

泛素 - 蛋白酶体抑制剂对动脉粥样硬化的影响

魏会丽 孙瑞红

摘 要 目前很多研究证实,动脉粥样硬化是血管壁对各类损伤刺激的异常反应,是动脉壁的慢性炎症性疾病。炎症反应贯穿动脉粥样硬化形成和发展的每个阶段,且炎症机制还与动脉粥样硬化的多种并发症的产生存在密切关系。血管平滑肌细胞为血管壁的重要组成部分,在血管收缩及舒张方面起着重要的调节作用,它同时也分泌多种细胞因子和炎性介质。血管平滑肌细胞的炎症可诱导平滑肌细胞的增殖与迁移,最终导致血管动脉粥样硬化病变和血管外科手术后再狭窄等问题。泛素 - 蛋白酶体系统参与机体内炎症反应过程,且泛素 - 蛋白酶体抑制剂可通过抑制血管平滑肌的炎性反应,从而抑制动脉粥样硬化的发生。目前已证实,多种抗动脉粥样硬化药物具有抗炎功能,抗炎治疗已成为防治动脉粥样硬化的一种新策略。本文对泛素 - 蛋白酶体抑制剂对动脉粥样硬化的影响机制做一综述。

关键词 泛素 - 蛋白酶体抑制剂 血管平滑肌细胞 炎症反应 动脉粥样硬化

中图分类号 R34 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.07.007

泛素 - 蛋白酶体系统 (ubiquitin - proteasome system, UPS) 在选择性降解生物体内蛋白质、调节细胞内蛋白水平过程中发挥着重要作用。最近研究发现,UPS 参与机体内许多生理过程,如抗原递呈、细胞周期调控、炎症反应、转录调控和凋亡等,泛素 - 蛋白酶体抑制剂 (ubiquitin - proteasome inhibitor, UPI) 可改变蛋白酶体的酶切位点的活性,因此目前已成为免疫、炎症等方面的热门研究课题。

自从 1999 年 Ross 等提出了动脉粥样硬化 (Atherosclerosis, AS) 的“损伤反应”学说后,随之而来的大量的研究证实 AS 是一种血管损伤后的炎性过程。动脉粥样硬化是一种慢性炎症,胆固醇结晶 - 诱导的中性粒细胞自噬作为巨噬细胞的炎性刺激增加了研究者对中性粒细胞的活性在动脉粥样硬化的认识,而且在斑块破裂的模型中证实,中性粒细胞还可促进血栓形成^[1,2]。目前公认的炎症在动脉粥样硬化的生化级联反应 (从脂纹形成到斑块破裂血栓形成) 中起着重要的作用,在生物力学原因和事件例如振荡剪切应力、周向应变异常导致的内皮细胞功能障碍中扮演重要角色^[3,4]。动脉粥样硬化斑块形成的特点是脂质聚集,白细胞浸润和一系列炎性反应,从而导致斑块的产生、血栓形成及斑块不稳定^[5]。核转录因子 (nuclear factor kappa B, NF - κ B) 为炎性反应的主要

调控因子,调节参与动脉粥样硬化的多种基因的表达,也可调节多种促炎因子、黏附分子和趋化因子,以及生长因子等表达。NF - κ B 通过调控与炎症反应有关的细胞因子和炎性介质的基因转录,参与 AS 的产生与发展^[6]。

一、泛素 - 蛋白酶体系统及蛋白酶体抑制剂

1. 泛素 - 蛋白酶体系统 (UPS) 与功能: 泛素 - 蛋白酶体系统在许多文章中已阐述,泛素是由 76 个氨基酸残基组成的小分子多肽,其通过一系列的酶被结合在蛋白上,这些酶包括泛素活化酶 (E1)、泛素结合酶 (E2)、泛素蛋白连接酶 (E3)^[7,8]。蛋白酶体是由两类亚基构成,包含调节颗粒 19S 和含有降解酶的 20S 核心颗粒。蛋白酶体的分子结构已在一些文章中被详细描述^[9,10]。

UPS 所参与的蛋白质的泛素化及降解调控着多种细胞过程主要包括:①调控细胞周期^[11]: 细胞周期蛋白 (cyclin A, cyclin B, cyclin D)、细胞周期依赖性激酶 (CDK)、CDK 抑制剂 (P21、P27、IAP1/2) 等,上述为 UPS 的作用底物;②参与转录的调控: 一些转录调控因子如 NF - κ B、抑癌基因 P53 等都为 UPS 的底物, NF - κ B 通常以非活性状态与抑制蛋白 I - κ B 结合存在于细胞质内,当有应激反应时 I - κ B 磷酸化激酶使 I - κ B 磷酸化,随后被 UPS 降解,使 NF - κ B 活化,从而调节多种基因的转录;③凋亡的调控: B 淋巴瘤 - 2 基因 (B - cell lymphoma - 2, Bcl - 2) 及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 - 3 (caspase - 3) 等一些凋亡调控因子都是由 UPS 降解的;④抗原递呈: 细胞内的内

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (H201306)

作者单位: 150001 哈尔滨医科大学附属第一医院神经内科

通讯作者: 孙瑞红, 教授, 硕士生导师, 电子信箱: sunruihong119@

163.com

源性蛋白通过 26S 蛋白酶体降解成多肽,并与主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex I, MHC - I)类分子在内质网中结合转运至细胞膜表面,由细胞毒 T 细胞所识别;⑤免疫、抗炎作用: NF - κ B 具有调控炎性因子及凋亡因子转录的能力,而 NF - κ B 的激活有蛋白酶体参与,因此蛋白酶体与炎性反应和自身免疫性疾病关系密切。研究发现,一些自身免疫性疾病如类风湿关节炎、干燥综合征、系统性红斑狼疮等可见蛋白酶体活性增高^[12]。而蛋白酶体抑制剂通过阻断 I - κ B 的降解过程,抑制了 NF - κ B 的活化,从而起到抗炎、免疫作用^[13]。

2. 蛋白酶体抑制剂及其分类: (1) 天然蛋白酶体抑制剂包括: ①乳胞素(lactacystin): 是一种链霉菌属的天然代谢物,具有诱导细胞周期等功能; ②3,4 - 二氯异香豆素(DCI): 是丝氨酸蛋白酶的不可逆抑制剂,选择性较差; ③PR - 39: 是一种富含精氨酸/脯氨酸的多肽,具有可逆性; ④aclacinomycin: 能抑制蛋白酶体的类糜蛋白酶活性,对组织蛋白酶 B 无抑制效应。(2) 合成的蛋白酶体抑制剂: ①肽醛类化合物: 如 MG132、MG115 等,该类化合物选择性及稳定性均差,作用强度低,其中 MG132 又称苄氧羰基 - L - 亮氨酰 - L - 亮氨酰 - L - leucinal, Z - LLL - CHO, 是一种肽醛,选择性较高,应用较广,能够抑制多种类型蛋白酶的活性; ②硼酸肽: 此类大多都是二肽硼酸衍生物的结构,是目前最重要的蛋白酶体抑制剂,其中,硼替佐米(bortezomb)是 FDA 批准的用于多发性骨髓瘤和套细胞淋巴瘤的治疗药物。它也可以用于在实验室研究中,用以抑制蛋白酶体的活性^[14]。它在体内可引起肿瘤细胞凋亡,延缓肿瘤进展,不良反应较少,选择性较高,为首个进入临床且近年研究较多的蛋白酶体抑制剂。此外,还有环氧酮类、肽乙烯类等。

二、炎性反应与动脉粥样硬化(AS)

AS 病变具有全身性、弥漫性的特点,血管壁的炎症是 AS 形成过程中的主要特性,AS 容易诱发心、脑血管疾病。大量的研究证实 AS 是血管损伤后的炎症性病变,并且炎症参与动脉粥样硬化的形成和复杂的病情演变,有关血浆炎症标志物的研究在国内外已广泛展开,许多炎症因子已成为心脑血管病的预测因子。

1. 核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF - κ B) 与炎性反应: (1) NF - κ B 的概述: NF - κ B 是一种核蛋白因子,最早发现于 B 细胞核的提取物中, NF - κ B 基本上存在于所有细胞类型中。NF - κ B/Rel 家族成

员在哺乳动物细胞中共有 5 种: p105/p50、p100/p52、RelA(p65)、RelB 及 C - Rel。由于 p50 - p65 异源二聚体在细胞中发挥主要的生理功能,因此通常习惯上将 p50 - p65 异源二聚体称为 NF - κ B。NF - κ B 的活化形式只存在于细胞核提取物中,在细胞质中 NF - κ B 与其抑制蛋白(inhibitory κ B, I - κ B)结合,以稳定的无活性形式存在, I - κ B 抑制蛋白,包含 I - κ B - α 、I - κ B - β 、I - κ B - γ 、I - κ B - ε 、I - κ B - ζ 和 Bc13^[15]。当细胞静息时,抑制蛋白 I κ B 单体与 NF - κ B 的 p65 亚基结合在一起,掩盖了 p50 蛋白的核转位信号,此时与 I - κ B 结合的 NF - κ B 在细胞质中以失活形式存在,不能调控基因转录。当细胞受到来自细胞外的各种刺激时, I - κ B 激酶被激活^[16], I - κ B 蛋白先是被磷酸化及泛素化,最后被降解,从而使 NF - κ B 二聚体快速与其解离并被释放,进而 NF - κ B 易位至细胞核,指导 cAMP 反应元件的结合蛋白(CREB)和结合蛋白的基因转录^[17,18]。在这一信号级联系统的最后一步,磷酸化及泛素化的 I - κ Bs 仍与细胞质内的 NF - κ B 结合在一起,然后 I - κ Bs 被 26S 蛋白酶体降解。这一过程会露出核定位序列(nuclear localization signal, NLS),从而使游离激活的 NF - κ B 有机会通过 NLS 易位至细胞核内,与目的基因特异位点结合,启动目的基因的转录^[19]。(2) NF - κ B 对炎症的作用: NF - κ B 与多种炎性因子的表达有关,在炎症反应中起着举足轻重的作用,其能调控炎性细胞因子[如肿瘤坏死因子(TNF - α)、白介素(IL - 1)等]、趋化因子、黏附分子[细胞间黏附分子(ICAM - 1)、血管细胞黏附分子(VCAM - 1)]、炎性酶[诱导型 - 氧化氮合酶(iNOS)、环氧合酶(COX - 2)]等的基因表达,在多种炎症性疾病的炎症部位活化,目前已证实通过药物抑制 NF - κ B 的活性,能显著降低白介素(interleukin)的产生^[20]。NF - κ B 被激活后,进入细胞核中,与多种炎症因子启动子区域中的相应序列结合,进而参与各种趋化因子、黏附分子、生长因子以及 NO 合酶、组织因子(TF)、血管紧张素原等的转录^[21]。

2. 炎性反应、NF - κ B 与 AS 的关系: NF - κ B 作为炎性反应的重要调控因子,参与调控许多与炎症反应有关的基因表达。NF - κ B 是调控 AS 不同阶段的基因表达的关键因素,从最早阶段如脂质修饰,白细胞趋化、黏附,单核细胞分化,形成泡沫细胞及炎性细胞因子的表达,到后期阶段细胞死亡、血管平滑肌细胞增殖、迁移及凋亡,以及纤维帽形成,均有 NF - κ B

的参与^[22]。NF- κ B参与炎症过程中许多信号转导过程,因而认为NF- κ B的激活在AS的形成及发展中起着重要的作用。

综上所述,通过阻断细胞内NF- κ B激活,可抑制血管炎性反应,进而可预防动脉粥样硬化的形成。

三、泛素-蛋白酶体抑制剂与NF- κ B

蛋白酶体有许多作用底物,蛋白酶体抑制剂可影响各种细胞过程,抑制泛素-蛋白酶体通路中蛋白酶的降解,NF- κ B为蛋白酶体抑制剂的一个重要的作用靶点。大量研究证实,AS的形成及发展与NF- κ B的激活有着密切的因果联系,因而可通过抑制NF- κ B的激活来降低AS的发生风险。

蛋白酶体抑制剂抑制NF- κ B的活化,可通过抑制I- κ B蛋白的降解来实现,未降解的I- κ B与NF- κ B结合,使得NF- κ B不能进入细胞核,从而不能在核内发挥转录作用,影响了肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移和新生血管的生成,也提高了肿瘤细胞对放、化疗的敏感度^[23]。蛋白酶体抑制剂通过抑制I- κ B的降解,从而达到抗炎、免疫的目的。

有研究表明,NF- κ B的活化存在于缺血性再灌注损伤中,24h的连续监测发现MLN-519在局部缺血2h后减少了自由基的破坏,由此表明MLN-519通过抑制NF- κ B的激活来降低血管损伤,包括降低一些与炎症有关的因子的表达,如IL-1、TNF- α 、COX-2、iNOS、ICAM-1等^[24]。在小鼠内毒素休克早期,肺组织中NF- κ B、TNF- α 和IL-6表达程度迅速增加,但若提前给予蛋白酶体抑制剂,就能使内毒素性休克小鼠血液中NF- κ B、TNF- α 和IL-6水平明显降低。现亦证实PR39能够通过抑制NF- κ B信号通路来改善局部缺血后的心脏功能,减少梗死面积^[25]。由于NF- κ B在炎症反应中的重要作用,蛋白酶体抑制剂可能会成为一种新的抗炎药物,NF- κ B可能成为炎症性疾病潜在的治疗靶点。

单核细胞进入病变部位分化成巨噬细胞,其中参与的主要因子是受NF- κ B调控的巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF),其重要性已在M-CSF缺陷而无AS发展模型中得到证实。研究发现,应用NF- κ B核转位酶抑制剂可以减少小鼠血管细胞和巨噬细胞炎症反应及氧化应激,具有抗动脉粥样硬化作用。

四、展望

动脉粥样硬化是一种常见的临床疾病,是缺血性心脑血管病的主要病理基础。到目前为止,其发病机制尚不完全清楚,因此临床尚无有效而具体的药物治

疗。研究显示,动脉粥样硬化的不同阶段表现不同,早期为急性炎性病变,以渗出性为主,进展期主要为慢性病变,以增生性为主。炎症反应涉及多种炎症因子、炎症介质等。

炎性病变是动脉粥样硬化的特点,慢性炎症不仅参与斑块的形成,也与其并发症密切相关,如斑块破裂、血栓形成。在多种致病因素的影响下,NF- κ B被活化,这在AS的形成和发展中起关键作用,因而可通过阻断NF- κ B的激活途径中的各个环节来防治AS的形成。

在一项研究中证实,通过泛素蛋白酶抑制剂硼替佐米的联合治疗可以控制血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)诱导的高血压病,并且可减弱主动脉内的细胞增殖、活性氧的产生、炎症反应以及其他相关的主动脉的病变。

笔者相信随着未来对蛋白酶体抑制剂和NF- κ B信号通路研究的进一步深入,其在疾病形成、发展过程中的作用机制将会更加明确。蛋白酶体抑制剂通过抑制NF- κ B这一信号转录的中心环节,一定将在以后的抗炎、免疫抑制、抗肿瘤等方面发挥巨大的作用,因此前景广阔。相信未来对于炎症与动脉粥样硬化关系的研究的不断深入,将有助于改善人类健康。泛素-蛋白酶体抑制剂可通过干扰蛋白酶体活性,抑制肿瘤细胞生长,因此很有可能开创抗肿瘤药物的先河。如今一些蛋白酶体抑制剂如硼替佐米已开始用于治疗癌症,并取得了一定的研究成果,然而由于其特异性较差,不良反应较大,在起到治疗作用的同时也影响了机体的正常生理功能,所以亟待研究出选择性更高、安全性更好的新型蛋白酶体抑制剂,相信随着对蛋白酶体抑制剂不断深入的研究,对其的了解将更加完善,从而为其在临床的应用提供新的思路。

参考文献

- 1 Soehnlein O. Multiple roles for neutrophils in atherosclerosis[J]. Circ Res, 2012, 110(6):875-888
- 2 Quillard T, Araújo HA, Franck G, et al. TLR2 and neutrophils potentiate endothelial stress, apoptosis and detachment: Implications for superficial erosion[J]. Eur Heart J, 2015, 36(22):51-58
- 3 Shishehbor MH, Bhatt DL. Inflammation and atherosclerosis[J]. Curr Atheroscler Rep, 2004, 6(2):131-139
- 4 Vanepjs J, Vorp D. Mechanopathobiology of Atherogenesis: A Review[J]. J Surg Res, 2007, 142(1):202-217
- 5 Peter L, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis[J]. Nature, 2011, 473(7347):317-325

- 6 Brown J, Lin C, Duan Q, *et al.* NF- κ B directs dynamic super enhancer formation in inflammation and atherogenesis[J]. *Mol Cell*, 2014, 56(2):219-231
- 7 Chowdhury M, Enenkel C. Intracellular dynamics of the ubiquitin-proteasome-system[J]. *F1000 Research*, 2015, 4
- 8 Gallastegui N, Groll M. The 26S proteasome: assembly and function of a destructive machine[J]. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35(11):634-642
- 9 Tomko RJ, Hochstrasser M. Molecular architecture and assembly of the eukaryotic proteasome[J]. *Ann Rev Biochem*, 2013, 82(8):415-445
- 10 Kunjappu MJ, Hochstrasser M. Assembly of the 20S Proteasome[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(1):2-12
- 11 Almond JB, Cohen GM. The proteasome: a novel target for cancer chemotherapy[J]. *Leukemia*, 2002, 16(4):433-443
- 12 Wang JS. The ubiquitin-proteasome system and its role in inflammatory and autoimmune diseases. [J]. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3(4):255-261
- 13 Ishii Y, Waxman S, Germain D. Targeting the ubiquitin-proteasome pathway in cancer therapy[J]. *Anti cancer Agents Med Chem*, 2007, 7(3):359-365
- 14 Price CTD, Al-Quadan T, Santic M, *et al.* Host proteasomal degradation generates amino acids essential for intracellular bacterial growth[J]. *Science*, 2011, 334(6062):1553-1557
- 15 Kim H, Kearns JD, Tergaonkar V, *et al.* A fourth I κ B protein within the NF- κ B signaling module[J]. *Cell*, 2007, 128(2):369-381
- 16 Fan H, Sun B, Gu Q, *et al.* Oxygen radicals trigger activation of NF- κ B and AP-1 and upregulation of ICAM-1 in reperfused canine heart[J]. *Am J Physiolheartc*, 2002, 282(5):H1778
- 17 Abraham E. NF- κ B activation[J]. *Critical Care Medicine*, 2000, 28(Suppl 4):N100-N1004
- 18 Ma C, Zuo W, Wang X, *et al.* Lapatinib inhibits the activation of NF- κ B through reducing phosphorylation of I κ B- α in breast cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(2):812-818
- 19 Pateras I, Giaginis C, Tsigris C, *et al.* NF- κ B signaling at the crossroads of inflammation and atherogenesis: searching for new therapeutic links[J]. *Exp Opin Ther Targets*, 2014, 18(9):1089-1101
- 20 Öberg F, Haseeb A, Ahnfelt M, *et al.* Herbal melanin activates TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2009, 16(5):477-484
- 21 Ley K, Laudanna C, Cybulsky M I, *et al.* Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(9):678-689
- 22 Rebecca GB, Matthew SH, Sankar G. NF- κ B, inflammation, and metabolic disease[J]. *Cell Metab*, 2011, 13(1):11-22
- 23 李明, 缪泽鸿, 丁健. 蛋白酶体及其抑制剂的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(5):565-569
- 24 Wojcik C, Di Napoli M. Ubiquitin-proteasome system and proteasome inhibition: new strategies in stroke therapy[J]. *Stroke*, 2004, 35(6):1506-1518
- 25 Powell S. The ubiquitin-proteasome system in cardiac physiology and pathology[J]. *Am Physiol*, 2006, 291(1):H1-H19

(收稿日期:2015-11-25)

(修回日期:2015-12-07)

(上接第20页)

- 16 Harrison OJ, Foley J, Bolognese BJ, *et al.* Airway infiltration of CD4+CCR6+Th17 type cells associated with chronic cigarette smoke induced airspace enlargement[J]. *Immunol Lett*, 2008, 121(1):13-21
- 17 Ying C, Nadigel J, Boulais N, *et al.* CD8 positive T cells express IL-17 in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Respir Res*, 2011, 12(8):1113-1114
- 18 Vargas-Rojas MI, Ramírez-Venegas A, Limón-Camacho L, *et al.* Increase of Th17 cells in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Respi Med*, 2011, 105(11):1648-1654
- 19 Melgert BN, Timens W, Kerstjens HA, *et al.* Effects of 4 months of smoking in mice with ovalbumin-induced airway inflammation[J]. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*, 2007, 37(12):1798-1808(11)
- 20 Laurence A, Tato CM, Davidson TS, *et al.* Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation[J]. *Immunity*, 2007, 26(3):371-381
- 21 Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, *et al.* Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage[J]. *Nature*, 2006, 441(7090):231-234
- 22 O'Garra A, Stockinger B, Veldhoen M. Differentiation of human T(H)-17 cells does require TGF-beta! [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(6):588-590
- 23 Mak JCW, Chan-Yeung MMW, Ho SP, *et al.* Elevated plasma TGF- β 1 levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Respirat Med*, 2009, 103(7):1083-1089
- 24 Perera WR, Hurst JR, Wilkinson TM, *et al.* Inflammatory changes, recovery and recurrence at COPD exacerbation[J]. *Eur Respir J*, 2007, 29(3):527-534
- 25 Xu L, Kitani AI, Strober W. Cutting edge: regulatory T cells induce CD4⁺CD25⁻Foxp3⁻T cells or are self-induced to become Th17 cells in the absence of exogenous TGF-beta[J]. *J Immunol*, 2007, 178(11):6725-6729

(收稿日期:2015-12-14)

(修回日期:2015-12-28)