

高密度脂蛋白的研究现状

赵 水 平

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[作者简介] 赵水平, 男, 主任医师, 教授, 博士研究生导师。曾在荷兰莱顿大学医学院心脏科学学习 4 年, 获该大学博士学位, 并做了博士后工作。1992 年 12 月破格晋升为内科学主任医师, 教授, 1996 年被聘任为内科学博士研究生导师。现任中南大学湘雅二医院心血管内科主任。担任《中华心血管病杂志》等 10 余种期刊的编委。已获 14 项科研基金, 发表科研论文 400 篇, 其中 50 余篇发表在 SCI 收录的国际知名医学期刊如 *Circulation*, *Am J Med*, *ATVB*, *Atherosclerosis* 等上。主编出版专著 11 部。已获省部级科技成果奖 14 项。E-mail 为 zhaosp@medmail.com.cn。



[关键词] 生物化学; 高密度脂蛋白; 逆向转运胆固醇; 抗氧化与抗炎作用; 内皮保护功能

[摘 要] 高密度脂蛋白是血脂与动脉粥样硬化研究领域中的热点, 高密度脂蛋白有逆向转运胆固醇、抗炎与抗氧化作用以及内皮保护作用, 是一个很有前景的治疗干预靶点。全面了解高密度脂蛋白有助于研发新的升高高密度脂蛋白胆固醇或改善高密度脂蛋白功能的药物。

[中图分类号] Q5

[文献标识码] A

大量的流行病学资料表明血浆中高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 的浓度与患冠心病的风险成负相关, 低 HDLC 是冠心病负性的危险因素, 目前认为人体内的 HDL 具有抗动脉粥样硬化的作用。

1 高密度脂蛋白的结构与代谢

高密度脂蛋白 (HDL) 是一种脂质和蛋白含量大致均等的异质性脂蛋白, 有多种亚类, 最新的蛋白组学研究表明^[1], HDL 的蛋白成分极为复杂, 载脂蛋白 A_{iv} 含量最为丰富, 此外还含有载脂蛋白 A_i、载脂蛋白 A_{iv}、载脂蛋白 C_{iv}、载脂蛋白 C_i、载脂蛋白 C_{iv} 两个亚类)、载脂蛋白 E (5 个亚类) 和载脂蛋白 A_{ii}。此外, 载脂蛋白 M、血清淀粉样蛋白 A 和血清淀粉样蛋白 A_{ii} 也是 HDL 的组成成分。利用蛋白组学的方法在 HDL 颗粒中还首次发现了 α 抗胰蛋白酶和 α 唾液淀粉酶。有研究者对载脂蛋白 A_i 和载脂蛋白 A_{ii} 进行研究, 发现用内毒素诱导的急性炎症反应中载脂蛋白 A_i 和载脂蛋白 A_{ii} 浓度增加, 其机制尚不明确, 提示二者可能是阳性的急性期反应蛋白^[2]。

近年新的流行病学调查及临床研究发现, HDL 亚类组成和颗粒大小与动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As)、冠心病 (coronary heart disease, CHD) 有较好的相关性。Asztalos 等^[3]对 HDL 亚类的组成成分与 CHD 患病率之间的关系进行了研

究。他们发现, 男性冠心病病人 HDL 亚类的组成成分与正常对照组相比有显著的差异, 并且证实 HDL 亚类中的 α_1 与 CHD 的发病有明显关联, 故认为, 检测 HDL 亚类的成分可以作为评估 CHD 的危险因素, 而高 α_1 、低 α_3 和低前 β_2 的高危人群应该改善生活方式并给予适当的药物干预。Yang 等^[4]研究发现, 血浆甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 的浓度会影响 HDLC 的浓度, 尤其是会改变 HDL 颗粒的大小, 特别是 TG 的浓度能够改变 HDL 亚类的分布。也就是说, HDL 亚类的组成、含量及颗粒大小应该是一种理想的分布值, 维持 HDL 亚类组成及含量的合理分布对降低心血管疾病的发病有着重要的意义。因此对于这些蛋白进行更为深入的研究将会对我们了解 HDL 在体内的作用带来更加显著的影响, 也将为后续的研究提供新的视点。

原始 HDL 颗粒的代谢尚不是很清楚。为了确证 HDL 的代谢途径, 一些与这一过程相关的基因得到确认和克隆, 这些基因能够调节 HDL 的代谢, 归纳起来分成 5 类^[5]: (1) HDL 相关的载脂蛋白; (2) HDL 相关的酶或转移蛋白; (3) 血浆和细胞相关的酶; (4) 细胞内受体、配体和运载体; (5) 转录因子。有学者对这些与 HDL 代谢有关的基因变异进行了研究, 发现编码 ATP 结合盒转运体 A1 和胆固醇酯转运蛋白的基因变异与血浆 HDLC 的浓度变化以及人群中患冠心病的风险相关^[6]。研究这些基因变异的意义在于: 第一能够寻找升高 HDLC 浓度或促进逆向转运胆固醇的新策略; 第二有助于了解从前不为我们所知道的一些能够调节 HDLC 浓度的药物的作用机制。

2 高密度脂蛋白与逆向转运胆固醇

由于胆固醇和磷脂从细胞中流出是在载脂蛋白 AI、载脂蛋白 A Ⅱ、载脂蛋白 A Ⅲ以及载脂蛋白 E 作用下产生的,有研究表明载脂蛋白 AI 结构对 ATP 结合盒转运体 A1 介导细胞内未酯化的游离胆固醇和磷脂流出有一定影响。研究者用一系列的载脂蛋白 AI 的变异体来检测载脂蛋白 AI 分子各个不同区域对鼠巨噬细胞株 J774 和人皮肤成纤维细胞的 ATP 结合盒转运体 A1 介导游离胆固醇和磷脂外逸作用的影响。去掉载脂蛋白 AI 结合脂质的 C 羧基末端能够显著降低游离胆固醇和磷脂的逸出。说明游离胆固醇和磷脂的高亲和力微溶作用需要 C 末端的兼性 α 螺旋存在。而去掉载脂蛋白 AI 的 N 氨基末端后与野生型载脂蛋白 AI 比较,能使脂质的外逸减少 30%、Km 值增加 2 倍。而去掉中心结构域($\Delta 123\sim 126$)对 Km 和 Vmax 都没有影响。这些研究结果表明 ATP 结合盒转运体 A1 介导的脂质外逸对载脂蛋白 AI 氨基末端的螺旋束的结构相对不灵敏。改变载脂蛋白 AI 的结构会使得它与磷脂双分子层结合的能力和诱导游离胆固醇和磷脂外逸的能力发生相应的改变^[7]。此外,ATP 结合盒转运体 A1 似乎与囊泡摄取机制中的一些重要的部分有着相互的作用,如 cdc42,小 G 蛋白和 β 亚单位膜蛋白 1(COP1)。在 ATP 结合盒转运体 A1 基因敲除鼠模型中观察到一个最为突出的异常现象就是这种鼠缺乏 HDLC 和载脂蛋白 AI,并且肺内可见吞噬了大量脂质的巨噬细胞。在 ATP 结合盒转运体 A1 缺乏的高胆固醇血症动物(ATP 结合盒转运体 A1 基因敲除及载脂蛋白 E 基因敲除或 ATP 结合盒转运体 A1 基因敲除及 LDL 受体基因敲除鼠)外周组织沉积的泡沫细胞尤其明显^[8]。因此 ATP 结合盒转运体 A1 可能可以调节胆固醇和/或磷脂的排布,ATP 结合盒转运体 A1 对囊泡受体颗粒形成进行调节对载脂蛋白 E 的出胞作用也有重要意义,它能够启动胆固醇的逸出,从而促进逆向转运胆固醇^[9]。

吴新伟等^[10]研究发现,不同 HDL 亚类对细胞胆固醇移出的影响也各有不同。作者比较了不同 HDL 亚类促使细胞胆固醇移出的特性和强度,结果发现,前 β -HDL 在清除人血管平滑肌细胞(SMC) ^3H -胆固醇的能力及效率上明显高于 α -HDL 及不含载脂蛋白 E 的 HDL,是一个有效的细胞移出胆固醇的接受体。前 β -HDL 作为外周细胞移出胆固醇的最初接受体直接参与了胆固醇逆向转运的起始步骤,所以了解 HDL 特别是不同 HDL 亚类在细胞胆固醇外流中的作用对于阐明细胞胆固醇移出及 AS 的发生机理具有十分重要的意义。

3 高密度脂蛋白的抗氧化与抗炎作用

低密度脂蛋白(LDL)在 As 形成的始动环节起着重要的作用,而 HDL 则能延缓这一过程。HDL 是血浆过氧化氢脂质的主要运载体,同时也是降解过氧化氢脂质(如氧化型低密度脂蛋白磷脂)的酶的运载体。这些酶包括屏氧酶 1 和对硝苯磷酸酯 3,还可能包括谷胱甘肽磷脂过氧化物酶^[11]。

文献[12]报道,HDL 与自身免疫系统有关,是人血浆中重要的抗病毒的成分,对载脂蛋白 A1 模拟肽 D-4F 的抗炎作

用进行更为深入的研究发现感染 A 型流感病毒的人肺 \odot 型细胞,给予或不给予 D-4F 治疗其结果有显著差别,人肺 \odot 型细胞对 A 型流感病毒的反应表现为激活胱门蛋白酶(Caspases)并分泌细胞因子、磷脂(包括氧化的磷脂,这些磷脂能够引发炎症反应)至细胞外环境,而模拟肽 D-4F 治疗组却能够抑制这些反应。

离体实验证明 HDL 能够抑制单核细胞的迁移。研究者发现,从确诊为冠心病但是血浆中 HDL 浓度不低的患者血液中分离出的 HDL 不能抑制单核细胞的趋化活性,而正常对照组血液中分离的 HDL 则能够抑制^[13]。HDL 抑制细胞表面粘附分子的表达是通过激活内皮细胞而产生的,天然的 HDL 和重组 HDL 都含有载脂蛋白 A1 和磷脂酰胆碱,能够抑制人脐静脉内皮细胞细胞因子诱导血管细胞粘附分子 1、细胞间粘附分子 1 和 E 选择素的表达,并且在生理浓度的范围内呈剂量依赖性^[14]。关于 HDL 抑制粘附分子表达的机制目前还不是很清楚,还有待于进行更为深入的研究。

C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)参与了炎症过程而成为了心血管疾病的预测因子^[15]。离体试验发现 CRP 增加单核细胞趋化蛋白 1 的分泌,降低内皮一氧化氮合酶的生物活性,诱导血管细胞粘附分子 1、细胞间粘附分子 1 和 E 选择素的产生,研究发现 HDL 抑制 CRP 诱导的内皮细胞粘附蛋白的表达^[16],HDL 抑制 CRP 炎症效应的机制与抑制细胞因子的诱导是不同的,在 HDL 介导抑制肿瘤坏死因子 α 诱导的内皮细胞粘附蛋白的过程中,其抑制作用在去除 HDL 以后仍然可以持续数小时,HDL 在抑制 CRP 诱导的炎症因子表达过程中则要求有生理剂量的 HDL 存在于整个诱导过程中^[17]。此外,氧化型 HDL 则使其介导抑制肿瘤坏死因子 α 诱导粘附蛋白表达的作用减弱,但却增加了抑制 CRP 诱导粘附分子表达的能力^[16]。这种现象提示,氧化的脂质比未氧化的脂质能够更有效的与 CRP 结合,从而拮抗 CRP 的致炎效应。

4 高密度脂蛋白与内皮保护

内皮功能紊乱是 As 的早期表现,一氧化氮的生物活性下降是内皮功能紊乱的特征,HDL 的另一重要功能就是防止并纠正内皮功能紊乱,HDL 有助于保持内皮功能的完整,促进血管的舒张,抑制白细胞在血管内皮粘附,减少血小板的聚集和凝结,还可能促进纤溶作用,HDL 主要是通过诱导内皮型一氧化氮合酶而发挥内皮保护作用,可能是由于 HDL 与清道夫受体 B1(SR-B1)相互作用共同影响了细胞膜胆固醇的排布和结构,间接地影响了内皮型一氧化氮合酶的活性^[18]。在人内皮细胞培养时,发现 HDL 还能增加内皮型一氧化氮合酶的表达^[19]。应用血管造影和血管内超声检查发现 HDLC 水平与一氧化氮依赖的血管舒张作用成正相关,血浆 HDLC 浓度可以作为健康人、高脂血症患者、和糖尿病人一氧化氮依赖的周围血管扩张的独立预测因子^[20]。用高密度脂蛋白刺激活体心肌灌注观察到 HDL 增加心肌灌注,这种机制是依赖一氧化氮而存在的。因此 HDL 减少冠脉的危险是直接经由一氧化氮介导了冠脉循环的血管舒张效应,表

明 HDL 有新的心脏保护功能,也有可能是抗动脉粥样硬化的一部分^[21]。

5 升高高密度脂蛋白胆固醇的新药

在所有升高 HDL 的措施中,最明显的莫过于直接给予 HDL 或其成分载脂蛋白 A1,或者模拟这些成分的药物。该类物质本身有多个限制,例如分子过大,长期口服治疗不方便,且价格昂贵,制作烦琐,作为短期治疗的药物仍在研究之中^[22]。有报道证实输注重组的 HDL 能够增加血中 HDL 的浓度,并改善血管的反应性^[23]。其它口服有效的肽类物质包括载脂蛋白 A1 模拟肽,是一种模拟载脂蛋白 A1 生物活性的兼性螺旋状多肽,由十八个氨基酸合成,由 D 型氨基酸合成的称为 D-4F,由 L 型氨基酸合成的称为 L-4F^[24]。动物实验证明 D-4F 不易被哺乳动物胃肠道中的酶降解,有某种程度的肠道吸收^[25]。目前这一类药物还有待于大规模、多中心临床试验的评价。

胆固醇酯转运蛋白抑制剂:该药在动物模型上有对抗动脉粥样硬化的作用,能够升高 HDLC,新近的临床试验证实 CETP 抑制剂能够显著影响血浆脂蛋白,不但能够升高 HDLC 和载脂蛋白 A1,而且能降低 LDLC 和载脂蛋白 B^[26]。

降低 LDLC 能减少 1/3 的 CHD 的发生率,这个结果自然是令人印象深刻,而如何减少另外 65%~70% 的主要心脏事件,就成了研究者们关注的焦点,虽然流行病学数据表明 HDLC 水平与患冠心病的风险呈负相关,但升高 HDLC 治疗的策略还缺乏有力的临床试验终点的评估,同时也提出新的疑问,即升高 HDLC 对其他的器官是否会有影响?现有的生物学、临床试验的证据让人无可否认,HDL 是一个很有前景的治疗靶点^[27]。

[参考文献]

- [1] Karlsson H, Leanderson P, Tagesson C, Lindahl M. Lipoproteomics II: Mapping of proteins in high density lipoprotein using two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 2005, **5** (5): 1 431-445
- [2] Khovidhunkit W, Duchateau PN, Medzihradsky KF, Moser AH, Nayar-Vigne J, Shigenaga JK, et al. Apolipoproteins A-IV and A-V are acute-phase proteins in mouse HDL. *Atherosclerosis*, 2004, **176** (1): 37-44
- [3] Asztalos BF, Cupples LA, Serkalem Demissie, Horvath KV, Cox CE, Batista MC, et al. High-density lipoprotein subpopulation profile and coronary heart disease prevalence in male participants of the framingham offspring study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (11): 2 181-187
- [4] Yang Y, Yan B, Fu M, Xu Y, Tian Y. Relationship between plasma lipid concentrations and HDL subclasses. *Clin Chim Acta*, 2005, **354** (1): 49-58
- [5] Wang X, Paigen B. Genetics of variation in HDL cholesterol in humans and mice. *Circ Res*, 2005, **96** (1): 27-42
- [6] Brousseau ME. Common variation in genes involved in HDL metabolism influences coronary heart disease risk at the population level. *Rev Endocr Metab Disord*, 2004, **5** (4): 343-349
- [7] Veshchalam C, Liu L, Nickle M, Dhanasekaran P, Anantharamaiah GM, Lund-Katz S, et al. Influence of ApoA-I structure on the ABCA1-mediated efflux of cellular lipids. *J Biol Chem*, 2004, **279** (48): 49 931-939
- [8] Assmann G, Gotto AM Jr. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation*, 2004, **109** (23 Suppl 1): III8-14
- [9] Lin G. Insights of high density lipoprotein apolipoprotein-mediated lipid efflux from cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **291** (4): 727-731
- [10] 吴新伟, 杨鲁川, 徐燕华, 傅强, 傅明德. 前 β -HDL 对细胞胆固醇流出的影响. *四川大学学报(医学版)*, 2004, **35** (1): 18-20
- [11] Tward A, Xia YR, Wang XP, Shi YS, Park C, Castellani LW, et al. Decreased atherosclerotic lesion formation in human serum paraoxonase transgenic mice. *Circulation*, 2002, **106** (4): 484-490
- [12] Van Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, Anantharamaiah GM, Hui EK, Nayak DP, et al. D-4F, an ApoA-I mimetic peptide, inhibits the inflammatory response induced by influenza A infection of human type 2 pneumocytes. *Circulation*, 2004, **110** (20): 3 252-258
- [13] Ansell BJ, Mohamad Navab, Susan Hama, Naeimeh Kamranpour, Gregg Fonarow, et al. Inflammatory/antiinflammatory properties of high-density lipoprotein distinguish patients from control subjects better than high-density lipoprotein cholesterol levels and are favorably affected by simvastatin treatment. *Circulation*, 2003, **108** (22): 2 751-756
- [14] Park SH, Park JH, Kang JS, Kang YH. Involvement of transcription factors in plasma HDL protection against TNF- α -induced vascular cell adhesion molecule-1 expression. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003, **35** (2): 168-182
- [15] Ridker PM. On evolutionary biology, inflammation, infection, and the causes of atherosclerosis. *Circulation*, 2002, **105** (1): 2-4
- [16] Wadham C, Albanese N, Roberts J, Wang L, Bagley CJ, Gamble JR, et al. High-density lipoproteins neutralize C-reactive protein inflammatory activity. *Circulation*, 2004, **109** (17): 2 116-122
- [17] Garner B, Witting PK, Waldeck AR, Christison JK, Raftery M, Stocker R. Oxidation of high density lipoproteins. I. Formation of methionine sulfoxide in apolipoproteins AI and AII is an early event that accompanies lipid peroxidation and can be enhanced by α -tocopherol. *J Biol Chem*, 1998, **273** (11): 6 080-087
- [18] Shaul PW. Endothelial nitric oxide synthase, caveolae and the development of atherosclerosis. *J Physiol*, 2003, **547** (Pt1): 21-33
- [19] Kuvin JT, Ramet ME, Patel AR, Pandian NG, Mendelsohn ME, Karas RH. A novel mechanism for the beneficial vascular effects of high-density lipoprotein cholesterol: enhanced vasorelaxation and increased endothelial nitric oxide synthase expression. *Am Heart J*, 2002, **144** (1): 165-172
- [20] Calabresi L, Gomaraschi M, Franceschini G. Endothelial protection by high density lipoproteins: from bench to bedside. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (10): 1 724-731
- [21] Levkau B, Hermann S, Theilmeier G, van der Giet M, Chun J, Schober O, et al. High density lipoprotein stimulates myocardial perfusion in vivo. *Circulation*, 2004, **110** (21): 3 355-359
- [22] Sirtori CR. ApoA-I Milano and regression of atherosclerosis. *JAMA*, 2004, **291** (11): 1 319
- [23] Bischoff RJ, Hovingh GK, Levels JH, Lerch PG, Andresen I, Hayden MR, et al. Restoration of endothelial function by increasing high-density lipoprotein in subjects with isolated low high density lipoprotein. *Circulation*, 2003, **107** (23): 2 944-948
- [24] Li X, Chyu KY, Neto JR, Yano J, Nathwani N, Ferreira C, et al. Differential effects of apolipoprotein A-I mimetic peptide on evolving and established atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Circulation*, 2004, **110** (12): 1 701-705
- [25] Navab M, Anantharamaiah GM, Hama S. Oral administration of an Apo A-I mimetic peptide synthesized from D-amino acids dramatically reduces atherosclerosis in mice independent of plasma cholesterol. *Circulation*, 2002, **105** (3): 290-292
- [26] Brousseau ME, Schaefer EJ, Wolfe ML, Bloedon LT, Digenio AG, Clark RW, et al. Effects of an inhibitor of cholesteryl ester transfer protein on HDL cholesterol. *N Engl J Med*, 2004, **350** (15): 1 505-515
- [27] Assmann G, Gotto AM Jr. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation*, 2004, **109** (23 Suppl 1): III8-14

(此文编辑 胡必利)