

关于动脉粥样硬化(AS)的新治疗靶点

张 运



〔作者简介〕 张运,中国工程院院士。1952 年出生,1976 年毕业于山东医学院医疗系,1981 年获医学硕士学位,1985 年获挪威奥斯陆大学医学博士学位,1992 年被聘为博士生导师,创立山东省心内科博士点、山东省重点学科以及教育部和卫生部重点实验室。现任山东大学副校长、医学院院长、教育部和卫生部心血管重构和功能研究重点实验室主任、山东大学心血管病研究中心主任和齐鲁医院内科主任。兼任中国医师协会心血管病医师分会副会长、中华医学会超声医学分会副主任委员、中国超声医学工程学会常务理事、中华医学会心血管病学分会常委、山东省医师协会名誉会长、山东省医学会副会长等学术团体职务 20 余项。主要研究方向是动脉粥样硬化和心力衰竭,先后承担国家以及省部级重大课题项目 20 余项。获国家级科技进步奖以及省部级科技进步奖多项。

动脉粥样硬化(AS)的病因是多种发病机制共同作用的结果。在遗传背景(占发病机制的 40% ~ 50%)作用下,患者体内首先发生血流动力学异常改变,致使血管内皮功能受损,血浆中的低密度脂蛋白(LDL)等物质渗透到血管内皮下并发生滞留。LDL 在血管内皮下经过氧化修饰成为氧化低密度脂蛋白(oxLDL),这是目前我们所认识到最强的致 AS 物质。

一、AS 斑块发生机制:炎症与脂代谢紊乱

在 AS 发生和发展过程中,炎症反应始终起着重要作用。单核-吞噬细胞、T 淋巴细胞和肥大细胞等参与了炎症反应,促使炎症过程不断加剧。AS 病变初期,遗传和环境因素的相互作用使血管内皮细胞(EC)出现功能异常,血浆中的 LDL 等物质渗透到血管内皮下,血流剪切力较低的部位流速较慢,LDL 沉积较多,因而形成 AS 病变的节段易患性。在血管内膜下,LDL 被氧化修饰为 oxLDL。血浆中的单核细胞在化学因子如单核细胞趋化蛋白 1(MCP1)的刺激下进入血管壁而变为巨噬细胞,后者通过清道夫受体识别并吞噬 oxLDL 而形成泡沫细胞,大量泡沫细胞的聚集形成 AS 的早期病理改变——脂质条纹。

由于泡沫细胞最终不能代谢掉 oxLDL 而发生凋亡和坏死,释放出来的脂质形成脂池,逐渐增多的脂池汇集成脂核或坏死核。血管平滑肌细胞由中膜向内膜下迁移形成坏死核周围的纤维组织,从而构成典型的 AS 斑块。AS 病变晚期,斑块内脂核增大,炎症

加剧,斑块表面的平滑肌细胞凋亡增加,纤维帽变薄,最终出现斑块破裂或糜烂,诱发血栓形成,从而导致急性冠脉综合征(ACS)。

二、抗 AS 的有效途径:调脂和抗炎

迄今为止,理论上干预 AS 的两大治疗手段是:干预脂质代谢和干预炎症反应。

稳定易损斑块是预防心脑血管急性事件发生的重要目标,主要从调节血脂水平和抑制系统炎症入手。AS 斑块破裂和继发管腔内血栓是导致 ACS 的最常见原因。早期预防斑块破裂是降低灾难性生命威胁的有效方法。炎症反应是促进斑块易损的核心因素。

1. NO 调节 EG 功能的机制:血管 EC 的功能紊乱和凋亡是导致 AS 的始动环节,血管 EC 功能障碍最突出的发现是一氧化氮(NO)合成减少和生物活性降低。内皮型 NO 合酶(eNOS)和精氨酸酶是 NO 生成最为关键的蛋白酶。研究发现,eNOS 基因第 4 内含子产生的 27nt 小核糖核酸(miRNA)特异性地存在于血管 EC 胞核内,并且能特异性地调节 eNOS 基因表达,这是他们新发现的对 eNOS 基因表达的反式调控途径。在精氨酸酶 II 启动子上存在转录因子二磷酸腺苷核糖多聚酶 1(PARP1)的结合位点,oxLDL 受体 1(LOX1)介导的 oxLDL 可通过 PARP1 调节精氨酸酶 II 的活性,影响血管内 NO 合成,从而引发血管 EC 功能紊乱。

2. TNF 调节血管炎症的机制:AS 斑块纤维帽的完整性和高强度主要有赖于细胞外基质的支持,4 羟脯氨酸羟化酶(P4H)是胶原合成过程中的关键酶。

研究发现,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)可通过抑制胶原酶降低胶原的合成,并证明细胞核激酶(NonO)是TNF- α 对P4H1下调作用中的重要转录因子,阐明了炎症抑制AS斑块胶原合成的分子机制。研究发现DJ-1基因也是参与TNF- α 调节P4H1过程中的转录因子,揭示了TNF- α 抑制P4H1的比较完整的作用机制,为AS的防治提供了新的干预靶点。

3. MCP1基因治疗稳定AS斑块:单核细胞的内皮下侵入是AS斑块形成的始动环节,而单核细胞趋化蛋白1(MCP1)是吸引单核细胞进入内皮下最重要的趋化因子,抑制MCP1已成为AS治疗的新靶点。本实验室利用显性失活突变技术成功地去除了担负MCP1趋化功能的7个氨基酸,构建了突变体7ND,在体外试验中证实7ND可抑制单核细胞炎症刺激后的移动,在体内减少了斑块破裂的发生率,尽管这种作用并不降低血脂水平。在兔易损斑块动物模型研究中,他们对比了MCP1基因缺失体(pIRES-EGFP-7ND)和空载体稳定斑块的疗效和机制。结果显示,pIRES-EGFP-7ND可显著抑制单核细胞趋化聚集功能,降低斑块内巨噬细胞数量,增加胶原及平滑肌细胞含量,降低易损指数,在不影响血脂水平的前提下增强斑块稳定性。

4. PPAR γ 基因治疗稳定AS斑块:氧化体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ)激动剂对稳定AS斑块可发挥有益作用。本实验室应用携带PPAR γ 基因的腺病毒转染载脂蛋白(Apo)E基因缺陷小鼠(ApoE-/-小鼠)进行研究,结果发现,PPAR γ 过表达可缩小斑块面积和减少脂质含量,增厚纤维帽,促进斑块向稳定表型转化,且PPAR γ 基因转染能上调ApoE-/-小鼠肝脏三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运体A1(ABCA1)、氯化血红素(hemin)表达,下调血管炎症因子表达。PPAR γ 基因稳定AS斑块的作用与其抗炎、抗增殖、促进胆固醇逆转运有关。PPAR γ 活化剂马来酸罗格列酮可遏制ApoE-/-小鼠AS进程,且增强PPAR γ -1基因转染的抗AS作用。

5. TLR4干扰治疗稳定AS斑块:已知Toll样受体(TLR)家族参与了AS的发生和发展,其中LR1的作用较弱,TLR2和TLR4的作用较强,而TLR6的作用尚不肯定。TLR家庭各因子之间可能通过相互作用形成AS炎症级联式调节。本试验室应用单一或联合干扰TLR1、TLR2和TLR4表达的方法发现,联合干扰TLR1和TLR2基因有相加作用但无协同作用,而联合干扰TLR2和TLR4则有协同作用。这表

明,对于稳定AS斑块联合干扰TLR2和TLR4优于单独干扰。我们在ApoE-/-小鼠易损斑块动物模型研究中,对比了TLR4小分子干扰腺病毒和阿托伐他汀两种方法稳定斑块的疗效和机制。结果显示,两者均可降低斑块的易损性,但基因治疗效果优于药物治疗。这是由于TLR4小分子干扰腺病毒更显著地抑制了斑块的炎症反应。

6. ACE2基因治疗稳定AS斑块:在AS斑块的內皮和泡沫细胞上有大量血管紧张素转换酶2(ACE2)蛋白表达。研究者推测,通过ACE2过表达,有可能对AS病变起到抑制作用。本实验室首先构建了ACE2基因表达质粒,自行合成了ACE2大鼠腺病毒载体,对于以腺病毒包装之后感染新西兰兔AS易损斑块模型的研究发现,这一载体可显著抑制单核细胞趋化蛋白1(MCP1)和氧化低密度脂蛋白受体1(LOX1)基因及蛋白表达,阻滞早期斑块发展,降低晚期斑块破裂率。在局部斑块内,ACE2基因过表达减少了炎症细胞,增加了胶原含量,拮抗了ACE功能,降低了血管紧张素II(Ang II)水平及升高了Ang I~7水平。这提示,ACE2基因过表达通过抑制炎症反应发挥稳定斑块的作用,ACE2可能成为今后治疗AS的新靶点。

7. 糜酶对AS斑块的影响:主要位于血管外膜的血管糜酶参与了AS斑块的不稳定过程。本实验室的研究显示,糜酶可增加斑块组织内Ang II的浓度,通过激活转换生长因子1(TGF1)刺激肾素合成,升高Ang II水平,将白细胞介素1(IL-1)前体转化为有活性的IL-1,激活斑块内的基质金属蛋白酶(MMP)1、2、3、9,降解细胞外间质,诱导平滑肌细胞凋亡,降解载脂蛋白AI(Apo AI),抑制斑块的胆固醇外流,直接水解纤维帽间质成分,如层连蛋白、节肢弹性蛋白和胶原。糜酶通过非经典途径促进Ang II生成,而过表达ACE2,能够降低斑块局部的Ang II表达水平,从而提示糜酶和ACE2与AS斑块不稳定过程密切相关。本研究证实,抑制糜酶活性可显著改善仓鼠AS病变腹主动脉血流动力学,进而延缓AS病变发展。糜酶抑制剂可显著抑制斑块巨噬细胞活性,抑制斑块局部炎症反应。

8. HO1基因诱导过表达稳定AS斑块:红细胞及基降解产物是AS的强力刺激物,可增加斑块不稳定性。血红素氧合酶(HO)是红细胞分解代谢中重要的限速酶,诱导型HO1可减少体内过氧化物,抑制炎症因子表达,具有明显的抗氧化及抗炎作用。本试验

室向兔斑块内出血所致易损斑块模型腹腔内,注入 HO1 诱导剂氯高铁血红素(hemin),促使 HO1 在斑块中高表达,降低了斑块内氧化应激水平和炎症因子表达水平,显著降低了易损斑块破裂率,从而为易损斑块的治疗提供了一个新方法。本研究发现,其机制可能是 HO1 的高表达可减少巨噬细胞浸润、抑制低密度脂蛋白(LDL)氧化修饰,并将血红蛋白或血红素等有害物质转化为可抑制氧自由基产生的胆红素和胆绿素等有益物质,从而抑制了红细胞的促 AS 作用。

三、中药通心络稳定 AS 斑块

本实验室通过建立的已获国际认可的兔易损斑块模型,进行了通心络稳定 AS 斑块的量效关系和分子机制研究,并获得如下结果。

1. 通心络降低斑块易损指数:与对照组比较,各治疗组斑块易损性指数均显著降低,大剂量通心络组降低更为明显,显著优于小剂量组,且与大剂量辛伐他汀组相似。

2. 通心络降低斑块破裂率:病理学检测显示,与

对照组比较,各治疗组腹主动脉斑块破裂率均显著降低,且无组间显著差异。这提示通心络与辛伐他汀降低腹主动脉斑块破裂率的疗效相似。

3. 通心络稳定 AS 易损斑块:易损斑块动物模型研究显示,辛伐他汀和通心络稳定斑块的主要机制包括:调脂作用;调节斑块内炎症-胶原代谢网络失衡,主要是抗炎和维持斑块内胶原代谢平衡;抗氧化作用。

四、结 论

由此得出如下结论:(1)他汀类调脂药物、肾素-血管紧张素系统(RAS)拮抗剂和血小板抑制剂是目前临床抗 AS 的首选药物。(2)细胞核激酶(NuO)蛋白、MCPI、ACE2、TLR2、TLR4、过氧化体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ)和糜酶是治疗 AS 的新靶点。(3)辛伐他汀、强力霉素、雷帕霉素和中药通心络是有前途的稳定斑块药物。

(转载自 2011 年 2 月 24 日和 2011 年 3 月 3 日

《中国医学论坛报》,本刊略有删节)

(接第 8 页)

- 4 Beaudet AL and Belmont JW. Array-based DNA diagnostics: let the revolution begin. *Annu Rev Med*, 2008, 59:113-129
- 5 Lupski JR. Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends Genet*, 1998, 14(10):417-422
- 6 Sharp AJ, Locke DP, McGrath SD, *et al.* Segmental duplications and copy-number variation in the human genome. *Am J Hum Genet*, 2005, 77(1):78-88
- 7 Stankiewicz P and Lupski JR. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet*, 2002, 18(2):74-82
- 8 Lupski JR. Genomic rearrangements and sporadic disease. *Nat Genet*, 2007, 39(7 Suppl):S43-47
- 9 Hastings PJ, Ira G and Lupski JR. A microhomology-mediated break-induced replication model for the origin of human copy number variation. *PLoS Genet*, 2009, 5(1):e1000327
- 10 Ropers HH. Genetics of early onset cognitive impairment. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2010, 11:161-187
- 11 Cook EH, Jr. and Scherer SW. Copy-number variations associated with neuropsychiatric conditions. *Nature*, 2008, 455(7215):919-923
- 12 Mefford HC. Genotype to phenotype-discovery and characterization of novel genomic disorders in a "genotype-first" era. *Genet Med*, 2009, 11(12):836-842
- 13 Turner DJ, Miretti M, Rajan D, *et al.* Germline rates of de novo meiotic deletions and duplications causing several genomic disorders. *Nat*

- Genet, 2008, 40(1):90-95
- 14 Bacino CA and Cheung SW. Introductory comments on special section-genomic microduplications: When adding may equal subtracting. *Am J Med Genet A*, 2010, 152A(5):1063-1065
- 15 Miller DT, Adam MP, Aradhya S, *et al.* Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*, 2010, 86(5):749-764
- 16 Cheung SW, Shaw CA, Yu W, *et al.* Development and validation of a CGH microarray for clinical cytogenetic diagnosis. *Genet Med*, 2005, 7(6):422-432
- 17 Boone PM, Bacino CA, Shaw CA, *et al.* Detection of clinically relevant exonic copy-number changes by array CGH. *Hum Mutat*, 2010, 31(12):1326-1342
- 18 Hillman SC, Pretlove S, Coomarasamy A, *et al.* Additional information from array comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2011, 37(1):6-14
- 19 Bi W, Berman AM, Venable SF, *et al.* Rapid prenatal diagnosis using uncultured amniocytes and oligonucleotide array CGH. *Prenat Diagn*, 2008, 28(10):943-949
- 20 Van den Veyver IB, Patel A, Shaw CA, *et al.* Clinical use of array comparative genomic hybridization (aCGH) for prenatal diagnosis in 300 cases. *Prenat Diagn*, 2009, 29(1):29-39

(收稿:2010-12-08)

(修回:2011-01-12)