

髓过氧化物酶与易损斑块

陈海燕 综述; 匡希斌, 曾高峰 审校

(南华大学附属第二医院心血管内科, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 内科学; 髓过氧化物酶; 易损斑块; 急性冠状动脉综合征

[摘要] 髓过氧化物酶是一种白细胞衍生的酶,由活化的中性粒细胞、单核细胞及特定的组织内(如动脉粥样硬化斑块内)巨噬细胞的亚群分泌,可催化多种活性氧的形成。髓过氧化物酶及其氧化产物具有强大的促动脉粥样硬化特性,并与急性冠脉综合征中易损斑块的活动性密切相关,它可通过促进脂质过氧化、斑块破裂、内皮脱落、斑块糜烂、内皮功能不良等机制促进易损斑块的发生、发展。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)在传统上被视为一种杀微生物的酶,是宿主先天性防御反应的一部分。然而目前越来越多的证据表明,在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)及急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)的粥样斑块罪犯损害中存在大量活化的MPO及其氧化产物^[1]。MPO及其介导的反应产物具有强大的促As特性,是ACS的独立预测因子^[2]。近来的研究证实它与ACS中易损斑块的活动性密切相关,并可作为易损斑块的一种新的标志物^[3]。

1 髓过氧化物酶的生物学结构及功能

1.1 髓过氧化物酶的生物学结构、基因结构及多态性

髓过氧化物酶(MPO)是一种分子质量为140 kDa的血色素蛋白,由活化的中性粒细胞、单核细胞及特定组织内(如As斑块内)巨噬细胞的亚群分泌,占有细胞蛋白质总量的4%。编码人MPO的基因由12个外显子和11个内含子组成,长约14 kb,位于染色体长臂17q23-q24段。MPO基因具有多态性,目前研究报道最多的多态性位点是基因编码区上游-463位点处G-A的变异,该位点位于SP1转录因子识别结合的顺式元件中,内含4个Alu重复序列。-463位点基因的多态性使不同基因型个体的mRNA转录起始活性不同,使MPO基因表达水平不同,导致个体对疾病易感性的差异^[4]。

1.2 髓过氧化物酶的生物学功能

髓过氧化物酶(MPO)储存在中性粒细胞及单核细胞的初级颗粒中,在白细胞激活后脱颗粒释放。MPO在先天性宿主防御及炎症反应中起重要意义,可形成自由基及大量氧化剂,从而发挥抗微生物效应。然而,MPO及衍生的氧化剂亦可促进感染部位的组织损害,如As损害。当吞噬细胞被激活后,MPO被释放入吞噬小体及细胞外,与过氧化氢(hydro-

gen peroxide, H₂O₂)相作用,生成一系列具有广泛生物学效应的活性氧,如次氯酸、二氧化氮(NO₂)等,其中次氯酸是MPO产生的最重要的一种功能强大的氧化剂,MPO-H₂O₂-次氯酸系统在MPO的氧化体系中具深远的生物学效应。当活性氧生成速率大于清除速率时,可导致氧化应激,损害邻近组织,引起多种疾病包括As的发生。

一氧化氮(NO)可调节MPO的氧化活性。高水平的NO可抑制MPO的活性,而低水平的NO可升高MPO催化的底物过氧化作用的起始速率。促炎症反应刺激物如CD40配体、溶血磷脂胆碱、胆固醇结晶可诱导吞噬细胞释放MPO并生成次氯酸;粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子可选择性调整巨噬细胞在体外保存MPO及生成次氯酸的能力^[1]。亦有研究证明人体内低密度脂蛋白(LDL)可诱导巨噬细胞内MPO活性增高及分泌增强^[5]。

2 髓过氧化物酶与易损斑块

全世界每年死于ACS的患者中,70%主要死于不稳定的冠状As斑块破裂及后继的血栓形成与心肌坏死。近年许多权威学者共同建议将不稳定的粥样斑块定名为易损斑块。易损斑块是指易于受损、进展迅速、很可能发生血栓并发症的斑块,它具有活动性炎症、大脂质核及薄纤维帽、新生血管增多、内皮脱落、斑块糜烂及内皮功能不良等特点^[6]。在粥样斑块的糜烂、裂隙、破裂及血栓形成处均可见大量MPO浸润^[2],提示易损斑块形成的各个阶段均与MPO有关。

2.1 髓过氧化物酶与脂质核形成

髓过氧化物酶(MPO)可氧化修饰LDL及高密度脂蛋白(HDL)中的脂质、载脂蛋白及抗氧化剂成分^[7],导致脂质充填的泡沫细胞形成,胆固醇逆向转运功能受损,从而增大富含胆固醇酯的脂核,促进易损斑块的发生发展。抗氧化剂如维生素C、普罗布考(不包括维生素E)及他汀类药物等可抑制MPO的氧化作用^[8]。

2.1.1 髓过氧化物酶对低密度脂蛋白的氧化作用 低密度脂蛋白(LDL)的氧化修饰在As中起着重要作用。天然的LDL本身不足以促发As发生,仅当被氧化修饰形成氧化型

[收稿日期] 2005-11-17 [修回日期] 2006-04-29

[作者简介] 陈海燕,硕士研究生,主治医师,研究方向为急性冠状动脉综合征,联系电话13087342779, E-mail为chenhaiyan2002_2@yahoo.com.cn. 通讯作者匡希斌,主任医师,教授,硕士研究生导师,主要从事冠心病防治方面的研究。曾高峰,博士,副主任医师,副教授,硕士研究生导师。

低密度脂蛋白(ox-LDL)后才具有致病作用。目前已证实人在 As 斑块中含有高浓度的 ox-LDL^[9]。大量体内外实验表明,MPO 及活性氮是氧化修饰 LDL 的两条重要途径。

次氯酸是由 MPO 系统产生的主要的强有力的氧化剂,可导致人体氧化应激及组织损伤。载脂蛋白 B100(载脂蛋白 B100)是 LDL 的主要成分,在 MPO-H₂O₂-次氯酸系统中,次氯酸可通过修饰载脂蛋白 B100 中的赖氨酸、半胱氨酸、蛋氨酸、色氨酸及酪氨酸残基及 LDL 中的抗氧化剂及不饱和脂质,从而直接或间接氧化 LDL。LDL 氧化修饰的另一个重要途径由活性氮介导,MPO 亦在其中起重要作用。亚硝酸盐(NO₂⁻)是 NO 的代谢终产物,MPO 可利用 NO 及 NO₂⁻ 作为反应底物,生成活性氮 NO₂,后者可导致载脂蛋白 B100 中的酪氨酸残基硝化,从而引起 LDL 的脂质过氧化。上述反应无须金属离子的参与,在 NO₂⁻ 及氯离子的生理浓度条件下即可完成。

氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)形成后可促使循环中单核细胞进一步趋化、粘附和进入血管壁内皮下,进而分化为巨噬细胞,后者通过其细胞膜上的清道夫受体吞噬 ox-LDL 而成为泡沫细胞。由于该途径缺乏负反馈调节,促使 ox-LDL 不断摄入胞内,造成脂质大量积聚。当成熟的泡沫细胞过度积聚激活,便释放一系列水解酶,加大了血管细胞损伤,并造成泡沫细胞瓦解,使细胞内脂质释放到血管内膜的细胞外间质,最终形成斑块中富含胆固醇酯的软脂核。脂质核的不断增大导致斑块易损性增加,从而易于发生破裂及血栓形成。ox-LDL 还可通过促进巨噬细胞、内皮细胞中组织因子产生、血小板聚集及纤溶酶原激活物抑制剂(PAI)分泌而调节凝血过程;通过产生细胞毒作用导致内皮细胞、平滑肌细胞凋亡;通过抑制 NO 合成及刺激内皮素的合成和分泌,从而损伤内皮功能;通过作为一种重要抗原活化 T 淋巴细胞,从而引起特异性免疫应答^[10,11],以上均可促进斑块易损性增加。

2.1.2 髓过氧化物酶对高密度脂蛋白的氧化作用 HDL 因促进胆固醇逆转作用从而有直接的抗 As 作用,但这种作用可被 MPO 导致的氧化损害所破坏。载脂蛋白 AI 是 HDL 中最主要的蛋白,它可通过 ATP 结合盒转运体 A1(ABCA1)依赖性途径从外周细胞摄取胆固醇并转运到肝脏。近年来研究发现,MPO 可通过氧化修饰来抑制 ABCA1 依赖性胆固醇外流。Bergt 等^[12]和 Zheng 等^[13]指出,MPO 主要通过对接脂蛋白 AI 的修饰导致 ABCA1 依赖性胆固醇外流功能的丧失,载脂蛋白 AI 中的酪氨酸残基 192 是 MPO 氧化修饰 HDL 的主要位点^[12]。Shao 等^[14]发现,MPO 的硝化及氯化作用均可修饰酪氨酸残基 192,但只有氯化作用方能显著降低载脂蛋白 AI 使胆固醇外流的能力。Zheng 等^[15]进一步证实载脂蛋白 AI 的氯化程度与胆固醇外流功能受损的程度有关,酪氨酸残基 162 是载脂蛋白 AI 硝化及氯化作用的次级位点。在正常主动脉组织及人 As 损害中,MPO 产物的含量明显高于在血清中的含量,提示 MPO 导致的蛋白修饰主要发生于动脉壁,尤其是 As 损害中,oxHDL 的循环水平是 As 的一项独特性标志物^[13]。

氧化型高密度脂蛋白(ox-HDL)形成后,胆固醇逆转运功

能遭破坏,导致泡沫细胞中胆固醇清除障碍。它与 ox-LDL 共同作用,促进斑块中软脂核不断增大,斑块易损性增加。同时 HDL 的抗氧化、抗炎、抗血栓及促纤溶等作用遭到损害。ox-HDL 还可抑制 NO 的生物合成,从而导致内皮功能障碍^[16]。

2.2 髓过氧化物酶与斑块破裂

纤维帽中的主要细胞成分是平滑肌细胞,其合成分泌的 iv 型和 Ⅲ型胶原对保持斑块稳定有重要作用。iv 型和 Ⅲ型胶原的降解与基质金属蛋白酶(MMP)的活化增强及组织金属蛋白酶抑制剂(TIMP)产生不足,导致 MMP/TIMP 比例失调有关。在 As 斑块尤其是易损斑块中 MMP 活性明显增高,这是纤维帽变薄破裂的主要原因^[17]。有研究指出,在人 As 损害处,MPO 与 MMP-7 共区域,MPO 衍生的次氯酸一方面可将 MMP-7 酶原中半胱氨酸的硫氢基转换为亚磺酸,从而激活 MMP-7,另一方面可使由单核/巨噬细胞产生的 TIMP-1 失活^[18]。此外,MPO 氧化修饰产生的 ox-LDL 可抑制平滑肌细胞合成胶原,并诱发平滑肌细胞凋亡,导致平滑肌细胞相对减少,纤维帽强度减弱^[19]。

导致斑块破裂的另一个重要因素是斑块内的病理性血管新生。在 As 病变的各阶段均有动脉内膜的血管新生,尤其在易损斑块中更明显。因新生血管发育不成熟,故极易破裂导致斑块内出血。血管内皮生长因子(VEGF)是目前已知最强、最主要的诱导血管新生的生长因子。在 As 损伤处,MPO 氧化修饰的 ox-LDL 可诱导巨噬细胞表达 VEGF,从而刺激血管新生,并促进脂蛋白和炎性细胞通过新生血管大量进入损伤处,引起 As 斑块的不稳定。他汀类药物可减少 VEGF 的表达及 MMP 的分泌,使斑块更趋于稳定^[20]。

2.3 髓过氧化物酶与内皮脱落、斑块糜烂

内皮脱落是易损斑块的主要特点之一。斑块除内皮脱落外,其他完好,其上覆有血栓,这种表浅的斑块损伤类型称“斑块糜烂”^[4]。冠脉血栓的形成不仅仅是由于具有斑块保护性的纤维帽的破裂,亦可因血管腔内斑块浅表糜烂但无深至脂质核的破裂所引起,浅表的冠脉内糜烂伴随动脉内血栓闭塞发生于 1/4 以上的急性心脏猝死患者中^[21]。

曾有报道,在斑块糜烂处的内皮下膜中富含 MPO 及次氯酸修饰的蛋白,并存在内皮细胞的凋亡^[1],提示 MPO 与内皮脱落、斑块糜烂有关。Sugiyama 等^[10]证实,在内皮下膜里,由 MPO 产生的次氯酸通过引起内皮细胞凋亡及促进内皮细胞表达组织因子等机制引起内皮脱落,导致斑块糜烂并促斑块易损性增加、血栓形成。Dorinen 等^[22]进一步发现,次氯酸的氧化修饰产物 ox-LDL 与凋亡细胞竞争结合巨噬细胞上的清道夫受体,导致巨噬细胞对凋亡细胞的吞噬清除能力下降,促使后者在斑块局部聚集,加速斑块粥样坏死和脂质核心的形成。另外,内皮脱落暴露了高度致血栓形成的内皮下基底膜层,从而促进血小板的聚集,进一步促发血栓形成。谷胱甘肽单乙基酯(GSH-MEE)、维生素 C、牛磺酸(次氯酸的清除剂)及他汀类药物可抑制次氯酸的上述作用^[10]。

2.4 髓过氧化物酶与内皮功能不良

已知血管内皮功能不良与 As 密切相关,内皮功能不良

不仅是形成 As 的始动因素,对晚期 As 斑块的稳定性也有重要影响。内皮功能不良的重要特征之一是合成分泌 NO 减少。NO 是内皮细胞分泌的一种最重要的血管舒张物质,它是在 NO 合成酶(NOS)的作用下由左旋精氨酸合成而来。实验证实,MPO 能在生理条件下促进 NO 作为一种底物而消耗,从而限制其生物利用度,并通过跨细胞作用积蓄于内皮下间隙,干涉 NO 对血管壁的扩张作用及抗炎功能^[23];MPO 衍生的次氯酸可与 NO 的前体左旋精氨酸反应,减少 NOS 的底物可用性,生成限制 NOS 作用的氯化精氨酸;可通过超氧化物依赖性机制损害 NOS 二聚体的稳定性,导致 NO 释放减少^[24]。抗氧化剂普罗布考可对抗 MPO 诱导的内皮功能不良^[25]。

3 结语

综上所述,MPO 与易损斑块的发生发展密切相关,MPO 作为易损斑块的一个标志物,可用于判断患者是否处于重大心血管事件的紧急风险中。对 MPO 进行深入研究将为进一步阐明易损斑块的病因和危险因素、开展防治新途径提供新的思路。关于 MPO 抑制剂的研究可能是一项新的预防与干预 ACS 的策略。

[参考文献]

- [1] Sugiyama S, Okada Y, Sukhova GK, Virmani R, Heinecke JW, Libby P, et al. Macrophage myeloperoxidase regulation by macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes [J]. *Am J Pathol*, 2001, **158** (3): 879-891
- [2] Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, Zeiher AM, Eiserich JP, Munzel T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes [J]. *Circulation*, 2003, **108** (12): 1 440-445
- [3] Brennan ML, Penn MS, Van Lente F, Nambi V, Shishebor MH, Aviles RJ, et al. Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain [J]. *N Engl J Med*, 2003, **349** (17): 1 595-604
- [4] 许建宁. 髓过氧化物酶基因多态性与疾病易感性的研究[J]. 国外医学卫生学分册, 2002, **29** (5): 257-260
- [5] 武军驻, 洪嘉玲. 低密度脂蛋白诱导巨嗜细胞髓过氧化物酶活性的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2003, **19** (1): 16-18
- [6] Naghavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I [J]. *Circulation*, 2003, **108** (14): 1 664-672
- [7] Bergt C, Pennathur S, Fu X, Byun J, O'Brien K, Medall TO, et al. The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101** (35): 13 032-037
- [8] Mehdi H, Brennan M-L, Romier J, Shishebor MH, Brennan ML, Aviles RJ, et al. Statins promote potent systemic antioxidant effects through specific inflammatory pathways [J]. *Circulation*, 2003, **108** (4): 426-431
- [9] Bobryshev YV. Intracellular localization of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerotic plaque cells revealed by electron microscopy combined with laser capture microdissection [J]. *Histochem Cytochem*, 2005, **53** (6): 793-797
- [10] Sugiyama S, Kugiyama K, Aikawa M, Nakamura S, Ogawa H, Libby P, et al. Hypochlorous acid, a macrophage product, induces endothelial apoptosis and tissue factor expression. Involvement of myeloperoxidase-mediated oxidant in plaque erosion and thrombogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (7): 1 309-314
- [11] Suzanne JA, Gorter G, Herman JM, Korpelaar SJ, Gorty G, Van Rijn HJ, et al. Effect of oxidation on the platelet-activating properties of low-density lipoprotein [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (4): 867-872
- [12] Bergt C, Fu X, Huq NP, Kao J, Heinecke JW. Lysine residues direct the chlorination of tyrosines in YXXK motifs of apolipoprotein AI when hypochlorous acid oxidizes high density lipoprotein [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (9): 7 856-866
- [13] Zheng Z, Nukuna B, Brennan ML, Sun M, Gommast M, Settle M, et al. Apolipoprotein AI is a selective target for myeloperoxidase catalyzed oxidation and functional impairment in subjects with cardiovascular disease [J]. *J Clin Invest*, 2004, **114** (4): 529-541
- [14] Shao B, Bergt C, Fu X, Green P, Voss JC, Oda MN, et al. Tyrosine 192 in apolipoprotein AI is the major site of nitration and chlorination by myeloperoxidase, but only chlorination markedly impairs ABCA1-dependent cholesterol transport [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (7): 5 983-993
- [15] Zheng L, Settle M, Brubaker G, Schmitt D, Hazen SL, Smith JD, et al. Localization of nitration and chlorination sites on apolipoprotein AI catalyzed by myeloperoxidase in human atheroma and associated oxidative impairment in ABCA1-dependent cholesterol efflux from macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (1): 38-47
- [16] Marsche G, Heller R, Fauler G, Kovacevic, Nuskowski A, Graier W, et al. 2-Chlorohexadecanal derived from hypochlorite-modified high-density lipoprotein-associated plasminogen is a natural inhibitor of endothelial nitric oxide biosynthesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (12): 2 302-306
- [17] 程晓静. 关于动脉粥样硬化斑块稳定的新机制和临床靶点[J]. 中国动脉硬化杂志, 2004, **12** (3): 329-342
- [18] Fu X, Kassam SY, Parks WC, Heinecke JW. Hypochlorous acid oxygenates the cysteine switch domain of pro-matrix metalloproteinase (MMP-7): a mechanism for matrix metalloproteinase activation and atherosclerotic plaque rupture by myeloperoxidase [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276** (44): 41 279-287
- [19] 尹洪超. 影响斑块稳定性的因素及机制[M]. 杨永宗主编. 动脉粥样硬化性心血管疾病——基础与临床. 北京: 科学出版社, 2004; 582
- [20] Kusumanto YH, Hospers GA, Mulder NH, Rio RA. Therapeutic angiogenesis with vascular endothelial growth factor in peripheral and coronary artery disease [J]. *Intr J Cardiovasc Intervent*, 2003, **5** (1): 27-34
- [21] Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Weber DK, Kutys R, Wight TN. Differential accumulation of proteoglycans and hyaluronan in culprit lesions: insight into plaque erosion [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (10): 1 642-648
- [22] Schriber DM, De Meyer GR, Koch MM, Heman AG, Martinet W. Phagocytosis of apoptotic cells by macrophages is impaired in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (6): 1 256-261
- [23] Eiserich JP, Baldus S, Brennan ML, Tirsiib A, Castro L, Lusis AJ. Myeloperoxidase: a leukocyte-derived vascular NO oxidase [J]. *Science*, 2002, **296** (5577): 2 391-394
- [24] Stocker R, Huang A, Jeranian E, Hor JY, Wu TT, Thomas SR, et al. Hypochlorous acid impairs endothelium-derived nitric oxide bioactivity through a superoxide-dependent mechanism [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (11): 2 028-033
- [25] Witting PK, Wu BJ, Raftery M, Southwell-keely P, Stocher R. Probucol protects against hypochlorite-induced endothelial dysfunction [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (16): 15 612-618

(此文编辑 胡必利)