hqy2248@medmail.com.cn。赵水平, 教授, 博士研究生导师, 主要从事临床血脂学与动脉粥样硬化的研究。

周龄,然后给予高胆固醇饮食6周,而载脂蛋白E R<sup>-/-</sup>则维持chow饮食结构不变。从4周龄起,给LDL R<sup>-/-</sup>的胃管中每天两次注射D-4F,而在载脂蛋白E R<sup>-/-</sup>的饮用水中加入不同浓度的D-4F。结果发现,D-4F能减少LDL R<sup>-/-</sup>粥样硬化性损害79%,增强HDL保护能力,降低LDL诱导的单核细胞化学趋化活性,而血浆总胆固醇(total cholesterol,TC)水平和高密度脂蛋白胆固醇(HDL cholesterol, HDLC)则无明显差异;D-4F对载脂蛋白E R<sup>-/-</sup>几乎有同样的影响,即使极低的浓度(0.05 g/L)也有显著效应,尽管血浆HDLC的水平随D-4F的浓度增高而升高,但仍无统计学差异。

文献认为,各种形式的血管病变的最早期改变为舒张功能损害。高胆固醇血症通过LDL损伤血管内皮功能<sup>[7]</sup>,镰形细胞性疾病(sickle cell disease, SCD)则通过黄嘌呤氧化酶(XO)依赖的超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)和游离血红蛋白损害血管舒张<sup>[8]</sup>。最近,Ou等<sup>[9]</sup>发现L-4F能明显改善血管舒张功能。他们予以LDL R<sup>-/-</sup>和SCD小鼠生理盐水或L-4F[1mg/(kg·d)]共30天,分别观察有关指标。结果发现,L-4F能显著改善LDL R<sup>-/-</sup>的血管对乙酰胆碱的舒张反应,在体血管比离体血管反应更为显著,几乎与对照组无异,同时L-4F还抑制LDL诱导的内皮细胞O<sub>2</sub><sup>-</sup>的生成。就SCD小鼠而言,L-4F能恢复内皮依赖性血管舒张反应至约为对照组的70%,减少黄嘌呤氧化酶与肺小动脉内皮的结合,增加肝脏中黄嘌呤氧化酶含量。Garber等<sup>[10]</sup>也发现,5F(20 μg/d,16周)能使LDL R<sup>-/-</sup>的动脉粥样硬化斑块明显减少,脂质过氧化物形成及LDL诱导的单核细胞趋化性降低,而小鼠的载脂蛋白A iv则与安慰剂一样无类似的保护作用。

### 3 结论与展望

总而言之,载脂蛋白A iv模拟肽18肽有着与载脂蛋白A iv相同的性质,特别是4F和5F有明显的HDL和/或载脂蛋白A iv的作用,如抑制动脉粥样硬化而不影响血浆胆固醇水

平(提示有独立于逆向胆固醇转运作用),抑制LDL诱导的单核细胞化学趋化性进入动脉壁,同时还具有LCAT激活功能。目前已有载脂蛋白A iv模拟肽的系列合成多肽应用于动脉粥样硬化动物模型,相信在不久的将来,会有载脂蛋白A iv模拟肽抗动脉粥样硬化的临床试验结果面世,并可广泛应用于临床,从而大大改观动脉粥样硬化患者的病程和预后。

### [参考文献]

- [1] Philips NR, Waters D, Havel RJ. Plasma lipoproteins and progression of cardiovascular disease evaluated by angiography and clinical events. *Circulation*, 1993, **88**: 2 762-770
- [2] 梁利波,黎健. 载脂蛋白A iv的抗动脉粥样硬化作用. *中国动脉硬化杂志*, 1998, **6**: 353-356
- [3] 梁利波,王抒,黎健. 载脂蛋白A iv对内皮细胞粘附分子表达的影响. *中华医学杂志*, 2000, **80**: 468-469
- [4] Segrest JP, Li L, Anantharamaiah GM, Harvey SC, Liadaki KN, Zannis V. Structure and function of apolipoprotein A iv and high density lipoprotein. *Curr Opin Lipidol*, 2000, **11**: 105-115
- [5] Datta D, Chaddha M, Hama S, Navab M, Fogelman AM, Garber DW, et al. Effects of increasing hydrophobicity on the physical-chemical and biological properties of a class A amphipathic helical peptide. *J lipid Res*, 2001, **42**: 1 096-104
- [6] Navab M, Anantharamaiah GM, Hama S, Garber DW, Chaddha M, Hough G, et al. Oral administration of an apo A iv mimetic peptide synthesized from D-amino acids dramatically reduces atherosclerosis in mice independent of plasma cholesterol. *Circulation*, 2002, **105**: 290-292
- [7] Anderew HE, Bruckdorfer KR, Dunn RC, Jacobs M. Low density lipoproteins inhibit endothelium-dependent relaxation in rabbit aorta. *Nature*, 1987, **327**: 237-239
- [8] Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, Hogg N, Canon RO, Schechter AN, et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle cell disease. *Nat Med*, 2002, **8**: 1 383-389
- [9] Ou JS, Ou ZJ, Jones DW, Holzhauser S, Hatoum OA, Ackerman AW, et al. L-4F, an apolipoprotein A iv mimetic, dramatically improves vasodilation in hypercholesterolemia and sickle cell disease. *Circulation*, 2003, **107**: 2 337-341
- [10] Garber DW, Datta G, Chaddha M, Palgunachari MN, Hama SY, Navab M, et al. A new synthetic class A amphipathic peptide analogue protects mice from diet-induced atherosclerosis. *J lipid Res*, 2001, **42**: 545-552

(此文编辑 文玉珊)