

组织蛋白酶 L 在心血管疾病中的作用研究进展

夏敏¹综述, 田国平^{1,2}, 危当恒²审校

(南华大学 1. 附属第二医院, 2 心血管疾病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 组织蛋白酶 L; 静脉曲张; 扩张型心肌病; 动脉粥样硬化

[摘要] 组织蛋白酶 L 属于木瓜蛋白酶家族中的半胱氨酸蛋白水解酶, 以酶原的形式贮存于溶酶体中。在正常情况下, 被其他的蛋白水解酶水解或自身激活, 参与许多特殊的生理过程, 如激素原的激活、抗原呈递、组织器官的发育等。但在病理状态下, 大量组织蛋白酶 L 释放到胞质或组织间隙, 并被激活, 可降解细胞成分或细胞间质基质成分, 参与肿瘤的浸润与转移、关节炎、骨质疏松等慢性炎症性疾病的发生发展过程。近年来的研究发现, 在与心血管疾病密切相关的内皮细胞、平滑肌细胞以及巨噬细胞中均有表达, 提示组织蛋白酶 L 在心血管疾病中也起着非常重要的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

组织蛋白酶 L (cathepsin L, CATL) 由定位于 9q21-22 的基因编码而来, 在内质网以前酶原的形式合成, 包括一个信号肽、一个前肽和一个酶的催化反应区。在信号肽的作用下, CATL 定位到高尔基体, 并在此被高甘露糖碳水化合物糖基化为 CATL 酶原, 与两个 6 磷酸甘露糖受体中的一个结合形成复合物, 然后被转运至前溶酶体。此处的酸性环境可使酶和受体复合物分离并促进酶的激活, 形成成熟的 CATL, 相对分子量为 30 kDa。正常情况下, 大约 10% 的酶原分泌到胞浆中, 然后被其它蛋白水解酶或自身激活, 切除 N 端和 C 端多余的残基形成分子量为 24 kDa 的活性形式^[1,2]。其主要作用是降解和更新细胞内的蛋白质, 具有很强的降解胶原、弹性蛋白、层粘连蛋白和细胞外基质的能力, 并能激活组织蛋白酶 B, 诱导产生 U-PA^[3,4]。先前的研究表明肿瘤细胞 CATL mRNA 水平明显高于对照组, CATL 在肿瘤细胞中的阳性率明显高于对照组^[5], 并且随着癌细胞分化程度由高到低, CATL 阳性率明显增加, 伴有淋巴结和其它部位转移者, 癌细胞阳性率亦明显高于无转移者, 并且多种证据显示 CATL 参与了肿瘤的侵袭, 并与预后密切相关, 而且还参与细胞耐药的发生^[6-9]。

近年来的研究发现, 在与心血管疾病密切相关的内皮细胞、平滑肌细胞以及巨噬细胞中均有表达, 提示 CATL 在心血管疾病中也起着非常重要的作用。

1 组织蛋白酶 L 在扩张型心肌病中的作用

近年来, 心肌病在心血管疾病中所占比重明显增加, 其中扩张型心肌病最为常见, 其主要特征是单侧或双侧心腔扩

大, 心肌收缩功能减退, 伴或不伴有充血性心力衰竭, 常伴有心律失常, 死亡率较高, 病因迄今不明。除特发性家族性遗传外, 近年来认为病毒持续感染对心肌组织的损伤, 自身免疫因子介导的心肌损伤可诱发扩张型心肌病。肉眼可见心腔扩张, 室壁多变薄, 纤维瘢痕形成, 组织学显示心肌细胞肥大、变性、坏死、纤维化。最近研究发现扩张型心肌病中 CATL 表达水平明显上升, 并且表达值高低与患者的心功能呈负相关, 即心功能越差, CATL 表达越高, 可作为判断扩张型心肌病病情与预后的一个较好的指标^[10,11]。目前认为其可能的发生机制为: 一方面直接引起线粒体释放细胞色素 C 或者裂解 BID, 间接促使线粒体释放细胞色素 C, 再激活 Caspase 从而导致大量心肌细胞凋亡; 另一方面细胞浆中 CATL 活性形式增加, 通过裂解细胞骨架蛋白引起大量心肌细胞坏死, 心肌细胞坏死后, 心室纤维化, 心室重塑, 最后导致扩张型心肌病的发生。进一步的研究发现, 由于 CATL 具有降解和更新蛋白的功能, 当 CATL 表达降低时, 心脏功能和结构亦产生极大的改变^[12]。CATL 基础表达在维持心脏功能和结构平衡中发挥着重要作用, 一旦这种基础表达被打破, 即表达升高或降低均将引起心脏结构和功能的损害。当心肌细胞外基质产生增加时, CATL 可通过降解使其不至于过高; 当 CATL 表达降低时, 这一作用减弱, 可导致心脏产生过多细胞外基质而无法清除, 引起心脏结构和功能的改变^[13-15]。有实验证实, 组织蛋白酶 L 的缺乏亦可导致扩张型心肌病。Tang 等^[16]对 CATL 转基因小鼠和对照鼠进行主动脉结扎, 制造心肌肥大模型, 发现 CATL 过表达小鼠心肌肥大反应减轻, 并显著减少细胞凋亡和纤维化的发生, 心脏功能也得以维持。而对照鼠心肌明显肥大, 心功能减低。体外研究表明, 心肌中组织蛋白酶 L 的表达是通过阻断 Akt/GSK3 β 信号通路从而抑制心脏肥大。

2 组织蛋白酶 L 在动脉粥样硬化中的作用

动脉粥样硬化好发于人体动脉系统血管的分叉处、弯曲

[收稿日期] 2009-02-12 [修回日期] 2009-05-10

[基金项目] 国家自然科学基金 (30800449) 资助

[作者简介] 夏敏, 硕士研究生, E-mail 为 daiiafengfan84@126.com。田国平, 硕士, 副主任医师, 研究方向为心血管内科。危当恒, 博士, 副教授, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制及其防治, E-mail 为 weizhonghua99@126.com。

处、血管狭窄处这样一些血管几何形状发生急剧变化的部位,特别是动脉分支的外壁(而不是分叉点)、弯曲内壁(例如主动脉弓)、颈动脉窦及腹主动脉,即动脉粥样硬化发病部位的局灶性。研究表明,动脉粥样硬化的局灶性和局部的血流动力学密切相关。Platt等^[17]研究了小鼠动脉内皮细胞在层流、振荡流及静止状态下 CATL 的活性,发现层流条件下 CATL 活性明显降低,静止和振荡流 CATL 活性增加。说明, CATL 是一种切应力敏感的基质蛋白酶,可能通过促进基质降解而参与动脉粥样硬化的发生发展过程。近年来有研究者发现血清中 CATL 水平可用来反映冠心病患者病情的一个指标。研究者检测了经冠状动脉造影确诊的 89 例冠心病患者和 48 例健康者的血清 CATL、高敏 C 反应蛋白、空腹血糖以及脂蛋白水平。结果发现冠心病组 CATL 水平明显高于健康组。进一步发现不稳定型心绞痛患者 CATL 水平高于稳定型心绞痛患者,而急性心肌梗死患者 CATL 水平则高于不稳定型心绞痛患者,既往患心肌梗死患者血清 CATL 水平最高;并且 CATL 与冠状动脉分支狭窄数量、高敏 C 反应蛋白水平、空腹血糖水平以及吸烟呈正相关,而与高密度脂蛋白和载脂蛋白 A iv 水平呈负相关^[18]。CATL 的增加可引起冠状动脉功能障碍,主要是通过在内皮基底膜处产生内皮他丁,激活 NADH 氧化酶,同时可降低缓激肽介导的一氧化氮水平,从而导致内皮舒张功能障碍。Wang 等^[19]研究发现,在冠心病患者中血清 CATL 水平与反映冠状动脉狭窄程度的 Gensini 积分呈显著正相关,多元线性逐步回归分析校正其他混杂因素的影响之后仍显示 CATL 是 Gensini 积分的独立相关因子。提示血清 CATL 浓度可反映冠状动脉狭窄病变的程度,血清 CATL 水平越高,冠状动脉狭窄病变越严重。

有研究表明 CATL 在动脉粥样硬化早期即高表达于斑块中的巨噬细胞、内皮细胞和平滑肌细胞,而在正常的血管中不表达。Kitamoto 等^[20]研究发现,在喂饲高脂饮食后 $CAL^{-/-} LDLR^{-/-}$ 小鼠比同窝 $CAL^{+/+} LDLR^{-/-}$ 小鼠以及 $CAL^{+/+} LDLR^{-/-}$ 小鼠动脉粥样硬化斑块面积明显减少,发展速度明显减缓,并且脂质核心的体积明显减小,平滑肌细胞外的胶原蛋白和弹性蛋白降解明显减少,并且来自于 $CAL^{-/-} LDLR^{-/-}$ 小鼠的平滑肌细胞、单核细胞以及 T 淋巴细胞迁移能力明显减弱。

L 等^[21]收集了 49 例颈动脉粥样硬化患者的标本,将斑块分为三型: iv 型斑块为纤维帽大于 100 μm 的稳定斑块,无脂质池形成,有很少的白细胞浸润; ③型为纤维帽小于 100 μm 的较稳定斑块,有脂质池形成,有白细胞浸润; ④型为破裂的斑块,包含有巨大的坏死核,胆固醇结晶和白细胞浸润,还有间断斑块出血,栓塞和新生血管。免疫组织化学和影像学分析发现所有斑块 CATL 的表达均明显升高,并且与斑块损害程度呈正相关,即破裂的斑块 CATL 的表达水平最高;与早期稳定斑块相比,进展期斑块 CATL 的免疫反应更强,对应于更少的胶原纤维。提示 CATL 的表达可能与胶原纤维退化,坏死核形成和斑块破裂有关;定量影像分析显示 ④型斑块中 CATL 的染色阳性区域和染色密度都明显高于 iv

型斑块,与人类动脉粥样硬化斑块的不稳定性有十分密切的关系。

进一步采用双色和三色染色切片检测颈动脉斑块中细胞含量以及与 CATL 表达的关系,结果发现 CATL 阳性细胞主要在 CD68⁺ 区域中表达,而很少在 α -actin 阳性的平滑肌细胞中。并且 CATL 阳性区域以及阳性区域中的巨噬细胞百分比与 iv 型斑块相比,在 ③型斑块和 ④型斑块中明显增加。对 7 名冠状动脉粥样硬化患者和配对的健康志愿者的外周血巨噬细胞的检测发现,与健康志愿者相比,患者组巨噬细胞表达更多的 CATL,主要在膜上以颗粒状的形式存在。在患者组巨噬细胞中油红 O 染色密度显著增加,并且显示出更多细胞凋亡。用 7- β OH 胆固醇处理患者组和对照组的巨噬细胞 24 h 患者组中的巨噬细胞显示 CATL 在膜核之间的易位,并增加细胞凋亡,而采用膜联蛋白和 JC-1 染色证实抑制剂能明显抑制细胞凋亡^[22]。研究表明, CATL 和 Caspase 与巨噬细胞在粥样硬化损伤中的共定位, CATL 可能是通过参与 Caspase 加工而诱导细胞凋亡。研究证实, CATL 在 7-氧化型胆固醇诱导的巨噬细胞凋亡中通过活化 Caspase-3 起着调节作用。

3 组织蛋白酶 L 在静脉曲张中的作用

静脉曲张在迂曲扩张的病理过程中包含了广泛的组织重建,细胞外基质的改变即弹性蛋白和胶原蛋白的改变可能与大隐静脉曲张的发病密切相关。研究发现,在曲张静脉的平滑肌细胞中的 CATL 表达增强,其内源性抑制剂 Cystatin C 表达下降,而在正常的大隐静脉中 CATL 呈阴性反应, Cystatin C 呈阳性反应,表明 CATL 参与了静脉曲张的发生^[23]。研究证实, CATL 表达于平滑肌细胞,水解血管壁弹性蛋白,导致静脉壁内弹力板断裂,一方面减弱弹性纤维回缩扩张血管的能力,从而明显减弱管壁弹性;另一方面可加速平滑肌细胞由中膜向内膜迁移和聚集,改变血管壁的正常结构,从而促使静脉管壁扩张。同时 CATL 作为一种有效的胶原蛋白水解酶,可能通过降解胶原纤维来降低胶原蛋白的支持作用,进一步促进静脉扩张。

4 结语

综上所述, CATL 对于人体生理以及肿瘤发生转移,心血管系统疾病的发生发展均起到重要作用。特别与动脉粥样硬化的关系引起广泛关注。虽然研究表明 CATL 与细胞凋亡和斑块不稳定性显著相关,但其具体机制仍不十分清楚。更好地认识 CATL,对进一步认识心血管疾病的发病机制以及防治有很深远的意义。

【参考文献】

- [1] 刘斌,张月琴. 以组织蛋白酶 L 为靶位的骨质疏松新药筛选模型研究[J]. 中国抗生素杂志, 2002, 27 (5): 264-266
- [2] 智春升,谢林. 组织蛋白酶 L 与人腰椎间盘突出退变关系的研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2008, 16 (5): 365-368
- [3] Goulet R, Sansregret L, Leduv I, et al. Increased expression and activity of nuclear cathepsin L in cancer cells suggests a novel mechanism of cell

- transformation [J]. *Mol Cancer Res* 2007 **5** (9): 899-907
- [4] 李新中, 杨毅. IFN- γ 对骨肉瘤细胞 Cathepsin L 的表达及侵袭特性的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2007 **24** (5): 360-364
 - [5] 曹新广, 郭长青, 李继昌, 等. 原位杂交检测组织蛋白酶 L 在大肠癌中的表达 [J]. 肿瘤基础与临床, 2007 **16** (1): 9-11
 - [6] 潘宇亮, 曹培国, 符慧群. 组织蛋白酶 L 在非小细胞肺癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 现代医药卫生, 2007 **13** (16): 2 377-378
 - [7] 王素梅, 李力, 张玮, 等. 血清组织蛋白酶 L 在卵巢癌诊断及检测中的临床意义 [J]. 中国临床肿瘤, 2008 **14** (3): 167-168
 - [8] 贺茂林, 陈安民. 反义表达人组织蛋白酶 L 对骨肉瘤细胞侵袭特性的影响 [J]. 中国矫形外科杂志, 2005 **20** (1): 43-46
 - [9] Sullivan S, Tosetto M, Kevsrs P, et al. Localization of nuclear cathepsin L and association with disease progression and poor outcome in colorectal cancer [J]. *Int J Cancer* 2009 **125** (1): 54-61
 - [10] 于小华, 李双杰, 伍时俊. Cathepsin L 在扩张型心肌病心肌中的表达及其意义 [J]. 中华内科学杂志, 2005 **14** (7): 495-498
 - [11] 张新刚, 于小华, 李双杰, 等. 扩张型心肌病心肌组织中 Cathepsin L 与心功能的关系 [J]. 中国临床医学, 2005 **15** (4): 16-18
 - [12] 杜九中, 易建华. 溶酶体 Cathepsin L 在小鼠病毒性心肌炎组织中表达及其意义 [J]. 临床儿科杂志, 2007 **16** (6): 388-390
 - [13] Ann I Mayer C, Stypmann J et al. Lysosomal cytoskeletal and metabolic alterations in cardiomyopathy of cathepsin L knockout mice [J]. *FASEB*, 2006 **20** (8): 1 266-268
 - [14] Spina D, Stypmann J, Tobin DJ et al. Cell Type-specific Function of the lysosomal protease cathepsin L in the heart [J]. *J Biol Chem*, 2007 **282** (51): 37 045-052
 - [15] YU XH, Zhang XG, Li SJ et al. The expression and significance of myocardial cathepsin L in dilated cardiomyopathy [J]. *Zhong Hua Nei Ke Za Zhi* 2005 **44** (7): 495-498
 - [16] Tang Q, Cai J, Shen D, et al. Lysosomal cysteine peptidase cathepsin L protects against cardiac hypertrophy through blocking AKT/GSK3 β signaling [J]. *J Mol Med*, 2009 **87** (3): 249-260
 - [17] Platt MO, Ankeny RF, Jo H. Laminar shear stress inhibits cathepsin L activity in endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006 **26** (8): 1 784-790
 - [18] Liu Y, Li X, Peng P, et al. Usefulness of serum cathepsin L as an independent biomarker in patients with coronary heart disease [J]. *Am J Cardiol* 2009 **103** (4): 476-481
 - [19] Wang J, Liu Y, Peng P, et al. Association of cathepsin L with coronary heart disease and its risk factors [J]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2009 **34** (2): 130-139
 - [20] Kitamoto S, Sukhova GK, Sun J et al. Cathepsin L deficiency reduces diet-induced atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-knockout mice [J]. *Circulation*, 2007 **115** (15): 2 065-075
 - [21] Li W, Komrak L, Jonasson L, et al. Cathepsin L is significantly associated with apoptosis and plaque destabilization in human atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis* 2009 **202** (1): 92-102
 - [22] Turski WA, Zaslonka J. Activity of cathepsin D and L in the heart muscle of coronary patients during coronary-aortal bypass graft operation [J]. *Medical Science Monitor*, 2000 **6** (5): 853-860
 - [23] 张媛媛, 韩卉, 黄大可. Cathepsin L 及其抑制剂 Cystatin C 在曲张静脉平滑肌细胞中的表达 [J]. 解剖学杂志, 2007 **13** (4): 427-430

(此文编辑 文玉珊)