

亲环素 A 在动脉粥样硬化中的作用

范 骏 陶 蓉

【摘要】 亲环素 A(cyclophilin A, CyPA) 是血管平滑肌细胞和巨噬细胞在受到活性氧簇的刺激后分泌的一种蛋白质。研究表明, CyPA 直接参与血管的氧化与炎症反应, 介导炎症细胞的迁移及血管平滑肌细胞的增生, 并且在动脉粥样硬化斑块的产生与破裂过程中发挥重要作用。该文就 CyPA 在动脉粥样硬化中的作用及其机制作一介绍。

【关键词】 亲环素 A; 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子; 动脉粥样硬化; 炎症

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2015.06.009

研究表明, 血管的完整性直接影响动脉粥样硬化的发生与发展, 而内皮细胞与血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs) 在该过程中发挥重要作用。在刺激物的作用下, VSMCs 会分泌生长因子等活性物质, 损伤内皮细胞, 介导炎症或自身增殖, 导致血管壁重构和疾病发生。

亲环素 A(cyclophilin A, CyPA) 是 VSMCs 在受到活性氧簇(reactive oxygen species, ROS) 的刺激后分泌的一种相对分子质量约 20 000 的伴侣蛋白。在细胞内, CyPA 主要发挥肽基脯氨酰顺反异构酶作用, 参与细胞内信号转导、蛋白质运输和蛋白质调节等过程; 被分泌至细胞外后, CyPA 能直接或间接介导血管的氧化与炎症反应, 促进炎症细胞的迁移及 VSMCs 的增生, 并能与细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN) 受体结合, 导致基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP) 活化, 进而促进血管内膜增厚、粥样斑块产生或破裂, 其与动脉粥样硬化的发生、发展密切相关^[1]。

1 概述

CyPA 于 1984 年被发现, 它广泛表达于人体器官, 占细胞内蛋白总量的 0.1%~0.4%^[2]。研究表明, CyPA 在机体处于炎症状态如类风湿性关节炎、败血症、哮喘及自身免疫性疾病时分泌增加。多种细胞如脂多糖或高血糖刺激的巨噬细胞和泡沫细胞, 以及 VSMCs、内皮细胞等均能分泌 CyPA, 且分泌量随着氧化应激和血管损伤程度的增加而增

加^[3-5]。在 ROS 的作用下, VSMCs 产生 CyPA, 并经囊泡形成、囊泡运输、与细胞膜融合等过程, 分泌至细胞外。这一途径需肌球蛋白 II 和肌动蛋白细胞骨架参与, 受到囊泡相关膜蛋白的影响, 并主要经过 Rho GTP 酶调节。Rho GTP 酶是重要的信号通路调节因子, 能调节肌球蛋白 II 的活性和肌动蛋白重构, 在分泌过程中发挥重要作用^[6]。Suzuki 等^[6]研究表明, 他汀类药物如辛伐他汀能够通过抑制 GTP 酶的异戊二烯化, 抑制 CyPA 分泌。

2 CyPA 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是一种慢性炎症。多项体内外实验证实, CyPA 能够导致血管腔的改变和管壁的破坏, 促进动脉粥样硬化。CyPA 在动脉粥样硬化中的主要作用机制包括: 产生 ROS 促进氧化损伤、介导炎症反应、刺激 VSMCs 增生、通过 EMMPRIN 激活 MMP 促进细胞外基质溶解等。

2.1 CyPA 促进氧化与炎症反应

研究证实, 在冠心病患者中, 尤其是在合并 2 型糖尿病的患者中, CyPA 作为促炎、促氧化因子参与动脉粥样硬化形成, 发挥促斑块的作用^[7]。动物实验发现, CyPA 大量存在于载脂蛋白 E 基因敲除(ApoE^{-/-}) 小鼠的粥样硬化斑块中, 并能促进内皮细胞炎症反应, 导致斑块进展^[8]。Satoh 等^[9]对 CyPA 基因敲除小鼠、野生型小鼠以及 CyPA 过表达小鼠进行了颈动脉结扎实验。2 周后发现, CyPA 不表达时, 炎症因子如白细胞介素(IL)-6 和血管壁中聚集的炎症细胞均明显减少; 而 CyPA 过表达时, 炎症细胞的聚集明显增加。这证明了 CyPA 能加重血管壁的炎症反应, 并且这一作用通过增加炎症因子和炎症细胞实现。Nigro 等^[10]的研究同样证实了 CyPA 具有促炎、促动脉粥样硬化的作用。研究者

给予 ApoE^{-/-} 和 ApoE^{-/-} CyPA^{-/-} 小鼠同时给予高胆固醇饮食,16 周后发现,前者较后者发生了更严重的粥样硬化斑块,且 CyPA^{-/-} 小鼠低密度脂蛋白(LDL)的摄取、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)的表达均较低,而内皮型一氧化氮合酶(eNOS)水平增高。推测 CyPA 可能通过调节血管壁上清道夫受体表达,增加巨噬细胞对 LDL 的摄取,促进脂质代谢产物沉积和泡沫细胞的产生,从而导致斑块形成;并能通过对转录因子 Kruppel 样因子 2(KLF2)的转录抑制,减少 eNOS 的表达,促进血小板聚集和血管收缩,加重损伤。

CyPA 的促炎作用主要为直接趋化炎症细胞,介导炎症细胞迁移,促进内皮细胞发生炎症反应,影响内皮细胞功能,以及产生 ROS 间接促进血管壁炎症。(1)CyPA 是一种有效的趋化因子,它能与炎症细胞表面的 EMMPRIN 结合,并直接趋化单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和 T 淋巴细胞等^[11]。Damsker 等^[12]的实验证实,炎症反应时活化的 CD4⁺ T 细胞较静息细胞表达更高水平的 EMMPRIN,并且 CyPA 介导的 T 细胞迁移仅依赖于其与 EMMPRIN 的结合。(2) CyPA 与 EMMPRIN 结合后,通过表达细胞外信号调节激酶(ERK)1/2,激活核因子- κ B(NF- κ B)依赖的途径,使炎症细胞表达更多的细胞因子及趋化因子,这些因子包括肿瘤坏死因子(TNF)- α 、单核细胞趋化因子(MCP)-1、IL-8、IL-1 β 、MMP 等,进一步加重炎症反应^[13]。增多的 MMP 还能水解基质蛋白,促进炎症细胞的迁移和聚集,更利于炎症进展^[14]。(3)CyPA 作用于血管内皮细胞,通过增加 VCAM 表达,促进内皮细胞的活化和炎症的发生,进而影响其功能,介导动脉粥样硬化的早期进展,并促进内皮细胞凋亡^[15]。Jin 等^[8]的体外实验表明,CyPA 能激活人脐静脉内皮细胞丝裂原,活化 ERK1/2、氨基末端激酶(JNK)和丝裂原激活蛋白激酶 p38 等蛋白激酶,还能引起核因子- κ B 抑制因子- α (I κ B- α)磷酸化,并增加 NF- κ B 活性,激活内皮细胞的炎症通路,启动粥样硬化的早期进程。

CyPA 与 ROS 的产生是恶性循环过程。在氧化应激状态或氧化诱导物如血管紧张素 II(Ang II)、机械压力和环境因素等作用下,增多的 ROS 能刺激 VSMCs 分泌更多的 CyPA,而细胞外的 CyPA 能激活 VSMCs 合成 ERK1/2、丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)、酪氨酸激酶(JAK)等因子,进一步

增加 ROS 的含量^[5]。体内过多的 ROS 作用于细胞能导致脂质过氧化、蛋白质氧化失活以及 DNA 损伤突变等^[16]。随着 ROS 的增加,机体的氧化还原反应被破坏,进而促进 LDL 氧化和泡沫细胞形成,使斑块形成及进展^[17]。同时,VSMCs 中增多的 ROS 能介导生长分化、细胞迁移和凋亡以及炎症因子分泌等病理过程,促进血管壁炎症反应,并增加 VCAM 表达,导致斑块进展,还可通过诱导细胞凋亡和成骨样表型转换,促进钙化斑块形成,导致血栓形成、斑块破裂等^[18]。

乙酰化的 CyPA 较未修饰的 CyPA 具有更强的促炎症反应作用^[13]。有效抑制 CyPA 乙酰化,可能改善动脉粥样硬化患者的预后。

2.2 CyPA 促进 VSMCs 增生

CyPA 由 VSMCs 产生,能反作用于 VSMCs,导致其增生、肥大、核内复制以及凋亡等,引起内膜病变。Sato 等^[9]发现,在颈动脉结扎后,CyPA 基因敲除的小鼠较野生型小鼠的 VSMCs 增生降低,而 CyPA 过表达的小鼠体内 VSMCs 增生明显,这表明 CyPA 在 VSMCs 增生中发挥了重要作用。

CyPA 除能直接作用于 VSMCs,激活 ERK1/2、促进 DNA 复制、介导其增生、抑制凋亡之外,还能通过还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶(NOX)如亚基 p47 的转运,产生 ROS,从而间接促进 DNA 复制、激活 ERK1/2 和 p38 等激酶,使 VSMCs 中蛋白合成加快,细胞生长及炎症反应加剧,促进 VSMCs 增生。

2.3 CyPA 促进细胞外基质溶解

EMMPRIN 表达于粥样硬化斑块中的巨噬细胞及 VSMCs 表面,是免疫球蛋白超家族中的一种糖蛋白。CyPA 与 EMMPRIN 结合后,能激活产生 MMP,而 MMP 能溶解细胞外基质,促进胶原纤维和弹性纤维的降解,导致斑块进展和斑块破裂^[19]。

CyPA 在富含巨噬细胞和泡沫细胞的不稳定斑块中高度表达。Seizer 等^[4]进行的体外实验发现,在 CD34⁺ 祖细胞向泡沫细胞分化的过程中,EMMPRIN 表达上调,CyPA 分泌增加,并且 CyPA/EMMPRIN 通路的活化会促进巨噬细胞或泡沫细胞中膜性基质金属蛋白酶(MT1-MMP)、MMP-9 和巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)产生,刺激 NF- κ B 相关的细胞因子,进一步破坏细胞外基质,使粥样斑块更易破裂。因此,在体外泡沫细胞的形成过程中,CyPA 与 EMMPRIN 的结合发挥了

重要作用。

表达于 VSMCs 表面的 EMMPRIN 与 CyPA 结合后,主要促进 MMP-2 的表达,MMP-2 能介导 VSMCs 的迁移和增殖,参与纤维帽的形成。MMP-2 敲除小鼠的斑块面积较未敲除小鼠更小。然而,亦有研究发现,MMP-2 一方面能促进纤维化,另一方面又具有破坏细胞外基质的功能,故 MMP-2 在斑块破裂中的具体作用仍有待进一步验证^[20]。

2.4 CyPA 作为动脉粥样硬化的治疗靶点

临床研究发现,冠心病及心肌梗死患者的 CyPA 水平明显升高,可单独或联合应用其他标志物对冠心病患者进行心肌梗死风险评估及预后分析^[21-22],并为药物治疗提供新靶点。

虽然体外实验常用环孢菌素 A (CsA) 阻断 CyPA 功能,但是由于 CsA 具有免疫抑制作用,并不是理想的治疗药物^[23]。NIM811 是一种不具有免疫抑制作用的 CsA 类似物,能有效地与胞内外 CyPA 结合,抑制其活性,且不会影响钙调磷酸酶的活性,但是 NIM811 可能通过细胞膜与胞内的亲环素结合,并抑制其活性,产生相应的作用^[24]。新研发的 CsA 类似物不会透过细胞膜,能与细胞外的亲环蛋白特异性结合,已被成功用于小鼠过敏性肺炎模型,但其具体作用有待证实。此外,有研究者发现,辛伐他汀能显著降低 VSMCs 中 CyPA 的分泌^[6],CyPA 也可作为他汀治疗的靶点,发挥其稳定斑块的作用。

3 小结

CyPA 及其受体在动脉粥样硬化发生、发展中的作用机制仍有待深入研究,以研发效果更好、不良反应更少的 CyPA 或 EMMPRIN 阻断剂。此外,亲环素家族中的其他蛋白也可能具有与 CyPA 相似的作用。

参 考 文 献

- [1] Seizer P, Gawaz M, May AE. Cyclophilin A and EMMPRIN (CD147) in cardiovascular diseases [J]. Cardiovasc Res, 2014, 102(1): 17-23.
- [2] Handschumacher RE, Harding MW, Rice J, et al. Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A [J]. Science, 1984, 226(4674): 544-547.
- [3] Ramachandran S, Venugopal A, Sathisha K, et al. Proteomic profiling of high glucose primed monocytes identifies cyclophilin A as a potential secretory marker of inflammation in type 2 diabetes [J]. Proteomics, 2012, 12 (18): 2808-2821.

- [4] Seizer P, Schönberger T, Schött M, et al. EMMPRIN and its ligand cyclophilin A regulate MT1-MMP, MMP-9 and M-CSF during foam cell formation [J]. Atherosclerosis, 2010, 209(1): 51-57.
- [5] Jin ZG, Melaragno MG, Liao DF, et al. Cyclophilin A is a secreted growth factor induced by oxidative stress [J]. Circ Res, 2000, 87(9): 789-796.
- [6] Suzuki J, Jin ZG, Meoli DF, et al. Cyclophilin A is secreted by a vesicular pathway in vascular smooth muscle cells [J]. Circ Res, 2006, 98(6): 811-817.
- [7] Ramachandran S, Kartha CC. Cyclophilin-A: a potential screening marker for vascular disease in type-2 diabetes [J]. Can J Physiol Pharmacol, 2012, 90(8): 1005-1015.
- [8] Jin ZG, Lungu AO, Xie L, et al. Cyclophilin A is a proinflammatory cytokine that activates endothelial cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004, 24(7): 1186-1191.
- [9] Satoh K, Matoba T, Suzuki J, et al. Cyclophilin A mediates vascular remodeling by promoting inflammation and vascular smooth muscle cell proliferation [J]. Circulation, 2008, 117 (24): 3088-3098.
- [10] Nigro P, Satoh K, O'Dell MR, et al. Cyclophilin A is an inflammatory mediator that promotes atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. J Exp Med, 2011, 208 (1): 53-66.
- [11] Song F, Zhang X, Ren XB, et al. CyclophilinA (CyPA) induces chemotaxis independent of its peptidylprolyl cis-trans isomerase activity: direct binding between CyPA and the ectodomain of CD147 [J]. J Biol Chem, 2011, 286(10): 8197-8203.
- [12] Damsker JM, Bukrinsky MI, Constant SL. Preferential chemotaxis of activated human CD4⁺ T cells by extracellular cyclophilin A [J]. J Leukoc Biol, 2007, 82(3): 613-618.
- [13] Soe NN, Sowden M, Baskaran P, et al. Acetylation of cyclophilin A is required for its secretion and vascular cell activation [J]. Cardiovasc Res, 2014, 101(3): 444-453.
- [14] Schmidt R, Bültmann A, Fischel S, et al. Extracellular cyclophilin-A stimulates ERK1/2 phosphorylation in a cell-dependent manner but broadly stimulates nuclear factor kappa B [J]. Circ Res, 2008, 102(3): 302-309.
- [15] Rezzani R, Favero G, Stacchiotti A, et al. Endothelial and vascular smooth muscle cell dysfunction mediated by cyclophilin A and the atheroprotective effects of melatonin [J]. Life Sci, 2013, 92(17-19): 875-882.
- [16] Shimokawa H. Reactive oxygen species promote vascular smooth muscle cell proliferation [J]. Circ Res, 2013, 113 (9): 1040-1042.
- [17] Satoh K, Godo S, Saito H, et al. Dual roles of vascular-derived reactive oxygen species—with a special reference to hydrogen peroxide and cyclophilin A [J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 73: 50-56.

- [18] 熊普熹, 刘晓红, 韩 林. 活性氧参与心血管钙化发病机制的研究进展 [J]. 国际心血管病杂志, 2014, 41(5): 291-293.
- [19] 石 健, 侯静波. 基质金属蛋白酶与动脉粥样硬化关系研究新进展 [J]. 国际心血管病杂志, 2013, 40(1): 25-27.
- [20] Newby AC. Metalloproteinases promote plaque rupture and myocardial infarction: A persuasive concept waiting for clinical translation [J]. Matrix Biol, 2015, 44-46: 157-166.
- [21] Satoh K, Fukumoto Y, Sugimura K, et al. Plasma cyclophilin A is a novel biomarker for coronary artery disease [J]. Circ J, 2013, 77(2): 447-455.
- [22] Yin X, Subramanian S, Hwang SJ, et al. Protein biomarkers of new-onset cardiovascular disease: prospective study from

the systems approach to biomarker research in cardiovascular disease initiative [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(4): 939-945.

- [23] Satoh K, Shimokawa H, Berk BC. Cyclophilin A: promising new target in cardiovascular therapy [J]. Circ J, 2010, 74(11): 2249-2256.
- [24] Seizer P, Klingel K, Sauter M, et al. Cyclophilin A affects inflammation, virus elimination and myocardial fibrosis in coxsackievirus B3-induced myocarditis [J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 53(1): 6-14.

(收稿: 2015-05-23 修回: 2015-06-23)

(本文编辑: 梁英超)

**To cure sometimes,
to relieve often,
to comfort always.**

—Edward Livingston Trudeau

有时，去治愈，
常常，去帮助，
总是，去安慰。

——爱德华·利文斯顿·特鲁多

