

组织蛋白酶在动脉粥样硬化心血管疾病中的研究进展

施炎希 王洪巨

【摘要】 组织蛋白酶(Cathepsin)是迄今为止研究最多的一种蛋白质,受生理及其他内环境因素的调节,这些条件同时影响着它的发生、发展及活性。因此,近年来,Cathepsin 的异常与癌症、慢性阻塞性肺疾病、自身免疫性疾病等严重疾病密切相关,其中也包括动脉粥样硬化心血管疾病(ASCVD),其机理可能是由于 Cathepsin 的弹性溶解和胶原溶解活性与 ASCVD 的发生有关,与此同时,Cathepsin 在病变的过程中扮演着非传统角色^[1]。而不同的蛋白酶也有着不同的功能,它们几乎存在于包含斑块组织的每种细胞类型中^[2],其表达程度可能也与动脉粥样硬化斑块(AS)严重程度有着密切联系^[3]。本文就 Cathepsin 与 ASCVD 彼此之间的联系及研究进展进行简要阐述。

【关键词】 组织蛋白酶; 动脉粥样硬化; 心血管疾病

[中图分类号]R543.5 [文献标识码]A DOI:10.3969/j.issn.1002-1256.2019.18.036

一、组织蛋白酶的结构与生物特性

1.组织蛋白酶的种类与结构:迄今为止,11 种人组织蛋白酶已经确定:B、C、H、F、K、L、O、S、V、W 和 X。Cathepsin 是由氨酸、天冬酰胺和半胱氨酸残基形成的保守的活性的三维口袋,它作为前缘原酶被合成,包含信令肽,前区,重链和轻链^[4-5]。通过在传递到内质网期间去除信号肽来形成组织蛋白酶,与此同时,在蛋白水解去除前区后,活性的 Cathepsin 可以在晚期体内或溶酶体的酸性区室中产生。

2.组织蛋白酶的活性与激活过程:组织蛋白酶通常位于溶酶体和核内体中,以降解内吞和细胞内“不需要的”蛋白质。最引人注目的是,在生理条件下,在细胞培养基中及实验动物和人类的循环中都观察到了组织蛋白酶蛋白质。其中,组织蛋白酶 S(CatS)是人类目前为止研究较多的一种组织蛋白酶,它是木瓜蛋白酶中众多成员中的一员,能降解纤连蛋白等其它蛋白的同时^[6],也与 I 型胶原降解产物有关,还可能参与了腹主动脉瘤(AAA)的进展。此外,CatS 也可能参与了炎症细胞相关反应^[7]。而在其他 Cathepsin 的类型特点中,组织蛋白酶 B(CatB)的表达与血管平滑肌有关,组织蛋白酶 C(CatC)在激活促炎性颗粒上有着典型特别的作用^[8]。Aich 等研究显示,组织蛋白酶的酶原激活通常在酸性 pH 值下以逐步方式发生,并且可能是在原结构域松动的基础上,同时破坏了酶原结构域与催化结构域之间的界面,从而触发了活化过程^[9]。

二、Cathepsin 与 ASCVD 的相关性

动脉粥样硬化是一种大中型动脉且病情较为缓慢的炎症性疾病,由载脂蛋白 B(apob)——含有脂蛋白颗粒、SMC 和免疫系统之间的互相反应引起。在当下,它是导致死亡率的主要原因^[10],且它是一种伴随斑块形成和进展的全身性炎症性疾病^[11]。Cathepsin 的含量在疾病诊治等方面可能具有极其重要的实际效应。由于 Cathepsin 有着各自不同的特点,例如 CatS,它的发现在 20 年前首次在人类动脉粥样硬化中被检测

出,其有着不同于其他 Cathepsin 的局限性分布特点。Zhang 等^[12]研究结果显示,CatS 是动脉粥样硬化的一个常见原因,而高血清 CatS 水平可能增加心血管疾病的发展风险。正因如此,Cathepsin 与 ASCVD 的发生、发展和转归间的关系已逐渐成为研究热点。

1.Cathepsin 与急性心肌梗死(AMI)的关系:AMI 会使得心肌细胞出现病理异常或是死亡导致的,此病多发生在冠脉狭窄基础上,产生了血凝块——血栓,急性的阻塞了冠脉,引起坏死。正常动脉中含有很少或没有组织蛋白酶时,该蛋白在 ASCVD 的 SMC 及巨噬细胞中却大量表达^[13]。而 CatS-/-能减少弹性蛋白的溶解活性,脂质、胶原蛋白和干扰素- γ (IFN- γ)的水平也显著降低^[14]。Wu 等^[15]研究发现,ctsd 在心脏巨噬体的移除中起着不可或缺的作用。此外,我们已经证实心肌梗死诱导的心肌 ctsd 上调有助于增强自噬,并保护心肌梗死后心室重构和心力衰竭进展。Fang 等^[16]研究显示,AS 的稳定性会在 CatL 激活的状态逐渐降低,且 CatL 还参与了降解细胞外基质等相关病理变化的机制。通过上面的研究可看出,急性心肌梗死患者血清 Cat S 含量与冠脉病变程度、心功能 NYHA 分级等可能成正相关,这有望成为心梗患者危险分层的重要参照标准。

2.Cathepsin 与经皮冠状动脉介入治疗(PCI)术后再狭窄的关系:支架内再狭窄(in-stent restenosis,ISR)是指在成功的介入手术后,管腔再次出现“堵塞”、狭窄。目前血管新生内膜的形成对 PCI 术后的远期治疗效果有着严重的负面影响。虽然 PCI 技术逐渐成熟,但是,支架附近的再次闭塞,仍然是目前迫切要解决的问题^[17]。McCutcheon 等^[18]研究显示,在 PCI 术后 5 个月,在支架附近因局部的反应导致激活了纤容系统,产生纤维化,使得形成了白色血栓再次堵塞。Mijovski 等^[19]研究结果证明,在 PTA 时血浆浓度和 CatS 活性的增加与随访 6 个月内 FPA 再狭窄的发生有关,而不受已确定的疾病/干预、胱氨酸 C(CYSC)浓度的影响。而 Huang 等研究显示,CatS 参与了 PCI 再狭窄的发生及发展,且其水平与新生内膜厚度相关,同时可以阻滞 SMC 的增值^[20]。血管 SMCs 的病理变化,如位置迁移是造成再狭窄的主要原因。SMC 迁移所

需的一个重要因素是基底膜的降解^[21]。

大量基础实验^[22]表明,血清 CatS 与 cystc 同时参与血管损伤后导致血管再狭窄的过程。同时临床研究^[23]发现 AMI 的患者行 PCI 后, cystc 浓度与再狭窄呈正相关, 研究显示血清 cystc 浓度变化可以用来评估 PCI 术后发生再狭窄的风险率。但是, 也有其他研究发现, 血浆 cystc 浓度与再狭窄并无直接关联, 与血浆中 CatS 的活性或浓度也并不相关^[19]。

之前已有研究证实, 在球囊损伤的大鼠颈动脉的新内膜中, CatS 和 CatK mRNA 和蛋白质的水平增加, 而 cystc mRNA 和蛋白质没有显著变化。免疫组学显示, 在定位于 SMC 和浸润的新生内膜的巨噬细胞中^[24] 组织蛋白酶的表达都是增加的。同样, 在兔子球囊损伤模型中, Burns-Kurtis 等报告说, 与未损伤的控制髂骨的动脉中的新内膜相比, 新内膜内有更高水平的 CatS mRNA 和蛋白, 而 cystc 的表达仅最低限度地上调^[21]。这些发现突出了维持组织蛋白酶和 cystc 之间良好平衡的重要性, 并且这种平衡的破坏导致一种病理状态, 这种病理状态是由于缺乏或过度降解胶原和心血管壁的 ECM 蛋白的其它组分的不适应的血管重塑^[25]。

最近使用小鼠静脉移植模型的研究结果表明, CatS 还通过弹性膜的降解促进血管 SMC 增殖和巨噬细胞迁移, 以促进静脉移植新内膜增生^[26]。组织蛋白酶在新生内膜形成中的作用得到了直接的证据进一步支持, CatS 和 CatK 遗传基因的缺失减少了新生内膜形成对损伤的反应, 结果表明, 通过调节 CatS 或 CatK 的活性可能是治疗血管内和相关再狭窄病变的新治疗策略^[27-28]。此外, CatS 和 CatK 也已经证实有降解纤维连接 SMC 等其它蛋白移行通过基底膜基质凝胶的能力, 可通过选择性 Cat 抑制剂来抑制^[29]。

3. Cathepsin 与心力衰竭 (CHF) 的关系: 心力衰竭是由心脏收缩功能紊乱和功能减弱引起的, 这会导致血泵容量急剧下降, 从而导致心脏及全身循环障碍。Cathepsin 在血液中的水平影响着心脏重塑, 从而导致心脏出现病理的改变, 最终发展为心力衰竭。且心衰主要是因为心脏重构造成的, 而 Cathepsin 通过自身降解作用参与到了心肌的病理性变化, 最直接的就是心脏重构, 因此有效的阻止 Cathepsin 的病理作用是关键环节^[30]。与 CatS 一样, CatK 同样有类似弹性蛋白酶的特性, 并且在正常血管中基本测不到 CatK。然而, 在早期 AS 中, CatK 的表达则在内膜和内侧 SMC 中被发现^[31]。同时, CatK 也参与心脏重塑的病理改变。Yusuke Izumi^[32] 等的研究提示 CatK 可能与 ASCVD 的发病机制及冠脉病理变化有着紧密的联系。与此同时, CatK 与心力衰竭也密切相关, Cheng 等^[33] 研究结果显示心力衰竭大鼠的心肌中 CatK 的表达明显高于正常大鼠。除了 CatK 有参与了心力衰竭的发生发展外, 组织蛋白酶 B (CatB) 在人类和鼠的心脏中都有所表达, 并参与心肌重塑及多种心脏疾病的病理过程。已有研究证明当患者因未控制高血压, 而慢慢进展为心脏相关疾病后, 此时患者出现心衰时, 可在其左心室心肌组织检测到大量的 CatB, 这表明它可能参与高血压性心脏病的病理过程^[33]。此外, Petrer 等^[34] 研究发现, 抑制 CatA 对于血浆 BNP 水平升高有显著阻滞作用, 对心功能有明显的改善趋势。组织蛋白酶 A 的抑制具有心脏保护作用, 支持组织蛋白酶 A 抑制治疗心肌梗死后心力衰竭的有益效果, 也间接显示

了 Cathepsin 对心功能有损伤作用。基于上述研究结果, 心力衰竭的病理过程伴随着各种组织蛋白酶, 如 CatK、CatB 和 CatA 的表达和活性的增加。对此可进一步研究其相关机制, 从而探求治疗心力衰竭新的靶向目标。

三、Cathepsin 抑制剂在 ASCVD 中的药理学治疗

组织蛋白酶抑制剂已用于多种治疗应用, 例如自身免疫疾病, 慢性阻塞性肺病^[35], 例如, catc 可以暂时阻断骨髓前体细胞, 这可能是一种在炎症和免疫条件下调节丝氨酸蛋白酶活性的有吸引力的治疗策略^[2]。而在心血管疾病中, Cathepsin 抑制剂的研究已正在逐渐开展。小鼠 Cathepsin 和 cystc 的遗传干预研究为关于 Cathepsin 在诸如 ASCVD 的疾病中的作用提供了有价值的见解, 通过使用选择性 Cathepsin 抑制剂测试了 Cathepsin (主要是 CatS) 在这些疾病中的作用。Ortega-Gomez 等研究发现, 抗 catg 抗体降低了总循环髓细胞部分的粘附力, 以及颈动脉中的中性粒细胞和单核细胞。更重要的是, 阻断 catg 可引起斑块发育的严重减少以及巨噬细胞的积聚^[36]。Abd-Elrahman 等研究发现, Cathepsin 抗体是一种快速诊断 AS 的工具, 证实 Cathepsin 靶向治疗 AS 炎症是一种有前途的方法^[11]。

CatS 抑制剂被选择作为临床候选用于开发, 它已完成了 I 期单次递增剂量研究^[37]。针对组织蛋白酶的药理学干预正在对其他人类疾病进行评估, 在不久的将来可能可以用作心血管疾病的临床疗法^[38]。

总结和展望 与 ASCVD 相关的 Cathepsin 的临床研究报道还很少。上述的大多研究都显示了 Cathepsin 在心血管事件中扮演着负面的角色。但是, 也有许多研究显示组织蛋白酶与心血管事件无明显联系, 甚至还起着保护性作用, 如 Jonas 等^[39] 也报道了 CatS 水平与任何类型的心血管事件或死亡率之间没有独立的关联。同样, Dencker 等人的以社区为基础的队列研究显示, CatL 和 CatD 在心血管事件均未见明显相关性^[40]。Fang 等^[41] 研究提示, MI 后患者血清中的 CatK 升高可能表明身体内环境出现炎症反应, 而不反映心肌中的 CatK 活性, 对心肌的损伤有预警防护的作用。换句话说也意味着不存在 Catk 蛋白可导致动脉病变的发生。这就需要进一步确认血液 Cathepsin 水平是否可以作为 ASCVD 发生的预测生化指标^[42]。

组织蛋白酶已成为心血管疾病的几种动物实验模型中的药理学药物和抑制剂的靶标。然而, 尚未充分研究它们在预测和监测人 ASCVD 的发生和发展的效果。需要更多的研究来分析它, 并为日后冠心病的诊断和治疗提供一些思路, 分析术后不良心血管事件, 为冠心病的防治及预后提供科学参考依据。

参 考 文 献

- [1] Platt MO, Shockey WA. Endothelial cells and cathepsins: Biochemical and biomechanical regulation [J]. Biochimie, 2016, 122:314-323.
- [2] Weiss - Sazan T, Gotsman I, Blum G. Cysteine proteases in atherosclerosis [J]. FEBS J, 2017, 284 (10): 1455-1472.
- [3] Abd-Elrahman I, Meir K, Kosuge H, et al. Characterizing cathepsin activity and macrophage subtypes in excised human carotid plaques [J]. Stroke, 2016, 47 (4): 1101-1108.
- [4] Cheng XW, Shi GP, Kuzuya M, et al. Role for cysteine protease cathepsins in heart disease: focus on biology and mechanisms with

- clinical implication[J]. *Circulation*, 2012, 125:1551-1562.
- [5] Qin Y, Shi GP. Cysteinyl cathepsins and mast cell proteases in the pathogenesis and therapeutics of cardiovascular diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2011, 131(3):338-350.
- [6] Ahmad S, Siddiqi MI. Insights from molecular modeling into the selective inhibition of cathepsin S by its inhibitor[J]. *J Mol Model*, 2017, 23(3):92.
- [7] Klaus V, Schmies F, Reeps C, et al. Cathepsin S is associated with degradation of collagen I in abdominal aortic aneurysm [J]. *Vasa*, 2018, 47(4):285-293.
- [8] Korkmaz B, Caughey GH, Chapple I, et al. Therapeutic targeting of cathepsin C: from pathophysiology to treatment [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 190:202-236.
- [9] Aich P, Biswas S. Highly Conserved Arg Residue of ERFNIN Motif of Pro-Domain is Important for pH-Induced Zymogen Activation Process in Cysteine Cathepsins K and L [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2018, 76(1-2):219-229.
- [10] Poulsen CB, Al-Mashhadi AL, von Wachenfeldt K, et al. Treatment with a human recombinant monoclonal IgG antibody against oxidized LDL in atherosclerosis-prone pigs reduces cathepsin S in coronary lesions[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 215:506-515.
- [11] Abd-Elrahman I, Kosuge H, Wisnes Sadan T, et al. Cathepsin Activity-Based Probes and Inhibitor for Preclinical Atherosclerosis Imaging and Macrophage Depletion [J]. *PLoS One*, 2016, 11(8):e0160522.
- [12] Zhang AW, Han XS, Xu XT, et al. Acute phase serum cathepsin S level and cathepsin S/cystatin C ratio are the associated factors with cerebral infarction and their diagnostic value for cerebral infarction[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2019, 35(2):95-101.
- [13] Chen L, Lu B, Yang Y, et al. Elevated circulating cathepsin S levels are associated with metabolic syndrome in overweight and obese individuals[J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2019, 35(3):e3117.
- [14] Sukhova GK, Zhang Y, Pan JH, et al. Deficiency of cathepsin S reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice [J]. *Clin Invest*, 2003, 111:897-906.
- [15] Wu P, Yuan X, Li F, et al. Myocardial Upregulation of Cathepsin D by Ischemic Heart Disease Promotes Autophagic Flux and Protects Against Cardiac Remodeling and Heart Failure [J]. *Circ Heart Fail*, 2017, 10(7):e004044.
- [16] 方红城, 陈少源, 吴保泉, 等. 血清 Legumain 在急性冠脉综合征患者中的变化[J]. *广东医学*, 2016, 37(19):2929-2931.
- [17] Wang F, Li C, Ding FH, et al. Increased serum TREM-1 level is associated with in-stent restenosis, and activation of TREM-1 promotes inflammation, proliferation and migration in vascular smooth muscle cells [J]. *Atherosclerosis*, 2017, 267(11):10-18.
- [18] McCutcheon K, Triantafyllis AS, Bennett J, et al. Unusually aggressive immature neo-intimal hyperplasia causing in-stent restenosis[J]. *Cardiovasc J Afr*, 2017, 28(6):404-405.
- [19] Mijovski MB, Boc V, Fonovic UP, et al. Increased Plasma Cathepsin S at the Time of Percutaneous Transluminal Angioplasty is Associated with 6-Months' Restenosis of the Femoropopliteal Artery [J]. *J Med Biochem*, 2018, 37(1):54-61.
- [20] 黄惠英, 郑辉, 杨树, 等. 组织蛋白酶 S 对犬颈动脉支架置入后再狭窄的影响及法舒地尔对其干预的研究[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2018, 35(3):211-215.
- [21] Burns-Kurtis CL, Olzinski AR, Needle S, et al. Cathepsin S expression is up-regulated following balloon angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 62:610-620.
- [22] Hong YJ, Jeong MH, Ahn Y, et al. The efficacy and safety of drug-eluting stents in patients with acute myocardial infarction: results from Korea Acute Myocardial Infarction (KAMIR) [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 163(1):1-4.
- [23] 张良, 周胜华, 刘启明, 等. 急性心肌梗死患者冠状动脉药物支架置入后血清胱抑素 C 水平: 对心血管事件及靶血管病变的预测价值[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(13):2403-2406.
- [24] Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, et al. Increased expression of elastolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, in the neointima of balloon-injured rat carotid arteries [J]. *Am J Pathol*, 2004, 164:243-251.
- [25] Cheng XW, Shi GP, Kuzuya M, et al. Role for cysteine protease cathepsins in heart disease: focus on biology and mechanisms with clinical implication [J]. *Circulation*, 2012, 125:1551-1562.
- [26] Shi HT, Wang Y, Jia LX, et al. Cathepsin S contributes to macrophage migration via degradation of elastic fibre integrity to facilitate vein graft neointimal hyperplasia [J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 101:454-463.
- [27] Wu H, Cheng XW, Hu L, et al. Cathepsin S Activity Controls Injury-Related Vascular Repair in Mice via the TL2-Mediated p38MAPK and PI3K-Akt/p-HDAC6 Signaling Pathway [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36:1549-1557.
- [28] Donners MM, Bai L, Lutgens SP, et al. Cathepsin K Deficiency Prevents the Aggravated Vascular Remodeling Response to Flow Cessation in ApoE-/- Mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11:e0162595.
- [29] Novinec M, Grass RN, Stark WJ, et al. Interaction between human cathepsins K, L, and S and elastins: mechanism of elastinolysis and inhibition by macromolecular inhibitors [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282:7893-7902.
- [30] 樊迪, 杨政, 唐其柱. 组织蛋白酶与心肌重构关系的研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2017, 46(12):182-188.
- [31] Wu H, Du Q, Dai Q, et al. Cysteine Protease Cathepsins in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2018, 25:111-123.
- [32] Izumi Y, Hayashi M, Morimoto R, et al. Impact of circulating cathepsin K on the coronary calcification and the clinical outcome in chronic kidney disease patients [J]. *Heart Vessels*, 2016, 31(1):6-14.
- [33] Cheng XW, Obata K, Kuzuya M, et al. Elastolytic cathepsin induction/activation system exists in myocardium and is upregulated in hypertensive heart failure [J]. *Hypertension*, 2006, 48(5):979-987.
- [34] Petretera A, Gassenhuber J, Ruf S, et al. Cathepsin A inhibition attenuates myocardial infarction-induced heart failure on the functional and proteomic levels [J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1):153.
- [35] Janga SR, Hamm-Alvarez SF. PP2A: A novel target to prevent cathepsin S-mediated damage in smoking-induced COPD [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2019, 200(1):6-8.
- [36] Ortega-Gomez A, Salvermoser M, Rossaint J, et al. Cathepsin G Controls Arterial But Not Venular Myeloid Cell Recruitment [J]. *Circulation*, 2016, 134(16):1176-1188.
- [37] Payne CD, Deeg MA, Chan M, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the cathepsin S inhibitor, LY3000328, in healthy subjects [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2014, 78:1334-1342.
- [38] Sjoberg S, Shi GP. Cysteine Protease Cathepsins in Atherosclerosis and Abdominal Aortic Aneurysm [J]. *Clin Rev Bone Miner Metab*, 2011, 9:138-147.
- [39] Wuopio J, Hilden J, Bring C, et al. Cathepsin B and S as markers for cardiovascular risk and all-cause mortality in patients with stable coronary heart disease during 10 years: a CLARICOR trial sub-study [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 278:97-102.
- [40] Dencker M, Tanha T, Karlsson MK, et al. Cystatin B, cathepsin L and D related to surrogate markers for cardiovascular disease in children [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11):e0187494.
- [41] Fang W, He A, Xiang MX, et al. Cathepsin K-deficiency impairs mouse cardiac function after myocardial infarction [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 127:44-56.
- [42] 李香, 类延娜. 组织蛋白酶与心血管疾病的研究进展 [J]. *中国心血管病研究*, 2014, 12(9):856-859.

(收稿日期:2019-05-15)

(本文编辑:卜明)