

脂蛋白相关磷脂酶 A2 在心脑血管疾病中的研究进展

康建华 综述, 杨立顺 审校

(天津中医药大学附属北辰中医院检验科 300400)

关键词: 动脉粥样硬化; 冠心病; 卒中; 脂蛋白相关磷脂酶 A2**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.18.018**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)18-2084-03

急性心脑血管疾病是动脉粥样硬化导致器官病变的最常见类型。近年来,随着对动脉粥样硬化研究的不断深入,许多炎性因子被发现,炎性已经被公认是动脉粥样硬化发展过程中的核心因素。传统的炎性标志物如白细胞介素、肿瘤坏死因子、细胞间黏附分子、血管细胞黏附分子、纤维蛋白原、C-反应蛋白等,在促进动脉粥样硬化斑块形成中的作用逐渐被众多实验所证实^[1]。脂蛋白相关磷脂酶 A2(Lp-PLA2)作为一个新近研究的炎性反应介质,具有促进动脉粥样硬化作用,与心脑血管事件的发生有密切关系,为心脑血管疾病的诊断增添了一种新的手段,并成为治疗该类疾病新的潜在目标靶点。现将与其相关的基本理论和最新的研究进展综述如下。

1 脂蛋白相关磷脂酶 A2 生理和生化特性

1.1 脂蛋白相关磷脂酶 A2 的生物活性 脂蛋白相关磷脂酶 A2 属于磷脂酶 A2 超家族,主要由单核-巨噬细胞、T-淋巴细胞和肥大细胞合成和分泌,并受炎性介质的调节,如血小板活化因子(PAF)促进其分泌, γ 干扰素和脂多糖抑制其分泌,白细胞介素、 α 肿瘤坏死因子等不影响其分泌。Lp-PLA2 是由 441 个氨基酸组成的蛋白质,相对分子质量为 45×10^3 ,与磷脂酶 A2 家族其余成员不同的是,Lp-PLA2 不需要钙离子维持其催化活性,其具有降解血小板活化因子的活性,因此也被称为血小板活化因子乙酰水解酶(platelet-activating factor acetyl-hydro-lase, PAF-AH)。血小板活化因子有促进血小板聚集、中性粒细胞和单核细胞趋化以及促进白三烯等炎性介质释放,从而促进血栓形成和炎症反应。

Lp-PLA2 在血浆中的活性与浓度存在一定的相关性^[2]。具有活性的 Lp-PLA2 能优先水解氧化磷脂 sn-2 位上短脂酰链中的酯键而生成两种促炎介质——氧化游离脂肪酸和溶血卵磷脂^[3]。这两种炎性介质可作为单核细胞趋化因子,诱导单核细胞的活化,在动脉粥样硬化的发生、发展中具有一定的作用。

1.2 脂蛋白相关磷脂酶 A2 的血浆浓度 目前推荐将 235 $\mu\text{g/L}$ 作为与心脑血管疾病发生风险相关的临界值。此临界值并非治疗靶值而是作为临床考虑患者心脑血管事件高风险的参考值,并独立于传统风险预测因子,如高密度脂蛋白胆固醇及超敏 C-反应蛋白等。但 Lp-PLA2 质量与活性并不平行,Lp-PLA2 的酶活性而非质量,是人体血浆内 sdLDL 分子的标志物。冯立民等^[4]也对我国健康人群血清脂蛋白相关磷脂酶 A2 参考区间做了调查,检测健康成人共 683 例(男 344 例,女 339 例)血清 Lp-PLA2,根据 CLSIC28-A2 文件,判断血清 Lp-PLA2 是否需要按性别、年龄的不同而设置独立的亚组参考区间,结果健康成人血清 Lp-PLA2 水平随年龄的增加而呈升高趋势,不需设置独立的亚组参考区间,健康成人血清 Lp-PLA2 的参考区间为 220~718 U/L。中国健康成人血清 Lp-PLA2 的参考区间的建立,为血清 Lp-PLA2 在临床应用方面提供了

必要的依据。

2 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与动脉粥样硬化的关系

脂蛋白相关磷脂酶 A2 既与抗 AS 的 HDL 结合,也与促 AS 作用的 LDL 结合,因此在 AS 的研究中一直存在两种观点,即抗 AS 作用和促 AS 作用,目前就其促 AS 作用的研究较多。

2.1 脂蛋白相关磷脂酶 A2 的抗动脉粥样硬化作用 可能由于人 Lp-PLA2 氨基酸的高度糖基化阻碍了其 HDL 的结合,在人类中只有大约 10% 的 Lp-PLA2 与 HDL 结合^[5]。如果认为炎性是由 Lp-PLA2 的水解底物(如氧化的磷脂)引起的,而不是水解产物溶血卵磷脂和氧化游离脂肪酸。氧化磷脂在炎性的消退过程中通过上调亚铁血红素(凝血第 10 因子)和抑制内毒素反馈回路的方式起作用。此外在 Lp-PLA2 的流行病学研究中发现,Lp-PLA2 的活性与 HDL 呈明显的负相关性,但具体的机制还不清楚^[6-7]。动物实验发现与 HDL 结合的 Lp-PLA2 的过量表达减少了 AS 的形成,说明与 HDL 结合的 Lp-PLA2 可能具有抗 AS 作用。Lp-PLA2 能将血小板活化因子水解为无活性的溶血-血小板活化因子,故能减少炎性和血栓的形成,此外,Lp-PLA2 还被认为具有减轻血管平滑肌细胞受氧化磷脂侵害的作用。

2.2 脂蛋白相关磷脂酶 A2 的促动脉粥样硬化作用 富含载脂蛋白 B 的脂蛋白(特别是 LDL)在动脉血管内皮下的贮留及之后的氧化修饰是 AS 起始的一个关键步骤,这对 Lp-PLA2 而言是有重要意义的^[8]。结合在 LDL 上的 Lp-PLA2 随 LDL 被运送到了血管壁上易受损伤的区域,在 LDL 生成氧化磷脂之后,Lp-PLA2 就迅速将其水解生成有生物活性的促炎物质(lyso-PC 和 ox-NEFA)^[9]。这些促炎介质在血管损伤的区段溶解渗入,通过几条细胞途径引发促 AS 效应。这些效应包括对黏附分子和化学增殖素表达的正调节,诱导炎性细胞因子(如白细胞的活化和分泌)、氧化应激、趋化作用、细胞的渗透性增高以及细胞凋亡等;同时促进单核细胞由管腔向内膜聚集随后引起分化的巨噬细胞的清除反应形成泡沫细胞以及血管壁中的平滑肌增生,坏死的泡沫细胞聚集成 AS 斑块。细胞因子和蛋白酶降解纤维帽的平滑肌细胞和胶原基质,使斑块变得脆弱、破裂和脱落,最终导致血栓形成和心脑血管事件的发生。关于动脉内膜中 Lp-PLA2 与炎性介质的正反馈回路理论又被提出:Lp-PLA2 由活化的内膜粒细胞(主要是巨噬细胞)分泌,在此部位,Lp-PLA2 将 ox-LDL 水解成 lyso-PC 和 ox-NEFA,而这些促 AS 作用的产物再进一步活化粒细胞,导致产生更多 Lp-PLA2,最终使循环血液黏稠和促炎物质的持续正调节,从而促进了粥样斑块的进展和稳定性的减弱。Lp-PLA2 第一次被认为是独立于传统的心脑血管危险因素和 C-反应蛋白的一个新的危险因素。之后的流行病学研究均显示 Lp-PLA2 活性升高与心脑血管疾病独立相关,支持了 Lp-PLA2 的促 AS 作

用^[10]。此外该基因的第 11 号外显子上发生 Ala379Val 变异的纯合子人群患心血管疾病的概率明显降低。之后又有相关研究证实了 Ala379Val 变异对冠心病发展过程的抑制和保护作用,这些依据从单核苷酸多态性的角度间接证明了 Lp-PLA2 的促 AS 作用。

3 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠心病的关系

许多流行病学和临床前瞻性研究显示,Lp-PLA2 是评价冠心病风险的一个独立的危险预测因子。Marshall 等^[11]将近年来的 Lp-PLA2 相关临床实验进行分析,对超过 25 个前瞻性的流行病学研究已经证明升高的 Lp-PLA2 水平与未来的冠状动脉事件和中风的关系^[12]。12 个前瞻性研究中的 11 个已经显示升高的 Lp-PLA2 水平与主要的冠状动脉或心血管事件有统计学意义,13 个前瞻性研究中的 12 个也提示 Lp-PLA2 与再发的冠状动脉及心血管事件有统计学意义,以及 6 个研究显示 Lp-PLA2 与中风的一定联系。实验分析 Lp-PLA2 显示出了在中高危人群作为附加于传统的冠状动脉血管(CV)风险评估是有用的。朱雁洲等^[13]临床观察研究了急性冠状动脉综合征、稳定型心绞痛及非冠心病患者 Lp-PLA2、超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)及血管内超声虚拟组织学特征,结果显示血浆 Lp-PLA2 和 hs-CRP 水平分别与粥样斑块脂质坏死组织面积百分比呈正相关,与斑块重塑指数呈显著正相关,从而认为血浆 Lp-PLA2 可作为易损斑块的炎性标志物,其价值与 hs-CRP 相似或更优^[13]。Robins 等^[14]在 VA-HIT 研究中将低的高密度脂蛋白胆固醇(平均值 32 mg/dL)和低密度脂蛋白胆固醇(平均值 110 mg/dL)的 1 451 例男性随机分为安慰剂组(725 例)和吉非贝齐治疗组(726 例),随访 6~7 个月,发现 Lp-PLA2 升高能增加心肌梗死、中风或冠心病的死亡率(Ptrend=0.03)。在 COX 模型下,校正了大多数冠状动脉血管危险因素,Lp-PLA2 每 1 个标准差的增加与 CV 事件的增加有显著的相关性。

Lp-PLA2 还可以反映冠心病病情的严重程度,对预后有一定的预测价值。胡威威和李海涛^[15]研究 144 例患者根据冠状动脉造影结果分为冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病, $n=96$)组和健康对照组($n=48$),冠心病患者再根据临床症状、病变支数、Gensini 积分分组,进行对比分析。结果冠心病患者血清 Lp-PLA2 水平显著高于健康对照组($P<0.01$);急性心肌梗死(AMI)组 Lp-PLA2 水平显著高于稳定型心绞痛(SAP)组和不稳定型心绞痛(UAP)组(均 $P<0.01$);不同病变支数组和 Gensini 积分组之间 Lp-PLA2 水平差异有统计学意义(均 $P<0.01$)。表明 Lp-PLA2 是冠心病的独立危险因素之一,血清 Lp-PLA2 水平能反映冠状动脉粥样斑块的稳定性及冠状动脉病变的严重程度。

4 脂蛋白相关磷脂酶 A2 可能是缺血性卒中独立的预测因子

对缺血性脑卒中评估价值目前大样本研究表明,Lp-PLA2 为心血管危险独立的预测因子^[16]。缺血性脑血管病与冠心病有相似的病理、生理学基础,Lp-PLA2 与缺血性脑血管病的关系成为近年来国内外研究热点^[17]。Oei 等^[18]的前瞻性病例队列研究,目的是评估 7 983 例大于或等于 55 岁的鹿特丹市郊居民慢性致残疾病的发生率和危险因素。随机抽取 1 822 例进行 Lp-PLA2 活性测定,评估 Lp-PLA2 活性与冠心病事件及缺血性卒中发生率的关系。平均随访 7.2 年,有 308 例发生冠心病;平均随访 6.4 年,有 110 例缺血性卒中。COX 风险比例回归模型分析,调整传统危险因素和超敏 C-反应蛋白后,位于 Lp-PLA2 活性最高四分位数者与最低四分位数者相比,发

生冠心病事件及缺血性卒中的风险显著增加,首次证明了 Lp-PLA2 是缺血性卒中新的独立预测指标。Collaboration 等^[19]以 467 例初次发生缺血性卒中的患者为研究对象,评估 hs-CRP 和 Lp-PLA2 水平是否可预测卒中复发、其他血管事件和死亡危险。研究提示,对于首次发生缺血性卒中的患者,hs-CRP 水平与卒中严重程度和死亡危险密切相关,而 Lp-PLA2 可很好地预测卒中复发风险。国外有学者也对 Lp-PLA2 和 C-反应蛋白水平与传统危险因素进行了评价以探讨其与缺血性卒中的关系,在识别缺血性卒中风险增加的中年患者中,Lp-PLA2 和 CRP 水平可能是传统危险因素的补充。

另外梁江红等^[20]选择 ACI 患者(128 例)和未卒中对照者(88 例)为研究对象,检测血浆 Lp-PLA2 的水平。结果 ACI 患者血浆 Lp-PLA2 水平升高,其与神经功能缺损程度相关,而与脑梗死体积无关。提示外周血浆 Lp-PLA2 水平,不能作为预测脑梗死体积大小的指标。其原因可能是,病初脑梗死灶体积的大小,与血管梗死程度、血管支配区域以及是否存在侧支循环有关。

一些流行病学研究发现,Lp-PLA2 是动脉粥样硬化性脑梗死的一个独立风险预测因子,在有或无症状的颈动脉内膜斑块形成的患者中行颈动脉内膜切除术,对斑块中的 Lp-PLA2 进行检测发现,在有症状的患者中其水平明显高于无症状的患者^[21-22]。以上研究表明,Lp-PLA2 是一种与脑血管病有关的炎性标志物,具有促进 AS 的作用,能增加缺血性卒中风险。

5 脂蛋白相关磷脂酶 A2 的实验室检测

有关 Lp-PLA2 活性的测定方法,目前国内外主要采用 HPLC 法、放射活度测定法和酶联免疫试剂盒法,通过测定血小板活化因子(PAF)被 Lp-PLA2 水解的速率从而计算 Lp-PLA2 的活性。HPLC 法灵敏度低,容易受到内源性物质的干扰,放射活度测定法主要存在试剂有放射性污染、准确性较低、重复性差等问题,而酶转化试剂盒法主要依赖进口试剂盒,试剂按人份计算,检测成本昂贵且检测质量不高。为了满足多方位的新药筛选和临床冠心病与缺血性卒中风险预测研究的需要,李宁等^[23]采用液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)技术建立了一种准确可靠、无放射性污染和高通量的检测方法。LC-MS/MS 法是一种近年来发展迅速且应用前景广阔的分析检测技术,具有预处理操作简便、方法专一可靠、灵敏度高和高通量等特点,已成为目前国内外生物样品中小分子化合物定量测定的标准方法,能为临床研究提供准确可靠的数据。为临床冠心病与缺血性卒中风险预测等相关的研究,以及心血管疾病药物筛选提供一种高效的检测手段。

临床还未见有免疫透射比浊法的 Lp-PLA2 试剂应用于生化分析仪,实现快速小样本的测定。随着科学技术的飞速发展,基因组、蛋白质组和芯片技术的成熟,相信芯片等新检测技术会在临床应用于患者样本的检测,以辅助患者的诊断和治疗^[24]。

6 脂蛋白相关磷脂酶 A2 抑制剂与动脉粥样硬化的治疗

越来越多的依据表明 Lp-PLA2 抑制剂的抗 AS 作用,Lp-PLA2 特异性抑制剂的研制和应用逐渐发展起来。Lp-PLA2 的水平被包括他汀类、烟酸、非诺贝特、 ω -3 脂肪酸和依替米贝的降脂治疗所减轻,那么,专门的 Lp-PLA2 抑制剂究竟在治疗中扮演什么作用?作为一种区别于传统的降脂策略的新的治疗方法,以 Lp-PLA2 作为治疗靶位的研究有着广阔的前景。

Lp-PLA2 抑制剂主要有人工合成的单环 β -内酰胺类、噻啉酮类及其衍生物、天然微生物来源的化合物以及最近的脲

衍生物类抑制剂。而最近被研究较多的 Lp-PLA2 抑制剂是 darapladib。Serruys 等^[25]将冠脉造影证实的 330 例 CHD 患者随机分为治疗组(175 例)与对照组(155 例)观察冠状动脉粥样斑块与 hs-CRP, 治疗组予口服 Lp-PLA2 抑制剂 darapladib 160 mg/d, 对照组予安慰剂口服治疗。12 个月后的随访显示 Lp-PLA2 抑制剂 darapladib 阻止了坏死中心的扩大, 是斑块易损性的一个主要决定性因素。Wilensky 等^[26]的研究也显示 Lp-PLA2 抑制剂 darapladib 能改善冠状动脉粥样硬化病变程度。由此可见, Lp-PLA2 在治疗动脉粥样硬化和预防心脑血管疾病方面的潜在价值有待进一步研究。

7 展 望

Lp-PLA2 作为一种独立的炎性因子, 具有促进 AS 的作用。美国心脏病协会和国家胆固醇教育计划提出, Lp-PLA2 可以作为目前 CHD 最好的预测因子^[27]。在未来的临床决策中可能成为一个独立的检测指标。Lp-PLA2 作为一个 AS 治疗的新靶点, 将对 AS 的预防和治疗具有广阔的应用前景, 降低体内 Lp-PLA2 水平和活性将可能是治疗冠状动脉粥样硬化和预防心脑血管疾病的新领域, 但仍需要进一步研究, 更需要明确其生物学作用机制。

参考文献

- [1] 潘秀贤, 罗林玲, 王维伟, 等. 超敏 C-反应蛋白与血脂检测在心脑血管疾病诊断中的作用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8): 859-860.
- [2] Thompson A, Gao P, Jimth G, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies[J]. Lancet, 2010, 375(9725): 1536-1544.
- [3] Davis B, Koster G, Douet LJ, et al. Electrospray ionization mass spectrometry identifies substrates and products of lipoprotein-associated phospholipase A2 in oxidized human low density lipoprotein[J]. J Biol Chem, 2008, 283(10): 6428-6437.
- [4] 冯立民, 陈瑜, 金晶. 健康人群血清脂蛋白相关磷脂酶 A2 参考区间调查[J]. 浙江检验医学, 2009, 7(4): 25-26.
- [5] Vinson A, Mahaney MC, Cox LA, et al. Apleiotropic QT Lon 2p influences serum Lp-PLA2 activity and LDL cholesterol concentration in a baboon model for the genetics of atherosclerosis risk factors[J]. Atherosclerosis, 2008, 196(2): 667-673.
- [6] Persson M, Nilsson JK, Nelson JJ, et al. The epidemiology of Lp-PLA2: distribution and correlation with cardiovascular risk factors in a population-based cohort[J]. Atherosclerosis, 2007, 190(2): 388-396.
- [7] Brilakis ES, Khera A, McGuire DK, et al. Influence of race and sex on lipoprotein-associated phospholipase A2 levels: observations from the Dallas heart study[J]. Atherosclerosis, 2008, 199(1): 110-115.
- [8] 杨柳, 王智. 脑血管病患者血脂、脂蛋白和载脂蛋白含量的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 297-298.
- [9] Lavi S, Connell JP, Prasad A, et al. Local production of lipoprotein-associated phospholipase A2 and lysophosphatidylcholine in the coronary circulation: association with early coronary atherosclerosis and endothelial dysfunction in humans[J]. Circulation, 2007, 115(21): 715-721.
- [10] Mckel M, Müller R, Vollert JO, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 for early risk stratification in patients with suspected acute coronary syndrome: a multi-marker approach[J]. Clin Res Cardiol, 2007, 96(9): 604-612.
- [11] Marshall AC, Peter HJ, Michael HD. Review of the evidence for the clinical utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 as a cardiovascular risk marker[J]. The American Journal of Cardiology, 2008, 101(61): 41-50.
- [12] 刘军妮, 徐冬玲, 杜贻萌, 等. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与易损斑块的相关性研究[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(4): 669-675.
- [13] 朱雁洲, 陈良龙, 罗育坤, 等. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与血管内超声虚拟组织学斑块特征的关系及临床意义[J]. 临床心血管病杂志, 2010, 26(4): 287-290.
- [14] Robins SJ, Collins D, Nelson JJ, et al. Cardiovascular events with increased lipoprotein-associated phospholipase A(2) and low high-density lipoprotein-cholesterol: the veterans affairs HDL intervention trial[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(17): 1172-1178.
- [15] 胡威威, 李海涛. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与冠状动脉粥样硬化的进展[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2010, 3(2): 79-82.
- [16] Khakpour H, Frishman WH. Lipoprotein-associated phospholipase A2: an independent predictor of cardiovascular risk and a novel target for immunomodulation therapy[J]. Cardiol Rev, 2009, 17(5): 222-229.
- [17] 陆胜, 季雄娟. 脑梗死患者血清同型半胱氨酸与血浆 D-二聚体水平的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 641-642.
- [18] Oei HH, Tabatabaei FA, Hofman A, et al. The association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and coronary calcification[J]. Atherosclerosis, 2007, 182(1): 169-173.
- [19] Collaboration A, Ballantyne C, Cushman M, et al. The Lp-PLA2 Studies Collaborative meta-analysis of individual participant data from observational studies of Lp-PLA2 and cardiovascular diseases[J]. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2007, 14(1): 3-11.
- [20] 梁江红, 魏麗云, 何亚丽. 动脉硬化性脑梗死患者血浆 Lp-PLA2 水平及临床意义[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(14): 2264-2267.
- [21] Jenny NS, Solomon C, Cushman M, et al. Lipoprotein-associated phospholipase A(2) [Lp-PLA(2)] and risk of cardiovascular disease in older adults: results from the cardiovascular health study[J]. Atherosclerosis, 2010, 209(2): 528-532.
- [22] Mannheim D, Herrmann J, Versari D, et al. Enhanced expression of Lp-PLA2 and lysophosphatidylcholine in symptomatic carotid atherosclerotic plaques[J]. Stroke, 2008, 39(5): 1448-1455.
- [23] 李宁, 李水军, 王文义, 等. 用液相色谱-串联质谱法测定人血浆中血小板活化因子[J]. 药学服务与研究, 2008, 8(2): 618-619.
- [24] 马明坤. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 及其与冠心病相关性的研究进展[J]. 检验医学, 2010, 25(9): 740-743.
- [25] Serruys PW, García-García HM, Buzman P, et al. Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A(2) inhibitor darapladib on human coronary atherosclerotic plaque[J]. Circulation, 2008, 118(19): 1172-1182.
- [26] Wilensky RL, Shi Y, Mohler ER, et al. Inhibition of lipoprotein-associated phospholipase A2 reduces complex coronary atherosclerotic plaque development[J]. Nat Med, 2008, 14(9): 1059-1066.
- [27] 蔡人权, 叶平. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 对预测冠心病事件的临床价值[J]. 放射免疫学杂志, 2010, 23(2): 197-199.

(收稿日期: 2011-08-20)