

不稳定动脉粥样硬化斑块的研究进展*

张丹丹¹ 董小黎² 杨黎明¹ 刘立新¹ 孟桂霞¹

(1 首都医科大学燕京医学院 基础医学系病理教研室 北京 101300 2 首都医科大学基础医学院 病理教研室 北京 100069)

摘要 :不稳定斑块破裂及继发血栓形成是导致急性心血管事件发生的主要病理基础。不稳定斑块的形成与炎症反应、细胞凋亡等有密切联系。新近研究表明,组织蛋白酶-S、生长相关基因蛋白- α 和内质网应激在动脉粥样硬化斑块趋向不稳定的过程中发挥至关重要的作用。本文就相关研究进展进行综述,为深入了解不稳定斑块的形成机制提供依据。

关键词 :不稳定斑块 组织蛋白酶-S 生长相关基因蛋白- α 内质网应激

中图分类号 R543.5 R541.4 文献标识码 A 文章编号 :1673-6273(2012)25-4961-03

The Research of Unstable Atherosclerotic Plaque*

ZHANG Dan-dan¹, DONG Xiao-li², YANG Li-ming¹, LIU Li-xin¹, MENG Gui-xia¹

(1 Department of Pathology, Yanjing Medical College of Capital Medical University, Beijing 101300 China;

2 Department of Pathology, Basic Medical College of Capital Medical University, Beijing 100069 China)

ABSTRACT: Unstable atherosclerotic plaque rupture and subsequent thrombosis are the main patho-reason leading to acute cardiovascular event occur. There is close relationship between inflammatory reaction, apoptosis and unstable plaque formation. Recent studies show that Cathepsin S, GRO- α and endoplasmic reticulum play important role in the formation of unstable plaque. This article will give a review on this research, to provide the basis for a thorough understanding of the unstable plaque mechanism.

Key words: Unstable plaque; Cathepsin S; GRO- α ; Endoplasmic reticulum

Chinese Library Classification(CLC): R543.5, R541.4 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2012)25-4961-03

前言

动脉粥样硬化(AS)是严重危害人类健康的一大类疾病,是冠心病和缺血性脑卒中的主要原因。近年来研究发现急性冠脉综合征(ACS)的发生主要取决于动脉粥样硬化斑块的稳定性。不稳定斑块破裂及继发血栓形成是 ACS 发生的主要原因^[1]。因此目前对不稳定斑块影响因素的探讨已成为动脉粥样硬化领域中的研究热点。动脉粥样硬化是一种慢性炎症,涉及多种细胞因子和炎症介质,其中组织蛋白酶-S、生长相关基因蛋白- α 与斑块的稳定性密切相关^[2]。已有研究证实细胞凋亡参与动脉粥样硬化斑块的破裂,新近研究表明 ACS 的发生与动脉粥样硬化斑块内的内质网应激增强有关^[3]。

1 不稳定斑块的组织学特点

根据动脉粥样硬化斑块的组织学特征,将斑块分为稳定斑块和不稳定斑块。不稳定斑块的主要组织学特点有:1 具有偏心性的、相对体积大且质软的脂质核心;2 纤维帽薄弱且外形不规则;3 大量炎症细胞的浸润:包括单核/巨噬细胞、T 淋巴细胞和肥大细胞等^[4]。国外的尸检研究已证明,70%~80%的冠状动脉血栓形成继发于斑块破裂,动脉粥样硬化斑块破裂后形成溃疡,导致胶原暴露,而胶原是最强的血小板激活剂之一,从而引发不完全性或者完全性阻塞性急性血栓形成,导致 ACS

的发生^[5]。

2 组织蛋白酶-S(Cathepsin S)

组织蛋白酶(Cathepsin, Cat)是半胱氨酸蛋白酶家族的主要成员,是一大类裂解肽键的水解酶,具有广谱的水解活性,与人类的很多疾病如肿瘤、类风湿关节炎等都密切相关。目前这类蛋白酶在动脉粥样硬化病变中的作用也日益受到人们的重视。

Jormsjo S 等研究发现 apoE 基因敲除小鼠 AS 组织中的 Cathepsin S、L、B 表达增加,而非 As 部位未见 Cathepsin S 的表达^[6]。在 AS 病变中, Cathepsin S、K 的蛋白及基因表达水平增高^[7]。有研究显示人动脉粥样硬化组织提取物经 western blot 和弹性蛋白酶测定发现 Cathepsin S 活性明显增强,免疫组化染色显示 Cathepsin S 主要位于斑块肩部的巨噬细胞、纤维帽中的平滑肌细胞等。在泡沫细胞形成过程中,氧化低密度脂蛋白可促使巨噬细胞表达 Cathepsin S 增加;暴露于炎症细胞因子能增加平滑肌细胞、巨噬细胞中 Cathepsin S 的释放和表达^[8]。研究表明球囊损伤后高胆固醇喂养兔发现动脉血管中 Cathepsin S 表达增加^[9]。Sukhova 等利用基因敲除技术,发现与 LDLR^{-/-}鼠相比, Cat S^{-/-} LDLR^{-/-}鼠形成的动脉粥样硬化斑块小,病变进展较缓慢,斑块中的巨噬细胞、T 淋巴细胞以及 IFN- γ 明显减少,而弹性蛋白较多;体外研究以炎症因子刺激培养的单体

* 基金项目 北京市教委基金(KM200710025006)

作者简介 张丹丹(1984-),女,硕士,助教,主要研究方向 动脉粥样硬化的研究进展,

电话 010-69426731 E-mail: dandan2125@163.com

(收稿日期 2012-03-05 接受日期 2012-03-30)

细胞来源的巨噬细胞和内皮细胞, Cathepsin S 表达和分泌活性增加, 降解细胞外弹力蛋白和胶原, 而 Cathepsin S 缺陷细胞促弹性组织降解和溶胶原活性明显受损, Cathepsin S 缺陷的单核细胞不能迁移通过包含有平滑肌细胞、胶原和单层内皮的人工膜, 这些均提示 Cathepsin S 参与早期白细胞游走、中弹性层黏蛋白降解、内皮细胞迁移等过程^[10]。有研究显示, Cat 也可以促使巨噬细胞发生凋亡^[11]。Lindstedt L 等发现 Cathepsin S 可以降解前 β -HDL 和 apoA-1, 抑制细胞内胆固醇的流出, 从而促进动脉粥样硬化斑块中泡沫细胞的形成^[12]。Liu 等研究表明动脉粥样硬化、心肌梗死、不稳定心绞痛病人血浆中的 Cathepsin S 水平均增高, 这些提示 Cathepsin S 将可能作为动脉粥样硬化疾病的一个标记物^[13]。Shi 等研究 Cathepsin S^{-/-} 鼠发现缺乏 Cathepsin S 后微血管生长受损, 提示 Cathepsin S 在细胞外基质降解及 AS 斑块形成中起重要作用^[14]。Papasparydonos M 等研究显示人不稳定动脉粥样硬化斑块中 Cathepsin S mRNA 表达水平较稳定斑块中增高, 且与斑块中巨噬细胞的含量有明显相关性^[15]。Rodgers 等用 Cat S^{-/-}/apoE^{-/-} 鼠和 Cat S^{+/+}/ApoE^{-/-} 鼠分别作为实验组和对照组, 给予 12 周的高脂饮食, 结果显示: 与 Cat S^{+/+}/apoE^{-/-} 鼠相比, Cat S^{-/-}/apoE^{-/-} 鼠形成的动脉粥样硬化斑块小, 纤维帽比较厚, 而且病变进展比较缓慢, 急性斑块的破裂率明显降低。这些均提示 Cathepsin S 参与了不稳定斑块的形成和发展, 最终导致斑块破裂^[16]。Shi 等应用免疫组织化学法与 Western 印迹法发现人 AS 斑块中半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cys C) 含量较正常血管减少, Cathepsin S 及 K 却过度表达, 而正常动脉中膜平滑肌细胞和内皮细胞表达丰富的 Cys C^[17]。Cathepsin S 及其内源性抑制剂 Cys C 在斑块中的失衡可能是 AS 斑块破裂的发病机制之一。以上表明 Cathepsin S 在动脉粥样硬化不稳定斑块的发生发展过程中具有至关重要的作用。

3 生长相关基因蛋白 α (GRO- α)

趋化因子是细胞因子超家族成员中一类具有白细胞趋化作用的小分子蛋白多肽(8-10 kDa), 通过与其特异性受体结合发挥作用, 参与机体免疫反应、炎症反应等。近年来趋化因子在动脉粥样硬化形成和进展中的作用是研究的热点。趋化因子根据其半胱氨酸排列位置的不同分为 CC、CXC、C、CX3C 四类。CXC 型趋化因子也称 α 家族, 是由一黏蛋白茎状结构支持而表达于细胞表面, 这类趋化因子中的 IL-8 及其受体 CXCR2 参与动脉粥样硬化病变的发展已被许多文献所报道, 与此同时 CXCR2 的另外一个配体 GRO- α 近年来也逐渐受到人们的关注。炎性细胞因子如白细胞介素-1 (IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、凝血酶均可上调 GRO- α 在内皮组织的表达。最新研究显示血流剪切应力异常可以上调 GRO- α 在鼠颈动脉粥样硬化组织中的表达^[18]。Huo Y 等研究表明在 apo E^{-/-} 鼠中 GRO- α 可以促使单核细胞进入有炎症的内皮组织^[19]。Boisvert 等研究发现 GRO- α ^{-/-}/LDLR^{-/-} 鼠比 GRO- α ^{+/+}/LDLR^{-/-} 鼠形成的动脉粥样硬化的斑块面积小, 而且斑块局部积聚的巨噬细胞较少, 这些均提示 GRO- α 参与动脉粥样硬化病变的发展^[20]。Breland 等研究显示冠心病病人外周血单核细胞 GRO- α mRNA 的表达水平高于正常对照组, 不稳定型心绞痛 (UA) 和稳定型心绞痛 (SA) 病人血浆 GRO- α 水平均升高, 进一步研究发现动脉粥样

硬化病变组织中的 GRO- α mRNA 水平高于正常对照组, 免疫组化染色显示 GRO- α 阳性细胞是巨噬细胞、内皮细胞, 还有 T 淋巴细胞, 同时研究发现 GRO- α 可以促进泡沫细胞形成, 增加斑块的脂质沉积, GRO- α 还可通过白细胞介素-1 (IL-1) 间接促进基质金属蛋白酶的分泌, 降解细胞外基质^[21]。这些均提示 GRO- α 与斑块的稳定性有关, 参与 AS 的发展。

4 内质网应激(ERS)

最新研究发现过度内质网应激可启动细胞凋亡, 是一条新的细胞凋亡信号转导通路。内质网(ER)通过上调 ER 分子伴侣对不同的应激刺激做出反应, 但长时间的 ERS 会发生细胞凋亡。由 ERS 诱发的凋亡有 3 种途径: CHOP (CCAAT/ 增强子结合蛋白同源蛋白)/GADD153 基因的激活转录; JNK (C-Jun 氨基酸末端激酶) 的激活通路; ER 特有的 Caspase-12 的激活。CHOP/GADD153 是转录因子家族 C/EBP 成员之一, 在正常生理状态下基本检测不到, 但在 ERS 时被显著诱导表达, 参与调节下游凋亡相关基因的表达。Feng B 等研究显示腹膜巨噬细胞中游离胆固醇的过多积聚, 可以引起内质网应激, CHOP 表达增高, 最终导致细胞的凋亡^[22]。Zhou J 等研究显示: ERS 参与动脉粥样硬化病变发生和发展的各个阶段, 而且随着病变的发展, 斑块中 CHOP 的表达会明显增多^[23]。Tsukano 等发现蓄积于内质网内的游离胆固醇以 CHOP-Bax 途径诱导内质网应激相关的巨噬细胞凋亡^[24]。Myoishi 等发现: 与纤维斑块和粥样斑块 (纤维帽 >65 μ m) 相比, 破裂斑块和粥样斑块 (纤维帽 <65 μ m) 中 CHOP 的表达增多, 而且 CHOP 阳性细胞中的 TUNEL 阳性细胞也明显增高, CHOP 阳性的细胞主要是巨噬细胞和平滑肌细胞, 而在对照组中无 CHOP 阳性表达; 来自 UA 病人动脉粥样硬化斑块中 CHOP 的表达明显高于 SA 病人, 体外实验研究显示 OX-LDL 的主要组成成分 7- 酮基胆固醇可以诱导平滑肌细胞和巨噬细胞凋亡, 同时可检测到 GRP78 和 CHOP mRNA 的表达水平升高^[25]。这些结果表明内质网应激可诱导平滑肌细胞和巨噬细胞凋亡, 而平滑肌细胞凋亡可使纤维帽变薄, 巨噬细胞凋亡可导致斑块脂质核心增大, 并加重局部炎症反应, 最终使斑块趋向不稳定。Thorp 等发现 apo E 和 CHOP 双基因缺失的小鼠主动脉粥样硬化斑块的面积较 apo E^{-/-} 小鼠明显缩小, 斑块内凋亡细胞的数量及脂质坏死核心的面积均明显降低^[26]。以上这些显示 ERS 作为一种新发现的细胞凋亡信号转导通路, 参与 AS 病变的发展, 增加动脉粥样硬化斑块的不稳定性。

综上所述, Cathepsin S、GRO- α 和内质网应激均与动脉粥样硬化不稳定斑块的形成密切相关。深入了解它们在不稳定斑块中的具体作用, 有助于进一步掌握不稳定斑块的形成及发生机制, 及早进行干预, 从而有效预防和减少急性心血管事件的发生。

参考文献(References)

- [1] Rossi A, Franceschini L, Fusaro M, et al. Carotid atherosclerotic plaque instability in patients with acute myocardial infarction[J]. Int J Cardiol, 2006, 111(2): 263-266
- [2] Sukhova GK, Shi GP. Do cathepsins play a role in abdominal aortic aneurysm pathogenesis?[J]. Ann NY Acad Sci, 2006, 108(5): 161-169

- [3] Erbay E, Babaev VR, Mayers JR, et al. Reducing endoplasmic reticulum stress through a macrophage lipid chaperone alleviates atherosclerosis[J]. Nat Med, 2009, 15(12): 1383-1391
- [4] Moreno PR, Lodder RA, Purushothaman KR, et al. Detection of lipid pool, thin fibrous cap, and inflammatory cells in human aortic atherosclerotic plaques by near-infrared spectroscopy [J]. Circulation, 2002, 105(8): 923-927
- [5] Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease [J]. Circulation, 2005, 111(25): 3481-3488
- [6] Jormsjo S, Wuttge DM, Sirsjo A, et al. Differential expression of cysteine and aspartic proteases during progression of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice [J]. Am J Pathol, 2002, 161 (3): 939-945
- [7] Li Z, Yasuda Y, Li W, et al. Regulation of collagenase activities of human cathepsins by glycosaminoglycans [J]. J Biol Chem, 2004, 279 (7): 5470-5479
- [8] Reddy VY, Zhang QY, Weiss SJ. Pericellular mobilization of the tissue destructive cysteine proteases, cathepsin B, L, and S, by human monocyte derived macrophages [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92 (9): 3849-3853
- [9] Burns-Kurtis CL, Olzinski AR, Needle S, et al. Cathepsin S expression is up regulated following balloon angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit [J]. Cardiovasc Res, 2004, 62(3): 610-620
- [10] Sukhova GK, Zhang Y, Pan JH, et al. Deficiency of cathepsin S reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice [J]. J Clinical Invest, 2003, 111(6): 897-906
- [11] Li W, Yuan XM. Increased expression and translocation of lysosomal cathepsins contribute to macrophage apoptosis in atherogenesis [J]. Ann NY Acad Sci, 2004, 1030(12): 427-433
- [12] Lindstedt L, Lee M, Öörni K, et al. Cathepsins F and S block HDL3-induced cholesterol efflux from macrophage foam cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 312(4):1019-1024
- [13] Liu J, Ma L, Yang J, et al. Increased serum cathepsin S in patients with atherosclerosis and diabetes [J]. Atherosclerosis, 2006, 186(2): 411-419
- [14] Shi GP, Sukhova GK, Kuzuya M, et al. Deficiency of the cysteine protease cathepsin S impairs microvessel growth [J]. Circ Res, 2003, 92(5): 493-500
- [15] Papaspyridonos M, Smith A, Burnand KG, et al. Novel candidate genes in unstable areas of human atherosclerotic plaques [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(8): 1837-1844
- [16] Rodgers KJ, Watkins DJ, Miller AL, et al. Destabilizing role of cathepsin S in murine atherosclerotic plaques[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26 (4): 851-856
- [17] Shi GP, Sukhova GK, Grubb A, et al. Cystatin C deficiency in human atherosclerosis and aortic aneurysms [J]. J Clin Invest, 1999, 104(9): 1191-1197
- [18] Cheng C, Tempel D, van H R, et al. Shear stress-induced changes in atherosclerotic plaque composition are modulated by chemokines [J]. J Clin Invest, 2007, 117(3): 616-626
- [19] Huo Y, Weber C, Forlow SB, et al. The chemokine KC, but not monocyte chemoattractant protein-1, triggers monocyte arrest on early atherosclerotic endothelium [J]. J Clin Invest, 2001, 108(9): 1307-1314
- [20] Boisvert WA, Rose DM, Johnson KA, et al. Up-regulated expression of the CXCR2 ligand KC/GRO- α in atherosclerotic lesions plays a central role in macrophage accumulation and lesion progression [J]. Am J Pathol, 2006, 168(4): 1385-1395
- [21] Breland UM, Halvorsen B, Hol J, et al. A potential role of the CXCR2 chemokine GRO α in atherosclerosis and plaque destabilization: downregulatory effects of statins [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(5): 1005-1011
- [22] Feng B, Yao PM, Li Y, et al. The endoplasmic reticulum is the site of cholesterol-induced cytotoxicity in macrophages [J]. Nat Cell Biol, 2003, 5(9):781-792
- [23] Zhou J, Lhotá k S, Hilditch BA, et al. Activation of unfolded protein response occurs at all stages of atherosclerotic lesion development in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Circulation, 2005, 111 (14): 1814-1821
- [24] Tsukano H, Gotoh T, Endo M, et al. The endoplasmic reticulum stress-C/EBP homologous protein pathway-mediated apoptosis in macrophages contributes to the instability of atherosclerotic plaques [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(10): 1925-1932
- [25] Myoishi M, Hao H, Minamino T, et al. Increased endoplasmic reticulum stress in atherosclerotic plaques associated with acute coronary syndrome [J]. Circulation, 2007, 116(11): 1226-1233
- [26] Thorp E, Li G, Seimon TA, et al. Reduced apoptosis and plaque necrosis in advanced atherosclerotic lesions of Apoe^{-/-} and Ldlr^{-/-} mice lacking CHOP [J]. Cell Metabolism, 2009, 9(5): 474-481