

高密度脂蛋白在动脉粥样硬化相关免疫和炎症反应中的双重作用

赵战芝, 姜志胜

(南华大学心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 高密度脂蛋白; 炎症反应; 免疫反应; 动脉粥样硬化

[摘要] 高密度脂蛋白通过减少细胞因子释放、粘附分子表达、抑制白细胞迁移至动脉壁、中和脂多糖的细胞毒作用、抑制巨噬细胞的抗原提呈功能而抑制炎症和免疫反应。高密度脂蛋白中的载脂蛋白 AI、J、M 及相关分子鞘氨醇磷酸胆碱等在其中起重要作用。高密度脂蛋白因此而成为组装参与免疫和炎症反应的蛋白平台。而冠心病高密度脂蛋白的组成和性质发生了改变, 促进炎症反应。关注高密度脂蛋白的不同性质, 利用它的抗炎、抗动脉粥样硬化一面, 可预测和防治冠心病。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

流行病学研究和动物实验表明, 血浆高水平高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 可以阻止动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 和冠心病的发生发展。通过对不同受试人群进行跟踪随访, 发现, HDL 水平高的人比 HDL 水平低的人患 As 和冠心病的危险性降低 50%, 而且每升高 1 mg HDL, 心血管疾病风险就降低 2%~3%。有关 HDL 拮抗 As 的机制, 研究较多的是它的胆固醇逆转运功能。近年来, HDL 的其它功能日益受到关注。Vaisar 等^[1]用蛋白质组学方法发现人血浆 HDL 的 48 个蛋白中, 有 23 个与免疫炎症有关, 22 个与脂质转运和脂蛋白代谢相关, 表明 HDL 具有潜在的影响免疫和炎症反应的功能。HDL 能减少细胞因子释放和粘附分子表达, 抑制白细胞迁移至动脉壁^[2,3]; 中和脂多糖的细胞毒作用, 参与固有免疫和炎症反应^[4,5]。提示 HDL 对免疫和炎症反应的影响可能在 As 病变形成及发生发展过程中起重要作用。本文就此做一综述。

1 炎症和免疫反应与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化 (As) 是一个复杂的慢性炎症过程, 炎症和免疫反应是形成的重要环节, 主要特征为巨噬细胞和 T 细胞聚集于动脉内膜, 血浆某些炎症介质水平明显提高。血中多余低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 沉积于动脉壁并随后氧化, 氧化型 LDL (oxidized LDL, ox-LDL) 刺激内皮细胞表达单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)。在 MCP-1 的作用下, 已粘附在内皮细胞的血单核细胞迁移至内皮下, 继而在 ox-LDL 等刺激下分化为巨噬细胞。巨噬细胞不仅吞噬 ox-LDL 后转变成泡沫细胞, 而且分

泌白细胞介素 1 β (interleukin 1 beta, IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等致炎因子。IL-1 β 和 TNF- α 刺激内皮细胞表达大量粘附分子如血管细胞粘附分子 1 (vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1)、细胞间粘附分子 1 (intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)、P 选择素和 E 选择素, 后者与 MCP-1 共同作用使单核细胞迁移到动脉内膜。因此形成一个恶性循环。

当 T 细胞识别 As 病变中的抗原时, 获得性免疫激活。这一过程触发干扰素 γ 、IL-2 和 TNF- α 等细胞因子释放、巨噬细胞活化和炎症发展。T 细胞参与 As 病变的形成始于起始阶段。与单核细胞一样, T 细胞在选择素、VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 的作用下进入病变区域内^[6]。在人晚期斑块中, T 细胞大约占总细胞数的 20%。它们常聚集在斑块破裂部位, 诱导致死性血栓形成。As 病变中多数 T 细胞带有 CD3、CD4 标志和 T 细胞抗原受体 (TCR $\alpha\beta^+$)。这些细胞识别由巨噬细胞或树突状细胞加工呈递的蛋白抗原而活化。活化 T 细胞占晚期斑块中 CD3⁺ T 细胞的三分之二、占载脂蛋白 E 基因敲除 (载脂蛋白 E^{-/-}) 鼠 As 病变中 T 细胞的 90% 以上^[6]。但天然 T 细胞的活化除需要识别由巨噬细胞等抗原呈递细胞 (antigen presenting cells, APC) 摄取、加工和呈递过来的抗原外, 还需要 APC 表面共刺激分子与 T 细胞上相应受体结合提供活化的第二信号, 较重要的是 T 细胞表面的 CD28 分子与 APC 表面 B7-1 (CD80) 和 B7-2 (CD86) 的结合^[7]。

固有免疫在 As 发生早期也被启动, 常表现为固有免疫系统对动脉内膜下积累修饰的脂蛋白和一些微生物产物如脂多糖等产生应答反应。固有免疫效应细胞最重要的是巨噬细胞和内皮细胞, 而固有免疫效应分子主要是细胞因子。效应细胞表达模式识别受体 (清道夫受体、Toll 样受体)。这些受体识别宽范围的分子模式配体, 如 ox-LDL 和脂多糖。一旦受体识别配体, 即传递跨膜信号并激活核因子 κ B 和 MAPK 通路, 诱导细胞因子和粘附分子等表达^[6]。

[收稿日期] 2007-07-14 [修回日期] 2007-12-11

[基金项目] 国家自然科学基金 (30570766); 湖南省教育厅重点科研项目 (05A043); 教育部归国留学人员科研启动基金

[作者简介] 赵战芝, 博士, E-mail 为 zqzhanice@126.com。通讯作者姜志胜, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail 为 zsjiang2005@163.com。

2 高密度脂蛋白抗炎与抑制免疫的效应及机制

研究表明, HDL 通过一系列作用来影响 As 的炎症免疫过程, 包括抑制 MCP-1 和粘附分子的表达及单核细胞迁移^[8-10]; 抑制细胞因子和共刺激分子等表达及巨噬细胞和 T 细胞的活化^[11]。

单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1) 是已知的最重要的化学趋化剂。缺乏 MCP-1 的载脂蛋白 E^{-/-} 鼠 As 病变明显减轻。ox-LDL 能刺激人主动脉内皮细胞分泌大量 MCP-1, 并诱导单核细胞迁移入动脉壁, 而 HDL 能抑制 ox-LDL 诱导的 MCP-1 表达和单核细胞迁移。1-棕榈酰-2-花生四烯酰-sr-甘油-3-磷酸胆碱(1-palmitoyl-2-arachidonyl-sr-glycerol-3-phosphorylcholine, PAPC) 的磷脂氧化修饰产物主要存在于轻度氧化修饰的 LDL 颗粒和慢性炎症位点如 As 病变和活化的内皮细胞处, 能促进单核细胞和内皮细胞相互作用。HDL (100 mg/L) 预处理能明显抑制氧化型 PAPC 诱导的内皮细胞 MCP-1、IL-8 和 IL-6 mRNA 表达; 并抑制单核细胞与内皮细胞的结合, 降低单核细胞的趋化活性^[8]。HDL 的这一作用与抑制氧化型 PAPC 激活的信号通路相关。研究发现, HDL 完全逆转氧化型 PAPC 所致内皮细胞 eNOS 的 T496 位去磷酸化, 使活性氧的产生减少 50%; 并抑制 c-Src 激酶和 STAT3(转录激活因子 3) 的磷酸化, 从而阻断氧化型 PAPC 激活的氧化型 PAPC-eNOS-超氧化物-SREBP 和氧化型 PAPC-c-Src 激酶-STAT3 通路, 进而抑制细胞因子表达及单核细胞趋化^[8]。

体外研究发现, HDL 可以抑制活化内皮细胞表达粘附分子。在 HDL 生理浓度内, 无论天然 HDL 还是重组 HDL(载脂蛋白 AI+ 卵磷脂) 预处理细胞后, 均能浓度依赖性和时间依赖性抑制细胞因子(IL-1 和 TNF- α) 诱导的人脐静脉内皮细胞 VCAM-1、ICAM-1 和 E 选择素表达, 最大效应可持续 16 h^[3]。

高密度脂蛋白(HDL) 可能通过多个机制抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞粘附分子表达。早期的研究认为 HDL 通过抑制内皮细胞鞘氨醇激酶活性, 阻断鞘氨醇-核因子 κ B 通路^[3], 来抑制粘附分子表达。近来研究发现 HDL 的抑制作用可能与清道夫受体 BI(scavenger receptor class B type I, SR-BI) 和 1 磷酸鞘氨醇(sphingosine 1-phosphate, S1P) 1 型受体介导的信号通路有关^[9]。HDL 的载脂蛋白 AI 与细胞膜上 SR-BI 相互作用, 介导 SR-BI-PDZK1-PI3-Akt-eNOS 通路, 诱导一氧化氮(nitric oxide, NO) 的产生。SR-BI 相关蛋白 PDZK1 在此通路激活过程中作为脚手架起重要作用。HDL 的 S1P 组分也与细胞膜上 S1P1 型受体识别, 介导 S1P1-PI3-激酶-eNOS 通路。HDL 通过这两条通路促进 NO 合成, NO 抑制核因子 κ B 活化^[12], 继而抑制粘附分子表达。

另有研究表明, HDL 抑制 TNF- α 介导的内皮粘附分子表达及与白细胞粘附可能呈内皮酯酶和过氧化体增殖物激活型受体 α (peroxisome proliferator activated receptors, PPAR) 依赖性^[14]。实验发现, HDL 预处理明显降低 TNF 诱导的内皮酯酶转染的内皮细胞 VCAM-1 的表达, 而在内皮酯酶抑制剂 tetrahydropyridin 存在时, HDL 无抑制作用; 同时 HDL 呈浓度依赖性抑制内皮酯酶转染细胞 VCAM-1 启动子活性, 最大效

应达 63%; HDL 也明显减少白细胞、PPAR^{+/+} 内皮细胞粘附, 但不能抑制 PPAR^{-/-} 内皮细胞与白细胞的粘附。表明 HDL 抑制 TNF 介导的内皮粘附分子表达、白细胞内皮细胞粘附呈内皮酯酶、PPAR 依赖方式。

已公认血浆 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP) 水平可作为冠状动脉事件的预测因子。CRP 参与炎症过程, 诱导内皮细胞表达 VCAM-1、ICAM-1 和 E 选择素^[13]。Wadham 等^[14] 报道, HDL 可抑制 CRP 诱导内皮细胞表达粘附分子, 但这种抑制作用始终要求 HDL 的存在。

体内实验也证实了 HDL 对内皮细胞粘附分子表达的调节能力。给颈动脉套环的载脂蛋白 E^{-/-} 小鼠注入重组 HDL(载脂蛋白 AI 加卵磷脂), 一周内, 内皮细胞粘附分子表达及单核细胞浸润减少 40%; 三周后, 新生内膜增生程度明显减轻。普通饮食饲喂的新西兰兔, 颈动脉套环后每日注射重组 HDL, 3 d 后, 重组 HDL 完全抑制血管壁活性氧的释放, 抑制多形核白细胞侵入到动脉壁(抑制率为 73%~94%); 明显抑制 VCAM-1、ICAM-1 和 MCP-1 的内皮表达^[15]。给猪皮下注射 IL-1, 诱导皮下血管大量表达 E 选择素, 单独注入重组 HDL 则明显抑制 E 选择素的诱导表达。

对血 HDL 水平和可溶性粘附分子水平相关关系进行研究, 发现 HDL 水平低的人群其血浆可溶性 ICAM-1、E 选择素水平明显高于 HDL 水平正常或增高的人群, 且低 HDL 水平人群, 其 HDL 水平与可溶性 ICAM-1、E 选择素水平呈负相关, 而提高血 HDL 水平, 血可溶性 ICAM-1、E 选择素水平明显降低^[16]。值得注意的是, 受内毒素刺激后, 低 HDL 水平人群内毒素相关临床症状的发生率和严重性及血 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 MCP-1 水平均高于正常 HDL 水平人群。表明低 HDL 水平对内毒素的敏感性高, 而正常 HDL 水平具有抗内毒素作用^[17]。

有报道, HDL 能减轻脂多糖的细胞毒作用^[4,5]。重组 HDL 在体外可以抑制脂多糖诱导内皮细胞表达 VCAM-1。天然 HDL 呈剂量依赖方式明显抑制脂多糖诱导的白细胞内皮细胞粘附, 这种抑制效应依赖于 HDL 对脂多糖的预处理^[4]。其它实验发现, HDL 主要通过结合和中和脂多糖而抑制它的细胞毒作用。静脉注入重组 HDL 后, 血浆 HDL 水平提高, HDL 结合脂多糖加强, 血浆细胞因子水平明显降低, 感染鼠内毒素血症相关并发症减少, 感染鼠的存活率得到改善。给被低剂量脂多糖感染的人注射重组 HDL, 明显减少脂多糖介导的 TNF- α 、IL-6 和 IL-8 的释放。这主要由于 HDL 一方面下调单核细胞膜 CD14 的表达, 另一方面通过竞争 CD14 结合脂多糖-内毒素结合蛋白复合体(lipopolysaccharide binding protein, LBP)。HDL 的载脂蛋白 AI 还可置换和清除结合在单核细胞表面受体上的脂多糖。HDL 中和脂多糖是通过掩盖脂多糖的脂质 A 域, 使其不能与 LBP 结合^[5]。

脂多糖是固有免疫效应细胞 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR) 分子模式识别的重要配体。它致炎和细胞毒作用主要由脂质 A 组分介导。脂多糖从细胞膜释放至循环并与循环中的 LBP 相互作用。LBP 结合脂多糖的脂质 A, 介导形成 LBP-脂多糖复合物。随后, LBP 介导脂多糖与单核细胞和中

性粒细胞膜 CD14 或可溶性 CD14 结合。两种 CD14 是脂多糖主要受体,促进脂多糖的结合和 TLR 的活化。脂多糖经 TLR-NF- κ B 信号通路,刺激合成并分泌大量细胞因子,参与固有免疫。

我们在近期工作中发现,HDL 降低 THP-1 单核源性巨噬细胞 IL-1 β mRNA 水平,抑制 THP-1 单核源性巨噬细胞 II 类组织相容性分子人白细胞抗原(human leukocytic antigen DR, HLA-DR)及共刺激分子 CD86 的表面表达。IL-1 β 是致炎细胞因子,已公认为动脉粥样硬化相关基因;HLA-DR 和 CD86 为天然 T 细胞活化所必需,表明 HDL 能抑制炎症和 T 细胞介导的获得性免疫的动员。

3 高密度脂蛋白抗炎的有效成分及模拟肽、相关分子在调节炎症免疫反应中的作用

高密度脂蛋白(HDL)组成呈异质性,在 12 个亚类中,每一个亚类所含载脂蛋白、脂质成分、颗粒大小、密度和等电点均不一样。HDL3 抑制内皮细胞粘附分子表达的效应要优于 HDL2。进一步研究发现,HDL 颗粒大小、胆固醇酯和三酰甘油的不同并未带来效应差异,而磷脂成分的不同却与效应的差异密切相关^[18]。Thaveeratitham 等将 HDL 蛋白质和脂质成分分离,贫脂载脂蛋白 HDL 能显著抑制脂多糖诱导的白细胞粘附,而 HDL 脂质成分却没有此效应。表明抑制白细胞内皮细胞粘附的效应结构是 HDL 蛋白质^[4]。在制备含亚麻酰磷脂酰胆碱(linoleoyl phosphatidylcholine, PLPC)的重组 HDL 时,如不含载脂蛋白 AI,在制作过程中,PLPC 易发生氧化,在与细胞孵育期间表现出细胞毒性作用。而只有与载脂蛋白 AI 一起时,由于载脂蛋白 AI 能防止磷脂氧化,才不表现对细胞的毒性效应,并维持抗炎潜能^[18]。这提示载脂蛋白 AI 对 HDL 功能的维持起重要作用。

给小鼠和人注射载脂蛋白 AI 后,LDL 抗氧化能力增强,病变局部表达 MCP-1 减少,趋化单核细胞的能力减弱。4F 是结合磷脂的载脂蛋白 AI 模拟肽,类似于天然载脂蛋白 AI。4F 能维持 LDL 处理的内皮细胞 NO 和超氧阴离子间的正常平衡,改善喂饲西方饮食的 LDLR^{-/-} 鼠的血管活性。D-4F 是 D-氨基酸处合成的 4F。给 LDLR^{-/-} 鼠(喂饲西方饮食)和载脂蛋白 E^{-/-} 鼠(喂饲普通饮食)口服 D-4F 后,HDL 所含氢过氧化物迅速减少,由致炎 HDL 转为抗炎 HDL,As 病变分别减少 79% 和 75%,但血脂没有明显改变^[19]。给载脂蛋白 E^{-/-} 鼠共同口服 D-4F 和普伐他汀,血浆 HDL 和载脂蛋白 AI 水平明显提高,对氧磷酶活性提高,病变明显消退、面积仅为对照鼠的 38%,病变中巨噬细胞聚集率减少了 22%,血浆 HDL 对 α -LDL 诱导单核细胞趋化活性的抑制作用明显增强^[20]。肺泡 II 型细胞被流感病毒 A 感染后,细胞生存率降低,产生大量细胞因子和致炎的氧化磷脂。感染的细胞与 D-4F 孵育后,细胞存活率提高,细胞因子和氧化磷脂的产生均被抑制^[21]。L-4F 是载脂蛋白 AI 的又一个模拟肽。其结构是基于载脂蛋白 AI 的螺旋重复域。Gupta 等^[22]发现,L-4F 体外呈浓度依赖性抑制脂多糖诱导的单核细胞和内皮细胞粘附,并抑制脂多糖诱导内皮细胞表达 IL-6、IL-8、IFN- γ 、

TNF- α 、膜辅因子蛋白 1、E 选择素、ICAM-1 和 VCAM-1; L-4F 通过直接结合脂多糖,浓度依赖性抑制脂多糖与 LBP 和内皮细胞表面受体结合。腹腔注射 L-4F,也可明显减少脂多糖感染鼠主动脉 VCAM-1 的表达。

D-(113-122)载脂蛋白 J 肽是从载脂蛋白 J 氨基酸残基 113 到 122 对应的 D-氨基酸处合成。载脂蛋白 E^{-/-} 鼠和猴口服 D-(113-122)载脂蛋白 J 后,4 h 内,载脂蛋白 E^{-/-} 鼠 HDL 抗炎活性加强,能明显抑制 α -LDL 诱导的单核细胞的趋化活性,且抑制作用持续到给 D-(113-122)载脂蛋白 J 后的 48 h;而 3 h 后,猴 HDL 的抗炎活性就明显加强。连续口服 24 周后,载脂蛋白 E^{-/-} 鼠主动脉病变面积较对照鼠减少 70.2%。D-(113-122)载脂蛋白 J 可以迅速降低猴 HDL 的氢过氧化物水平,改善 HDL 的抗炎能力。体外实验发现,将 250 μ g/L D-(113-122)载脂蛋白 J 加到载脂蛋白 E^{-/-} 鼠和猴血浆,短时间内明显降低 HDL 的氢过氧化物水平,增加对氧磷酶活性^[23]。这个实验表明,口服 D-(113-122)载脂蛋白 J 能明显改善载脂蛋白 E 基因缺乏鼠和猴 HDL 的抗炎活性,并抑制载脂蛋白 E 基因缺乏鼠病变成形。

载脂蛋白 M 是新克隆出的 HDL 载脂蛋白,人载脂蛋白 M 基因位于 6 号染色体主要组织相容性复合体 M 区。在大鼠肝缺血再灌注损伤过程中,载脂蛋白 M 有着快速而明显的表达变化,提示载脂蛋白 M 可能具有急性期反应蛋白的特征。最近,Huang 等^[24]提出载脂蛋白 M 可能通过抗炎作用而抑制动脉粥样硬化的形成,不仅因为载脂蛋白 M 存在于染色体主要组织相容性复合体 M 区,还因为它与一些炎症因子如血小板活化因子、瘦素等具有密切联系。

除了载脂蛋白,一些 HDL 相关酶、分子在 HDL 的抗炎作用中也起一定作用。Mackness 等^[25]报道,HDL 对氧磷酶 1 (paraoxonase 1, PON-1)、血小板活化因子乙酰水解酶(platelet activating factor acetylhydrolase, PAF-AH)在 HDL 抑制 α -LDL 诱导内皮细胞表达 MCP-1 中起重要作用。

高密度脂蛋白(HDL)相关的神经鞘氨醇磷酸胆碱(sphingosylphosphorylcholine, SPC)和溶血磷脂(lyso sulfatide, LSF)可抑制 TNF- α 诱导的内皮细胞表达 E 选择素、ICAM-1 和 VCAM-1。其机制与 G 蛋白偶联 EDG 受体启动信号级联、激活 Akt 信号通路、继而抑制 TNF- α 诱导的核因子 κ B 核转位有关。当抑制磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI-3K)-Akt 通路,SPC 和 LSF 则失去抑制粘附分子表达的效应^[26]。

最近,Vaisar 等^[1]通过蛋白质组学途径分离 HDL 蛋白发现一些之前人们并不知道存在于 HDL 上的补体蛋白如 C4A/C4B、C9、玻璃粘连蛋白和一些蛋白酶抑制剂,表明 HDL 可调节炎症诱导的损伤。这些新蛋白的发现,结合上述 HDL 载脂蛋白和相关分子的抗炎作用,可以得出 HDL 是作为组装多个参与固有免疫反应和炎症反应的蛋白平台^[27]。

4 高密度脂蛋白的致炎性

一些证据表明,HDL 在冠状动脉疾病、糖尿病、全身性炎症等特定的个体或环境可能被修饰而失去拮抗 As 功能,呈

致炎性而非抗炎性。这一类 HDL, 学者们称其为“去功能的 (dysfunctional) HDL”^[28]。Navab 等^[29] 对比研究了 27 个诊断为冠状 As 的病人和 31 个年龄、性别相当的对照者, 病人的血脂正常, HDL-C 水平也基本与对照者相同。将病人与对照者的 HDL 分别与人动脉壁细胞共孵育, 同时加入标准对照 LDL, 结果病人 HDL 增加单核细胞的趋化活性。而对照者 HDL 重要地抑制了 LDL 诱导的单核细胞趋化。无细胞分析法显示病人 HDL 可以增强 LDL 氧化, 而对照者 HDL 抑制 LDL 氧化, 且病人均无其它疾病可以解释这一急性期反应。Navab 等^[29] 推测, HDL 的炎症特性呈一种“慢性急性期反应”形式。Ansell 等^[30] 评估了 26 个冠心病病人服他汀类药物前后的“炎症指数”。炎症指数以单核细胞趋化活性 1.0 为标准。服药前, 病人的血脂(总胆固醇、HDL-C、LDL-C 和甘油三酯) 偏离正常范围。服用辛伐他汀(40 mg/d) 6 周后, 血脂水平明显好转。对照者 HDL 炎症指数为 0.38 ± 0.14 , 病人在服用辛伐他汀前后, HDL 炎症指数分别为 1.38 ± 0.91 和 1.08 ± 0.71 , 表明辛伐他汀治疗及血脂水平恢复能改善 HDL 的炎症指数, 但仍具有致炎性。梗阻性睡眠呼吸暂停的病人由于遭受反复的缺氧/复氧, 其 HDL 抗炎性下降, 并通常伴有代谢综合征。动物实验发现, 饮食诱导并注射 LDL 源性氧化磷脂或流感病毒 A 的 As 小鼠及载脂蛋白 E 基因敲除鼠的 HDL 也具致炎性。

目前, 导致 HDL 致炎的机制尚未完全阐明, 可能与 HDL 在急性期反应和慢性炎症(如 As) 时发生化学或物理改变而重塑有关。研究表明, 炎症时 HDL 组成成分改变: 血清淀粉样蛋白 A (serum amyloid A, SAA) 和血浆铜蓝蛋白增多, 载脂蛋白 AI、载脂蛋白 AII、PON-1、PAF-AH 和卵磷脂胆固醇酰基转移酶 (lecithin cholesterol acyltransferase, LCAT) 减少; 胆固醇酯 (cholesterol ester, CE) 减少, 甘油三酯 (triacylglycerol, TG) 增多; HDL₂ 载脂蛋白 E 减少, HDL₃ 载脂蛋白 E 增多。

血清淀粉样蛋白 A (SAA) 蓄积于 HDL, 不仅使 HDL 被快速的清除出循环, 而且置换载脂蛋白 AI、PON-1、PAF-AH、LCAT, 使 HDL 失去原有的 As 保护功能。文献报道, HDL 抑制 α -LDL 诱导单核细胞迁移的能力随着 HDL-SAA 的积累增多而降低。血浆铜蓝蛋白由于含铜, 为氧化反应传递金属离子, 因此增强急性期 HDL 氧化修饰 LDL。富含铜蓝蛋白的 HDL 体外不能抑制动脉壁细胞诱导的 LDL 氧化。

机体炎症时, HDL 相关酶 PON-1、PAF-AH 和 LCAT 被 SAA 和血浆铜蓝蛋白取代, 活性下降。另外, Forte 等^[31] 报道 As 易感小鼠 LCAT 和 PON-1 等活性的改变与体内氧化脂质水平相关。研究者给上述冠心病病人、As 小鼠应用他汀类药物和载脂蛋白 AI^[20] 和载脂蛋白 J^[23] 模拟肽后能恢复 HDL 的抗炎作用。他们推测其可能由于载脂蛋白 AI 和载脂蛋白 J 模拟肽结合并隔绝氧化脂质, 恢复被抑制的氧化酶活性。近来 Navab 等^[28] 报道, 在没有全身性炎症时, HDL 有一整套抗氧化酶及完整酶活性, 能维持它的抗炎状态。当发生全身性炎症时, 这些氧化酶失活, 使 HDL 蓄积过多氧化脂质和氧化蛋白, 转变成致炎物质。

从冠状动脉疾病患者血浆和 As 病变分离来的 HDL₃ 中

载脂蛋白 E 明显增加, 而 HDL₂ 中载脂蛋白 E 水平明显减少。研究发现富含载脂蛋白 E 的 HDL₂ 能有效的介导巨噬细胞内胆固醇经 ATP 结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 和 ATP 结合盒转运体 G1 (ABCG1) 途径流出。冠状动脉疾病患者的载脂蛋白 E 从 HDL₂ 到 HDL₃ 的再分布, 可能不利于胆固醇流出并导致体内巨噬细胞泡沫细胞形成。虽然 HDL 功能主要由载脂蛋白和相关酶决定, 但研究发现 HDL 功能失常时, 脂质成分也发生了改变。HDL-TG 增多、CE 减少是 HDL 脂质成分改变的最常见形式。冠状动脉搭桥术后病人的 HDL 富含 TG, 梗死病人的 HDL₃ 富含 TG 而缺失 PL。

值得注意的是, 这些与 HDL 致炎性相关的成分改变 (CE、载脂蛋白 AI、PON1 和 LCAT 减少, TG、SAA 和血浆铜蓝蛋白增加) 在一些炎症和急性期反应中均有发现。有学者推测 HDL 颗粒重塑可能是机体对感染的一种保守、非特异性固有免疫反应的保护机制。这些固有免疫反应包括 HDL-C 水平降低、HDL-TG 增高、HDL 载脂蛋白成分改变等, 而所有这些改变削弱 HDL 的促胆固醇流出、抗氧化、抗炎能力, 甚至使胆固醇从肝流向免疫细胞, 尤其是巨噬细胞。这些改变短期内可能有利于急性炎症或损伤, 但长期以往则可能不利于机体。一些持续性不能恢复的炎症反应如动脉粥样硬化斑块致血脂水平慢性改变, 则已公认是有害的, 能加重动脉粥样硬化病变。这种观点与最近的一项研究一致。研究提出老年期斑块的急速发展与年轻时期频发的炎症和内皮功能障碍相关。

载脂蛋白 AI 的修饰是 HDL 致炎的又一重要机制。载脂蛋白 AI 的氨基酸残基如甲硫氨酸、半胱氨酸、酪氨酸和赖氨酸很容易被动脉壁的氧化剂氧化, 及在体内高糖状态下被非酶性糖基化修饰。髓过氧化物酶是动脉壁氯化活性氧类的主要来源, 使载脂蛋白 AI 特异位点氯化 and 硝化, 而 192 位的酪氨酸残基是髓过氧化物酶氧化载脂蛋白 AI 的主要靶点。As 斑块中存在的游离金属离子也导致载脂蛋白 AI 氧化修饰。研究发现, 载脂蛋白 AI 氧化后促细胞内胆固醇经 ABCA1 流出的能力减弱^[32]。

我们发现, HDL 在体外经氧化修饰后, 使 THP-1 单核源性巨噬细胞 IL-1 β mRNA 水平明显上调, CD86 和 HLA-DR 的表面表达增强, CD86⁺ 和 HLA-DR⁺ 细胞的百分比显著提高。表明 HDL 氧化后激活巨噬细胞, 增强它的抗原提呈功能, 促进 T 细胞介导的获得性免疫的动员。

5 结束语

大量实验表明 HDL 具有抗炎和抑制免疫反应的能力。给载脂蛋白 E^{-/-} 鼠、兔、猴和人注入或口服重组 HDL、载脂蛋白 AI 肽和载脂蛋白 J 肽, 都能迅速而明显抑制细胞因子、脂多糖和 α -LDL 诱导的内皮细胞粘附分子表达, 抑制单核细胞趋化活性, 缩小斑块面积。由注入重组 HDL 所带来的显著抗炎和抗 As 效应, 提示 HDL 的非脂质转运功能在防止 As 的发生发展中起重要作用。而冠心病病人 HDL 及在体外修饰后促进炎症的发生也提示 HDL 在 As 中的双重作用。

目前可以通过单核细胞趋化活性分析和无细胞分析^[29,30]来评估 HDL 的抗炎和致炎作用,但这两种方法反映的信息量少,缺乏标准化。因此今后的工作需要发展一些相对简单、可靠、可重复的方法用于临床检测 HDL 的抗炎功能,寻找一些 HDL 生物标志,用以预测冠状动脉疾病的风险性。需要关注 HDL 的不同性质,采取更好的新治疗策略,利用它的抗炎、抗 As 一面,而改善它对机体不利的一面。同时更大范围检测 HDL 或其有效组分的临床疗效,以期冠心病的防治带来新的突破。

[参考文献]

- [1] Vaisar T, Pennathur S, Green S, Gharib SA, Hoofnagle AN, Cheung MC, et al. Shotgun proteomics implicates protease inhibition and complement activation in the antiinflammatory properties of HDL [J]. *J Clin Invest*, 2007, **117** (3): 746-756.
- [2] 赵水平. 高密度脂蛋白的研究现状[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (6): 673-675.
- [3] 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 [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003, **35** (2): 168-182.
- [4] Thaveeratitham P, Khovidhunkit W, Patumraj S. High-density lipoproteins (HDL) inhibit endotoxin-induced leukocyte adhesion on endothelial cells in rats: effect of the acute phase HDL [J]. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2007, **36** (1): 1-12.
- [5] Pajkrt D, Doran JE, Koster F, Lerch PG, Arnet B, van der Poll T, et al. Anti-inflammatory effects of reconstituted high-density lipoprotein during human endotoxemia [J]. *J Exp Med*, 1996, **184** (5): 1 601-608.
- [6] Hansson GK, Libby P, Sch? nbeck U, Yan Z-Q. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2002, **91** (4): 281-291.
- [7] Buono C, Pang H, Uchida Y, Libby P, Sharpe A, Lichtman AH. B7-1/B7-2 costimulation regulates plaque antigen-specific T-cell responses and atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice [J]. *Circulation*, 2004, **109** (16): 2 009-015.
- [8] Gharavi NM, Gargalovic PS, Chang I, Araujo JA, Clark MJ, Szeto WL, et al. High-density lipoprotein modulates oxidized phospholipid signaling in human endothelial cells from proinflammatory to anti-inflammatory [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27** (6): 1 346-353.
- [9] Kimura T, Tomura H, Mogi C, Kuwabara A, Ishiwara, Murakami M, et al. Role of scavenger receptor class B type I and sphingosine 1-phosphate receptors in high density lipoprotein-induced inhibition of adhesion molecule expression in endothelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2006, **281** (49): 37 457-467.
- [10] Ahmed W, Orasanu G, Nehra V, Asatryan L, Rader DJ, Ziotzenkova O, et al. High-density lipoprotein hydrolysis by endothelial lipase activates PPAR α a candidate mechanism for high-density lipoprotein-mediated repression of leukocyte adhesion [J]. *Circ Res*, 2006, **98** (4): 490-498.
- [11] Cettour-Rose P, Nguyen TX, Serrander L. T cell contact-mediated activation of respiratory burst in human polymorphonuclear leukocytes is inhibited by high-density lipoproteins and involves CD18 [J]. *J Leukoc Biol*, 2005, **77** (1): 52-58.
- [12] Robbesyn F, Garcia V, Auge N, Vieira O, Frisach MF, Salvayre R, et al. HDL counterbalance the proinflammatory effect of oxidized LDL by inhibiting intracellular reactive oxygen species rise, proteasome activation, and subsequent NF- κ B activation in smooth muscle cells [J]. *FASEB J*, 2003, **17** (6): 743-745.
- [13] Devaraj S, Davis B, Simon SI, Jialal I. CRP promotes monocyte endothelial cell adhesion via Fc γ receptors in human aortic endothelial cells under static and shear flow conditions [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, **291** (3): H1 170-176.
- [14] Wadham C, Albanese N, Roberts J, Wang L, Bagley C, Gamble JR, et al. High-density lipoproteins neutralize C-reactive protein inflammatory activity [J]. *Circulation*, 2004, **109** (17): 2 116-122.
- [15] Nicholls SJ, Dusting GJ, Cutri B, Bao S, Drummond GR, Rye KA, et al. Reconstituted high-density lipoproteins inhibit the acute pro-oxidant and proinflammatory vascular changes induced by a periarterial collar in normocholesterolemic rabbits [J]. *Circulation*, 2005, **111** (12): 1 543-550.
- [16] Calabresi L, Gomasarshi M, Villa B, Omoboni L, Dmitrieff C, Franceschini G. Elevated cellular adhesion molecules in subjects with low HDL-cholesterol [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (4): 656-661.
- [17] Birjmohun RS, Van Leuven SI, Levels JH. High-density lipoprotein attenuates inflammation and coagulation response on endotoxin challenge in humans [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27** (5): 1 153-158.
- [18] Baker PW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ. Phospholipid composition of reconstituted high density lipoproteins influences their ability to inhibit endothelial cell adhesion molecule expression [J]. *J Lipid Res*, 2000, **41** (8): 1 261-267.
- [19] Navab M, Anantharamaiah GM, Hama S, Garber DW, Chaddha M, Hupgh G, et al. Oral administration of an apoAI mimetic peptide synthesized from D-amino acids dramatically reduces atherosclerosis in mice independent of plasma cholesterol [J]. *Circulation*, 2002, **105** (3): 290-292.
- [20] Navab M, Anantharamaiah GM, Hama S, Hough G, Reddy ST, Frank J S, et al. D-4F and statins synergize to render HDL antiinflammatory in mice and monkeys and cause lesion regression in old apolipoprotein E-null mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (7): 1 426-432.
- [21] Van Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, Anantharamaiah GM, Hui EK-W, Nayak DP, et al. D-4F, an apolipoprotein AI mimetic peptide, inhibits the inflammatory response induced by influenza A infection of human type II pneumocytes [J]. *Circulation*, 2004, **110** (20): 3 252-258.
- [22] Gupta H, Dai LJ, Datta G, Garber DW, Grenett H, Li Y, et al. Inhibition of lipopolysaccharide-induced inflammatory responses by an apolipoprotein AI mimetic peptide [J]. *Circ Res*, 2005, **97** (3): 236-243.
- [23] Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Wagner AC, Hama S, et al. An Oral Apo J Peptide Renders HDL Antiinflammatory in Mice and Monkeys and Dramatically Reduces Atherosclerosis in Apolipoprotein E-Null Mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (9): 1 932-937.
- [24] Huang XS, Zhao SP, Hu M, Luo YP. Apolipoprotein M likely extends its anti-atherogenesis via anti-inflammation [J]. *Ecol Hypotheses*, 2007, **69** (1): 136-140.
- [25] Mackness B, Hine D, Liu Y, Mastorikou M, Mackness M. Paraoxonase 1 inhibits oxidized LDL-induced MCP-1 production by endothelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **318** (3): 680-683.
- [26] Schmidt A, Geigenm?ller S, V? lker W, Buddecke E. The antiatherogenic and antiinflammatory effect of HDL-associated lysosphingolipids operates via Akt \rightarrow NF- κ B signalling pathways in human vascular endothelial cells [J]. *Basic Res Cardiol*, 2006, **101** (2): 109-116.
- [27] Shillett A M, Bishop JR, Pahwa A, Hajduk SL. Human high density lipoproteins are platforms for the assembly of multi-component innate immune complexes [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280** (38): 32 578-585.
- [28] Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Van Lenten BJ, Ansell BJ, Fogelman AM. Mechanisms of disease: proatherogenic HDL: an evolving field [J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2006, **2** (9): 504-511.
- [29] Navab M, Hama SY, Hough GP, Subbanagounder G, Reddy ST, Fogelman AM. A cell-free assay for detecting HDL that is dysfunctional in preventing the formation of or inactivating oxidized phospholipids [J]. *J Lipid Res*, 2001, **42** (8): 1 308-317.
- [30] Ansell BJ, Navab M, Hama S, Kamranpour N, Fonarow G, Hough G, et al. Inflammatory/Anti-inflammatory properties of high-density lipoprotein distinguish patients from control subjects better than high-density lipoprotein cholesterol levels and are favorably affected by simvastatin treatment [J]. *Circulation*, 2003, **108** (11): 2 751-756.
- [31] Forte TM, Subbanagounder G, Berliner JA, Blanche PJ, Clement AO, Jia Z, et al. Altered activities of antiatherogenic enzymes, LCAT, paraoxonase, and platelet-activating factor acetylhydrolase in atherosclerosis-susceptible mice [J]. *J Lipid Res*, 2002, **43** (3): 477-485.
- [32] Zheng L, Settle M, Brubaker G, Schmitt D, Hazen SL, Smith JD, et al. Localization of nitration and chlorination sites on apolipoprotein A-I 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.

(此文编辑 胡必利)