

# 小凹蛋白 1 在动脉粥样硬化中的作用

何清综述; 王长谦 审校

(上海交通大学医学院附属仁济医院心内科, 上海市 200001)

[关键词] 病理学和病理生理学; 小凹蛋白 1; 综述; 动脉粥样硬化; 细胞凋亡

[摘要] 小凹是细胞表面胞膜穴样内陷, 小凹蛋白为小凹的主要组成成分。其中小凹蛋白 1 在单核/巨噬细胞、内皮细胞和平滑肌细胞中均有表达, 在动脉粥样硬化形成发展过程中发挥重要而广泛的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## 1 小凹蛋白家族简介

小凹(caveolae)是细胞表面直径 50~100 nm 的胞膜穴样内陷, 小凹蛋白(caveolin)为小凹的主要组成成分。小凹蛋白家族主要包括小凹蛋白 1、小凹蛋白 2 和小凹蛋白 3。小凹蛋白主要分布于细胞膜上, 但也存在于高尔基体、内质网和细胞小囊泡等细胞器中。在哺乳动物中小凹蛋白无所不在但组织分布有差异。小凹蛋白 1 在终末分化细胞中表达水平很高如脂肪细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞和 iv 型肺泡细胞等。小凹蛋白 2 的分布表达和小凹蛋白 1 相似, 基因位点也相同(人类为 7q31.1)。小凹蛋白 3 主要存在于肌细胞中包括平滑肌细胞和心肌细胞。小凹蛋白, 尤其是小凹蛋白 1 参与许多重要的细胞活动过程, 包括小泡运输、胆固醇动态平衡、信号转导和肿瘤抑制等。

## 2 单核/巨噬细胞的小凹蛋白 1

单核/巨噬细胞在动脉粥样硬化发展过程中扮演重要角色, 尤其是不稳定斑块中含有大量单核/巨噬细胞。Matveev 等<sup>[1]</sup>和 Arakawa 等<sup>[2]</sup>在 THP-1 细胞系中研究发现 THP-1 细胞分化为巨噬细胞后小凹蛋白 1 蛋白表达增加了 50 倍, 同时分化后的 THP-1 细胞摄取高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)是未分化时的 2~3 倍, 所以推测小凹蛋白 1 参与 THP-1 细胞中的 HDL 装配成过程。但随后 Matveev 等<sup>[3]</sup>在转染小凹蛋白 1cDNA 的 RAW 和 J-774 细胞系中却发现转染后细胞选择性摄取高密度脂蛋白胆固醇酯(high density lipoprotein cholesteryl ester, HDL-CE)减少了近 50%, 进一步研究认为是小凹蛋白 1 抑制了清道夫受体 BI(scavenger receptor class B type I, SR-BI)介导的对 HDL 选择性摄取的结果。但也有学者认为小凹蛋白 1 对 SR-BI 选择性摄取 HDL 影响很小或并无影响<sup>[4, 5]</sup>。这些结果不一致很可能与研究所选择的

细胞系不同有关。

此外, 有报道称巨噬细胞的凋亡或对凋亡细胞缺乏清除力与动脉粥样硬化斑块破裂、急性血栓形成密切相关<sup>[6]</sup>。Gargalovic 等<sup>[7]</sup>发现小凹蛋白 1 蛋白含量在巨噬细胞凋亡过程中明显增加, 他们给予小鼠腹腔巨噬细胞各种本身与凋亡无关的刺激剂, 如辛伐他汀、喜树碱以及低糖处理等刺激; 采用形态学方法、磷脂酰丝氨酸外翻分析(Annexin V 法)、DNA 片段凝胶电泳等方法观察细胞的凋亡过程, 发现凋亡的巨噬细胞表面小凹蛋白 1 和磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)分泌增加。细胞膜内侧分布的 PS 外翻至细胞膜外是凋亡细胞的特有变化之一, 可激发巨噬细胞的吞噬作用<sup>[8]</sup>。同样对于巨噬细胞本身 PS 外翻至膜外是其凋亡的重要标志, 而作为“脂筏(lipid raft)”主要成分的小凹蛋白 1 蛋白表达增加则可能是 PS 分泌增多, 导致巨噬细胞凋亡的关键。深入研究小凹蛋白 1 在粥样斑块局部对巨噬细胞凋亡的调控作用有可能为稳定斑块、防止急性冠状动脉事件发生提供新的治疗靶点。

## 3 血管内皮细胞的小凹蛋白 1

Frank 等<sup>[9]</sup>研究发现用 HDL 刺激 NIH/3T3 细胞能使小凹蛋白 1 的转录激动剂活性降低, 从而抑制小凹蛋白 1 的转录和翻译; 还发现小凹蛋白 1 降低的同时, 细胞摄取低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)也减少了。其他研究也报道用 LDL 刺激体外培养的人脐静脉内皮细胞后细胞内小凹蛋白 1 蛋白和 mRNA 水平均明显升高<sup>[10]</sup>。随后 Frank 等<sup>[11]</sup>又进一步将载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE)<sup>(-/-)</sup>小鼠和小凹蛋白 1<sup>(-/-)</sup>小鼠杂交, 观察到 ApoE 基因、小凹蛋白 1 基因双重敲除的 ApoE<sup>(-/-)</sup>小凹蛋白 1<sup>(-/-)</sup>小鼠中非 HDL 血脂水平和 ApoE<sup>(-/-)</sup>小凹蛋白 1<sup>(+/+)</sup>小鼠相比增高了两倍多; 但同时又发现 ApoE、小凹蛋白 1 基因双重敲除的小鼠中主动脉粥样硬化病变减少了 65%~70%。综合考虑目前认为小凹蛋白 1 在血管内皮细胞中主要发挥促动脉粥样硬化作用, 如参与自身 LDL 和氧化 LDL 摄取和胞吞作用。

另外, Bucci 等<sup>[12]</sup>在动物体内研究发现小凹蛋白 1 能选择性抑制乙酰胆碱介导的血管舒张功能和一氧化氮合成, 并可抑制小鼠急性炎症反应和血管渗漏。Balligand<sup>[13]</sup>也指出

[收稿日期] 2005-07-11 [修回日期] 2006-04-07

[作者简介] 何清, 硕士, 医师, 研究方向为动脉粥样硬化的防治, 联系电话为 021-58752345-2324, E-mail 为 dr\_heqing@163.com。通讯作者王长谦, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病的基础与临床, 联系电话为 021-58752345-2324, E-mail 为 changqianwang@hotmail.com。

小凹蛋白 1 可发挥一氧化氮合酶负性变构调节剂的作用。由此可见小凹蛋白 1 在血管内皮细胞中还具有类似糖皮质激素的抗炎作用和一氧化氮合酶抑制剂的作用。

#### 4 血管平滑肌细胞的小凹蛋白 1

Batetta 等<sup>[14]</sup>观察到动脉粥样硬化血管内的胆固醇酯化明显高于非动脉粥样硬化血管,病变部位的血管平滑肌细胞增殖也明显加快;而病变血管以及进一步分离得到的血管平滑肌细胞内小凹蛋白 1 mRNA 水平均低于正常组织。此外严鹏科等<sup>[15]</sup>发现动脉粥样硬化模型小鼠病变局部平滑肌细胞上小凹结构和小凹蛋白 1 蛋白表达量同样明显减少。这很可能是影响细胞胆固醇转运并导致其发展为泡沫细胞的重要因素。

Peterson 等<sup>[16]</sup>研究冠状动脉平滑肌细胞的强烈促细胞分裂增殖因子——血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)和小凹蛋白 1 之间关系发现:加入 20 μg/L PDGF 后使细胞中小凹蛋白 1 的蛋白水平下降了 60%,细胞表面的小凹也减少了,但小凹蛋白 1 的 mRNA 水平却升高了。故作者认为 PDGF 减少小凹蛋白 1 并非通过抑制小凹蛋白 1 基因转录而产生作用;推断 PDGF 抑制小凹蛋白 1 可能是通过溶酶体或泛素-蛋白酶体途径增加了小凹蛋白 1 的降解,然而应用蛋白酶体抑制剂后未能证实这一推断,用弱碱性物质氯喹提高蛋白酶体的 pH 值却发现小凹蛋白 1 的丢失减少了。④在平滑肌细胞中转染小凹蛋白 1 基因使其过表达后发现转染细胞中 PDGF 的 DNA 合成完全被阻断了,而且平滑肌细胞的增殖也被抑制了;进一步研究认为小凹蛋白 1 的过表达不影响 PDGF 信号转导的早期因子——细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2)活化,而是阻断平滑肌细胞进入细胞增殖 G<sub>1</sub> 期和 S 期,并启动了细胞的凋亡程序。Zeidan 等<sup>[17]</sup>也认为血管平滑肌细胞伸展诱导生长信号和富含胆固醇的质膜区域——小凹和小凹蛋白有关。

上述实验结果发现小凹蛋白 1 对血管平滑肌细胞中胆固醇摄取、转运以及细胞生长增殖有调控作用,然而有关小凹和小凹蛋白在血管平滑肌细胞生理、病理生理中的作用研究才刚开始,例如细胞水平的小凹蛋白 1 在血管损伤和生长因子刺激下精确的调节机制等尚不明确。

#### 5 小凹蛋白 1 对斑块稳定性的作用

动脉粥样硬化斑块稳定性是决定其预后、尤其冠心病后的主要内在因素之一。不稳定性冠状动脉粥样硬化斑块易发生破裂或破溃,表面血栓形成,是造成急性冠状动脉综合征的主要机制。其中基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)与斑块纤维帽的厚薄有重要关系。MMP 是一类依赖锌离子的蛋白溶解酶,具有分解胶原纤维、蛋白聚糖和弹性纤维的作用。在动脉粥样硬化斑块中 MMP 能降解斑块间质中的大部分胶原纤维,使纤维帽变薄,降低其稳定性,加大了斑块破裂的发生率,对斑块稳定性具有重要的不良影

响<sup>[18]</sup>。同时在斑块局部胞外基质金属蛋白酶诱导物(extracellular matrix metalloproteinase inducers, EMMPRIN)基因和蛋白的表达也显著增加,且与 MMP 活性增高显著相关<sup>[19]</sup>。在 HEK293 和 HT1080 等肿瘤细胞株中研究发现,小凹蛋白 1 与 EMMPRIN 分子外功能区的某部位结合形成具有独特溶解度和密度的复合物结合后可抑制其簇集,同时也可使 MMP-1 分泌减少;相反采用 RNA 干扰技术抑制小凹蛋白 1 蛋白表达后发现 EMMPRIN 簇集增加、趋向高度糖基化并且活性增高<sup>[20]</sup>。进一步研究显示主要是小凹蛋白 1 和 EMMPRIN 分子的结合抑制了细胞表面 EMMPRIN 由低度糖基化向高度糖基化转变,而高度糖基化的 EMMPRIN 才是诱导 MMP 合成分泌的强大激动剂<sup>[21]</sup>。

故我们推测在动脉粥样硬化中小凹蛋白 1 和 EMMPRIN 对合成分泌 MMP 同样具有重要的调控作用。如能使斑块局部细胞中小凹蛋白 1 含量升高抑制 EMMPRIN 高度糖基化和 MMP 的合成分泌,则可能对稳定斑块和防止急性冠状动脉事件发挥积极的作用。目前我们正着手进行这方面的实验,希望能从中找到一种抑制 MMP 分泌、稳定粥样斑块的新途径。

#### 6 小凹蛋白 1 在荷脂细胞胆固醇转运中的作用

当巨噬细胞和血管平滑肌细胞内胆固醇酯占总胆固醇的比例超过 50% 时,称为泡沫细胞,在此之前通常称为荷脂(lipid-loaded)细胞。细胞膜上的小凹为胆固醇的贮存转运中心,小凹蛋白 1 和 SR-BI、三磷酸腺苷结合盒转运体(ATP binding cassette transporter, ABC)等在荷脂细胞胆固醇转运中发挥重要作用,并以小凹为中心构成胆固醇转运的偶联体系<sup>[15,22,23]</sup>。最近又有研究显示在小凹蛋白 1(-/-)小鼠中 ABCA1 表达明显低于对照组,但其介导流向载脂蛋白 A1(apolipoprotein A1, ApoA1)的胆固醇和对照组相似,推测小凹蛋白 1 具有调控 ABCA1 功能保持胆固醇稳态的作用,给予 ABCA1 抑制剂后小凹蛋白 1(-/-)组中 ABCA1 转运作用受抑制更明显,提示小凹蛋白 1 对 ABCA1 有保护作用。而小凹蛋白 1(-/-)组中通过 ABCG1 和 SR-BI 介导流向 HDL 的胆固醇却未受影响<sup>[24]</sup>。由此可见小凹蛋白 1 与 ABCA1 关系更密切,对其转运功能具有明确调控作用,而对 ABCG1 和 SR-BI 通路影响不大。

#### 7 展望

总体来看小凹蛋白 1 在动脉粥样硬化形成演变过程中主要发挥正面、积极的作用,尤其是在巨噬细胞的凋亡、稳定斑块和荷脂细胞胆固醇转运等方面具有重要调控作用。以这些方面作为突破口,进行更细致更深入的研究,可以进一步明确动脉粥样硬化形成发展机制,为预防和治疗动脉粥样硬化提供新的靶点和办法。

#### [参考文献]

- Matveev S, van der Westhuyzen DR, Smart EJ. Co-expression of scavenger receptor-BI and caveolin 1 is associated with enhanced selective cholesterol ester up

- take in THP-1 macrophages[J]. *J Lipid Res*, 1999, **40** (9): 1 647-654
- [2] Arakawa R, Abe-Dohmae S, Asai M, Ito JI, Yokoyama S. Involvement of caveolin 1 in cholesterol enrichment of high density lipoprotein during its assembly by apolipoprotein and THP-1 cells[J]. *J Lipid Res*, 2000, **41**: 1 952-962
- [3] Matveev S, Uittenbogaard A, van Der Westhuyzen D, Smart EJ. Caveolin 1 negatively regulates SR-BI mediated selective uptake of high density lipoprotein derived cholesteryl ester[J]. *Eur J Biochem*, 2001, **268** (21): 5 609-616
- [4] Frank PG, Marcel YL, Connelly MA, Lublin DM, Franklin V, Williams DL, et al. Stabilization of caveolin 1 by cellular cholesterol and scavenger receptor class B type I[J]. *Biochemistry*, 2002, **41**: 11 931-940
- [5] Wang L, Connelly MA, Ostermeyer AG, Chen HH, Williams DL, Brown DA. Caveolin 1 does not affect SR-BI-mediated cholesterol efflux or selective uptake of cholesteryl ester in two cell lines[J]. *J Lipid Res*, 2003, **44**: 807-815
- [6] Kolodgie FD, Narula J, Burke AP, Haider N, Farb A, Huo-Liang Y, et al. Localization of apoptotic macrophages at the site of plaque rupture in sudden coronary death[J]. *Am J Pathol*, 2000, **157**: 1 259-268
- [7] Gargalovic P, Dory L. Cellular apoptosis is associated with increased caveolin 1 expression in macrophages[J]. *J Lipid Res*, 2003, **44** (9): 1 622-632
- [8] Fadok VA, Voeker DR, Campbell PA, Cohen JJ, Bratton DL, Henson PM. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages[J]. *J Immunol*, 1992, **148** (7): 2 207-216
- [9] Frank PG, Galbiati F, Volonte D, Razani B, Cohen DE, Marcel YL, et al. Influence of caveolin 1 on cellular cholesterol efflux mediated by high density lipoproteins[J]. *Am J Physiol*, 2001, **280**: 1 204-214
- [10] Zhu Y, Liao HL, Wang N, Yuan Y, Ma KS, Verna L, et al. Lipoprotein promotes caveolin 1 and Ras translocation to caveolae: role of cholesterol in endothelial signaling[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 2 465-470
- [11] Frank PG, Lee H, Park DS, Tandon NN, Scherer PE, Lisanti MP. Genetic ablation of caveolin 1 confers protection against atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24**: 98-105
- [12] Bucci M, Gratton JP, Rudic RD, Acevedo L, Roviozzo F, Cirino G, et al. In vivo delivery of the caveolin 1 scaffolding domain inhibits nitric oxide synthesis and reduces inflammation[J]. *Nat Med*, 2000, **6**: 1 362-367
- [13] Balligand JL. New mechanisms of LDL-cholesterol induced endothelial dysfunction; correction by statins[J]. *Bull Mem Acad R Med Belg*, 2002, **157** (10-12): 427-431
- [14] Batetta B, Mulas MF, Petruzzo P, Putzolu M, Bonatesta RR, Sanna F, et al. Opposite pattern of MDR1 and caveolin 1 gene expression in human atherosclerotic lesions and proliferating human smooth muscle cells[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2001, **58** (8): 1 113-120
- [15] 严鹏科, 廖端芳, 杨永宗. Caveolin 1 表达对血管平滑肌细胞胆固醇逆转运的调节作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (5): 379-383
- [16] Peterson TE, Guicciardi ME, Gulati R, Kleppe LS, Mueske CS, Mookadam M, et al. Caveolin 1 can regulate vascular smooth muscle cell fate by switching platelet-derived growth factor signaling from a proliferative to an apoptotic pathway[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23**: 1 521-527
- [17] Zeidan A, Broman J, Hellstrand P, Swärd K. Cholesterol dependence of vascular ERK1/2 activation and growth in response to stretch: role of endothelin 1[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (9): 1 528-534
- [18] Watanabe N, Ikeda U. Matrix metalloproteinases and atherosclerosis[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2004, **6** (2): 112-120
- [19] Major TC, Liang L, Lu X, Rosebury W, Bocan TM. Extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) is induced upon monocyte differentiation and is expressed in human atheroma[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (7): 1 200-207
- [20] Tang W, Hemler ME. Caveolin 1 regulates matrix metalloproteinase-1 induction and CD147/EMMPRIN cell surface clustering[J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (12): 11 112-118
- [21] Tang W, Chang SB, Hemler ME. Links between CD147 function, glycosylation, and caveolin 1[J]. *Mol Biol Cell*, 2004, **15** (9): 4 043-050
- [22] 王蓉蓉, 严鹏科, 廖端芳. Caveolae/Caveolin 1 在清道夫受体转基因小鼠动脉粥样硬化发生中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (6): 461-464
- [23] 廖端芳, 杨永宗. 荷脂细胞胆固醇外向转运的工作模式[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (6): 621-626
- (此文编辑 朱雯霞)