

①A 分泌型磷脂酶 A₂ 与心血管疾病

周秀萍, 高应东 综述, 彭怀燕 审校

(中南大学湘雅三医院检验科, 湖南省长沙市 410013)

[关键词] 临床诊断学; ①A 分泌型磷脂酶 A₂ 与心血管疾病; 综述; ①A 分泌型磷脂酶 A₂; 动脉粥样硬化

[摘要] ①A 分泌型磷脂酶 A₂ 在血循环和动脉壁均有促动脉粥样硬化的作用。在血浆中, ①A 分泌型磷脂酶 A₂ 修饰脂蛋白形成小颗粒致密低密度脂蛋白, 从而增加发生心血管疾病的风险。在动脉壁, ①A 分泌型磷脂酶 A₂ 水解脂蛋白, 使之与蛋白聚糖的结合更紧密, 从而导致脂蛋白在血管壁滞留时间延长, 发生聚集和融合, 最终导致细胞内脂类的蓄积; 经过修饰后的脂蛋白也可以被其它酶修饰或巨噬细胞吞噬, 引起脂类的蓄积, 引发动脉粥样硬化。另外, ①A 分泌型磷脂酶 A₂ 的水解产物非酯化脂肪酸和溶血磷脂也可以促进动脉粥样硬化的形成。本文就 ①A 分泌型磷脂酶 A₂ 与心血管疾病的关系进行综述。

[中图分类号] R44

[文献标识码] A

心血管疾病是我国和世界上发病率和死亡率较高的疾病之一, 而动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是其共同的病理基础。1999 年初, Ross 提出 As 是发生在大及中血管的一种慢性特异性炎症^[1]。大量研究表明, ①A 分泌型磷脂酶 A₂ (secretory group ①A phospholipase A₂, ①A-sPLA₂) 在慢性炎症如关节炎、脓毒症、心血管疾病时, 其血清水平会升高, 而且升高的程度与疾病的严重程度相关。①A-sPLA₂ 是 As 的危险因子和发生冠状动脉事件的预测因子。

基: 精氨酸和赖氨酸, 从而使 ①A-sPLA₂ 具有较高的阳性电位。酶蛋白表面有一些特殊的阳离子基团, 使酶蛋白吸附于细胞膜、脂蛋白和磷脂团块表面的单层磷脂上。此外, 这些以阳离子为主的基团与以阴离子为主的基团结合紧密。正是这种相互结合使 ①A-sPLA₂ 只在细胞膜和细胞外基质中存在并对酶的活性进行调节。

1 ①A 分泌型磷脂酶 A₂ 的物理化学特性

磷脂酶 A₂ (phospholipase A₂, PLA₂) 是一类能催化脂蛋白和细胞膜上的甘油磷脂二位酰基酯键水解形成非酯化脂肪酸和溶血磷脂的酶族^[2]。这些水解产物既可以充当细胞内的第二信使, 又可以被进一步代谢为广泛参与细胞内各种变化的介质^[3]。PLA₂ 分为分泌型 (sPLA₂)、胞浆型 (cPLA₂) 和非钙离子依赖型^[4]。哺乳类动物的 sPLA₂ 异构体包括 ivB、①A、①C、①D、①E、①F、(Ⅱ)、①和 vi 型, 最近从人的肝脏中克隆出了 ①型 sPLA₂^[5]。在组织分布上各型之间有部分重叠^[6]。

人类非胰腺分泌的 PLA₂ 属于 ①A 型, ①A-sPLA₂ 的共同特性为富二硫键、低分子量 (14.4 kDa)、最适 pH 值为 7~9、钙离子依赖性。人类 ①A-sPLA₂ 基因位于 1 号染色体 p34-p36.1。它最初是从类风湿性关节炎患者的滑膜液中分离和提纯出来的。Kramer 等于 1989 年克隆出了 ①A-sPLA₂, 其在 2.2 Å 处的晶体结构也于 1991 年建立。①A-sPLA₂ 有 7 个二硫键桥, 从而形成牢固的三维立体结构, 并可抵御酸碱、热、蛋白水解等变性作用。酶蛋白中含有 23 个阳离子氨基酸残

2 ①A 分泌型磷脂酶 A₂ 的表达和调节

免疫组织化学证据表明, 正常动脉壁的平滑肌细胞是 ①A-sPLA₂ 的主要来源^[7]。通过电子显微镜可以看到在细胞内 ①A-sPLA₂ 主要是位于靠近平滑肌细胞膜的小囊泡内。在 As 病变的各个阶段都可以发现这种酶, 主要存在于巨噬细胞富集的区域、动脉粥样化的非细胞脂类核心以及与胶原纤维相连的病变血管内膜的细胞外基质中^[8]。

细胞因子可以不同程度地调节 ①A-sPLA₂ 的分泌及其 mRNA 的表达。干扰素 γ 可以使 mRNA 的表达量和 ①A-sPLA₂ 的分泌量增加 2~6 倍。在体外试验中, 加入干扰素 γ 后, 这种影响可以持续 48 h。而肿瘤坏死因子 α 只能在 4 h 内刺激 ①A-sPLA₂ 的分泌, 但不能改变 mRNA 的表达水平。白细胞介素 10 是一种抗炎因子, 可以下调干扰素 γ 诱导 ①A-sPLA₂ 的分泌, 但是对肿瘤坏死因子 α 的诱导作用无效。与小鼠不同, 白细胞介素 1 β 在人类动脉壁的平滑肌细胞中并非 ①A-sPLA₂ 的强诱导剂。这些细胞因子对 ①A-sPLA₂ 表达的诱导作用具有细胞特异性。在人类 As 病变中, 干扰素 γ 、肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素 1 β 的 mRNA 的转录与 ①A-sPLA₂ 相互制约, 提示在活体内这些细胞因子可以调节 As 斑块中 ①A-sPLA₂ 的基因表达和酶蛋白的分泌^[9]。在各种组织中的细胞因子不能直接调节血浆中 ①A-sPLA₂ 的水平。

①A 分泌型磷脂酶 A₂ (①A-sPLA₂) 是一种急性时相反应蛋白, 在一些系统性炎症如败血症、类风湿性关节炎、心血管疾病^[10] 时其血浆含量升高。在细胞因子白细胞介素 6、肿瘤

[收稿日期] 2004-02-17

[修回日期] 2004-08-27

[作者简介] 周秀萍, 硕士研究生, 研究方向为生物化学诊断, E-mail 为 xiupingzhou@sohu.com。高应东, 硕士研究生, 研究方向为生物化学诊断。彭怀燕, 主任检验师, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事高脂血症与冠心病的临床研究。

坏死因子 α 、白细胞介素 1β 的调节下,肝细胞合成并分泌这种酶。此外,这些细胞因子也可以刺激人类血管壁平滑肌细胞分泌 \textcircled{A} -sPLA₂,因此血管壁细胞很可能是血浆中大量 \textcircled{A} -sPLA₂的来源。

3 \textcircled{A} 分泌型磷脂酶A₂在动脉粥样硬化形成和发展中的作用

组织学观察发现,从As早期病变(脂纹)到复合病变具有慢性炎症的所有特征。炎症可以刺激多种组织包括血管大量分泌sPLA₂。Fichtlscherer等^[11]认为 \textcircled{A} -sPLA₂在慢性炎症时其血清中的浓度会升高,并且有助于As的形成。但并不清楚是何种机制引起 \textcircled{A} -sPLA₂的升高,需要进一步的研究。Niessen等^[12]认为 \textcircled{A} -sPLA₂是心血管疾病的一个重要的炎症介质,是As和心肌细胞缺血性损害的介质。

在动脉壁, \textcircled{A} -sPLA₂可以通过四种机制来实现其促As的形成。第一、它能诱导产生大量脂类介质如非酯化脂肪酸、氧化型非酯化脂肪酸、溶血磷脂等。这些脂类介质会影响载脂蛋白B100聚集处的血管壁的功能和性质,触发多种炎症前期的变化,从而导致As斑块的形成^[10]。第二、通过两种方式把载脂蛋白B100修饰到极易发生As的状态:一是加强载脂蛋白B100与蛋白聚糖结合,二是经PLA₂处理的脂蛋白易于被进一步氧化修饰和酶修饰。第三、 \textcircled{A} -sPLA₂通过诱导与蛋白聚糖相结合的载脂蛋白B100的聚集和融合,而导致脂蛋白蓄积。第四、降低高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)中的对氧磷酶的活性,使HDL失去了保护低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)抗氧化的能力。

动脉粥样硬化(As)形成机制假说的基本思想是,病变是动脉组织对载脂蛋白B100局部的蓄积和修饰的反应^[13]。载脂蛋白B100与硫酸软骨素蛋白聚糖的独特结合似乎是引起其滞留和被修饰的重要机制^[10]。在正常白蛋白浓度下,用 \textcircled{A} -sPLA₂处理LDL会产生一种小颗粒致密低密度脂蛋白(small dense LDL, sLDL),即酶水解掉脂蛋白中的磷脂而形成的颗粒。sLDL具有强烈的致As作用,它极易遭受氧化或修饰,是冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)重要的危险因素^[14]。sLDL抗氧化物质减少,氧化敏感性增高,对内皮细胞脂质过氧化损伤程度增大,是其致As更强的机制之一^[15]。这种变化既可以发生在血浆中又可以发生在血管壁。sLDL与蛋白聚糖和氨基葡聚糖的结合力增加^[16],因此在动脉壁停留的时间延长,这就为它们进一步的修饰提供了可能。事实上,修饰后的LDL更易于发生脂质过氧化,产生生物活性磷脂,被分泌型神经鞘髓磷脂酶水解。在动脉壁内膜,有多种蛋白水解酶、酯水解酶能够修饰蓄积在其中的LDL^[8]。通过这些酶的修饰,LDL与蛋白聚糖的结合进一步增强,滞留的时间也随之延长。LDL滞留时间的延长和滞留是发生As的早期标志。PLA₂修饰的LDL很容易被巨噬细胞吞噬,引起细胞内脂类的蓄积。PLA₂可以直接诱导LDL颗粒的聚集和融合,用 \textcircled{A} -sPLA₂处理与蛋白聚糖结合的LDL,就会引起LDL颗粒的聚集,随后发生融合^[17]。但是这种诱

导作用只对与蛋白聚糖结合的LDL有效^[18],正是因为与蛋白聚糖结合,使LDL蓄积于血浆或动脉壁中。聚集或融合的LDL含有大量的载脂蛋白B100,因此他们与蛋白聚糖的结合要比sLDL与蛋白聚糖的结合更紧密^[19],而且微胶粒团与蛋白聚糖的结合能力也增加,所以LDL颗粒在细胞外基质中滞留时间进一步延长。滞留时间越长就越容易发生进一步的聚集和融合,也就越容易蓄积于其中。这种进行性的脂类的蓄积是As的一个主要特点。在As病变过程中, \textcircled{A} -sPLA₂就起着关键酶的作用。

血浆中的脂蛋白是 \textcircled{A} -sPLA₂的底物^[20],1分子LDL上的磷酸甘油酯被完全水解可产生500多分子的非脂化脂肪酸和溶血磷脂,这些生物活性产物被脂蛋白或白蛋白运送到动脉壁细胞,诱发各种不同的As前的细胞和动脉壁的变化,促进As斑块的形成。人类动脉壁平滑肌细胞暴露于结合在白蛋白的非脂化脂肪酸中,就可以促进基质中蛋白聚糖的合成^[10]。合成的蛋白聚糖越多,能结合的LDL就越多,使LDL滞留时间延长,也就越容易产生脂类蓄积,发生As的可能性就会增加。此外,溶血磷脂也很容易引起组织炎症。

4 \textcircled{A} 分泌型磷脂酶A₂与心血管疾病的关系

大量研究^[21-26]表明, \textcircled{A} -sPLA₂与心血管疾病相关,其水平的升高是发生心血管疾病的一个重要的危险因素,并且在心血管疾病患者中 \textcircled{A} -sPLA₂可以独立于其他危险因素而预测临床冠状动脉事件的发生。

Kugiyama等^[21]测定142位CAD患者和93位对照者 \textcircled{A} -sPLA₂的含量。sPLA₂水平与同时测定的C反应蛋白和传统的冠状动脉危险因素呈正相关。多变量Logistic回归分析表明高水平的sPLA₂(>246 ng/dL)是CAD的危险因子。在对CAD患者进行两年的随访研究后,多变量COX风险分析显示,高水平的sPLA₂是冠状动脉事件发生的一个预测因子。

Ivancic等^[22]研究了 \textcircled{A} -sPLA₂在sPLA₂转基因小鼠(能表达人类 \textcircled{A} -sPLA₂的完整基因,血浆和许多组织均能表达这种酶,在肝、肺、皮肤、肾有高水平的表达)中的表达。当饲以高脂高胆固醇膳食时,与非转基因同窝小鼠比较转基因小鼠极大地增加As病变的发生。当饲以低脂饮食时,转基因小鼠也呈现出As病变。免疫组组织化学印染显示,sPLA₂出现在转基因小鼠的As病变中。在两种膳食中,转基因小鼠均出现HDL水平的降低和LDL水平的升高。这些数据均表明 \textcircled{A} -sPLA₂可能会增加CAD的发病率。

Webb等^[23]把从sPLA₂转基因小鼠和对照C57BC/6小鼠的骨髓细胞移植到LDL受体缺陷的小鼠体内。移植成功后给这些小鼠饲以12周的饱和脂肪酸和胆固醇。尽管对血清脂蛋白浓度没有影响,但是表达人类 \textcircled{A} -sPLA₂骨髓细胞增加了主动脉弓和主动脉窦中As病变的程度,其中主动脉弓病变范围百分比转基因小鼠明显高于对照组;主动脉窦每切面平均病变范围转基因小鼠明显大于对照组。由此推论 \textcircled{A} -sPLA₂可以独立于脂蛋白代谢而促进As病变的形成。

Kugiyama等^[24]测定了52位不稳定型心绞痛患者、107位

稳定型心绞痛患者和 96 位对照中的 sPLA₂, 不稳定型心绞痛患者 sPLA₂ 水平要比稳定型心绞痛患者和对照要高, 差异有显著性。通过随访研究, 34 位高水平 sPLA₂ (> 246 ng/dL) 的患者有 24 位发生冠状动脉事件, 而在 18 位低水平 sPLA₂ (≤ 246 ng/dL) 的患者中只有 4 位发生冠状动脉事件, 差异有显著性。多变量 Cox 风险分析显示, 高水平的 sPLA₂ 在不稳定型心绞痛患者中可以独立于其它危险因素如 C 反应蛋白等预测冠状动脉事件的发生。廖璞等^[25]发现 PLA₂ 活性增高与糖尿病 As 形成有关, 合理应用 PLA₂ 的抑制剂对预防和延缓糖尿病合并 As 的发生发展具有积极的临床意义。

5 展望

在血循环和动脉壁中的 ③A-sPLA₂ 与 As 的形成均有关, 是心血管疾病的危险因素和发生临床冠状动脉事件的预测因子。研究发现 ③A-sPLA₂ 抑制剂在有关节炎和炎性后水肿的小鼠中具有抗炎的特性^[27]。用辛伐他汀等药物治疗高胆固醇血症患者, 其 ③A-sPLA₂ 水平也会降低^[28]。鉴于 ③A-sPLA₂ 在 As 发病机制中的重要作用, 我们开始寻找新的治疗 As 的策略: 运用特异的 ③A-sPLA₂ 抑制剂来干扰人类 As 的病理生理过程, 从而达到治疗的目的, 关于 ③A-sPLA₂ 抑制剂在心血管疾病治疗方面的应用还需要进一步的研究。

[参考文献]

- [1] Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999, **340** (2): 115-126
- [2] Six DA, Dennis EA. The expanding superfamily of phospholipase A₂ enzymes: classification and characterization. *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1488** (1-2): 1-19
- [3] Morimoto M, Kume N, Miyamoto S, Ueno Y, Kataoka H, Minami M, et al. Lysophosphatidylcholine induces early growth response factor-1 expression and activates the core promoter of PDGF- α chain in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb*, 2001, **21** (5): 771-776
- [4] 陈莉延. 磷脂酶 A₂ 的研究进展. 国外医学·生理病理科学与临床分册, 2000, **20** (6): 473-475
- [5] Gelb MH, Valentin E, Ghomashchi F, Lazdunski M, Lambeau G. Cloning and recombinant expression of a structurally novel human secreted phospholipase A₂. *J Biol Chem*, 2000, **275** (51): 39 823-826
- [6] Ishizaki J, Suzuki N, Higashino K, Yokota Y, Ono T, Kawamoto K, et al. Cloning and characterization of novel mouse and human secretory phospholipase A₂. *J Biol Chem*, 1999, **274** (35): 24 973-979
- [7] Romano M, Romano E, Bjorkerud S, Hurt-Camejo E. Ultrastructural localization of secretory type ③ phospholipase A₂ in atherosclerotic and nonatherosclerotic regions of human arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, **18** (4): 519-525
- [8] Hurt-Camejo E, Anderssen S, Standal R, Rosengren B, Sartipy P, Stadberg E, et al. Localization of non pancreatic secretory phospholipase A₂ in normal and atherosclerotic arteries: activity of the isolated enzyme on low density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (2): 300-309
- [9] Menschikowski M, Rosner-Schiering A, Eckey R, Mueller E, Koch R, Jaross W. Expression of secretory group IIA phospholipase A₂ in relation to the presence of microbial agents, macrophage infiltrates, and transcripts of proinflammatory cytokines in human aortic tissues. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (3): 751-762
- [10] Kuziyama K, Ota Y, Kawano H, Soejima H, Ozawa H, Sugiyama S, et al. Increase in plasma levels of secretory type ③ phospholipase A₂ in patients with coronary spastic angina. *Cardiovasc Res*, 2000, **47** (1): 159-165
- [11] Fichtlscherer S, Kaszin M, Breuer S, Dimmeler S, Zeiher AM. Elevated secretory nonpancreatic type ③ phospholipase A₂ serum activity is associated with impaired endothelial vasodilator function in patients with coronary artery disease. *Clin Sci (Lond)*, 2004, **106** (5): 511-517
- [12] Niessen HW, Krijnen PA, Visser CA, Meijer CJ, Erik Hack C. Type II secretory phospholipase A₂ in cardiovascular disease: a mediator in atherosclerosis and ischemic damage to cardiomyocytes? *Cardiovasc Res*, 2003, **60** (1): 68-77
- [13] Camejo G, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Bondjers G. Association of apoB lipoproteins with arterial proteoglycans: pathological significance and molecular basis. *Atherosclerosis*, 1998, **139** (2): 205-222
- [14] 蔺洁, 王绿娅, 潘晓东, 杜兰平, 崔平, 秦彦文, 等. 小颗粒低密度脂蛋白的分离鉴定方法的建立. 中华临床医药杂志, 2002, **3** (1): 3-7
- [15] 王绿娅, 蔺洁, 秦彦文, 杜兰平, 潘晓东, 石凤茹, 等. 小颗粒致密低密度脂蛋白氧化特性及对血管内皮细胞脂质过氧化的影响. 中国动脉硬化杂志, 2003, **11** (4): 309-313
- [16] Sartipy P, Bondjers G, Hurt-Camejo E. Phospholipase A₂ type II binds to extracellular matrix biglycan: modulation of its activity on LDL by colocalization in glycosaminoglycan matrices. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, **18** (12): 1 934-941
- [17] Hakala JK, Ömi K, Pentikinen MO, Hurt-Camejo E, Kovanen PT. Lipolysis of LDL by human secretory phospholipase A₂ induces particle fusion and enhances the retention of LDL to human aortic proteoglycans. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 2001, **21** (6): 1 053-058
- [18] Hakala JK, Ömi K, Alar-Korpela M, Kovanen PT. Lipolytic modification of LDL by phospholipase A₂ induces particle aggregation in the absence and fusion in the presence of heparin. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 1999, **19** (5): 1 276-283
- [19] Ömi K, Hakala JK, Annala A, Alar-Korpela M, Kovanen PT. Sphingomyelinase induces aggregation and fusion, but phospholipase A₂ only aggregation, of low density lipoprotein particles. *J Biol Chem*, 1998, **273** (44): 29 127-134
- [20] de Beer FC, de Beer MC, van der Westhuyzen DR, Castellani LW, Lusis AJ, Swanson ME, et al. Secretory nonpancreatic phospholipase A₂: Influence on lipoprotein metabolism. *J Lipid Res*, 1997, **38** (11): 2 232-239
- [21] Kugiyama K, Ota Y, Takazoe K, Moriyama Y, Kawano H, Miyao Y, et al. Circulating levels of secretory type ③ phospholipase A₂ predict coronary events in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 1999, **100** (12): 1 280-284
- [22] Ivandic B, Castellani L, Wang XP, Qiao JH, Mehrabian M, Navab M, et al. Role of Group II Secretory Phospholipase A₂ in Atherosclerosis: I. Increased Atherogenesis and Altered Lipoproteins in Transgenic Mice Expressing Group IIA Phospholipase A₂. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19** (5): 1 284-290
- [23] Webb NR, Bostrom MA, Szilvassy SJ, van der Westhuyzen DR, Daugherty A, de Beer FC. Macrophage-Expressed Group ③A Secretory Phospholipase A₂ Increases Atherosclerotic Lesions Formation in LDL Receptor-Deficient Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (2): 263-268
- [24] Kugiyama K, Ota Y, Sugiyama S, Kawano H, Doi H, Soejima H, et al. Prognostic value of plasma levels of secretory type II phospholipase A₂ in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiology*, 2000, **86** (7): 718-722
- [25] 廖璞, 廖雪松, 唐维, 康格非. 葡萄糖和胰岛素对大鼠血管平滑肌细胞磷脂酶 A₂ 活性的影响. 中国动脉硬化杂志, 2003, **8** (2): 143-146
- [26] Nijmeijer R, Lagrand WK, Baidoshvili A, Lubbers YT, Hemmens WT, Meijer CJ, et al. Secretory type II phospholipase A₂ binds to ischemic myocardium during myocardial infarction in humans. *Cardiovasc Res*, 2002, **53** (1): 138-146
- [27] Garcia Pastor P, De Rosa S, De Giulio A, Paya M, Alcaraz MJ. Modulation of acute and chronic inflammatory processes by cacospongionolide B, a novel inhibitor of human synovial phospholipase A₂. *Br J Pharmacol*, 1999, **126** (1): 301-311
- [28] Wiklund O, Mattssonhulten L, Hurt-Camejo E, Oscarsson J. Effects of simvastatin and atorvastatin on inflammation markers in plasma. *J Intern Med*, 2002, **251** (4): 338-347

(此文编辑 文玉珊)