综　述

CRP 构象与动脉粥样硬化作用机制研究进展

王海东　朱晓燕

作者单位:712046　咸阳市,陕西中医学院医学技术系

【摘要】 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是经典的炎症标志物,近年研究发现 CRP 可能参与了动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)发展过程中的各个环节,包括脂质沉积、补体激活、细胞因子的合成释放、炎性细胞的趋化和细胞信号传导等。最近的研究证实 CRP 可以在某些特殊的环境下由五聚体结构(pCRP)解聚成为单聚体结构(mCRP)。这种构象的转变可能有助于解释在动脉粥样斑块内发生的局部炎症反应。但是 CRP 的这两种结构具体的作用机制尚不完全清楚,因此 CRP 构象的差别可能是导致对 CRP 的许多研究结论相互矛盾的主要原因。目前对 CRP 基因多态性与 CRP 水平表达的关系已明确,但是对其与不同构象 CRP 表达水平关系的研究甚少。对 CRP 构象的研究,将有助于进一步正确认识 AS 的发生发展机制。

【关键词】 C 反应蛋白;五聚体 C 反应蛋白;单聚体 C 反应蛋白;CRP 构象;动脉粥样硬化

doi:10.3969/j.issn.1674-7151.2014.03.015

近年来,越来越多的证据显示,慢性炎症在心血管疾病的发生和发展中扮演了重要角色。C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)作为炎症反应和组织损伤的敏感性指标,关于其与冠心病的关系的研究越来越深入。CRP 可能参与了动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)发展过程中的各个环节,其不再仅仅是一个炎症标志物。本文现将其作用机制的研究进展综述如下。

1　CRP 结构

CRP 是由肝脏分泌的一种正五聚体蛋白。正常状态下分子以五聚体形式存在,在酸性或碱性以及高尿酸或低钙的条件下可由五聚体分解为单体,并由此结构改变暴露出的新表位而引发免疫反应[1]。CRP 五聚体(pCRP)在体内与溶血性磷脂酰胆碱 (lysophosphatidyl choline, LPC) 结合后解聚成为 CRP 单体(mCRP),但在正常细胞,LPC 并不易与 CRP 结合,CRP 仅与受损组织细胞的 LPC 结合。活化的磷脂酶和血小板、凋亡的单核细胞、损伤的内皮细胞等胞膜表面表达的 LPC 可介导由 pCRP 到 mCRP 的转变。LPC 也是氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)的主要活性成分,ox-LDL 可能是介导 CRP 构象转换的重要因子。在钙离子缺失的条件下, 持续存在的 CRP 会自发的分解为 mCRP。目前,体内影响 CRP 构象转变的因素尚未完全明确。

2　CRP 的产生

炎症、感染、组织损伤时, 在细胞因子白介素 6(interleukin-6, IL-6)、IL-1β、肿瘤坏死因子 2α(tumor necrosis factor-2α, TNF-2α)的刺激下,主要由肝脏生成 CRP,也可在其他组织内,如神经细胞、单核细胞、淋巴细胞及 AS 斑块内合成。体外循环几乎检测不到 mCRP,其有可能仅存在于局部组织细胞膜上[2]。但关于局部组织的 mCRP 如何产生并不明确,一种猜测认为可能是由 CRP 在局部组织内经过构象转换产生, 另一种猜测认为是在局部组织直接由组织细胞表达产生。Eisenhardt 等[3]在 AS 患者活动进展期斑块内检测到了 CRP mRNA 的存在,并发现了 mCRP 的沉积。有研究[4]发现 CRP 可以与来自于循环中活化的细胞表面微粒结合发生构象转变并运送到内皮表面, 这表明 pCRP 不仅可以在损伤部位的细胞表面发生解聚, 而且提示 mCRP 可能来自于循环。但是组织细胞表达产生的是 CRP 还是 mCRP 以及这些 CRP 的局部表达对机体 CRP 水平的影响目前尚未明确。

3　CRP 与 AS 的发生和发展

CRP 在 AS 炎症发生的各个环节,包括脂质沉积、补体激活、细胞因子的合成释放、炎性细胞的趋化和细胞信号传导等方面都显示出其多样的生物活性和复杂的作用机制。

3.1　CRP 与脂质　脂质沉积为血管内皮损伤及低度炎症发生过程中的重要事件。CRP 与低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL)结合形成复合体后沉积于内皮下,在脂质代谢异常过程产生的几种脂蛋白变体中, 相对于氧化 LDL,酶修饰低密度脂蛋白 (enzyme modified low density lipoprotein, E-LDL)可以高亲和力结合 pCRP,进而产生 E-LDL/CRP 复合体,而此复合体可以高亲和力结合内皮细胞。但是此复合体能否完全激活补体还存在争论。mCRP 可以高效的识别 LDL 变体,但现有关于 CRP 与脂质亲和力的报道并未严格区

分 CRP 结构，pCRP 结构的亲和力尚不明确。同时有研究[5]发现 mCRP 较 pCRP 更能抑制内皮细胞对于乙酰化低密度脂蛋白的摄入，其不依赖于钙离子、免疫球蛋白 G 的 Fc 受体（Fc γ receptor，FcγR）以及血凝素样氧化低密度脂蛋白受体-1（lectin-like ox-LDL receptor 1，LOX-1），其依赖于脂筏受体的存在促进内皮细胞对变性脂质的摄取。

3.2 CRP 补体系统　补体系统的活化也是造成内皮损伤的重要因素。CRP 已经被证实与补体系统的激活密切相关，而 pCRP 与 mCRP 对补体系统的作用不尽相同。pCRP 和 mCRP 均可以与其配体 LPC 结合后与 C1q 相互作用激活补体活化的经典途径，但受损内皮细胞表面结合的 mCRP 却可以同时招募 C1q 和 H 因子以及补体调节蛋白分子调节补体瀑布的进展，从而限制补体激活晚期炎症反应的发展及强度[6]。Lauer 等[7]也发现，mCRP 可以招募 H 因子并与其结合形成复合体，诱导补体成分的失活，抑制炎症因子的释放。虽然目前对于 CRP 两种构象对补体的作用的结论不尽一致，但我们推测由 pCRP 到 mCRP 的转变提供了一种局部调控内皮细胞功能的途径。

3.3 CRP 与炎症因子　各种细胞因子与炎症细胞相互作用、泡沫细胞的形成和脂质纤维冒的形成是 AS 炎症发展过程中的加速因子，而许多研究也显示 CRP 参与其中。体外研究[8]证实 pCRP 可诱导内皮细胞表达细胞间黏附分子（intercellular adhesion molecule，ICAM）、血管细胞黏附分子（vascular cell adhesion molecule，VCAM）和 E-选择素以及化学因子单核细胞趋化因子-1 内皮素，增强巨噬细胞吞噬脂质的功能；同时通过降低内皮细胞内皮型一氧化氮合酶的活性和一氧化氮合酶 mRNA 的表达，抑制内皮细胞一氧化氮的合成，诱导内皮细胞的凋亡，抑制内皮细胞生成血管作用，增加 LOX-1 的表达，加强氧化 LDL 对内皮细胞功能的损害及增加血管紧张素-II 自身致炎症效应。这有可能是动脉内皮损伤后炎症反应与内皮修复功能受损从而形成纤维帽的重要机制。同时通过诱导血管平滑肌细胞血管紧张素 I 受体 mRNA 的表达，抑制血管舒张功能，内皮缺血损伤促进炎症发生。然而也研究[3]发现 pCRP 没有能够诱导经过孵育的动脉内皮细胞 I-CAM、VCAM、E-选择素和巨噬细胞分化抗原等细胞因子和黏附分子的产生和表达。pCRP 增加主动脉内皮细胞血浆纤维蛋白溶酶原激活物抑制因子 1（plasminogen activator inhibitor-1，PAI-1）、白介素 8（interleukin-8，IL-8）的表达，从而使得凝血系统失衡，其还可以促进免疫细胞表达 IL-1、IL-6、IL-8、IL-18、肿瘤坏死因子 α（tumor necrosis factor α，TNFα），进一步刺激机体产生 CRP，诱导炎性细胞活化和凋亡，并加速血栓的形成。pCRP 还可以通过提高组织因子的表达影响血栓的形成，诱导血栓纤维蛋白结构发生异常，干预纤溶过程[9]。pCRP 具有保护血管的潜能，即介导血管舒张功能，其可以促进 IL-1 受体拮抗剂的表达和抑制干扰素 γ 的合成，同时促进 IL-10 合成，上调内皮细胞的补体抑制蛋白的表达。有研究[10]通过将两种 CRP 分别与内皮祖细胞共同孵育，观察发现 mCRP 明显促进内皮细胞干扰素关联基因（IFI44L、IFI44、IFI27、IFI6、MX1、OAS2）的表达。mCRP 还可以通过抑制中性粒细胞的凋亡，诱导其趋化功能以及在内皮细胞的黏附聚集，并通过 CD16 促进血小板的活化聚集以及增强巨噬细胞对被修饰脂蛋白的吞噬功能，加速泡沫细胞的形成，从而加速 AS 斑块的形成[11]。据研究[12]显示，pCRP 可以与单核细胞结合，从而阻止变形脂质激活单核细胞，减弱单核细胞的趋化和聚集功能。由 pCRP 到 mCRP 的结构转变，恰好使得 pCRP 的保护作用减弱。pCRP 也可以通过内皮细胞膜的脂筏受体结合而变构成为 mCRP，并插入细胞膜，交联细胞表面多种受体，启动细胞活化信号，从而促进内皮细胞的激活[5]。此外，Shih 等[13]发现 LOX-1 也是 pCRP 的异常受体，LOX-1 不但可以介导 pCRP 的解构，还能够介导 CRP 与内皮细胞的相互作用，从而导致内皮细胞功能紊乱。因此，我们推测 pCRP 与 mCRP 之间的构象转换以及其与各种炎症细胞及细胞因子间的相互作用进一步放大 pCRP 参与的炎症损伤反应可能是 AS 炎症发生的重要机制之一。构象差别有可能是导致目前许多研究结论相互矛盾的重要原因，因此仍停留在 pCRP 水平而忽略 CRP 构象转换作用的研究，其研究价值和结果值得商榷。

3.4 CRP 功能调节　CRP 水平的大范围波动和 CRP 效应器受体包括 LPC、FcγR 受体、清道夫受体、LOX-1 以及脂筏受体的广泛存在，使得我们不得不思考 CRP 生理功能的调节机制。可诱导其变构的胆碱磷酸配体多存在于损伤部位细胞也可能是限制其生物活动过度发挥的重要原因。CRP 生理作用的发挥受到了其他生理因素（高密度脂蛋白、IL-10 等）的调节，而 AS 发生过程中 CRP 与各种免疫因子之间的作用机制存在的浓度梯度效应和构象差别可能是重要调节机制[14]。Ma 等[15]认为 pCRP 还存在中间态构象膜修饰反应蛋白（membrane modified CRP，mCRPm），由 CRP 到 mCRPm 和 mCRP 的构象转换可实现 CRP 功能更为精细的调节。

4 结语

开展 CRP 调节机制的研究可能帮助我们揭开不同 CRP 水平在冠心病各阶段炎症发生过程中的种种疑问，并有可能为临床提供有效治疗靶点。通过回顾国内外相关文献[16-18]，我们发现 CRP 基因多态性与 CRP 水平表达关系密切，但其与不同构象 CRP 表达水平关系如何，目前研究甚少，因此有必要在基于地域、种族等因素的流行病学调查的基础上，重新评估 CRP 在预测国人心血管事件发生风险中的标准分级，同时从宏观指标到微观分子等不同层次开展不同水平 CRP 条件下不同构象 CRP 在 AS 发生发展过程中与

（下接第 175 页）

化状态，其水平可反映 EBV-AHS 患儿病情的活动性。检测 T 淋巴细胞 CD69 的表达有利于临床判断治疗效果,并为应用免疫调节剂提供理论依据。

4 参考文献

1 Rouphael NG, Talati NJ, Vaughan C, et a1. Infections associated with haemophagocytic syndrome. Lancet Infect Dis,2007,7:814-822.

2 段红梅,谢正德,申昆玲. EB 病毒相关淋巴细胞增生性噬血综合征研究进展. 临床儿科杂志,2005,23:425-429.

3 Henter JI, Home A, Atieo M, et a1. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatr Blood Cancer,2007,48:124-131.

4 Filipovich AH. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) and related disorders. Hematology Am Soc Hematol Educ Program,2009:127-131.

5 汪慧英, James J Lee, Nancy A Lee. CD69 的表达在小鼠嗜酸细胞的活化与凋亡中的作用. 中国病理生理杂志,2009,25:1-6.

6 皇甫春荣,付红敏. EB 病毒相关性噬血细胞综合征的临床特征及外周血淋巴细胞亚群的变化. 中国小儿急救医学,2010,17:330-320.

7 Nagafuji K, Nonami A, Kumnao T, et, al. Perforin genemutations in adult -onset hemophagocytic lymohohistiocytosis. Haematologica, 2007,92:978-981.

8 Jin YK, Xie ZD, Yang S, et a1. Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis: a retrospective study of 78 pediatric cases in mainland of China. Chin Med J (Engl),2010,123:1426-1430.

(收稿日期:2014-04-16)

(本文编辑:陈淑莲)

(上接第 186 页)

各种免疫因素相互作用的机制研究,这将有助于我们进一步正确认识 AS 的发生发展机制。

5 参考文献

1 Potempa LA, Siegel JN, Fedel BA, et al. Expression, detection and assay of a neoantigen (Neo-CRP) associated with a free, human C-reactive protein subunit. Molecular immunology,1987,24:531-541.

2 Ji SR, Wu Y, Zhu L, et al. Cell membranes and liposomes dissociate C-reactive protein(CRP) to form a new, biologically active structural intermediate: mCRP(m). FASEB J,2007,21:284-294.

3 Eisenhardt SU, Habersberger J, Murphy A, et al. Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein on activated platelets localizes inflammation to atherosclerotic plaques. Circulation research, 2009,105:128-137.

4 Habersberger J, Strang F, Scheichl A, et al. Circulating microparticles generate and transport monomeric C-reactive protein in patients with myocardial infarction. Cardiovasc Res,2012,96:64-72.

5 Ji SR, Ma L, Bai CJ, et al. Monomeric C-reactive protein activates endothelial cells via interaction with lipid raft microdomains. FASEB J,2009,23:1806-1816.

6 Mihlan M, Blom AM, Kupreishvili K, et al. Monomeric C-reactive protein modulates classic complement activation on necrotic cells. FASEB J,2011,25:4198-4210.

7 Lauer N, Mihlan M, Hartmann A, et al. Complement regulation at necrotic cell lesions is impaired by the age-related macular degeneration-associated factor-H His402 risk variant. J Immunol,2011,187:4374-4383.

8 Hein TW, Singh U, Vasquez-Vivar J, et al. Human C-reactive protein induces endothelial dysfunction and uncoupling of eNOS in vivo. Atherosclerosis,2009,206:61-68.

9 Li R, Ren M, Luo M, et al. Monomeric C-reactive protein alters fibrin clot properties on endothelial cells. Thromb Res,2012,129:e251-e256.

10 Ahrens I, Domeij H, Eisenhardt SU, et al. Opposing effects of monomeric and pentameric C-reactive protein on endothelial progenitor cells. Basic Res Cardiol,2011,106:879-895.

11 Grad E, Pachino RM, Danenberg HD. Endothelial C-reactive protein increases platelet adhesion under flow conditions. Am J Physiol Heart Circ Physiol ,2011,301:H730-H736.

12 Eisenhardt SU, Starke J, Thiele JR, et al. Pentameric CRP attenuates inflammatory effects of mmLDL by inhibiting mmLDL monocyte interactions. Atherosclerosis,2012,224:384-393.

13 Shih HH, Zhang S, Cao W, et al. CRP is a novel ligand for the oxidized LDL receptor LOX-1. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009,296:H1643-H1650.

14 宋旭东. C 反应蛋白介导脂质紊乱参与动脉粥样硬化早期形成的研究. 第一军医大学,2007.

15 Ma X, Ji SR, Wu Y. Regulated conformation changes in C-reactive protein orchestrate its role in atherogenesis. Chinese Science Bulletin, 2013,58:1642-1649.

16 刘海行,赵冬,王薇. C-反应蛋白全基因测序及基因变异与血清水平的关联. 心肺血管病杂志,2010,29:521-524.

17 Kong H, Qian YS, Tang XF, et al. C-reactive protein (CRP) gene polymorphisms, CRP levels and risk of incident essential hypertension: findings from an observational cohort of Han Chinese. Hypertens Res,2012,35:1019-1023.

18 赵晓丽. C-反应蛋白单核苷酸多态性与缺血性卒中的关联研究. 山西医科大学,2011.

(收稿日期:2014-06-03)

(本文编辑:张志成)