

小凹蛋白与心血管疾病

李 瑛 综述; 让蔚清, 廖端芳 审校

(南华大学药物药理研究所和环境医学研究所, 湖南省衡阳市, 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 小凹; 小凹蛋白; 心血管疾病

[摘要] 小凹蛋白是构成小凹的标志性蛋白, 它们以烧瓶状的内陷形式广泛连接在各细胞质膜上。在多种疾病中均发现存在小凹蛋白的异常, 它的突变和缺失与很多疾病的发生发展过程有关, 其中包括了冠心病、心肌疾病、高血压病、糖尿病大血管病变等心血管疾病。本文简要概述小凹蛋白与心血管疾病的关系。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

小凹(caveolae)直径约 50~100 nm, 由胆固醇、鞘磷脂、鞘糖脂和脂蛋白构成, 其化学属性介于无序液体和液晶之间, 为去垢剂不溶性的膜区域。最先在 Rous 肉瘤病毒转化的鸡成纤维细胞小凹中分离出小凹蛋白(caveolin, Cav), 发现该分子不但是小凹的重要组织成分, 也是关键性的功能蛋白, 它与特殊的脂质共同形成小凹结构, 参与酪氨酸的磷酸化过程^[1]。目前小凹蛋白基因家族有三个成员: Cav-1、Cav-2 和 Cav-3, 其中 Cav-1 包括 α 亚型(Cav-1 α)和 β 亚型(Cav-1 β)^[2]。随后, 许多人开始了对小凹和 Cav 的研究, 发现小凹和 Cav 参与多种人类疾病的发展过程, 其中包括冠心病、心肌疾病、高血压病、糖尿病大血管病变等心血管疾病^[3,4]。

1 小凹蛋白与冠心病

流行病学研究表明, 冠心病的三个主要因素(高脂血症、高血压、吸烟)中, 高胆固醇血症是唯一先决条件。升高的胆固醇可抑制血管内皮舒张^[5]。近来的研究表明, 高胆固醇血症患者体内一氧化氮(nitric oxide, NO)减少, 可能是 Cav-1 水平提高导致内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)活性降低引起的^[6]。Bucci 等^[7]利用在体实验动物模型也证实了 Cav-1 对 eNOS 信号通路起抑制作用, 一旦 eNOS 通路出现抑制, 则会消除由 NO 介导的血管渗透和收缩反应。另外, 利用不同周龄的载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠与正常小鼠比较, 发现载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠的病变区域 Cav-1 明显减少, 且斑块越严重, Cav-1 减少越明显。这些结果提示载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠动脉粥样硬化的发生发展过程与 Cav-1 表达下调有关^[8]。以上说明了 Cav-1 和小凹在冠心病和动脉粥样硬化发生发展过程中起着重要的作用。

2 小凹蛋白与心肌疾病

小凹蛋白 3(Cav-3)在维持心肌及心脏的正常功能方面具有重要作用。研究发现 Cav-3 在心肌细胞的过表达将影响 Cav-3 转基因小鼠的心肌结构和功能, 导致严重的心肌组织退化, 纤维样变性及心肌功能的减弱。还发现肌营养不良蛋白及粘附分子肌营养不良蛋白聚糖(dystroglycan, DG)在 Cav-3 转基因心脏中起负调节作用, 而心脏中 Cav-3 的高表达将抑制 NOS 活性, 引起严重的心肌疾病^[9]。

研究 Cav-1 和 Cav-3 双重缺陷小鼠, 缺乏 Cav 基因家族所有成员, 且存在着严重的心肌异常现象^[10,11]。与 Cav-1 和 Cav-3 单缺陷(Cav-1^{-/-}和 Cav-3^{-/-})小鼠比较, 发现 Cav-1 与 Cav-3 双重缺陷小鼠左心室壁肥厚、室间隔肥厚。组织病理学观察发现心肌组织肥大、间质炎、心肌细胞坏死^[12]。由此看来 Cav-1 和 Cav-3 是维持心肌组织结构不可缺少的成分, 虽然 Cav 联合缺失的小鼠没有发现与单基因缺陷小鼠表型不同的类型, 但是 Cav-1 和 Cav-3 的联合缺失对心肌组织的结构和功能都有深远的影响。

3 小凹蛋白与高血压病

内皮功能异常是影响高血压的一个重要因素。实验表明, 分离 Cav-1^{-/-}小鼠的大动脉环没有稳定的血管收缩性, 当加入血管舒张剂乙酰胆碱时, 动脉环呈现出明显的舒张。此外, 离体的 Cav-1^{-/-}小鼠动脉环对肾上腺素能激动剂去氧肾上腺素的收缩反应与野生型小鼠一样, 当输注 eNOS 抑制剂左旋硝基精氨酸甲酯(NG-Nitro-L-arginine Methyl Ester, Hydrochloride, L-NAME), 血管损伤现象明显减少^[4]。Razani 等^[13]和 Drab 两个研究小组利用敲除 Cav-1 基因小鼠, 在离体大动脉血管收缩紧张度测量的实验中发现, 分离 Cav-1^{-/-}小鼠的主动脉环, 它的收缩频率开始变得不稳定。这些说明在内皮细胞中缺失 Cav-1 和小凹将导致 eNOS 活性增加和 NO 的释放, 说明血管的局部收缩性与小凹有关^[4]。而 Cav-1 通过调节 eNOS 活性来调节血管紧张度, 其水平高低直接影响 eNOS 活性, 从而导致血管弹性的变化。因此, Cav-1 是一个重要的血压决定因子, 在高血压病中起着重要的作用。

[收稿日期] 2006-06-19 [修回日期] 2006-12-28

[基金项目] 国家自然科学基金(30572191); 湖南省教育厅(03C377)基金

[作者简介] 李瑛, 硕士研究生, 主要从事食物、药物毒理及心血管病防治研究。通讯作者让蔚清, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事心血管疾病预防及食物、药物毒理研究, 联系电话 0734-8281615, E-mail 为 nhurangweiqing@yahoo.com.cn。

4 小凹蛋白与糖尿病大血管病变

糖尿病是胰岛素分泌及信号传导异常的代谢性疾病,而血管病变是糖尿病患者的主要并发症以及致死、致残的主要原因,可分为微血管和大血管病变。糖尿病血管病变发生的前提是血管内皮损伤。引起血管内皮损伤的因素有很多。高血糖是公认的损伤因素和致糖尿病血管病变的危险因素。但糖尿病患者血糖升高所导致血管病变的发生以及发病机理还不清楚。Labrecque 等^[14]研究发现血管内皮生长因子(VEGF)可上调人脐静脉内皮细胞小凹和 Cav 的表达;VEGF 表达的增加不能完全恢复受损的内皮细胞,只是减轻受损的血管内皮细胞的功能障碍。文献报道,内皮素受体 ETA 定位于小凹中,这说明内皮素 1 的作用可能受 Cav-1 的调控^[15]。eNOS 和 NADPH 氧化酶均定位于细胞膜小凹区域,提示小凹可同时为 NO 和超氧阴离子的产生提供场所^[12]。Cav-1 可能通过其骨架结构结合酪氨酸磷酸化形式的 eNOS 而抑制 eNOS 活性^[16]。血管内皮生长因子受体 2(Flk-1/kDaR)定位于小凹中,Cav-1 可通过正性或负性调控血管内皮生长因子受体 2 而调节血管内皮生长因子(VEGF)的信号通路^[17]。因此,内皮素 1、eNOS、NO、VEGF 的表达和作用都受 Cav-1 的调节,说明 Cav-1 可能参与糖尿病血管病变。在 Cav-1^{-/-}小鼠模型中,糖尿病所致的心肌损伤常伴随 Cav-3 水平的明显升高,这说明 Cav-1 与 Cav-3 在糖尿病血管病变的发病和进展中起重要作用^[18]。

5 小凹蛋白影响心血管疾病的机制

小凹和 Cav 是生物体内一个重要的传导分子,具有调节细胞周期进程的作用。小鼠中 Cav-1 和 Cav-3 基因转移过表达以及定位于小鼠 Cav-1、Cav-2 和 Cav-3 基因中的靶向断裂研究结果,为进一步研究小凹和 Cav 的作用提供了重要信息^[4]。如对 Cav-1^{-/-}和 Cav-3^{-/-}小鼠的实验研究发现,Cav-1^{-/-}小鼠没有表现出任何明显的发育不正常或是胚胎死亡现象,但其寿命相对较短,Cav-1^{-/-}小鼠内皮细胞和脂肪细胞中的小凹结构完全消失,Cav-3^{-/-}小鼠细胞也不存在小凹结构^[13,19,20]。这说明 Cav-1 和 Cav-3 是构成小凹的基本要素,而小凹和 Cav 并不是生命所必需的。相比 Cav-1 和 Cav-3,Cav-2 的缺失并不阻碍小凹的形成,只是缺失 Cav-2 会使得小鼠的肺纤维化,表明 Cav-2 也是形成膜细胞器所不可缺少的^[21]。虽然 Cav 缺失的小鼠并没有影响其生命,但关于 Cav 基因家族的研究,为心血管疾病发病机制的研究提供了重要信息。

5.1 小凹蛋白和内皮功能

小凹蛋白 1(Cav-1)是蛋白质-蛋白质反应信号分子的一种负调节剂,其调节作用是通过 Cav 的脚手架域(Caveolin scaffolding domain, CSD)(82~101 位残基)中相关的氨基酸残基来实现的^[7]。实验发现,Cav-1 通过其 CSD 与内皮型 NO 合酶(eNOS)的相互作用来抑制 eNOS 活性和 NO 的产量。在内皮组织中,Cav-1 的上调和下调影响 NO 的释放^[14,19]。在心血管系统,Cav-1 可抑制内皮细胞中 NO 介导的血管渗透

性,而内皮细胞中 NO 的异常将导致高血压、糖尿病血管病变、血管老化及动脉粥样硬化等^[22]。

5.2 小凹蛋白和血管生成

小凹蛋白 1(Cav-1)参与血管生成。血管生成是在原有血管的基础上形成新血管的过程,包括内皮细胞的活化、增殖、迁移等,受血管生成促进因子和抑制因子的共同调节。Cav-1 水平的下调可促进 VEGF 的增长。实验研究表明,Cav-1 在细胞中过量表达可抑制内皮细胞的增殖,促进细胞分化。腺病毒介导 Cav-1 过表达可促进内皮细胞分化成管状结构^[4]。相反,利用反义核苷酸下调 Cav-1 蛋白水平,使得内皮细胞形成机体网状系统的可能性减小^[23]。VEGF 及其下游作用分子 NO 是血管生成的强促进剂,而 eNOS 及 VEGFR2 存在于内皮细胞的小凹中。Cav-1 可能是血管生成促进剂和抑制剂作用的共同靶点。实验表明,在缺血再灌注后,Cav-1^{-/-}小鼠的血管功能不能恢复,对 VEGF 的刺激无反应;在这种基因缺陷小鼠中导入 Cav-1,上述过程可发生逆转。如果导入的 Cav-1 水平过高,则 eNOS 活性被抑制,NO 产生和血管生成也受到影响。这些说明 Cav-1 是血管生成调节的关键分子^[24],也是抑制 eNOS 功能中的关键分子。

5.3 小凹蛋白与心肌的缺血一再灌注损伤

缺血一再灌注损伤(ischaemic reperfusion, I/R)是一个多因素的病理过程,确切的机制目前仍不清楚。近来研究表明,Cav-1 对大鼠离体心脏中性粒细胞(polymorphonuclear neutrophil, PMN)介导的再灌注损伤具有重要的心脏保护作用^[25,26]。当血管内皮上 NO 增加到一定量时,Cav-1 发挥心脏保护作用,而 NG-甲基精氨酸(NG-methyl-L-arginine, L-NMMA)可抑制 Cav-1 的这种心脏保护功能^[27]。分析 Cav-1 的这种心脏保护作用可能与 PMN 对血管内皮组织粘附的抑制作用有关,从而导致较低的心肌组织浸润。同时发现部分 PKC- α 与 Cav-1 结合能够抑制细胞中蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)的活性。因此,Cav-1 不需要进入细胞质就能直接抑制 PKC 的活性。近来,Oka 等^[28]研究发现,Cav-1 能够在一定的浓度范围抑制 PKC 的活性,而抑制 PKC 的活性可导致 NO 释放。其原因是:(1)PKC 下调 eNOS 活性,导致 NO 表达降低;抑制 PKC 的活性,eNOS 表达上升继而使的 NO 释放增加。(2)当 PKC 刺激 NADPH 氧化酶(NADPH oxidase, NOX),增加了内皮细胞中过氧化物产量。故抑制 PKC 可降低过氧化物产量,同时细胞中的超氧游离基可将 NO 释放的抑制因素最小化。也就是说,NO 释放和过氧化物增加时,PMN 可介导 Cav-1 在心肌缺血再灌注时对心脏的保护作用。这种心脏保护功能可能与 PMN 对血管内皮粘附的抑制作用,导致较低的心脏组织的浸润有关。Cav-1 还可通过负向调节白细胞-内皮细胞的相互作用刺激 NO 的释放。

6 结论与展望

小凹蛋白(Cav)基因家族现已成为研究的一个热点。通过对小凹生物学功能研究,了解小凹和 Cav 参与许多疾病的发生发展过程^[29,30]。小凹和小凹蛋白的超微结构、遗传学、分子生物学的分析也给我们提供了有力的证据,即小凹和小

凹蛋白确实参与多种心血管疾病的过程,如高血压病、动脉粥样硬化、心肌疾病等。利用基因敲除技术手段建立的小凹蛋白缺陷小鼠等实验模型也为探究小凹-Cav 生理功能及解释 Cav 在心血管疾病发生发展中的病理意义提供了有力实验研究手段。

阐明不同的 Cav 基因家族成员在人类疾病中的作用及相互关系对于研究相关疾病的发生发展机制和药物开发具有指导意义。如在 Cav-3 缺陷小鼠中的肥厚型心脏表型很快在 Cav-3 突变产生的人类肥厚型心肌病中得到证实就是一个很好的例子。这也提示我们检测其他相关人群的疾病去证实 Cav 基因家族的突变是有必要的,它可能提供许多人类先天疾病的分子基础,为研究相关疾病机制和治疗提供新思路。

[参考文献]

- [1] Kim YN, Wiepaz GJ, Guadarrama AG, Bertics PJ. Epidermal growth factor-stimulated tyrosine phosphorylation of caveolins enhanced caveolins tyrosine phosphorylation following aberrant epidermal growth factor receptor status [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (11): 7 481-491.
- [2] 武明花, 苏琦. 小凹-小凹蛋白的生物学特性[J]. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 2003, **24** (6): 337-338.
- [3] 梁旭方, 黄芬. 微囊蛋白基因及其与疾病关系研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2003, **30** (3): 375-377.
- [4] Cohen AW, Hnasko R, William Schubert, Lisanti MP. Role of caveolae and caveolins in health and disease [J]. *Physiol Rev*, 2004, **84**: 1 441-479.
- [5] 俞梦越, 吴维力, 高润霖. 内皮功能不全与冠心病[J]. 心血管病学进展, 2002, **23** (4): 193-199.
- [6] Lee Campbella, Mark Gumbleton, Kenneth Ritchie. Caveolins in human disease [J]. *Adv Drug Del Rev*, 2001, **49**: 325-335.
- [7] Bucci M, Gratton JP, Rudic RD, Acevedo L, Rovietto 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**: 1 462-467.
- [8] 覃丽, 秦旭平, 朱炳阳, 廖端芳. 小凹蛋白 1 在载脂蛋白 E 基因敲除小鼠动脉粥样硬化形成中的作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, **9** (9): 978-982.
- [9] 姚康, 徐标. 细胞膜微囊-微囊蛋白及其相关信号分子[J]. 中国病理生理杂志, 2001, **17** (4): 370-372.
- [10] Park DS, Woodman SE, Schubert W, Cohen AW, et al. Caveolin-1/3 double-knockout mice are viable, but lack both muscle and non-muscle caveolae, and develop a severe cardiomyopathic phenotype [J]. *Am J Pathol*, 2002, **160** (6): 2 207-217.
- [11] Woodman SE, Park DS, Cohen AW, Cheung MWC, Madhulika Chandra, Jamshid Shirani, et al. Caveolin-3 knock-out mice develop a progressive cardiomyopathy and show hyperactivation of the p42/44 MAPK cascade [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277** (41): 38 988-997.
- [12] Park DS, Woodman SE, William Schubert, Cohen AW, Frank PG, Madhulika Chandra, et al. Caveolin-1/3 double-knockout mice are viable, but lack both muscle and non-muscle caveolae, and develop a severe cardiomyopathic phenotype [J]. *Am J Pathol*, 2002, **160**: 2 207-217.
- [13] Razani B, Engelman JA, Wang XB, Schubert W, Zhang XL, Marks CB, et al. Caveolin-1 null mice are viable but show evidence of hyperproliferative and vascular abnormalities [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 38 121-138.
- [14] Labrecque L, Royal I, Sruprenant DS, Patterson C, Gingras D, B•liveau R. Regulation of vascular endothelial growth factor receptor-2 activity by caveolin-1 and plasma membrane cholesterol [J]. *MBC*, 2003, **14**: 334-347.
- [15] Dunk C, Ahmed A. Vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated mitogenesis is negatively regulated by vascular endothelial growth factor receptor-1 in tumor epithelial cell [J]. *Am J Pathol*, 2001, **158**: 265-273.
- [16] 桂新春, 颜冰楠, 刘宗汉. 糖尿病血管病变中内皮素转换酶及相关因子[J]. 医学综述, 2005, **11** (6): 506-508.
- [17] Labrecque L, Royal I, Sruprenant DS. Regulation caveolin-1 and plasma membrane cholesterol [J]. *MBC*, 2003, **14** (1): 334-347.
- [18] Krajewska WM, Maslowska I. Caveolins: structure and function in signal transduction [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2004, **9** (2): 195-220.
- [19] Marek Drab, Paul Verkade, Marlies Elger, Michael Kasper, Matthias Lohn, Birgit Lauterbach, et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice [J]. *Science*, 2001, **294**: 2 449-452.
- [20] Park DS, Cohen AW, Frank PG, Razani B, Lee H, Williams TM, et al. Caveolin-1 null mice show dramatic reductions in life span [J]. *Biochemistry*, 2004, **42**: 15 124-141.
- [21] Razani B, Wang XB, Engelman JA, Battista M, Lagaud G, Zhang XL, et al. Caveolin-2 deficient mice show evidence of severe pulmonary dysfunction without disruption of caveolae [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, **22**: 2 329-344.
- [22] Gratton JP, Pascal Bernatchez, Sessa WC. Caveolins and cardiovascular function [J]. *Circ Res*, 2004, **94**: 1 408-417.
- [23] Liu J, Wang XB, Park DS, Lisanti MP. Caveolin-1 expression enhances endothelial capillary tubule formation [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**: 10 661-668.
- [24] Pierre Sonveaux, Philippe Martinive, Julie DeWever, Zuzana Batova, G•rardine Daneau, Michel Pelat, et al. Caveolin-1 expression is critical for vascular endothelial growth factor-induced ischemic hindlimb collateralization and nitric oxide-mediated angiogenesis [J]. *Circ Res*, 2004, **95**: 154-161.
- [25] Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischemia-reperfusion [J]. *Cardiovasc Res*, 1996, **42**: 744-751.
- [26] Young LH, Ikeda Y, Lefer AM. Caveolin-1 peptide exerts cardioprotective effects in myocardial ischemia-reperfusion via nitric oxide mechanism [J]. *Am J Physiol*, 2001, **280** (6): H2489-495.
- [27] Guo JP, Murohara T, Buerke M, Scalia R, Lefer AM. Direct measurement of nitric oxide release from vascular endothelial cells [J]. *J Appl Physiol*, 1996, **81**: 774-779.
- [28] Lefer AM, Campbell B, Shin YK, Scalia R, Hayward R, Lefer DJ. Simvastatin preserves the ischemic-reperfused myocardium in normocholesterolemic rats [J]. *Circulation*, 1999, **100**: 178-184.
- [29] Unn Ortegren, Lan Yin, Anita Ost, Helen Karlsson, Nystrom FH, Peter Stralfors. Separation and characterization of caveolae subclasses in the plasma membrane of primary adipocytes; segregation of specific proteins and functions [J]. *FEBS J*, 2006, **273**: 3 381-392.
- [30] Ratajczak P, Oliviero P, Marotte F, Kolar F, Ostadal B, Samuel JL. Expression and localization of caveolins during postnatal development in rat heart: implication of thyroid hormone [J]. *J Appl Physiol*, 2005, **99**: 244-251.

(此文编辑 胡必利)