

脂蛋白相关磷脂酶 A2 与动脉粥样硬化

刘甲兴, 郑 兴

(第二军医大学附属长海医院心内科, 上海市 200433)

[关键词] 病理学与病理生理学; 危险因素; 炎症; 血小板活化因子; 脂蛋白相关磷脂酶 A2; 脂蛋白; 动脉粥样硬化

[摘要] 人血浆脂蛋白相关磷脂酶 A2, 又称血小板活化因子乙酰水解酶, 由成熟的巨噬细胞和淋巴细胞合成和分泌, 并受炎症介质的调节, 主要与低密度脂蛋白结合, 能水解血小板活化因子使之失去活性, 又能水解低密度脂蛋白上的氧化卵磷脂, 生成促炎物质溶血卵磷脂和氧化游离脂肪酸, 因此既有抗炎抗动脉粥样硬化, 又有促炎促动脉粥样硬化的作用。近来, 越来越多研究表明脂蛋白相关磷脂酶 A2 具有促动脉粥样硬化作用, 与心血管风险有关, 可能成为冠心病新的治疗目标。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

大部分冠心病患者存在一个或多个危险因素, 但许多中年和老年人具有危险因素而没有患冠心病, 有一部分没有危险因素却患有患冠心病, 因此, 传统危险因素不能解释所有的冠状动脉事件, 这促使人们去寻找新的冠心病致病因子。越来越多的证据表明炎症在动脉粥样硬化中起着重要的作用, 粥样斑块形成的开始、过程和最终破裂均有炎症介质的参与^[1]。有许多与冠心病流行和突发事件有关的炎症标志物正在接受评估, 如白细胞介素、肿瘤坏死因子、细胞间粘附分子 1、血管细胞粘附分子 1、纤维蛋白原、C 反应蛋白等。最近的研究表明脂蛋白相关磷脂酶 A2 (lipoprotein associated phospholipase A2, Lp-PLA2) 是一种与冠心病有关的新的炎症标志物, 而且可能直接参与动脉粥样硬化。

1 脂蛋白相关磷脂酶 A2 的生物学特性

1.1 脂蛋白相关磷脂酶 A2 的来源及调节

脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 属于磷脂酶家族, 分子量 50 kDa。人血浆 Lp-PLA2 主要由成熟的巨噬细胞和淋巴细胞合成和分泌^[2], 并受炎症介质的调节, 如 γ 干扰素和脂多糖抑制其分泌, 血小板活化因子 (platelet activating factor, PAF) 促进其分泌^[3]。

1.2 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与脂蛋白的关系

人循环中的 Lp-PLA2 以与脂蛋白颗粒结合的形式存在, 其中 2/3 与低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 结合, 1/3 与高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL)、极低密度脂蛋白 (very low density lipoprotein, VLDL) 结合^[2]。Lp-PLA2 基因序列里的两个区域 (Tyr-205 和残基 115、116) 在与载脂蛋白 B

羧基末端的结合中起着重要作用。人 Lp-PLA2 由于 N-糖基化程度较高, 阻碍了它与 HDL 的结合, 这可能是 Lp-PLA2 与人类 HDL 结合少的原因, 但糖基化并不影响该酶的分泌、活性和抗蛋白酶水解能力^[4]。在酸性环境下 Lp-PLA2 可由 LDL 转移到 HDL, 硷性环境下则由 HDL 转移到 LDL。

1.3 脂蛋白相关磷脂酶 A2 的活性及其影响因素

脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 能水解磷脂甘油支架 Sn-2 位上的短链酰基, 如水解 PAF-Sn-2 位上乙酰基, 使其成为无活性的 lys-PAF, 故又称之为血小板活化因子乙酰水解酶 (platelet activating factor acetylhydrolase, PAF-AH)。Lp-PLA2 是丝氨酸依赖的磷脂酶, 其催化活性不需要钙离子。血浆 Lp-PLA2 活性与 Lp-PLA2 浓度呈正相关 ($r = 0.86$)^[2]。Lp-PLA2 活性主要与 LDL 有关, 不同亚种 LDL 的 Lp-PLA2 活性不同, 体积小而密度高 LDL 上该酶活性最高。女性 Lp-PLA2 活性低于男性^[5-7], 这与女性心血管危险因素较少有关^[7], 也可能与雌激素水平有关, 因为正在接受激素替代治疗的女性 Lp-PLA2 水平较低^[8]。Lp-PLA2 受许多心血管药物的影响^[7]。降脂药、阿斯匹林、 β 受体阻滞剂使 Lp-PLA2 活性下降, 洋地黄使 Lp-PLA2 活性轻度增加, 而血管紧张素转换酶抑制剂、钙离子拮抗剂、降糖药对 Lp-PLA2 活性无影响。

2 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与动脉粥样硬化的关系

对 Lp-PLA2 的生物学作用已有广泛的研究, 但它在炎症和动脉粥样硬化中的作用目前仍有争议。

2.1 脂蛋白相关磷脂酶 A2 抗动脉粥样硬化的研究

血小板活化因子有促进血小板聚集、中性粒细胞和单核细胞趋化、促进白三烯等炎症介质释放等作用, 能促进血栓形成和炎症反应。而 Lp-PLA2 能将 PAF 水解为无活性的 lys-PAF, 故能减少炎症和血栓的形成, 具有抗炎和抗动脉粥样硬化作用。

动物实验表明 Lp-PLA2 具有抗动脉粥样硬化作用。载脂蛋白 E 缺陷小鼠具有动脉粥样硬化倾向。载脂蛋白 E 缺

[收稿日期] 2005-07-30 [修回日期] 2006-02-14

[作者简介] 刘甲兴, 硕士研究生, 研究方向为冠心病的诊治, 联系电话 13564463915, E-mail 为 lijosh@sohu.com。郑兴, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 曾在澳大利亚悉尼大学附属皇家北岸医院心内科研修 2 年。擅长心血管介入治疗。联系电话 021-25070540, E-mail 为 zhengxing57530@163.com。

陷小鼠通过腺病毒介导转染人 LpPLA2 基因后,表达出大量 LpPLA2,血浆 LpPLA2 活性显著增加:通过抑制 β VLDL 氧化,使氧化应激触发生成的趋化因子减少,巨噬细胞向内皮趋化能力减弱,从而抑制主动脉根部动脉粥样硬化进程^[9]。

④通过抑制脂蛋白氧化,使氧化脂蛋白在动脉壁上的沉积减少,从而抑制左颈总动脉内膜金属导丝损伤引起的内膜增生和抑制主动脉根部自发性粥样硬化斑块形成^[10]。⑤除了与各种脂蛋白结合,抑制脂蛋白外,还促进巨噬细胞内胆固醇的排出,抑制泡沫细胞的形成,从而发挥抗动脉粥样硬化作用^[11]。

有关 LpPLA2 具有抗动脉粥样硬化作用的临床研究较少。YamadaY 等^[12,13]研究发现,LpPLA2 外显子-9 点突变(核苷酸 994 发生 G \rightarrow T 置换)使成熟蛋白 279 位上的缬氨酸被苯丙氨酸取代,LpPLA2 失去催化活性,与日本人动脉粥样硬化性疾病(心肌梗死或卒中)有关,研究者推测 LpPLA2 基因变异可能是日本人动脉粥样硬化疾病的决定因素之一。

2.2 脂蛋白相关磷脂酶 A2 促动脉粥样硬化的研究

脂蛋白相关磷脂酶 A2(LpPLA2)除水解 PAF 外,还能水解 sn-2 位含有多不饱和脂肪酰基的氧化磷脂,循环中 LDL-LpPLA2 复合物经管腔进入内膜,在内膜 LDL 被氧化,LDL 上的卵磷脂变成氧化卵磷脂。LpPLA2 随即水解氧化卵磷脂生成溶血卵磷脂(lysophosphatidylcholine, Lys-PC)和氧化型游离脂肪酸(oxidized free fatty acids, ox-FFA),后二者是促炎介质,能刺激粘附因子和细胞因子的产生,从而促进单核细胞由管腔向内膜聚集。单核细胞在内膜聚集后衍生为巨噬细胞,巨噬细胞吞噬氧化型 LDL 变成泡沫细胞。泡沫细胞聚集成动脉粥样硬化性斑块,斑块能释放细胞因子和蛋白酶,降解纤维帽的平滑肌细胞和胶原基质,使斑块变得脆弱、破裂,导致血栓形成和心血管事件的发生。因此,LpPLA2 具有促动脉粥样硬化形成的作用。

基础研究方面,应用原位杂交和免疫细胞化学方法证实人和兔的粥样硬化病损中存在有 LpPLA2,提示 LpPLA2 参与动脉粥样硬化的形成^[14]。LpPLA2 抑制剂可以抑制 Watanabe 遗传性高脂血症兔(WHHL)动脉粥样硬化斑块的形成^[15]。最近欧洲一个较大病例对照研究发现,V397 等位基因纯合子型的 LpPLA2 活性降低,冠心病风险减少,提示 LpPLA2 具有直接促动脉粥样硬化作用,而不仅仅是动脉粥样硬化的炎症指标^[16]。

早期有关动脉粥样硬化疾病 LpPLA2 水平的临床研究结果存在着不一致性。最近几个较大的流行病学和临床前瞻性研究^[17-21]均发现,发生冠心病事件者与对照组相比 LpPLA2 浓度或活性显著升高,多数认为血浆 LpPLA2 浓度或活性升高是冠心病事件和缺血性脑卒中的独立危险因素。

文献[17]报道的研究为期 5 年,旨在评估普伐他汀治疗对 LDL-C 升高的中年男性苏格兰人心血管事件发生率的影响。观察 LpPLA2、超敏 C 反应蛋白(high sensitive C-reactive protein, hsCRP)、纤维蛋白原、白细胞计数等炎症标志物是否与冠心病事件有关。有 580 例发生冠心病事件,年龄和吸烟史匹配的 1160 例对照没有出现心血管事件。结果显示,在

校正年龄、收缩压、血脂等危险因子和 hsCRP、纤维蛋白原、白细胞计数等炎症指标后,经多变量分析,位于 LpPLA2 最高五分位数者与最低五分位数者相比,冠心病事件危险约增加二倍。首次提出 LpPLA2 是冠心病新的危险因子,能独立预测冠心病事件。

文献[8]报道,WHIS 研究是一个随机、双盲、安慰剂对照的临床试验,旨在观察 ≥ 45 岁无心血管疾病、癌症的美国妇女服用阿司匹林和维生素 E 是否有益。该研究的一部分为前瞻性巢式病例对照研究,旨在明确 LpPLA2 是否能预测妇女心血管风险。纳入 28263 例健康中年妇女(占 WHIS 总研究对象的 71%),随访 3 年,观察发生心血管事件的风险。结果发现,发生心血管事件的 123 例妇女与 123 例相匹配的对照组相比,LpPLA2 水平显著升高,但在调整传统危险因子和 hsCRP 等后的多变量分析中,位于 LpPLA2 最高四分位数者与最低四分位数者相比,发生冠心病事件的相对危险无统计意义。研究者认为 LpPLA2 不是妇女心血管风险强预测指标。

文献[18]报道的 ARIC 研究是为期 6 年的前瞻性队列研究。纳入 12 819 例美国不同社区的健康中年人(包括男性和女性,白人和黑人),年龄为 45~64 岁(平均 58 岁),用 Cox 风险比例回归模型评估 LpPLA2、hsCRP、传统危险因子与冠心病事件的关系。发生冠心病事件的 608 例患者 LpPLA2、hsCRP 水平高于没有发生冠心病事件的 740 例对照者。当 LDL-C < 130 mg/dL 时,位于 LpPLA2、hsCRP 最高三分位数者与最低三分位数者相比,冠心病事件风险显著增加,是冠心病事件的独立预测指标。

在另一个前瞻性队列研究中^[19],研究人员测定了 934 例年龄 45~64 岁德国南部城市 Augsburg 健康中年男性的血 LpPLA2 值,随访 14 年,出现冠心病事件的 97 例患者,LpPLA2 值明显高于未发生冠心病事件者。Cox 风险比例回归模型分析,LpPLA2 每增加 1 个标准差,未来发生冠心病事件的风险增加 37%。调整传统危险因子和 hsCRP 后,LpPLA2 每增加 1 个标准差,冠心病事件风险增加 21%,仍具有统计学意义,显示 LpPLA2 能独立预测冠心病事件。

Brilakis 等^[20]测定 504 例入院接受冠造患者的 LpPLA2 值,平均年龄 60 ± 11 岁,38% 为女性,97% 为高加索人,平均随访 4 年,结果发现,发生冠心病事件的 61 例患者,LpPLA2 值明显高于未发生冠心病事件者。Cox 风险比例回归模型分析,LpPLA2 每增加 1 个标准差,冠心病事件的风险增加 28%,独立于传统的冠心病危险因子和 hsCRP。

文献[21]报道的 TRS 研究也是一个前瞻性病例队列研究,目的是评估 7 983 例 ≥ 55 岁(平均 70 岁)的鹿特丹市郊居民慢性致残疾病的发生率和危险因素。亚组研究随机抽取 1 820 例进行 LpPLA2 活性测定,评估 LpPLA2 活性与冠心病事件和缺血性脑卒中发生率的关系。平均随访 7.2 年,有 308 例发生冠心病,平均随访 6.4 年,有 110 例缺血性脑卒中。Cox 风险比例回归模型分析,调整传统危险因子和 hsCRP 后,位于 LpPLA2 活性最高四分位数者与最低四分位数者相比,发生冠心病事件的风险显著增加。进一步证明了

Lp-PLA2 是冠心病独立预测指标,同时首次证明了 Lp-PLA2 是缺血性脑卒中新的独立预测指标。

3 展望

尽管 Lp-PLA2 在动脉粥样硬化中的作用尚有争议,但越来越多的证据表明, Lp-PLA2 具有促动脉粥样硬化的作用。Lp-PLA2 与心血管风险有关,可能成为冠心病潜在的治疗目标。Lp-PLA2 特异性抑制剂正在研制中,已有动物实验显示其具有口服活性。尚待进一步解决的问题有:酶活性在体内外及不同种族中是否存在差异,其心血管风险预测价值是否适用于各种族人群,基因遗传多态性对心血管风险的影响是否不同。

[参考文献]

- [1] Libby P. Inflammation and atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2002, **105** (9): 1 135-143
- [2] Caslake MJ, Packard CJ, Suckling KE, Holmes SD, Chamberlain P, Macphree CH. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase: a potential new risk factor for coronary artery disease [J]. *Atherosclerosis*, 2000, **150** (2): 413-419
- [3] Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation [J]. *J Biol Chem*, 1998, **273** (7): 4 012-020
- [4] Tselepis AD, Karabina SA, Stengel D, Piedagnel R, Chapman MJ, Ninio E. N-linked glycosylation of macrophage-derived Lp-PLA2 is a major determinant of enzyme association with plasma HDL [J]. *J Lipid Res*, 2001, **42** (42): 1 645-654
- [5] Kosaka T, Yamaguchi M, Miyazawa K, Mizuno K. Serum platelet-activating factor acetylhydrolase (Lp-PLA2) activity in more than 3 000 healthy Japanese [J]. *Clin Chim Acta*, 2001, **312** (1-2): 179-183
- [6] Blankenberg S, Stengel D, Rupprecht HJ, Bickel C, Perret C, Rupprecht HJ, et al. Plasma PAF-acetylhydrolase in patients with coronary artery disease: results of a cross-sectional analysis [J]. *J Lipid Res*, 2003, **44** (7): 1 381-386
- [7] Winkler K, Winkelmann BR, Schrnagl H, Hoffmann MM, Grawitz AB, Nauck M, et al. Platelet-activating factor acetylhydrolase activity indicates angiographic coronary artery disease independently of systemic inflammation and other risk factors: the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study [J]. *Circulation*, 2005, **111** (8): 980-987
- [8] Blake GJ, Dada N, Fox JC, Manson JE, Ridker PM. A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels and the risk of future cardiovascular events in women [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2001, **38** (5): 1 302-306
- [9] Theilmeier G, De Geest B, Van Veldhoven PP, Stengel D, Michiels C, Lox M, et al. HDL-associated Lp-PLA2 reduces endothelial adhesiveness in apoE^{-/-} mice [J]. *FASEB J*, 2000, **14** (13): 2 032-039
- [10] Quarck R, De Geest B, Stengel D, Mertens A, Lox M, Theilmeier G, et al. Adenovirus-mediated gene transfer of human platelet-activating factor acetylhydrolase prevents injury-induced neointima formation and reduces spontaneous atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Circulation*, 2001, **103** (20): 2 495-500
- [11] Noto H, Hara M, Karasawa K, Isohara S, Satoh H, Togo M, et al. Human plasma platelet-activating factor acetylhydrolase binds to all murine lipoproteins, conferring protection against oxidative stress [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (5): 829-835
- [12] Yamada Y, Ichihara S, Fujimura T, Yokota M. Identification of the G994/T missense mutation in exon 9 of the plasma platelet-activating factor acetylhydrolase gene as an independent risk factor for coronary artery disease in Japanese men [J]. *Metabolism*, 1998, **47** (2): 177-181
- [13] Yamada Y, Yoshida H, Ichihara S, Imaizumi T, Satoh K, Yokota M. Correlations between plasma platelet-activating factor acetylhydrolase (Lp-PLA2) activity and Lp-PLA2 genotype, age and atherosclerosis in a Japanese population [J]. *Atherosclerosis*, 2000, **150** (1): 209-216
- [14] Hakkinen T, Luoma JS, Hiltunen MO, Macphree CH, Milliner KJ, Patel L, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet-activating factor acetylhydrolase, is expressed by macrophages in human and rabbit atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19** (12): 2 909-917
- [15] Leach CA, Hickey DM, Iff RJ, Macphree CH, Smith SA, Tew DG. Lipoprotein-associated PLA2 inhibition: a novel, non-lipid lowering strategy for atherosclerosis therapy [J]. *Pharmacol*, 2001, **56** (1-2): 45-50
- [16] Abuzeid AM, Hawe E, Humphries SE, Talmud PJ, HIFMECH Study Group. Association between the Ala379Val variant of the lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of myocardial infarction in the north and south of Europe [J]. *Atherosclerosis*, 2003, **168** (2): 283-288
- [17] Packard CJ, O'Reilly DS, Caslake MJ, McMahon AD, Ford I, Cooney J, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group [J]. *N Engl J Med*, 2000, **343** (16): 1 148-155
- [18] Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Bang H, Coresh J, Folsom AR, Heiss G, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high-sensitivity C-reactive protein, and risk for incident coronary heart disease in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study [J]. *Circulation*, 2004, **109** (7): 837-842
- [19] Koenig W, Khuseynova N, Lowel H, Trischler G, Meisinger C. Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany [J]. *Circulation*, 2004, **110** (14): 1 903-908
- [20] Brilakis ES, McConnell JP, Lennon RJ, Elesber AA, Meyer JG, Berger PB. Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up [J]. *Eur Heart J*, 2005, **26** (2): 137-144
- [21] Oei HH, van der Meer IM, Hofman A, Koudstaal PJ, Stijnen T, Breteler MM, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 activity is associated with risk of coronary heart disease and ischemic stroke: the Rotterdam Study [J]. *Circulation*, 2005, **111** (5): 570-575

(此文编辑 胡必利)