

高密度脂蛋白的抗氧化作用

桑慧综述, 秦树存 审校

(泰山医学院动脉粥样硬化研究所, 山东省泰安市 271000)

[关键词] 高密度脂蛋白; 氧化作用; 低密度脂蛋白; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 以氧化修饰的低密度脂蛋白为代表的脂蛋白氧化理论在动脉粥样硬化的发病机制中受到了普遍的认可。高密度脂蛋白与动脉粥样硬化的发生呈负相关, 其抗动脉粥样硬化可能的机制有: 胆固醇逆向转运, 抗氧化, 抗炎, 抗血栓和促纤溶, 保护内皮等多方面作用。本文主要就高密度脂蛋白抗氧化作用进行综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

促氧化与抗氧化因子之间的失衡, 促氧化因子占优势, 导致氧化应激, 这加速了动脉粥样硬化 (atherosclerosis As) 的发生发展。在 As 过程中血脂异常、氧化应激、炎症密切相关。高密度脂蛋白 (high density lipoprotein HDL) 运输的胆固醇和含载脂蛋白 B (ApoB) 颗粒运输的胆固醇间的失衡, 往往与动脉壁内氧化应激密切相关。

1 氧化应激与低密度脂蛋白氧化

对 As 斑块组成分析, 存在蛋白质和脂质的氧化产物, 例如硝酸盐、脂质过氧化氢、短链的乙醛、氧化的磷脂, 氧化固醇, 这表明斑块局部存在氧化应激^[1]。动脉壁内的低密度脂蛋白 (low density lipoprotein LDL) 是动脉壁细胞产生的促氧化物质的主要氧化底物, 体内的各氧化系统均可使 LDL 氧化, 这包括 NAD(P)H 氧化酶, 黄嘌呤氧化酶, 髓过氧化物酶, 脂氧酶, 线粒体电子传递链等^[2]。因此, 活性氧、氯、氮及脂源性自由基是体内氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein ox-LDL) 形成的主要的强氧化剂。值得注意的是, 在炎症的部位, 含氯和氮的强氧化剂增加, 这表明斑块形成早期局部炎症明显促进氧化应激。

炎症是机体的一种全身反应, 旨在降低有害物质的毒性和修复受损的组织, 炎症的关键特征包括激活宿主防御反应的吞噬细胞, 产生活性氧、氯、氮自由基, 继而产生非常强的氧化环境战胜入侵的病原体。局部和全身感染、动脉壁的损伤及大量 LDL 滞留都可以激活动脉壁的巨噬细胞, 从而触发强氧化自由基的过量产生。结果, 在动脉壁内皮细胞外的空间, 蛋白多糖偶联的 LDL 被氧化^[3]。

oxLDL 颗粒具有多种致 As 的作用。通过巨噬细胞清道夫受体途径摄入 oxLDL, 该途径不受游离胆固醇的负反馈调节, 结果形成 As 斑块特征性成分——胆固醇超负荷的泡沫

细胞。ox-LDL 具有促炎作用, 这主要来源于 LDL 的脂质过氧化物, 诱导内皮细胞产生黏附分子, 对循环中的单核细胞化学吸附, 促进单核细胞分化为巨噬细胞, 诱导巨噬细胞产生和释放促炎的细胞因子和趋化因子, 抑制巨噬细胞运动^[4]。ox-LDL 和活性氧及炎症因子的增加, 还能够促进基质金属蛋白酶的表达和活性的增加, 结果导致斑块的破裂。因此 As 可以作为 ox-LDL 介导的动脉壁的炎症疾病, 而氧化应激介导了 LDL 的氧化。

2 高密度脂蛋白的抗氧化作用

HDL 颗粒含有多种载脂蛋白及酶, 具有强大的抗氧化活性, 不仅可以整合过渡金属离子、中断脂质氧化链式反应, 还可以摄取、储存、转运及酶解脂质氧化产物, 因而可以对抗 As 的发生。HDL 抗氧化作用主要表现为 HDL 抑制 LDL 氧化, LDL 被认为是体内 HDL 抗氧化作用的主要生理靶点^[5]。体外细胞培养^[6]和家兔在体急性动脉炎的试验中^[7], HDL 能抑制活性氧的产生。此外, 体外 HDL 和 LDL 共孵育或体内注入 HDL, HDL 均抑制 LDL 被氧化。HDL 能有效的保护 LDL 中一部分的脂质和蛋白质, 抑制 LDL 中各种氧化产物的积聚, 包括氧化的磷脂和短链的乙醛^[5]。

2.1 载脂蛋白的抗氧化活性

HDL 颗粒内具有抗氧化活性的载脂蛋白, 这包括 ApoA_{iv}, ApoE, ApoJ, ApoA_{iv} 是 HDL 抗氧化活性的主要成份, 可以通过清除 LDL、动脉壁细胞或两者中氧化的磷脂, 抑制或延迟 LDL 氧化。ApoA_{iv} 清除动脉壁细胞氧化脂质能力为非特异性, 因该效应在红细胞和星形胶质细胞也已有报道。循环中的 HDL 积聚了脂质氢过氧化物 (lipid hydroperoxides LOOH), 因而被作为氧化脂质接收器, 以确保氧化脂质能有效地经过肝脏从循环中被清除。在 1 型糖尿病大鼠使用 ApoA_{iv} 模拟肽 D-4F, 机体的抗氧化活性增强, 氧化的蛋白质及 ox-LDL 减少^[8]。ApoE 具有明确的抗动脉硬化活性, 这通常归于它的脂质转运功能, 可是 ApoE 的作用远远不止这些。事实上, ApoE 具有显著的抗氧化活性, 其促进动脉硬化的消退作用独立于降胆固醇作用^[9]。ApoJ 在较低的生理学水平具有细胞保护作用, 结合 ApoJ 的 HDL 能抑制 LDL 被动

[收稿日期] 2009-06-24 [修回日期] 2009-09-12

[基金项目] 山东省泰山学者特聘教授专项基金

[作者简介] 桑慧, 硕士, 讲师, 研究方向为高密度脂蛋白代谢机制的研究, 联系电话为 0538-6232729, E-mail 为 sanghui@163.com。秦树存, 博士, 教授, 泰山学者, 研究方向为高密度脂蛋白代谢机制和抗动脉粥样硬化新药的开发研究, 联系电话为 0538-6237252, E-mail 为 shucunqir@hotmail.com。

脉壁细胞氧化, ApoJ的有益作用可能与维持细胞膜和疏水区脂蛋白完整性有关^[10,11]。曾有报道 ApoA^②^[12]和 ApoA^③具有抗氧化性,可是 ApoA^②抗 LDL氧化的活性是可疑的,在血脂异常的小鼠,过表达人 ApoA^②加速了动脉硬化,增加了主动脉 ox-LDL积聚,降低了 HDL抗氧化活性。ApoA^③促动脉硬化作用可能与 HDL颗粒中抗动脉硬化的 ApoA^{iv}和 PON1被 ApoA^②取代有关^[13]。HDL还通过结合过渡金属离子阻止氧化,过渡金属离子的自由态是 LDL氧化的催化剂,而血浆 HDL包含的淀粉 β多肽是过渡金属离子的强螯合剂。

2.2 酶的抗氧化活性

HDL中具有抗氧化活性的酶主要包括对氧磷酶 1 (paraoxonase PON1), 血小板活化因子乙酰水解酶 (platelet activating factor-acetylhydrolase PAF-AH, 也称为脂蛋白相关磷脂酶 A2), 卵磷脂胆固醇脂酰转移酶 (lecithin cholesterol acyltransferase LCAT)和还原性谷胱甘肽; HDL抗氧化活性降低时,不仅 HDL含量减少,而且以上的酶活性明显降低^[14]。

HDL被认为是 PON1最理想的生理学受体, PON1通过疏水性极强的 N端与 HDL的 ApoA^{iv}紧密结合并固定于 HDL颗粒上, PON1和 ApoA^{iv}相互作用有助于维持酶的活性,而在 ApoA^②转基因鼠, ApoA^{iv}含量减少, PON1活性降低^[13]。PON1可水解胆固醇酯和磷脂等脂质过氧化物,保护 LDL和 HDL免受氧化修饰,降低体内 ox-LDL水平。Miyoshi等^[15]发现高脂饮食、动脉球囊拉伤的兔转染 PON1基因后,动脉壁损伤局部氧化应激水平降低, ox-LDL减少, PON1抑制了 As病变的进展^[16]。PON1预孵育斑块的脂质提取物后,巨噬细胞应激状态部分受抑制:脂质过氧化物形成减少,巨噬细胞介导的 LDL氧化修饰以及巨噬细胞对 ox-LDL的摄取减少^[17]。

尽管 PON1具有抗氧化作用,但当氧化应激水平过高时 PON1失活^[18]。炎症急性期往往伴随 PON1活性的降低,这可能与 PON1被血清淀粉 A取代有关;还可能与氧化应激以及糖化引起酶的失活有关。代谢综合征和糖尿病患者,炎症和氧化应激增强, PON1活性降低;而 PON1转基因小鼠,抗氧化能力增强,延缓了链尿霉素诱发的糖尿病的形成^[19]。

PAF-AH和 LCAT水解 LDL源性的短链氧化磷脂,对抗 LDL的氧化^[14]。有研究质疑 PON1水解氧化磷脂的能力,并指出与 PON1相比, PAF-AH是 HDL中氧化磷脂的水解酶^[20]。与该结论一致,相对 LDL结合的酶,与 HDL结合的 PAF-AH具有抗动脉粥样硬化作用。事实上,在非高血脂的家兔颈动脉球囊损伤处,动脉局部表达的 PAF-AH能减少 ox-LDL的积聚、抑制炎症、剪切力应激诱发的血栓和新生内膜形成^[21]。

抗氧化活性的载脂蛋白和酶在 HDL各亚型间分布不均。HDL大小和形态对于 PON1的结合似乎起着重要的作用。在体内,大的 HDL优先与 PON1结合;但超速离心时,大的 HDL则会被小颗粒致密的 HDL颗粒取代^[22];而 ApoJ结合含有 PON1、小的 HDL,超速离心分离的小颗粒致密的 HDL富含 LCAT活性、PAF-AH活性和 ApoA^③因而, HDL

颗粒在抗氧化活性上有异质性。轻度的氧化应激, HDL组分抗 LDL氧化能力随密度梯度超速离心时密度的增加而增强, HDL2b < HDL2a < HDL3a < HDL3b < HDL3c 小颗粒致密 HDL抗 LDL氧化的能力最强。小颗粒致密 HDL的抗氧化作用引起促动脉粥样硬化的 LDL脂质过氧化物(主要是 LOOH)的失活,这种作用通过酶(水解作用)和非酶机制(物理移除)协同介导,部分反应了小颗粒致密的 HDL3c亚群独特的理化特性^[23]。

3 脂质代谢障碍时高密度脂蛋白抗氧化作用的改变

在代谢性疾病,抗氧化作用的 HDL减少,这不仅表现为 HDL颗粒数量的不足,而且以颗粒为单位的抗氧化活性也是缺乏的, PON1、PAF-AH和 LCAT活性降低或含量减少。代谢综合征、2型糖尿病等脂质障碍疾病,小颗粒致密的 HDL抗氧化作用的缺乏与伴随的高甘油三酯血症、高胰岛素血症和胰岛素抵抗密切相关,这表明脂质和葡萄糖的代谢异常是 HDL颗粒抗氧化不足的基础^[24]。

伴随 HDL降低的血脂障碍如代谢综合征、2型糖尿病,同伴随 HDL降低的正常甘油三酯血症相比, HDL抗氧化性的缺乏是平行的,均表现为酶活性的降低和 HDL理化性质改变,这提示 HDL3亚群抗氧化活性缺乏,不仅与 HDL浓度降低有关,而且取决于 HDL颗粒内在的性质。HDL3亚群抗氧化活性受损时,甘油三酯富集而胆固醇酯耗竭^[24], HDL酯核内胆固醇酯被甘油三酯取代,改变了 ApoA^{iv}的核心及其 C端的构象,而这些部位是 HDL接受氧化脂质关键的受体^[25],富含甘油三酯的球形 HDL也降低了 ApoA^{iv}构造的稳定性。慢性炎症条件下,小颗粒致密 HDL颗粒内 ApoA^{iv}被急性期蛋白取代,主要是血清淀粉酶 A,引起 HDL作为氧化磷脂受体活性缺乏, LDL聚集增加。酶活性的改变也促使小颗粒致密 HDL抗氧化活性缺失, 2型糖尿病患者的所有 HDL亚群, PAF-AH和 PON1活性均降低^[24]。

通过检测总 HDL的抗氧化活性可以观察 HDL抗氧化作用的缺乏,而不是就单个的 HDL亚群观察。但血糖控制的 2型糖尿病病人和健康对照者相比, HDL抗氧化活性、化学组成和血清 PON活性检测无差异^[26]。在动脉壁内皮下的区域,功能性、小颗粒致密的 HDL颗粒通过清除并灭活 LDL颗粒上的氧化脂质,以保护 HDL对抗氧化应激,继而将其通过清道夫受体 BI介导转运至肝脏降解。因而小颗粒致密的 HDL颗粒可视为氧化应激的生物传感器,集中了大量的强氧化剂信号,这些信号的集中削弱了 HDL自身的抗氧化活性。由此推论,小颗粒致密 HDL抗氧化活性的缺失可作为心血管疾病危险增加的标志。检测小颗粒致密的 HDL抗氧化性同检测总 HDL相比,或许可以更准确地估测 HDL抗氧化活性。

4 抗氧化治疗

HDL抗氧化活性在 HDL全部的心血管保护作用中的相

对重要性仍不清楚。有研究表明 HDL 抗氧化活性不如胆固醇逆向转运能力重要,在 ApoE^{-/-}小鼠,表达人 ApoA iv 无抗氧化效应但动脉硬化延迟^[27];而在 ApoA iv^{-/-}小鼠,胆固醇逆向转运能力和 HDL 抗氧化活性削弱程度相似^[28]。

美国心脏协会曾建议使用抗氧化剂(主要是维生素 E, 维生素 C, β-胡萝卜素)预防和治疗心血管疾病,而大规模的安慰剂对照试验发现小分子量的抗氧化剂,在心血管疾病的发展中没有任何有益的效应,相反,应用维生素 E 可能会导致心衰、出血、增加死亡率^[29]。这可能是由于缺乏抗氧化活性的 HDL 更易导致 LDL 源性的、促炎性的磷脂在体内积聚:在体内小分子量的抗氧化剂在抗 LDL 氧化时没有起关键的作用,小颗粒致密的 HDL 或许是起保护作用的关键成分。

5 结语

HDL 抗 LDL 的氧化作用已十分明确,由于 HDL 内在结构的复杂性,目前尚无明确的评价体系;HDL 自身也可被氧化,从而丧失其原有的功能。因此,在心血管保护作用中, HDL 抗氧化性的相对重要性有待于深入探讨,抗氧化剂的意义还需要大规模的临床观察,进一步研究 HDL 抗氧化作用的机制对 As 防治有着重要的意义。

[参考文献]

- Heinecke JW. Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis [J]. *Atherosclerosis* 1998; **141** (1): 1-15.
- 陈 瑗, 周 玫. 氧化应激 炎症在动脉粥样硬化发生发展中作用研究的新进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008; **16** (10): 757-762.
- Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease [J]. *N Engl J Med* 2005; **352**: 1685-695.
- 张慧平, 孙福成, 王 抒. 高密度脂蛋白与动脉粥样硬化和冠心病 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004; **12** (6): 733-736.
- Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, et al. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL [J]. *J Lipid Res* 2004; **45** (6): 993-1007.
- Lee CM, Chien CT, Chang PY, et al. High-density lipoprotein antagonizes oxidized low-density lipoprotein by suppressing oxygen free-radical formation and preserving nitric oxide bioactivity [J]. *Atherosclerosis* 2005; **183** (2): 251-258.
- Nicholls SJ, Dusting GJ, Cutri R, et al. Reconstituted high-density lipoproteins inhibit the acute pro-oxidant and proinflammatory vascular changes induced by a periarterial collar in normocholesterolemia rabbits [J]. *Circulation* 2005; **111** (12): 1543-550.
- Peterson SJ, Husney D, Kruger AL, et al. Long-term treatment with the apolipoprotein A1 mimetic peptide increases antioxidants and vascular repair in type 1 diabetic rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; **322** (2): 514-520.
- Raffai RL, Loeb SM, and Weisgraber KH. Apolipoprotein E promotes the regression of atherosclerosis independently of lowering plasma cholesterol levels [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; **25** (2): 436-441.
- Trougakos IP, Lourda M, Agiostatidou G, et al. Differential effects of clusterin/apolipoprotein J on cellular growth and survival [J]. *Free Radic Biol Med* 2005; **38** (4): 436-449.
- Navab M, Ham LS, Van LB, et al. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J / paraoxonase ratio [J]. *J Clin Invest* 1997; **99** (8): 2005-019.
- Boisfer E, Stengele D, Pastier D, et al. Antioxidant properties of HDL in transgenic mice overexpressing human apolipoprotein A-II [J]. *J Lipid Res* 2002; **43** (5): 732-741.
- Ribas V, Sanchez-Quesada JL, Anton R, et al. Human apolipoprotein A-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties: a new mechanism linking HDL protein composition and atherogenic potential [J]. *Circ Res* 2004; **95** (8): 789-797.
- Moradi H, Pahl MV, Elahmehri R, et al. Impaired antioxidant activity of high-density lipoprotein in chronic kidney disease [J]. *Transl Res* 2009; **153** (2): 77-85.
- Miyoshi M, Nakano Y, Sakaguchi T, et al. Gene Delivery of Paraoxonase-1 Inhibits Neointimal Hyperplasia after Arterial Balloon-Injury in Rabbits Fed a High-Fat Diet [J]. *Hypertension Research* 2007; **30** (1): 85-91.
- Rosenblat M, Aviram M. Paraoxonases role in the prevention of cardiovascular diseases [J]. *Biofactors* 2009; **35** (1): 98-104.
- Tavori H, Aviram M, Khatib S, et al. Human carotid atherosclerotic plaque increases oxidative state of macrophages and low-density lipoproteins whereas paraoxonase 1 (PON1) decreases such atherogenic effects [J]. *Free Radic Biol Med* 2009; **46** (5): 607-615.
- Karabina SA, Lehner AN, Frank E, et al. Oxidative inactivation of paraoxonase: implications in diabetes mellitus and atherosclerosis [J]. *Biochim Biophys Acta* 2005; **1725** (2): 213-221.
- Rozenberg O, Shiner M, Aviram M, et al. Paraoxonase 1 (PON1) attenuates diabetes development in mice through its antioxidative properties [J]. *Free Radic Biol Med* 2008; **44** (11): 1951-959.
- Connelly PW, Draganov D, and Maguire GF. Paraoxonase-1 does not reduce or modify oxidation of phospholipids by peroxynitrite [J]. *Free Radic Biol Med* 2005; **38** (2): 164-174.
- Arakawa H, Qian JY, Baatar D, et al. Local expression of platelet-activating factor acetylhydrolase reduces accumulation of oxidized lipoproteins and inhibits inflammation, shear stress-induced thrombosis and neointima formation in balloon-injured carotid arteries in nonhyperlipidemic rabbits [J]. *Circulation* 2005; **111** (24): 3302-309.
- Bergmeier C, Siekmeyer R, and Gross W. Distribution spectrum of paraoxonase activity in HDL fractions [J]. *Clin Chem* 2004; **50** (12): 2309-315.
- Kontush A, Chantepie S, and Chapman MJ. Small dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; **23** (10): 1881-888.
- Nobecourt E, Jacqueminet S, Hansel B, et al. Defective antioxidative activity of small dense HDL particles in type 2 diabetes: relationship to elevated oxidative stress and hyperglycemia [J]. *Diabetologia* 2005; **48** (3): 529-538.
- Curtiss LK, Bonnet DJ, and Rye KA. The conformation of apolipoprotein A-I in high-density lipoproteins is influenced by core lipid composition and particle size: a surface plasmon resonance study [J]. *Biochemistry* 2000; **39**: 712-721.
- Sanguinetti SM, Brites FD, Fasulo V, et al. HDL oxidizability and its protective effect against LDL oxidation in type 2 diabetic patients [J]. *Diabetes Nutr Metab* 2001; **14** (1): 27-36.
- Choudhury RP, Rong JX, Trogan E, et al. High-density lipoproteins retard the progression of atherosclerosis and favorably remodel lesions without suppressing indices of inflammation or oxidation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; **24** (10): 1904-909.
- Moore RE, Navab M, Miller JS, et al. Increased atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein A-I attributable to both impaired reverse cholesterol transport and increased inflammation [J]. *Circ Res* 2005; **97** (8): 763-771.
- Dietrich M, Jacques PF, Pencina MJ, et al. Vitamin E supplement use and the incidence of cardiovascular disease and all-cause mortality in the Framingham Heart Study: Does the underlying health status play a role [J]. *Atherosclerosis* 2009; **205** (2): 549-553.

(此文编辑 李小玲)