

氧化低密度脂蛋白致血管内皮损伤机制及中药复方防治的研究进展

徐娟萍, 张晓峰*

上海市中医医院, 上海 200071

摘要: 低密度脂蛋白经氧化修饰后主要通过凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 导致管内皮细胞损伤, 诱导黏附分子和炎症因子的合成与释放, 加重血管炎症反应, 诱导内皮细胞凋亡, 进而导致动脉粥样硬化等心血管疾病。中药复方通过抑制低密度脂蛋白(LDL)氧化生成氧化低密度脂蛋白(OX-LDL), 防治血管内皮损伤, 进而防治动脉粥样硬化的发生与发展。综述近年来有关 OX-LDL 损伤血管内皮细胞功能的机制, 及具有抗 OX-LDL 损伤作用的、脑心通、冠心合剂、血脉脂康胶囊、通心络、六味地黄方、黄连解毒汤等中药复方的研究进展。

关键词: 低密度脂蛋白; 氧化低密度脂蛋白; 内皮损伤; 动脉粥样硬化; 中药复方

中图分类号: R543.5; R972.6 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)03-0195-04

Advances in studies on mechanisms of oxidized low density lipoprotein-induced endothelial dysfunction and its prevention by Chinese medicinal formulae

XU Juan-ping, ZHANG Xiao-feng

Shanghai Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China

Abstract: Oxidized low density lipoprotein (OX-LDL) results the endothelial damage via lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) inducing the synthesis and release of adhesion molecules and proinflammatory cytokines, aggravating the vascular inflammation, and causing the endothelial cells apoptosis so as to lead atherosclerosis and some other cardiovascular diseases. Chinese medicinal formulae could prevent the endothelial injury by inhibiting that low density lipoprotein (LDL) was oxidized to OX-LDL, so as to block the occurrence and development of atherosclerosis. The recent progress in research on the mechanism of OX-LDL-induced endothelial cell dysfunction and the related Chinese Traditional Medical Formulae with anti-OX-LDL function, such as Naoxintong, Guanxin Decoction, Xuemaizhikang Capsula, Tongxinluo, Liuwei Dihuang, and Huanglian Jiedu Decoction etc.

Key words: low density lipoprotein (LDL); oxidized low density lipoprotein (OX-LDL); endothelial damage; atherosclerosis; Chinese Medicinal Formulae

心血管疾病是目前严重危害人类健康的疾病之一, 动脉粥样硬化(AS)是心血管疾病的主要病理基础。AS 的损伤反应学说认为, 血管内皮细胞损伤是 AS 发生的初始步骤。近年来大量研究资料提示氧化低密度脂蛋白(OX-LDL)是早期内皮损伤、单核细胞黏附、泡沫细胞形成和血栓形成的主要因素, 在 AS 的发生、发展中起重要作用^[1-2]。综述近年来有关 OX-LDL 损伤血管内皮功能的机制及其有防治作用中药复方的研究进展。

1 OX-LDL 损伤血管功能的机制

1.1 激活血管内皮细胞相关受体, 上调蛋白表达

与 OX-LDL 的相关受体很多, 包括清道夫受体 A (SR-A)、CD36 (SR-B)、CD-68 (SR-D)、血凝素样 OX-LDL 受体-1 (lectin-like oxidized low density

lipoprotein receptor-1, LOX-1) (SR-E)、清道夫受体 SREC (SR-F) 以及清道夫受体 SR-PSOX (SR-G)。近年来, 备受关注的有 CD36 和 LOX-1。CD36 是一种相对分子质量为 8 000 的糖蛋白, 广泛分布于多种细胞表面, 如单核细胞、内皮细胞、血小板等。CD36 作为一种多功能受体可以结合胶原、OX-LDL、血小板反应素、长链脂肪酸等, 而且 OX-LDL 可导致 CD36 上调, 引起内皮细胞损伤, 促进 AS 斑块形成^[3]。Guy 等^[4]通过动物实验表明, CD36 缺陷大鼠 AS 斑块体积缩小。LOX-1 是 1997 年日本学者在牛动脉内皮细胞和人肺动脉内皮细胞克隆出的 OX-LDL 的特异性受体, 是血管内皮细胞摄取和代谢 OX-LDL 的主要受体, 其介导血管内皮建构和功能的损伤^[5-6]。OX-LDL 可以上调血管内皮

收稿日期: 2011-02-24

作者简介: 徐娟萍 (1986—), 女, 江苏盐城人, 硕士研究生, 研究方向为心脑血管疾病。E-mail: xujuanping1986@yahoo.com.cn

*通讯作者 张晓峰, 男, 硕士生导师。E-mail: xfzhang0387@sina.com

细胞的 LOX-1 mRNA 及蛋白的表达。Inoue 等^[7]利用 apoE 基因敲除小鼠建立 LOX-1 高度表达的动物模型,发现 LOX-1 可通过上调血管内转录基因促进细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、血管细胞间黏附分子-1 (VCAM-1) 的产生,诱导巨噬细胞聚集。许斌等^[8]亦通过实验证明 50 mg/L 的 OX-LDL 与内皮细胞共培养 24 h 后, LOX-1 和 p65 的 mRNA 和蛋白的表达明显增加。这些都提示 LDL 经氧化修饰形成 OX-LDL 后,与 LOX-1 受体结合,进而传递生物信号,调节生物转录与合成,介导 OX-LDL 损伤血管内皮。

1.2 促进细胞黏附于内皮并向内皮下趋化

黏附分子在血管内皮病变过程中具有重要作用, OX-LDL 通过刺激 ICAM-1、VCAM-1、E-选择素、P-选择素等的表达,使单核细胞、中性粒细胞和淋巴细胞黏附于内皮细胞。内皮细胞在病理条件下还释放一些细胞因子,如肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素-1 (IL-1) 等,由此引起一系列炎症反应;同时这些炎症细胞因子又可以增加内皮细胞中性粒细胞表面黏附分子的表达,促进二者的黏附,加重内皮细胞损伤。Li 等^[9]研究发现,将 OX-LDL (40 mg/L) 与内皮细胞培养 24 h 后,细胞中 P-选择素、E-选择素以及 ICAM-1、VCAM-1 的基因和蛋白表达均显著增加。这可能与 LOX-1 的活化导致 NF- κ B 激活、进而调节生物转录与生物合成有关。同时,在 OX-LDL 的刺激下,内皮细胞可以分泌特定趋化因子,如单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)。MCP-1 作用很强,能特异地作用于单核细胞并使之黏附于受损的内膜,诱导其迁入内皮下间隙,进一步导致内皮细胞的受损^[10]。朱慧莲等^[11]用不同浓度的 OX-LDL 与人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 培养 24 h 后发现, OX-LDL 可以调节 HUVEC MCP-1 基因和蛋白的表达,而 LOX-1 可能介导了 OX-LDL 诱导血管内皮细胞分泌 MCP-1,在内皮细胞损伤和 AS 过程中起重要作用。

1.3 诱导内皮细胞凋亡

研究证实 OX-LDL 的促凋亡作用是通过 LOX-1 调节的。由于正反馈作用, LOX-1 依赖的 OX-LDL 增多,上调促凋亡因子 Bax 表达,下调抑凋亡因子 Bcl-2 表达,诱导培养的内皮细胞凋亡。Chen 等^[12]的研究也证实 caspase-9 的活化以及后续的 caspase-3 的激活在 OX-LDL 通过 LOX-1 诱导培养的血管内皮细胞凋亡中的作用。除此之外,线粒体

凋亡蛋白(如细胞色素 C 和 Smac)与 OX-LDL 诱导的 caspase 激活和凋亡亦有关系。有研究显示, OX-LDL 可能首先引起内皮细胞形态学的改变而后引起凋亡: 1) OX-LDL 可使内皮细胞对 LDL 的通透性增高,胞浆发生空泡变性,浆膜皱缩,甚至最终使细胞坏死; 2) LDL 氧化过程中产生的脂质过氧化物具有细胞毒性作用,可使内皮细胞 F-肌动蛋白微丝明显破坏、断裂、稀疏、分布紊乱,导致内皮细胞通透性增加,细胞间隙增大从而利于单核细胞和脂质成分通过内皮层进入内皮下。乔春霞等^[13]通过培养 HUVEC 发现, OX-LDL 具有明显的细胞毒性,能引起 HUVEC 骨架破坏,抑制细胞生长,诱导细胞凋亡。还发现 OX-LDL 的细胞毒性表现为对内皮细胞微管蛋白 α -tubulin 和 β -tubulin 的影响,且在蛋白质水平改变要比在 mRNA 水平改变明显。OX-LDL 能明显抑制内皮细胞的 DNA 合成,升高血管内皮细胞中的丙二醛 (MDA),阻碍内皮细胞对损伤的自我修复。杨世明等^[14]通过实验证实 OX-LDL 能诱导血管内皮细胞脂质过氧化反应,导致 4-羟基-2-壬烯醛修饰蛋白及 DNA 加合物 1, N^6 -亚乙基基脱氧腺苷生成和积聚,若不及时清除,可进一步诱发血管内皮细胞基因突变,引起细胞的异常增殖和功能紊乱。此外, OX-LDL 还能诱导内皮细胞分泌基质金属蛋白酶 (MMP),使血管内皮通透性增高,血管舒缩反应异常和内皮细胞与炎症细胞的反应增加,进而导致血管内皮损伤^[15]。

2 抑制 OX-LDL 损伤血管内皮的中药复方

2.1 六味地黄方

六味地黄方具有调节脂质代谢、抗脂质过氧化反应、升高一氧化氮 (NO) 水平,保护血管内皮细胞的作用。张启春等^[16]用 OX-LDL 与 HUVEC 共培养,造成 HUVEC 损伤,之后分别加入不同剂量 (10%、15%、20%) 的六味地黄方大鼠含药血清,48 h 后观察到 HUVEC 细胞增殖增加,凋亡减少,细胞内 MDA 水平降低,超氧化物歧化酶 (SOD) 活力及 NO 水平增加,且呈剂量相关。提示六味地黄方对 OX-LDL 引起的血管内皮细胞损伤有一定的保护作用。喻丽珍等^[17]通过建立高脂血症大鼠模型,观察六味地黄方对血脂、SOD、MDA、NO 及外周血循环内皮细胞 (CEC) 的影响,结果发现高脂模型组大鼠血清胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、MDA、CEC 均明显升高,高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、SOD、

NO、NOS 显著下降;而六味地黄方可降低模型大鼠血清 TC、TG、LDL-C、MDA、CEC,升高 HDL-C、SOD、NO。

2.2 脑心通

脑心通是由黄芪、丹参、当归、川芎、红花、乳香等多种中药组成,具有益气活血、化瘀通络的功效。大量临床研究证实脑心通在 AS 相关疾病的防治方面有一定作用。刘胜强等^[18]在建立 HUVEC OX-LDL 损伤模型的基础上,以阿伐他汀(1 $\mu\text{mol/L}$)为阳性对照药,用 0.2、0.4、0.6、0.8 g/kg 脑心通预先干预。发现脑心通、阿伐他汀均能明显抑制 OX-LDL 诱导的内皮细胞凋亡($P<0.01$)。证明脑心通可促进 HUVEC NO 的合成、释放,减轻 HUVEC 的损伤与凋亡而发挥对血管内皮的保护作用,但其机制尚需进一步研究。

刘倩等^[19]研究发现,OX-LDL 能明显促进 CD36 和 SR-A 的表达,而脑心通可轻度抑制 CD36、SR-A 表达的作用,但作用稍弱于阿伐他汀。提示脑心通可能通过抑制清道夫受体的表达,减少脂质斑块的形成,从而保护内皮细胞受损,延缓 AS 进程。

2.3 冠心合剂

祝光礼等^[20]研究冠心合剂(由黄芪 30 g、蒲黄 20 g、五灵脂 20 g 组成)水煎剂对 OX-LDL 诱导的 HUVEC ICAM-1 及 VCAM-1 表达的影响。结果氟伐他汀组,冠心合剂大剂量(28 g/kg)组、中剂量(14 g/kg)组 ICAM-1 及 VCAM-1 的表达均较模型组显著降低($P<0.01$);与冠心合剂小剂量(7 g/kg)组相比差异显著($P<0.01$);但氟伐他汀组、冠心合剂大剂量组、中剂量组各组之间相比无差异。提示冠心合剂可明显降低黏附分子水平,抑制由黏附分子介导的白细胞与血管内皮细胞的黏附,发挥保护血管内皮功能的作用,从而防治 AS 的形成。

2.4 血脉脂康胶囊

血脉脂康胶囊主要由绞股蓝、白术、海藻、丹参、补骨脂等组成,具有活血化痰、软坚散结、补脾益肾的功效。林永康等^[21]研究血脉脂康胶囊对高脂血症家兔的影响,结果显示血脉脂康胶囊可降低实验性 AS 兔血 TC、TG、LDL-C 值,升高 SOD 值,其作用优于安妥明对照药($P<0.05$),提示血脉脂康胶囊可以通过抗脂质过氧化,保护内皮细胞,从而抑制 AS 的形成和发展。林永康等^[22]还研究了血脉脂康胶囊对 OX-LDL 水平及 LOX-1 表达的影响,发现血脉脂康胶囊组 OX-LDL 水平和 LOX-1 基因

表达明显低于模型组($P<0.01$),而辛伐他汀对照组和中药组无明显差异。证实血脉脂康胶囊通过降低 OX-LDL 水平和 LOX-1 的表达,发挥保护内皮功能的作用,从而治疗 AS。

2.5 通心络

通心络由人参、水蛭、全蝎、土鳖虫、蜈蚣、蝉蜕、赤芍、冰片等组成,用于治疗高脂血症以及冠心病,并且具有良好的降低血清 TC、TG 和抗心绞痛作用^[23-25]。宋子凯等^[26]将家兔分为常规饲料组、胆固醇饲料组和通心络组,通过高脂饲料建立家兔 AS 模型,对于可能与 AS 发生有关的纤溶酶原激活物抑制物-1(PAI-1)和 VCAM-1 进行血清学和病变局部表达的研究,观察通心络的作用。结果显示:用药 14 周后通心络在降低 TC、TG 和 LDL 的同时($P<0.01$),明显抑制 PAI-1 和 VCAM-1 在血清中和 AS 病变部位的表达($P<0.01$),使血管内皮功能损伤减轻,纤维蛋白病理性沉积减少,抑制巨噬细胞和平滑肌细胞的黏附、迁移与增殖,最终发挥抗 AS 的作用。赵晖等^[27]通过高脂饲料建立家兔 AS 模型,以维生素 E 为阳性对照,喂养 30 d 后检测 TC、SOD 和 MDA,发现通心络可显著降低 TC 和 MDA 水平,提高 SOD 水平,与维生素 E 比较无显著差异,证实通心络可以减少各种氧自由基的产生,降低脂质过氧化的水平,进而治疗 AS。

2.6 黄连解毒汤

黄连解毒汤由黄连、黄芩、黄柏、栀子组成,是中医治疗火热毒证的经典方剂。金瑾等^[28]通过高脂饲料建立高脂血症大鼠模型,以阿伐他汀为阳性对照,连续给药 8 周后,模型组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平显著升高($P<0.01$),HDL-C 水平显著降低($P<0.01$),肝脏脂蛋白脂酶(LPL)和肝脂酶(HL)活性及肝脏组织低密度脂蛋白受体(LDLR)、PPAR γ mRNA 表达水平明显下降。而黄连解毒汤组血脂水平较模型组有不同程度的改善($P<0.01$),肝脏 LPL、HL 活性和 LDLR、PPAR γ mRNA 表达水平明显升高($P<0.01$)。高剂量黄连解毒汤组和阿伐他汀组比较,差异均无统计学意义。结果表明,长期高脂状态使肝细胞表面 LDLR 失代偿或活性减弱,肝细胞摄取、转化及排泄 LDL-C 减少,从而引起血中 TC 和 TG 升高。黄连解毒汤能通过增加 LDLR 的表达而有效调节肝细胞对脂蛋白的摄取和代谢,通过调控 PPAR γ 的表达,改变肝细胞内胆固醇的分布,从而维持细胞外 LDL-C 水平的

稳定,达到保护内皮细胞防治AS的目的。

3 结语

内皮细胞损伤是血管损伤、AS发生的初始阶段。因此加强对内皮功能障碍的逆转性治疗是预防AS发生的关键,也是心血管疾病治疗领域的一个新的发展趋势。而OX-LDL是引起内皮损伤的重要因素,它可通过多种机制损伤内皮细胞,如通过激活细胞受体、诱导其基因和蛋白的表达,诱导黏附分子的合成与释放,诱导细胞凋亡等,在AS的发生、发展中起重要作用。现有的大量体内外研究发现,中药复方在抑制LDL氧化生成OX-LDL,防治内皮细胞损伤方面有较为理想的作用。但中药复方对内皮细胞保护作用的机制研究还不够深入,特别是基于分子水平及基因水平上的研究有待加强,因此在这方面的新药研发及应用任重而道远。

参考文献

- [1] Navarra T, Turco S, Berti S, *et al.* The lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 and its soluble form: cardiovascular implications [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2010, 17(4): 317-331.
- [2] 李丽玮, 黄伟, 李云峰, 等. 木贼大孔树脂提取物对单个核细胞-内皮细胞黏附的影响 [J]. *中草药*, 2009, 40(2): 265-268.
- [3] 陈伟强, 程义勇. 氧化型低密度脂蛋白 [J]. *医学检验与临床*, 2009, 20(2): 1-3.
- [4] Guy E, Kuchiboth S, Silverstein R, *et al.* Continued inhibition of atherosclerotic lesion development in long term Western diet fed CD36 degrees/apoE degrees mice [J]. *Atherosclerosis*, 2007, 192(1): 123-130.
- [5] Sawamura T, Kume N, Aoyama T, *et al.* An endothelial receptor for oxidized low-density lipoprotein [J]. *Nature*, 1997, 386(6620): 73-77.
- [6] Morawietz H. LOX-1 receptor as a novel target in endothelial dysfunction and atherosclerosis [J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2010, 135(7): 308-312.
- [7] Inoue K, Arai Y, Kurihara H, *et al.* Overexpression of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor -1 induces intramyocardial vasculopathy in apolipoprotein E-null mice [J]. *Circ Res*, 2005, 97(2): 176-184.
- [8] 许斌, 张静生. LOX-1介导OX-LDL诱导血管内皮细胞p65的表达 [J]. *辽宁中医杂志*, 2006, 33(6): 667-669.
- [9] Li D, Chen H J, Romeo F, *et al.* Statins modulate oxidized low-density lipoprotein-mediated adhesion molecule expression in human coronary artery endothelial cells: role of LOX-1 [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002, 302(2): 601-605.
- [10] Yang Y Y, Hu C J, Chang S M, *et al.* Aspirin inhibits monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 expression in TNF-alpha stimulated human umbilical vein endothelial cells [J]. *Atherosclerosis*, 2004, 174(2): 207-213.
- [11] 朱慧莲, 唐志红, 夏敏, 等. LOX-1介导ox-LDL诱导的血管内皮细胞MCP-1的表达 [J]. *中国病理生理杂志*, 2005, 21(7): 1249-1254.
- [12] Chen J, Mehta J L, Haider N, *et al.* Role of caspase in OX-LDL-induced apoptotic cascade in human coronary artery endothelial cells [J]. *Circ Res*, 2004, 94(3): 370-376.
- [13] 乔春霞, 徐贵发, 赵秀兰. 茶多酚对OX-LDL诱导人脐静脉内皮细胞凋亡的抑制作用 [J]. *营养学报*, 2006, 28(6): 490-493.
- [14] 杨世明, 王颖, 陈莉莉. OX-LDL诱导人血管内皮细胞及平滑肌细胞DNA加合物生成 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2010, 19(4): 385-389.
- [15] 丛晓强, 孟晓萍, 李颖. 基质金属蛋白酶在动脉粥样硬化中的作用研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2007, 15(5): 397-399.
- [16] 张启春, 卞慧敏, 喻丽珍, 等. 六味地黄方含药血清对氧化低密度脂蛋白损伤血管内皮细胞的保护作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2007, 13(7): 31-34.
- [17] 喻丽珍, 卞慧敏, 俞晶华, 等. 六味地黄方对高脂血症大鼠血管内皮细胞的保护作用 [J]. *中药药理与临床*, 2006, 22(1): 5-7.
- [18] 刘胜强, 王东琦, 雷新军, 等. 中药脑心通对血管内皮细胞的保护作用 [J]. *第四军医大学学报*, 2009, 30(9): 856-859.
- [19] 刘倩, 王东琦, 雷新军, 等. 脑心通对人THP21单核源性巨噬细胞清道夫受体表达的影响 [J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2009, 20(2): 240-243.
- [20] 祝光礼, 魏丽萍, 方伟, 等. 冠心合剂对氧化低密度脂蛋白诱导人脐静脉内皮细胞黏附分子表达的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2009, 21(5): 901-903.
- [21] 林永廉, 林求诚. 血脉脂康胶囊对实验性高脂血症相关生化指标的影响 [J]. *福建中医学院学报*, 2001, 11(4): 45-46.
- [22] 林永廉, 林求诚. 血脉脂康胶囊对高脂血症兔OX-LDL水平及LOX-1表达的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2007, 16(28): 4107-4108.
- [23] 肖文良, 戴华, 姜志安. 通心络胶囊对不稳定性心绞痛患者血管内皮细胞保护作用研究 [J]. *中华心血管杂志*, 2002, 30(5): 268-270.
- [24] Jia Z H. Opening up a way of evaluating evidence-based medicine in traditional Chinese medicine [J]. *Chin Herb Med*, 2009, 1(1): 71-72.
- [25] 蓝涛华, 谭红梅, 吴伟康, 等. 通络单味药与复方通心络的通络效果比较研究 [J]. *中草药*, 2010, 41(11): 1842-1847.
- [26] 宋子凯, 曲锐, 秦玲, 等. 通心络抗家兔主动脉粥样硬化的作用及其机制 [J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2010, 36(1): 119-122.
- [27] 赵晖, 田建会, 郝晓燕, 等. 通心络对高脂血症兔血清脂质过氧化的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2010, 28(8): 1755-1756.
- [28] 金瑾, 张扬, 胡文祥, 等. 黄连解毒汤对高脂血症大鼠血脂代谢及相关基因表达的影响 [J]. *中西医结合学报*, 2010, 8(3): 275-279.