

组织蛋白酶 L 对心血管的作用*

缪汝佳¹ 吴秀勤² 陆瑶¹ 钟华¹ 袁洪¹

[摘要] 组织蛋白酶 L (cathepsin L) 是半胱氨酸组蛋白酶家族中的细胞内高效蛋白酶之一, 在部分血管疾病、心脏扩大发生以及冠心病预测等方面发挥了重要作用。因此, 明确组织蛋白酶 L 在心血管系统中的作用, 对心血管疾病的诊断和治疗有着重要意义。本文对组织蛋白酶 L 对心血管影响的研究现状做一综述。

[关键词] 冠心病; 组织蛋白酶 L; 动脉粥样硬化; 血管新生; 心脏扩大

doi: 10.13201/j.issn.1001-1439.2014.07.005

[中图分类号] R541.4 **[文献标志码]** A

The effects of cathepsin L on cardiovascular system

MIAO Rujia¹ WU Xiuqin² LU Yao¹ ZHONG Hua¹ YUAN Hong¹

(¹Cardiology Department, The Third Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, 410013, China; ²Department of Neurology, Sun Yat-Sen Memorial Hospital, Sun Yat-Sen University)

Corresponding author: YUAN Hong, E-mail: yuanhong1975@163.com

Summary Cathepsin L is an intracellular protease with high potency, which belongs to cysteine cathepsin family. It plays an important role in the pathogenesis of part of vascular diseases, cardiac dilation and prognosis of coronary heart disease. Elucidating the role of cathepsin L in cardiovascular diseases is crucial to the diagnosis and treatment. This review summarizes the current researches about the effects of cathepsin L on cardiovascular system.

Key words coronary disease; cathepsin L; atherosclerosis; angiogenesis; dilated heart

组织蛋白酶 L (cathepsin L, CTSL) 是半胱氨酸组蛋白酶家族中一项细胞内高效组织蛋白酶, 广泛表达于各组织的溶酶体酶, 可以在细胞质、细胞核和细胞外被检测到, 具有促进毛发再生、表皮稳定、MHC-II 抗原提呈、肿瘤代谢等作用。作为一种哺乳动物的弹力、胶原蛋白酶, CTSL 在动脉粥样硬化、腹主动脉瘤等血管炎性疾病的发生发展中起到重要作用, 也可促进内皮细胞、内皮祖细胞相关的血管生成, 以及导致心肌扩张, 因此明确 CTSL 在心血管系统中的作用, 对心血管疾病的诊断和治疗有着重要意义。本文对 CTSL 在心血管系统中作用的研究现状做一综述, 以明确其对一部分心血管疾病的影响。

1 CTSL 对动脉的影响

动脉粥样硬化是一种多因素疾病, 成因复杂, 包括 CTSL 在内的蛋白水解酶被认为在动脉粥样硬化相关的间质重构、细胞迁移聚集、斑块稳定等方面发挥着重要作用。

大量研究证实, 组织蛋白酶 L 对动脉粥样硬化的形成有重要影响。Jormsjo 等^[1] 在比较健康小鼠

的动脉和 ApoE^(-/-) 小鼠的动脉时发现, 组织蛋白酶 L 在后者中高度表达, 并据此推测组织蛋白酶 L 参与了动脉粥样硬化处间质重构。Kitamoto^[2] 在对比 CTSL^(+/-)、CTSL^(+/+) 大鼠和 CTSL^(-/-) 大鼠时发现, 后者的粥样硬化斑块、脂核严重程度, 单核细胞、T 淋巴细胞迁移能力以及弹力和胶原蛋白降解程度均降低, 且降低的程度与 CTSL 基因的纯合度呈正相关。在冠状动脉(冠脉)粥样斑块中, 巨噬细胞 CTSL 的表达程度与斑块内坏死核的严重程度、不稳定性呈正相关^[3]。内皮细胞中的 CTSL 可以在一定程度上保护临近细胞, 当动脉粥样硬化时, 内皮细胞便会发生凋亡, 这被认为是坏死血管应对损伤的反应之一。内皮细胞凋亡过程中凋亡蛋白酶 3 (caspase-3) 的激活会触发 CTSL 的释放, 其分解基底膜蛋白多糖 C 末端产生的层粘连蛋白样球状片段具有抗平滑肌细胞、成纤维细胞凋亡功能^[4]。这一 CTSL 参与动脉粥样硬化的病理过程已经成为共识。

近年来陆续有研究关注 CTSL 在动脉粥样硬化中的表达调控及影响。尽管有证据表明, 脂质相关的转录因子过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 的激活有抗动脉粥样硬化作用^[5], 但 Dier 等^[6] 发现, 在动脉粥样硬化区巨噬细胞中, PPAR γ

* 基金项目: 国家科技支撑计划基金资助 (No. 2012BAI37B05); 973 计划资助 (No. 2011CB512001)

¹ 中南大学湘雅三医院心内科 (长沙, 410013)

² 中山大学孙逸仙纪念医院神经科

通信作者: 袁洪, E-mail: yuanhong1975@163.com

与视黄醇类受体形成的异二聚体通过与 CTSL 的启动子区的 PPAR 反应原件结合,诱导其表达增加,从而诱导巨噬细胞凋亡、自噬体生成减少和促使斑块进展。糖浓度增高可导致巨噬细胞溶酶体功能明显降低,能够改变包括 CTSL 在内的多种组蛋白酶和脂肪酶活性,使泡沫细胞、细胞内脂质和蛋白沉积,导致病变加重^[7]。Mattock^[8]发现,在不稳定斑块中巨噬细胞表达的豆蔻蛋白的含量和活性较在正常血管及稳定的斑块中均上升,其作用是处理、加工 CTSL 前体并激活后者,从而促进斑块发展。Yuan 等^[9]发现,巨噬细胞 p53 与动脉粥样斑块坏死核的扩大、斑块破裂有关,而 CTSL 又与 p53 表达有关,两者间的调控关系尚不清楚。由于直血管受到血液高层流冲击,而分支血管和弯曲血管受到振荡流和低层流冲击,故前者动脉硬化程度小于后者。鉴于这一现象,Manu 等^[10]在发现 CTSL 受到不同血流动力学影响后表达改变,认为内皮细胞中 CTSL 是重要的应切力敏感性蛋白酶。由此可见,CTSL 的生成及发挥作用过程中影响因素颇多,在其基因激活、转录、翻译加工、蛋白质组学上可能还受到其他调控,尚需要更多研究证实。

腹主动脉瘤作为动脉粥样硬化的表现形式之一^[11],其发生发展也与 CTSL 关系密切。腹主动脉瘤的形成主要为严重的粥样斑块间质蛋白断裂,在血管内压力的作用下,动脉壁局限性扩张。以下 3 个研究均发现腹主动脉瘤中 CTSL 高度表达。Sun^[12]建立动物腹主动脉瘤模型,发现较动脉瘤可被成功诱导的 CTSL^(+/+)大鼠,CTSL^(-/-)大鼠注入弹性蛋白酶诱导动脉瘤的大动脉处巨噬细胞数、CD4⁽⁺⁾T 细胞数、弹性蛋白降解片段更低,而且此处并不会发展成动脉瘤。其机制研究显示 CTSL 的缺乏可降低病变处单核细胞趋化蛋白-1 含量、巨噬细胞和 T-细胞的转移、血管再生,改变基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)及其他组织蛋白酶的表达及活性。Liu^[13]认为 CTSL 主要定位在腹主动脉瘤的平滑肌细胞、内皮细胞、巨噬细胞中,IL-1、TNF- α 、IFN- γ 、内皮细胞生长因子、成纤维细胞生长因子处理后均能提高 CTSL 含量,CTSL 可加速平滑肌迁移、聚积到内膜破损处,促使斑块恶化、动脉瘤破裂。Said^[14]发现在腹主动脉瘤中 MMP-9 与组织蛋白酶 CTSL 含量呈正相关,原因尚不明确,推测 CTSL 可降解 MMPs 的抑制剂,从而对其激活产生正反馈作用。可见,CTSL 在动脉瘤的发生、发展过程中作用明显,其抑制剂应用于预防、延缓动脉瘤具有广阔前景。

2 CTSL 对微血管的影响

微血管的生长过程复杂,受到多种因素调控,现认为 CTSL 在微血管新生、分化及内膜生长过程中主要起到了促进作用。

微血管的生长与内皮细胞、内皮祖细胞密切相关,许多学者针对这两种细胞与 CTSL 的关系在不同方面做过研究。Chung 等^[15]发现,在 bFGF 转染过的肌细胞刺激下,人脐静脉内皮细胞的 CTSL 生成增加,并通过 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)途径促进内皮细胞迁移。Urbich 研究组^[16]对内皮祖细胞和 CTSL 的关系进行了较为全面的研究。首先,他发现高糖可降低内皮祖细胞 CTSL 水平和活性。这种状态下 CTSL mRNA 轻度降低,而调节其稳定性的来源于 MHC-II 的 p41 却并未随糖浓度变化而变化,提示 CTSL 表达和活性的降低可能是由于翻译抑制或蛋白降解增加所致。再者,他发现 CTSL 在内皮祖细胞中的含量和活性远高于在内皮细胞中的含量^[17]。他认为,内皮祖细胞利用 CTSL 降解后穿透组织,而这与促进新生毛细血管形成有关,但与粘附、迁移、存活无关。基因敲除 CTSL 或使用其抑制剂不能完全消除内皮祖细胞诱导的血管新生反应,所以应该还存在其他物质促进血管新生。最后,在对内皮祖细胞的蛋白质组学进行研究时^[18],他发现 CTSL 抑制剂作用广泛,除可影响组蛋白酶家族、溶酶体蛋白,甚至是胸苷磷酸化酶一类内皮生长因子,这样总体效应是阻滞内皮祖细胞的血管新生作用。

Urbich 的系列研究初步说明了 CTSL 在血管新生中的重要作用。此外,还有一些研究者针对疾病模型做了更深入的研究。Keerthivasan^[19]证实胶质母细胞瘤细胞中血管内皮生长因子可提高 CTSL 启动子区活性和 mRNA 含量,促进瘤血管生成。Noriaki 等^[20]发现以下 3 种小鼠的视网膜血管新生能力的明显下降均与 CTSL 相关:使用 CTSL 特异性抑制剂的小鼠、CTSL 基因敲除的小鼠、移植 CTSL^(-/-)骨髓细胞的野生型小鼠。有人为了防止内皮祖细胞表达的 CTSL 促进眼内新生血管侵入视网膜无血管区从而产生不利影响,建议将血管内皮生长因子抗体运用于眼内血管新生,但效果有限。

CTSL 促微血管新生的同时,也存在一定的负性调控作用,Ute^[21]发现 CTSL 水解胶原纤维的 NC1 铰链区蛋白酶敏感性肽键断裂后可形成内皮抑素。内皮抑素的作用之一为抑制 CTSL 过度分解间质蛋白。而 CTSL 进一步水解内皮抑素形成的 G10T 和 K15T 两种肽段拥有比内皮抑素更强

的抗血管生成效应,并且 G10T 可通过结合到内皮细胞表面的 CD13 抑制内皮活性,破坏血管管型形成^[22]。Zhang 等^[23]发现 CTSL 干预血管后形成的内皮抑素如短期暴露可通过增强 NADPH 氧化酶活性促进超氧阴离子生成、损害血管内皮功能。一些氧化应激因素如 H₂O₂、不对称二甲基精氨酸可通过增强内皮祖细胞溶酶体膜渗透性来加速内皮祖细胞衰老、延缓微血管生成,其部分机制便是溶酶体中的组织蛋白酶 B、L、S 渗漏,降解沉默调节蛋白 1 所致^[24]。综上所述,CTSL 相关的血管生成的调控因素复杂,但作者认为其还是以促进微血管生成为主,CTSL 及其抑制剂在微血管生成相关的疾病中可能具有一定的应用前景,尚需更多研究来证实。

3 CTSL 对心脏的影响

心脏功能的正常发挥对人类至关重要,CTSL 的表达对心肌维持正常的代谢及形态发挥了重要作用。有两项研究表明^[25-26]CTSL 完全缺乏的 12 个月龄的小鼠会发生心肌纤维化、心脏扩张、心脏收缩能力下降等类似于扩张型心肌病特征的病变,从肌收缩、线粒体代谢相关蛋白以及氧化磷酸化蛋白改变中,研究者推测心脏中 CTSL 缺乏可使肌小节改变、氧代谢降低。而将含有 CTSL 基因的质粒转染入 CTSL^(-/-)小鼠并表达后,除了心肌纤维化,小鼠心肌结构异常和收缩力均有改善^[27]。而 CTSL 转基因小鼠在心脏负荷增加或 Ang-II 泵入下心脏肥厚程度较野生型小鼠可明显减轻。Tang 等^[28]认为这有以下机制相关:①在促心肌肥厚因素的刺激下,AKT、GSK3 β 、mTOR、7S6K 等分子磷酸化水平增高可产生不利于心肌稳定的影响,CTSL 可大大阻断以上途径。②在长期压力负荷中,CTSL 过表达可通过解除 Caspase-3/8 的裂解和活力来减轻心肌凋亡。③组织蛋白酶 L 可能通过阻断核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B) 磷酸化来抑制 NF- κ B 和炎症因子活性,从而减轻炎症反应。从以上动物模型可推测,CTSL 可能在心脏扩大过程中起着极其重要的作用,在进行扩张型心肌病机制研究时,应将 CTSL 作为重要研究对象。

在冠心病与 CTSL 关系研究中,研究者们集中探讨 CTSL 作为预测因子的价值。Liu 等^[29]发现冠脉造影诊断的急性冠脉综合征患者 CTSL 明显高于非冠心病患者,由此认为血清 CTSL 是评价冠脉疾病的一项独立生物标志物。Zhang 等^[30]研究发现冠心病患者的冠脉侧支循环建立情况与组织蛋白酶 L 呈正相关,认为 CTSL 可作为预测冠脉侧

支循环形成的生物标志物。Liu 等^[13]发现冠脉狭窄程度与 CTSL 也呈正相关。而 Mirzaii^[31]研究临床诊断的急性冠脉综合征患者血清与唾液 CTSL,其水平并无改变,继而认为 CTSL 不能作为冠心病的风险评估因子。笔者认为 CTSL 若与冠心病诊断及评估相关,对于临床上许多无冠脉造影指标或不愿行冠脉造影的疑似冠心病患者,能大大排除冠心病临床诊断的假阳性,但其实际价值尚有赖于更多随机、大规模、确切的临床证据支持。

4 展望

综上,CTSL 与一部分心血管系统疾病关系密切,但针对以上疾病中其介导的病理过程、病理调控以及相关药物的作用,所作研究还不多,笔者认为可结合组织蛋白酶间相互作用、组蛋白酶抑制剂、细胞因子等各种因素对疾病模型中 CTSL 的分子特征、作用底物、调控机制等进行更广阔、深入的研究,力求发掘出更多 CTSL 的病理机制和治疗作用,从而为其在心血管病变治疗中寻求依据和突破。

参考文献

- [1] JORMSJO S, WUTTGED M, SIRSOJO A, et al. Differential expression of cysteine and aspartic proteases during progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Am J Pathol*, 2002, 161: 939-945.
- [2] SHIRO KITAMOTO O, GALINA K, SUKHOVA A, et al. Cathepsin L deficiency reduces diet-induced atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-knock out mice[J]. *Circulation*, 2007, 115: 1065-1075.
- [3] LI W, KORNMARCK L, JONASSON L, et al. Cathepsin L is significantly associated with apoptosis and plaque destabilization in human atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 202: 92-102.
- [4] CAILHIER J F, ISABELLE S. Caspase-3 activation triggers extracellular cathepsin L release and endorepellin proteolysis [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 27220-27229.
- [5] HSUEH W A, LAW R E. PPARgamma and atherosclerosis-Effects on cell growth and movement [J]. *Arterioscl Throm Vas*, 2011, 21: 1891-1895.
- [6] DLER F, DARWEESH M. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma induces apoptosis and inhibits autophagy of human monocyte-derived macrophages via induction of cathepsin L [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 28858-28866.
- [7] FATEMEH M, CHRISTINE H J K. Inhibition of lysosomal function in macrophages incubated with elevated glucose concentrations: A potential contributory factor in diabetes-associated atherosclerosis [J]. *Ath-*

- erosclerosis,2012,223:144-151.
- [8] MATTOCK K L, GOUGH P J, HUMPHRIES J, et al. Legumain and cathepsin-L expression in human unstable carotid plaque[J]. *Atherosclerosis*,2010,208:83-89.
- [9] YUAN X M, OSMAN E, MIAH S, et al. p53 expression in human carotid atheroma is significantly related to plaque instability and clinical manifestations [J]. *Atherosclerosis*,2010,210:392-399.
- [10] PLATT M O, ANKENY R F. Laminar shear stress inhibits cathepsin L activity in endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26: 1784 - 1790.
- [11] PALAZZUOL I, ALBERT O, MADDALEN A, et al. Prevalence of risk factors, coronary and systemic atherosclerosis in abdominal aortic aneurysm: comparison with high cardiovascular risk population [J]. *Vascular health and risk management*,2008,4:877-883.
- [12] SUN J S, SUKHOVA G K. Cathepsin L activity Is essential to elastase perfusion-induced abdominal aortic aneurysms in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,2011,31:2500-2508.
- [13] LIU J, SUKHOVAL G K. Cathepsin L expression and regulation in human abdominal aortic aneurysm, atherosclerosis, and vascular cells[J]. *Atherosclerosis*,2006,184:302-311.
- [14] SAID A, KEVIN G. Cysteine protease activity in the wall of abdominal aortic aneurysms[J]. *J Vasc Surg*, 2007,46:1260-1266.
- [15] CHUNG J H, KYOUNG IM E. CATHEPSIN L derived from skeletal muscle cells transfected with bFGF promotes endothelial cell migration [J]. *Exp Mol Med*,2011,43:179-188.
- [16] CARMEN U, ELISABETH D. High glucose reduces cathepsin L activity and impairs invasion of circulating progenitor cells[J]. *J Mol Cell Cardiol*,2008,45:429-436.
- [17] URBIC H, CARME N, HEESCHE N, et al. Cathepsin L is required for endothelial progenitor cell-induced neovascularization[J]. *Nat Med*,2005,11:206-213.
- [18] CARMEN U, AYESHA I, DE S, et al. Proteomic characterization of human early pro-angiogenic cells [J]. *J Mol Cell Cardiol*,2011,50:333-336.
- [19] KEERTHIVASAN S, KEERTHIVASAN G. Transcriptional upregulation of human cathepsin L by VEGF in glioblastoma cells[J]. *GENE*,2007,399:129-136.
- [20] NORIAKI S, KYOKO O M. Cathepsin L in bone marrow-derived cells is required for retinal and choroidal neovascularization[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176: 2571-2580.
- [21] UTE F, LARS D. Secreted cathepsin L generates endostatin from collagen XVIII[J]. *EMBO*, 2000, 19: 1187-1194.
- [22] FLORIAN V, AHLAME S, BURDEN R E, et al. Cysteine cathepsins S and L modulate anti-angiogenic activities of human endostatin[J]. *J Biol Chem*,2011, 286:37158-37167.
- [23] ZHANG F, ZHANG Y, LI P L. Dependence of cathepsin L-induced coronary endothelial dysfunction upon activation of NAD(P)H oxidase[J]. *Microvascular Research*,2009,78:45-50.
- [24] CHEN J, XAVIER S, MOSKOWITZ K, et al. Cathepsin cleavage of sirtuin 1 in endothelial progenitor cells mediates stress-induced premature senescence [J]. *Am J Pathol*,2012,180:973-983.
- [25] IVONNE P, CHRISTIAN M. Lysosomal, cytoskeletal, and metabolic alterations in cardiomyopathy of cathepsin L knockout mice[J]. *FASEB*,2006,20:1266-1268.
- [26] JÖRG S, KERSTIN G, WERA R, et al. Dilated cardiomyopathy in mice deficient for the lysosomal cysteine peptidase cathepsin L[J]. *PNAS*,2002,99:6234-6239.
- [27] DANIEL S, JÖRG S. Cell type-specific functions of the lysosomal protease cathepsin L in the heart[J]. *J Biol Chem*,2007,282:37045-37052.
- [28] TANG Q Z, CAI J, SHEN D F, et al. Lysosomal cysteine peptidase cathepsin L protects against cardiac hypertrophy through blocking AKT/GSK3 β signaling [J]. *J Mol Med*,2009,87:249-260.
- [29] LIU Y X, LI X P. Usefulness of serum Cathepsin L as an independent biomarker in patients with coronary heart disease[J]. *Am J Cardiol*,2009,103:476-481.
- [30] ZHANG J, WANG P, HUANG Y B, et al. Plasma cathepsin L and its related pro-angiogenic factors play useful roles in predicting rich coronary collaterals in patients with coronary heart disease[J]. *J Int Med Res*,2010,38:1389-1403.
- [31] MIRZAII-DIZGA H, IRA J, RIAH I, et al. Serum and saliva levels of cathepsin L in patients with acute coronary syndrome[J]. *JCDP*,2011,12:114-119.

(收稿日期:2013-10-26)