

- [23] 魏峰,崔红霞,李峰,等. D2-40、c-erbB-2、p53 在大肠癌中的表达及意义[J]. 江苏医药,2011,37(24):2956-2958.
- [24] 李波,邹扬,胡志军,等. c-erbB-2、p53 的联合检测对大肠癌预后的多因素分析[J]. 山东医药,2009,49(12):18-20.
- [25] 刘晓斌,刘涛,刘永仙,等. c-erbB-2 与 P16 蛋白在大肠癌组织中的表达及其意义[J]. 陕西医学杂志,2009,38(11):1478-1479.
- [26] Nathanson DR, Culliford AT 4th, Shia J, et al. HER 2/neu expression and gene amplification in colon Cancer[J]. Int J Cancer, 2003,105(6):796-802.

- [27] 赵东利,温玉堃,隋燕霞,等. c-erbB-2 蛋白在人结肠癌组织中的表达及其与临床病理关系[J]. 现代肿瘤医学,2012,20(2):334-338.
- [28] 王娟,范钟麟,王学红,等. c-erbB-2 及 p16 基因在结肠癌中的相关性表达及其临床意义[J]. 青海医学院学报,2011,32(2):93-97.

(收稿日期:2012-11-30)

• 综 述 •

脂蛋白相关性磷脂酶 A₂ 的临床研究新进展

舒洪丽 综述,张朝明[△] 审校

(成都中医药大学临床医学院,四川成都 610075)

关键词:动脉粥样硬化; 磷脂酶 A; 酶抑制剂

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2013. 09. 027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)09-1119-03

随着对动脉粥样硬化发病机制的深入研究,人们发现在动脉粥样硬化发生、发展的演变过程中,始终都有各种炎症细胞和大量炎症介质的参与,炎症是动脉粥样硬化发展过程中的核心因素。脂蛋白相关性磷脂酶 A₂ (lipoprotein-associated phospholipase A₂, Lp-PLA₂) 是近年来引起广泛关注的一种与动脉粥样硬化性心、脑血管疾病密切相关的磷脂酶 A₂ 超家族,越来越多的研究表明 Lp-PLA₂ 与冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)脑卒中事件的发生关系密切,测定血浆中 Lp-PLA₂ 的含量或活性可作为心、脑血管疾病风险的独立预测因素,对降低高危心、脑血管疾病患者的发病率具有重要意义,并成为治疗心、脑血管疾病新的潜在目标靶点,本报告就最新的 Lp-PLA₂ 研究进展做一综述。

1 Lp-PLA₂ 的生物学特性

Lp-PLA₂ 又称血小板活化因子乙酰水解酶(platelet-activating factor acetylhydrolase, PAF-AH), 是一类能催化脂蛋白和细胞膜上的甘油磷脂二位酰基酯键水解形成非酯化脂肪酸和溶血磷脂的酶族^[1], 属于扩大的磷脂酶 A₂ 超家族,但与其他磷脂酶 A₂ 超家族成员不同,其生物活性不依赖于 Ca²⁺。其编码基因(PLA₂G7)于 1995 年首次被克隆,有 12 个外显子,定位于染色体 6p21. 2-12。Lp-PLA₂ 是由 441 个氨基酸残基组成的一种丝氨酸酯酶,相对分子质量为 50×10³^[2]。人体循环中的 Lp-PLA₂ 主要由成熟的巨噬细胞和 T 淋巴细胞合成和分泌,受炎症介质的调节^[3]。Lp-PLA₂ 以与脂蛋白颗粒结合的形式存在,主要(70%)是载脂蛋白 B100,也有载脂蛋白 A 和脂蛋白 a^[4]。根据存在的部位、底物特异性、辅助因子的需求和生理学作用特点的不同,Lp-PLA₂ 可以分为 4 种类型:分泌型、胞浆型、非 Ca²⁺ 依赖型及其他^[5]。

Lp-PLA₂ 活性和浓度在生物学上受到多因素的影响^[6-7]。循环中 Lp-PLA₂ 浓度与患者性别、年龄、吸烟存在一定的关联。近年来的研究显示,Lp-PLA₂ 与低密度脂蛋白(low density lipid, LDL)的相关性只解释了 40% 的酶活性与脂类相关,有学者认为种族和性别是独立的 Lp-PLA₂ 活性影响因素,因而需

要确定种族和性别阈值以进行 Lp-PLA₂ 升高的判断^[8]。

2 Lp-PLA₂ 的检测

目前 Lp-PLA₂ 的测定已逐步应用于临床,主要有血浆(或血清)活性测定和浓度测定,应用于检测 Lp-PLA₂ 的实验室方法有酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)和比色活性分析。ELISA 检测 Lp-PLA₂ 标本须选择血清或血浆,可定量测定人血清或血浆中的 Lp-PLA₂ 的浓度,为临床实验室常用试验。该法应用双抗体夹心法测定 Lp-PLA₂ 的浓度水平,实验用 1 株单抗包被微孔板制成固相抗体,用辣根过氧化物酶制成酶标记物。根据制出的标准曲线可定量分析样品中 Lp-PLA₂ 的含量,依据试剂厂家实验要求,分析前将标本按不同倍数稀释后再进行检测,如美国 Diadexus 公司的二代 Lp-PLA₂ 试剂在分析检测前标本需 1:10 稀释,天津康尔克生物科技有限公司 Lp-PLA₂ 试剂在分析检测前标本需 1.0:1.5 稀释。定量测定 Lp-PLA₂ 的常用报告单位为 ng/mL。比色活性分析为测定 Lp-PLA₂ 活性,使用 PAF-H3 为反应底物,酶活性的表达以每毫升每分钟 PAF 水解底物的量表示为 nmol/(min·mL)。这种方法也使用微孔板为载体测定,检测标本类型不局限,可以为血浆、组织匀浆、细胞溶解物等,但其临床应用较 ELISA 少。

随着科学技术的迅猛发展,实现临床 Lp-PLA₂ 快速准确的小样本测定将有待实现,蛋白质基因组学、芯片技术等新的检测技术的临床开展也将为实现 Lp-PLA₂ 的测定提供新的研究模式而应用于患者样本的检测,从而辅助疾病的诊断和治疗。

3 Lp-PLA₂ 与动脉粥样硬化斑块

LDL 氧化修饰是动脉粥样硬化早期病理生理学改变的重要步骤。血液循环中的 Lp-PLA₂ 大多黏附在 LDL 上,与 LDL 一起转运到血管内膜。在 LDL 颗粒内部,Lp-PLA₂ 水解氧化修饰的磷脂酰胆碱可产生溶血磷脂酰胆碱和氧化脂肪酸,后者是促炎症递质,能刺激黏附因子和细胞因子的产生,从而导致单核细胞由管腔向内膜聚集,聚集的单核细胞衍生为巨噬细胞,巨噬细胞吞噬氧化型 LDL 而变成泡沫细胞,凋亡的泡沫细胞聚集成动脉粥样硬化斑块^[9]。而这些活化的巨噬细胞和泡

沫细胞会产生更多的 Lp-PLA₂ 重返至循环中,从而导致动脉粥样硬化斑块的进一步发展,斑块能释放细胞因子和蛋白酶,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,从而引起动脉粥样硬化的发生、发展,导致血栓形成和心血管事件的发生。

目前,人动脉粥样硬化斑块中已明确的 Lp-PLA₂ 来源:一是循环中与 LDL 结合的 Lp-PLA₂,经动脉内膜直接进入内膜下粥样硬化病灶中;二是由动脉粥样硬化斑块中的炎症细胞(如巨噬细胞、T 淋巴细胞及肥大细胞等)新合成的。Lp-PLA₂ 在动脉粥样硬化斑块中尚有其他机制未被阐明^[7]。

4 流行病学及前瞻性研究

大量的动物、人体和流行病学研究结果都提示血浆 Lp-PLA₂ 浓度或活性与心血管疾病风险正相关,它是心血管事件的独立危险因素^[10]。

Lp-PLA₂ 研究合作者对 32 家前瞻性研究中 79 036 例试验者的 Meta 分析报告显示^[11],Lp-PLA₂ 浓度水平的相关研究在各研究成果中大概一致,但 Lp-PLA₂ 活性的相关研究成果基于部分分析方法的不同而不尽相同。在调整 Lp-PLA₂ 活性和浓度的风险比一个标准差的分析中显示,男性试验者 Lp-PLA₂ 活性高于女性,且与非高密度脂蛋白胆固醇(high density lipid-cholesterol, HDL-C)($r=0.49, 95\%CI:0.45\sim0.52$)、LDL 胆固醇(LDL-cholesterol, LDL-C)($r=0.48; 95\%CI:0.41\sim0.55$)、载脂蛋白 B($r=0.45, 95\%CI:0.38\sim0.51$)及三酰甘油($r=0.22, 95\%CI:0.19\sim0.26$)相关,而与 HDL-C($r=-0.24, 95\%CI:-0.29\sim0.19$)和载脂蛋白 A1($r=-0.15, 95\%CI:-0.23\sim0.05$)呈负相关,Lp-PLA₂ 与血浆载脂蛋白类的物理相关性可解释这些关系。而心脏保护性研究团队随后在对 Lp-PLA₂ 和血管性、非血管性病死率的相关性分析中提出了补充性见解^[12]。该研究随机抽取存在有高风险血管疾病的 20 536 例试验者,分别给予斯伐他汀 40 mg 或安慰剂。在 19 037 例试验者中,Lp-PLA₂ 活性、浓度、脂质及载脂蛋白 A 和 B 都在基线水平。Lp-PLA₂ 活性和闭塞冠状动脉事件(非致死性心肌梗死、冠状动脉血液循环重建术)呈弱相关性($HR:1.11, 95\%CI:1.06\sim1.15$),但经调整载脂蛋白类因素后没有意义,表明 Lp-PLA₂ 活性与冠状动脉事件的相关性基于脂类水平。斯伐他汀可降低 Lp-PLA₂ 活性和浓度的 25%,但是在高、低 Lp-PLA₂ 活性参与者中,斯伐他汀血管事件减少很相似。因此,流行病学调查在解释这些结果时,应考虑脂类水平。对于 Lp-PLA₂ 能否作为动脉粥样硬化风险的标志物或扮演重要的角色,流行病学研究调查是不能得出明确的结论的。同样,Lp-PLA₂ 水平与脂类的相关性很难决定一个风险因子能独立于另一个风险因子而存在^[12]。

Moldoveanu 等^[13]对 80 例冠状动脉造影显示狭窄程度超过 50%的患者调查中发现,用金属支架治疗前后,髓过氧化物酶和 Lp-PLA₂ 的活性立即升高,随访 6 个月后发现患者中有 33.75%存在支架的再狭窄,提示 Lp-PLA₂ 对血管性炎症特异性高,是再狭窄发生的独立标志物之一。Mannheim 等^[14]对 167 例行颈动脉内膜切除术患者的研究中发现,有症状患者的 Lp-PLA₂ 及其产物在斑块中的表达高于无症状患者,表明 Lp-PLA₂ 活性在不稳定斑块中较高。在随后的 48 个月的随访中,心血管事件风险率在较高 Lp-PLA₂ 水平组是较低 Lp-PLA₂ 水平组的 3 倍^[15]。研究表明 Lp-PLA₂ 可增加斑块的不

稳定性。Zalewski 等^[9]的研究也支持 Lp-PLA₂ 可能增加动脉粥样硬化斑块的不稳定性。但在刘甲欣等^[16-17]和何晨等^[18]的调查研究中发现,血清 Lp-PLA₂ 浓度随冠状动脉病变支数增加而增加,而与冠状动脉粥样硬化斑块的稳定性可能并无关联。

PLA2G7 基因变异对 Lp-PLA₂ 活性的减少和增加有关。约 25%的日本和韩国人口中存在功能缺失型杂合子(V279F),能减少 Lp-PLA₂ 的活性,而 1%~4%则是纯合子,Lp-PLA₂ 基本没有活性^[19]。在 1 项包括 10 464 例实验组和 15 624 例对照组的欧洲血统人群的 Meta 分析中,相关性最强的是 A379V, VV 受试者 Lp-PLA₂ 活性比 AA 受试者高 7.2%^[20]。其余 3 个单核苷酸多态性对其影响较小。这项 Meta 分析确信 Lp-PLA₂ 活性四分位数和冠心病事件相关,但 PLA2G7 基因型与心血管危险因素、血管造影证实的冠状动脉疾病没有关联。然而,基因多态性与血管风险的关系在不同血管事件发生率的研究报告中都没有明确指明^[21-24]。即使是这次大规模分析亦没有足够的统计力量来排除由基因决定 Lp-PLA₂ 活性的差异性可能会影响冠状动脉疾病风险的可能性。

基于大量的研究结果,在成人治疗组Ⅲ及美国心脏学会(American Heart Association, AHA)/美国疾病控制与预防中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)的指南中,Lp-PLA₂ 被推荐用于辅助传统危险因素的评估,认为其可以作为血管炎症的一种特异性诊断指标以识别高危或极高危的患者^[25]。

5 Lp-PLA₂ 特异性抑制剂——darapladib

Lp-PLA₂ 不仅可作为抗动脉粥样硬化治疗的疗效指标,还有望成为治疗的新靶点。目前,特异性的 Lp-PLA₂ 抑制剂——darapladib 为动脉粥样硬化的预防与治疗开辟了一条新途径^[26],已进入大规模的临床价值评估^[27-28]。

国际生物标记和影像研究 2(Integrated Biomarker and Imaging Study 2, IBIS-2)的临床试验中^[27],将 330 名冠状动脉造影确诊为冠心病的患者随机分为 2 组,分别给予 darapladib(160 mg/d)和安慰剂治疗,疗程均为 1 年,然后观察两组间主要终点和次要终点的差异。试验最后结果显示,darapladib 组患者的 Lp-PLA₂ 水平显著降低 59%;两组间主要治疗终点、冠状动脉粥样硬化斑块变形性及血浆超敏 C 反应蛋白水平均无显著差异;次要治疗终点中,两组间总斑块体积变化亦无明显差异,但与安慰剂组相比,darapladib 能有效抑制坏死核心体积的增大,差异明显($P=0.012$)。该研究认为 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。

正在筹划中的大型临床研究 STABILITY,是一项随机、双盲、安慰剂对照的临床试验^[28],将包括 39 个国家的 15 828 名受试者随机分为 2 组,在标准治疗方案(如降压药、阿司匹林和他汀类调脂药)的基础上分别加用 darapladib(160 mg/d)或安慰剂,其目的是为了观察 2 种治疗方案的有效性和安全性,同时确定 darapladib 是否能显著降低冠心病患者心血管事件(如心脏病发作、脑卒中及血管性病死等)的发生风险,整个试验预计为期 3~5 年。

6 展 望

在传统的研究结果基础上,最新关于 Lp-PLA₂ 的研究表明,Lp-PLA₂ 不仅具有促动脉粥样硬化斑块形成的作用,而且

可能增加斑块的不稳定性和扩大坏死中心。两项大型临床研究 STABILITY 和 SOLID 将明确 darapladib 能否安全减少心、脑血管事件的风险。尽管 Lp-PLA₂ 作用机制尚未完全阐明,如在体内外、种族间、性别间等是否存在差异,其与心、脑血管风险的相关性得到越来越多试验的证明,为动脉粥样硬化的诊断与治疗增添了一种新的实验室手段。

参考文献

- [1] Six DA, Dennis EA. The expanding superfamily of phospholipase A(2) enzymes: classification and characterization[J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1488(1/2): 1-19.
- [2] Tew DG, Southan C, Rice SQ, et al. Purification, properties, sequencing, and cloning of a lipoprotein-associated, serine-dependent phospholipase involved in the oxidative modification of low-density lipoproteins[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1996, 16(4): 591-599.
- [3] Cao Y, Stafforini DM, Zimmerman GA, et al. Expression of plasma platelet-activating factor acetylhydrolase is transcriptionally regulated by mediators of inflammation[J]. J Biol Chem, 1998, 273(7): 4012-4020.
- [4] Stafforini DM, Tjoelker LW, McCormick SP, et al. Molecular basis of the interaction between plasma platelet-activating factor acetylhydrolase and low density lipoprotein[J]. J Biol Chem, 1999, 274(11): 7018-7024.
- [5] 何金峰. 脂蛋白相关性磷脂酶 A2 与动脉粥样硬化关系的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2010, 31(4): 603-606.
- [6] 刘建辉, 张春妮. 脂蛋白相关磷脂酶 A2 与动脉粥样硬化的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16(7): 569-571.
- [7] Rosenson RS. Future role for selective phospholipase A2 inhibitors in the prevention of atherosclerotic cardiovascular disease[J]. Cardiovasc Drugs Ther, 2009, 23(1): 93-101.
- [8] 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.
- [9] Zalewski A, Macphee C. Role of lipoprotein-associated phospholipase A2 in atherosclerosis: biology, epidemiology, and possible therapeutic target[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2005, 25(5): 923-931.
- [10] Epps KC, Wilensky RL. Lp-PLA₂——a novel risk factor for high-risk coronary and carotid artery disease[J]. J Intern Med, 2011, 269(1): 94-106.
- [11] Lp-PLA(2) Studies Collaboration, Thompson A, Gao P, 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.
- [12] Heart Protection Study Collaborative Group. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ activity and mass in relation to vascular disease and nonvascular mortality[J]. J Intern Med, 2010, 268(4): 348-358.
- [13] Moldoveanu E, Mut-Vitcu B, Tanaseanu GR, et al. Low basal levels of circulating adiponectin in patients undergoing coronary stenting predict in-stent restenosis, independently of basal levels of inflammatory markers: lipoprotein associated phospholipase A₂, and myeloperoxidase[J]. Clin Biochem, 2008, 41(18): 1429-1433.
- [14] 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.

- [15] Herrmann J, Mannheim D, Wohler C, et al. Expression of lipoprotein-associated phospholipase A(2) in carotid artery plaques predicts long-term cardiac outcome[J]. Eur Heart J, 2009, 30(23): 2930-2938.
- [16] 刘甲兴, 郑兴, 秦永文, 等. 脂蛋白相关性磷脂酶 A2 活性与冠心病的关系[J]. 临床心血管病杂志, 2006, 22(11): 655-658.
- [17] 刘甲兴, 郑兴, 秦永文, 等. 脂蛋白相关性磷脂酶 A2 活性能反映冠状动脉粥样硬化病变程度[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(4): 391-395.
- [18] 何晨, 袁晋青. 急性冠脉综合征与炎性标志物的相关性研究[D]. 北京: 中国医学科学院北京协和医学院, 2010.
- [19] Zhang SY, Shibata H, Karino K, et al. Comprehensive evaluation of genetic and environmental factors influencing the plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity in a Japanese population[J]. Hypertens Res, 2007, 30(5): 403-409.
- [20] Casas JP, Ninio E, Panayiotou A, et al. PLA2G7 genotype, lipoprotein-associated phospholipase A2 activity, and coronary heart disease risk in 10 494 cases and 15 624 controls of European Ancestry[J]. Circulation, 2010, 121(21): 2284-2293.
- [21] Liu PY, Li YH, Wu HL, et al. Platelet-activating factor-acetylhydrolase A379V (exon 11) gene polymorphism is an Independent and functional risk factor for premature myocardial infarction[J]. J Thromb Haemost, 2006, 4(5): 1023-1028.
- [22] Hou L, Chen S, Yu H, et al. Associations of PLA2G7 gene polymorphisms with plasma lipoprotein-associated phospholipase A2 activity and coronary heart disease in a Chinese Han population: the Beijing atherosclerosis study[J]. Hum Genet, 2009, 125(1): 11-20.
- [23] Hoffmann MM, Winkler K, Renner W, et al. Genetic variants and haplotypes of lipoprotein associated phospholipase A2 and their influence on cardiovascular disease (The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study)[J]. J Thromb Haemost, 2009, 7(1): 41-48.
- [24] Suchindran S, Rivedal D, Guyton JR, et al. Genome-wide association study of Lp-PLA(2) activity and mass in the Framingham Heart Study[J]. PLoS Genet, 2010, 6(4): e1000928.
- [25] Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, et al. Consensus panel recommendation for incorporating lipoprotein-associated phospholipase A2 testing into cardiovascular disease risk assessment guidelines[J]. Am J Cardiol, 2008, 101(12A): 51F-57F.
- [26] 吴曼, 李海涛, 刘铁楠. 脂蛋白相关性磷脂酶 A2 与冠心病的研究现状[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2012, 04(3): 278-279.
- [27] Serruys PW, García-García HM, Buszman P, et al. Effects of the direct lipoprotein-associated phospholipase A(2) inhibitor darapladib on human coronary atherosclerotic plaque[J]. Circulation, 2008, 118(11): 1172-1182.
- [28] White H, Held C, Stewart R, et al. Study design and rationale for the clinical outcomes of the STABILITY Trial (Stabilization of atherosclerotic plaque by initiation of darapladib Therapy) comparing darapladib versus placebo in patients with coronary heart disease[J]. Am Heart J, 2010, 160(4): 655-661.