

MMPs 在动脉粥样硬化斑块局部的调控机制

王汉伟综述 张俊峰审校

【摘要】 基质金属蛋白酶(MMPs)在动脉粥样硬化的发生、发展过程中扮演重要角色,不仅涉及斑块局部炎性细胞浸润、血管平滑肌细胞迁移,还可通过降解细胞外基质促使斑块破裂。动脉粥样硬化斑块局部 MMPs 的调控机制十分复杂,包括转录、翻译、酶原激活及激活后调节等多个方面。

【关键词】 基质金属蛋白酶;动脉粥样硬化;斑块;调控机制

基质金属蛋白酶(MMPs)由 23 个结构相似的蛋白酶家族组成,根据它们的主要结构和亚细胞定位为:(1)胶原酶,MMP-1、-8 和 -13;(2)白明胶酶,MMP-2、-9;(3)基质分解酶,MMP-3、-10、-11;(4)膜型(MT)基质金属蛋白酶,MMP-14、-15、-16、-17、-24、-25;(5)基质降解酶包括 MMP-7、-26^[1,2]。在动脉粥样硬化(AS)斑块局部活化的 MMPs,可特异地结合并降解细胞外基质(ECM),从而削弱纤维帽,导致斑块的破裂。抑制 MMPs 活性,可提高 AS 斑块的稳定性,减少临床事件的发生^[3,4]。

1 MMPs 与 AS 斑块的关系

1.1 炎性细胞浸润

Parks 等^[5]证实,MMP-2、-9 参与 AS 斑块局部炎性细胞的浸润。在此过程中,MMPs 对 AS 斑块内皮细胞基底膜的降解,可导致内皮细胞防御功能下降,从而导致血管壁的损伤。炎性细胞因子可显著提高 MMPs 的表达和活性,MMPs 则通过蛋白水解,又提高了炎性细胞因子的生物活性,两者形成一个正反馈环路,从而促进了炎性细胞的浸润。

1.2 斑块稳定性

AS 斑块纤维帽的主要成分是胶原纤维和平滑肌细胞,MMPs 可降解胶原纤维,削弱纤维帽,从而影响 AS 斑块稳定。Lancelot 等^[6]证实,MMP-1、-2、-3、-7、-9 可在人颈动脉斑块局部表达,其中 MMP-3 显著表达。MMP-2、-9 在 AS 不稳定斑块

局部呈过表达^[7]。在缺乏 MMP-9 的载脂蛋白 E 基因敲除小鼠模型中,AS 斑块的损害程度明显减少^[8]。Inokubo 等^[9]检测急性冠脉综合征(ACS)、稳定型心绞痛和正常对照组外周血 MMPs 后发现,ACS 患者的 MMP-2、-9 的水平均明显增高,也间接证实了 MMPs 与 AS 不稳定斑块的关系。

1.3 血管平滑肌细胞迁移

在 AS 斑块局部的各个时期,都可以见到血管平滑肌细胞(VSMCs)的增生,随着病变的进展,VSMCs 逐渐成为 AS 斑块的主要细胞。内皮损伤能够诱导 VSMCs 分化,同时提高 MMPs 的表达并增加其活性。AS 发生时,氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)、局部缺氧、瘦素及斑块局部产生的因子(如:IL-1、TNF- α),均促使 VSMCs 和内皮细胞分泌 MMP-2、-9。同时,VSMCs 迁移到内膜区增殖并形成斑块,内膜区的 MMPs 结合并降解 ECM,加速 AS 斑块的破裂^[10]。

2 AS 斑块局部 MMPs 的调控

2.1 MMPs 转录水平的调节

在 MMPs 的合成过程中,mRNA 的转录受到生长因子、细胞因子和激素等诸多因素的调节。肿瘤坏死因子 α 、巨噬细胞集落刺激因子、干扰素 B、转化生长因子 d 等,促进 MMPs mRNA 的转录;而转化生长因子 3、地塞米松、干扰素-7 等抑制 MMPs mRNA 的转录。MMP-2 mRNA 水平受缺氧时间长短调节,内皮细胞短暂持续的缺氧(6 h)可抑制 MMP-2 mRNA 的转录,而长时间缺氧(24 h)则起促进作用^[11]。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸可介导血管壁的机械牵张力,增加 MMP-2 mRNA 的转录^[12]。用凝血酶刺激单

基金项目:上海市教委科研创新项目(09YZ80)

作者单位:233030 蚌埠医学院(王汉伟);201900 上海交通大学医学院附属第三人民医院内科(张俊峰)

核细胞,经 Real-time PCR 分析,凝血酶上调 MMP-9 mRNA 的表达^[4]。

2.2 MMPs 翻译水平的调节

翻译后 MMPs 活性的调控机制至今尚未确切阐明。有研究表明,在抑制肽结构域的情况下,过氧亚硝基(ONOO⁻)能活化 MMP-1、-8。低浓度 ONOO⁻(1~10 μ M)刺激半胱氨酸中包含 PRCGVDP 序列的 S-谷胱甘肽,可增强 MMPs 蛋白水解活性^[13]。所有 MMPs 的肽结构域都含有这一高度保守序列,这可能是在 ONOO⁻存在下, S-谷胱甘肽调节其他 MMPs 活性的原因所在。这一调控作用已被人们所认识^[14]。Viappiani 等^[15]还发现全长重组人 MMP-2 可被低浓度的 ONOO⁻(0.3~10 μ M)激活,而在高浓度(>100 μ M)时,则抑制其活性。Sariahmetoglu 等^[16]用蛋白酶 C 磷酸化 MMP-2,使其活性显著降低。

2.3 MMPs 酶原激活的调节

MMPs 是以无活性酶原或前酶形式分泌到 ECM 中。水解去除前肽区,暴露出 Zn²⁺ 活性中心,激活后的 MMPs 才能降解 ECM。已知的激活途径有:(1)纤溶酶直接激活 MMPs 酶原;(2)丝氨酸蛋白酶(Furin)作用下的 MT-MMP 的细胞内激活途径;(3)逐级活化;(4)MMPs 之间相互激活细胞外途径(激活后的 MMP-3 能将其他 MMPs 由酶原转化成活性形式);(5)非 MMPs 蛋白酶家族的细胞外激活途径;(6)MT-MMP 膜结合性激活途径(主要激活 MMP-2)^[17]。其中,纤溶系统和 Furin 在 MMPs 酶原激活过程中起最主要作用。此外,肥大细胞分泌的类胰蛋白酶和糜蛋白酶,可激活以酶原形式存在的 MMPs。

2.4 MMPs 酶原激活后的调节

组织特异性抑制剂(TIMPs)对 MMPs 的抑制作用,是通过半胱氨酸残基与活化酶的 Zn²⁺ 活性中心相结合,从而阻断了酶与底物结合。分泌 MMPs 的细胞,按 1:1 同时分泌 TIMPs。特定的 TIMPs 调节激活后的 MMPs,如:TIMP-1 是糖基化蛋白,主要抑制 MMP-1 的活性,也可以抑制 MMP-3、-9 的活性;TIMP-2 是非糖基化蛋白,主要抑制 MMP-2 的活性。TIMP-2 与 TIMP-1 相比,仅有 42% 的氨基酸序列具有同源性,但对 MMPs 活性的抑制却是相似的;TIMP-3 与

TIMP-1 相比,只有 37% 的氨基酸具有序列同源性,TIMP-3 能与 MMP-1、-2、-3、-9、-13 结合,主要定位于 ECM。TIMP-4 能抑制 MMP-1、-3、-7、-9 的活性。有报道,在 AS 斑块破裂处,MMPs 的水平显著增加,而 TIMPs 的水平降低。在正常组织中,TIMPs 处于低活性状态并与 MMPs 保持着动态平衡^[18]。

3 上游因子对 MMPs 的调控

MMPs 受细胞外 MMPs 诱导因子(EMMPRIN)的调节。EMMPRIN 又名 CD147,属于免疫球蛋白超家族,是一种高度糖基化的跨膜蛋白。多种细胞的表面富含 CD147,它能以旁分泌的方式,刺激邻近的基质细胞、成纤维细胞分泌 MMPs。Schmidt 等^[19]研究发现急性心肌梗死(AMI)患者单核细胞表面 CD147 的表达量明显高于稳定型心绞痛患者。上调 CD147 的表达,可相应增强单核细胞 MT1-MMP 的表达及增加 MMP-9 活性。AMI 患者血管再通 6 个月后,CD147、MT1-MMP 和 MMP-9 均恢复至正常水平。把单核细胞粘附到转染 EMMPRIN 的中国仓鼠卵巢细胞或固相化重组的 EMMPRIN 可促进单核细胞分泌 MMP-9,同时增加其活性。转染 EMMPRIN 的单核细胞粘附到 VSMCs,可刺激 VSMCs 分泌 MMP-2。用免疫组化的方法检测 AS 斑块局部单核-巨噬细胞,结果 CD147、MMP-2、-9 都有较高的表达,而在非 AS 斑块的主动脉中,仅在血管内膜的 VSMCs 中有较低水平的 CD147 表达。同样,在 AS 斑块 MMPs 表达和活性增强的纤维帽区域,CD147 的表达也相应增强。用 siRNA 沉默 CD147,有效阻止了脂多糖诱导单核细胞表达 MMP-9 和 MT1-MMP。这些研究表明:在 AS 斑块中,CD147 对 MMPs 的表达和活性具有重要的调节作用。

4 CD40/CD40L 调控 MMPs 对 AS 斑块的影响

CD40 分子属于肿瘤坏死因子受体超家族成员,为 I 型跨膜糖蛋白。CD40L 又名 CD154,属于肿瘤坏死因子,为 II 型跨膜蛋白。CD40L 可诱导 AS 斑块局部内巨噬细胞、内皮细胞和平滑肌细胞表达 MMP-1、-3、-9。CD40L 也可诱导无活性的 MMP-2 酶原成为有活性的酶。标准条件下 CD40/CD40L 相互作用具有重要的意义,在促进

T 细胞刺激巨噬细胞分泌 MMPs 时, T 细胞向巨噬细胞发出信号, 而后 CD40L 通过这个信号再刺激巨噬细胞, 显著提高 MMPs 蛋白的表达^[7,20], 进而影响 AS 斑块的稳定。

6 展望

MMPs 在 AS 斑块局部的调控包括转录、翻译到酶原激活及激活后的调节, 还有细胞因子及其配体的调节。抑制 MMPs 成为增强 AS 斑块稳定性的有效途径。目前, 他汀类药物在临床广泛应用于稳定 AS 斑块, 其作用机制之一即是有效抑制了 MMPs 的表达和活性^[21]。进一步明确 MMPs 在 AS 斑块局部中的调控机制, 寻求可行的干预手段, 可为防止斑块破裂, 减少冠心病临床事件提供有益的探索。

参 考 文 献

- [1] Newby AC. Metalloproteinases and vulnerable atherosclerotic plaques [J]. Trends Cardiovasc Med, 2007, 17(8): 253-258.
- [2] Li H, Hontani N, Toshida I, et al. Group IVA phospholipase A2-associated production of MMP-9 in macrophages and formation of atherosclerotic lesions [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(3):363-368.
- [3] Nambi V, Morrison AC, Hooqveen RC, et al. Matrix Metalloproteinase-1 and tissue inhibitors do not predict incident coronary artery disease in the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study [J]. Tex Heart Inst J, 2008, 35(4):388-394.
- [4] Chang CJ, Hsu LA, Ko YH, et al. Thrombin regulates matrix metalloproteinase-9 expression in human monocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 385(2): 241-246.
- [5] Parks WC, Wilson CL, López-Boado YS, et al. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(8): 617-629.
- [6] Lancelot E, Amirbekian V, Briggern I, et al. Evaluation of Matrix metalloproteinases in atherosclerosis using a novel noninvasive imaging approach [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(3):425-432.
- [7] Libby P. The Molecular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis [J]. J Intern Med, 2008, 263(5):517-527.
- [8] Luttun A, Lutgens E, Manderveld A, et al. Loss of matrix metalloproteinase-9 or matrix metalloproteinase-12 protects apolipoprotein E-deficient mice against atherosclerotic media destruction but differentially affects plaque growth [J]. Circulation, 2004, 109(11):1408-1414.
- [9] Inokubo Y, Hanada H, Ishizaka H, et al. Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome [J]. Am Heart J, 2001, 141(2):211-217.
- [10] Ardans JA, Blum A, Mangan PR, et al. Raloxifene-mediated increase in matrix metalloproteinase-1 production by activated monocytes [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(8):1265-1268.
- [11] Ben-Yosef Y, Lahat N, Shapiro S, et al. Regulation of endothelial matrix metalloproteinase-2 by hypoxia/reoxygenation [J]. Circ Res, 2002, 90(7):784-791.
- [12] Grote K, Flach I, Luchtefeld M, et al. Mechanical stretch enhances mRNA expression and proenzyme release of matrix metalloproteinase-2(MMP-2) via NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species [J]. Circ Res, 2003, 92(11):80-86.
- [13] Okamoto T, Akaike T, Sawa T, et al. Activation of matrix metalloproteinases by peroxynitrite-induced protein S-glutathiolation via disulfide S-oxide formation [J]. J Biol Chem, 2001, 276(31):29596-29602.
- [14] Borques CR, Geddes T, Watson JT, et al. Dopamine biosynthesis is regulated by S-glutathionylation. Potential mechanism of tyrosine hydroxylase inhibition during oxidative stress [J]. J Biol Chem, 2002, 277(50): 48295-48302.
- [15] Viappiani S, Nicolescu AC, Holt A, et al. Activation and modulation of 72 kDa matrix metalloproteinase-2 by peroxynitrite and glutathione [J]. Biochem Pharmacol, 2009, 77(5):826-834.
- [16] Sariahmetoglu M, Crawford BD, Leon H, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity by phosphorylation [J]. Faseb J, 2007, 21(10):2486-2495.
- [17] Ferrans VJ. New insights into the world of matrix metalloproteinases [J]. Circulation, 2002, 105(4):405-407.
- [18] Papazafropoulou A, Tentolouris N. Matrix metalloproteinases and cardiovascular diseases [J]. Hippokratia, 2009, 13(2): 76-82.
- [19] Schmidt R, Bültmann A, Ungerer M, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer regulates matrix metalloproteinase activity in cardiovascular cells; implications in acute myocardial infarction [J]. Circulation, 2006, 113(6):834-841.
- [20] Oviedo-Orta E, Bermudez-Fajardo A, Karanam S, et al. Comparison of MMP-2 and MMP-9 secretion from T helper 0, 1 and 2 lymphocytes alone and in coculture with macrophages [J]. Immunology, 2008, 124(1):42-50.
- [21] Rival Y, Benéteau N, Chapuis V, et al. Cardiovascular drugs inhibit MMP-9 activity from human THP-1 macrophages [J]. DNA Cell Biol, 2004, 23(5):283-292.

(2009-11-02)

(本文编辑:金谷英)