

感染与动脉粥样硬化

马雅奎 秦明照 曾辉

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是多种心脑血管疾病的病理基础,严重危害人类健康和生命。如何通过探讨 As 的病因及发病机制发现有效的防治措施,从而延迟和逆转 As 病变的进展,降低心脑血管疾病的发病率和病死率,仍是心脑血管研究领域最重要课题之一。

脂代谢异常是引发 As 最常见原因,与之相关的糖尿病、高脂血症、肥胖等与代谢相关因素在 As 的作用受到广泛重视。但在患者的 As 斑块中,不仅可发现单核细胞/巨噬细胞、活化的 T 细胞等炎症细胞浸润,而且可以检测到多种炎症细胞因子和趋化因子。一系列研究证明,在脂质沉积于动脉壁局部,最终形成粥样斑块的过程中,存在一系列炎症级联免疫反应。因此,As 的免疫发病学说逐渐得到了广泛认同。该学说认为 As 是一种慢性炎症性血管疾病,免疫反应造成的血管损伤是 As 发生的中心环节,因此,高脂血症只是 As 发生的始动因素之一,其他引发 As 免疫损伤的因素日益受到重视。其中病原微生物感染可引起炎症级联反应,造成免疫损伤^[1]。因此,病原微生物在 As 发生和发展中的作用和机制日益受到关注^[2,3]。

一、与 As 相关的病原微生物

As 的发生发展与体内微生物反复持续感染有关的学说已提出近百年。支持这一学说最直接的证据是从 As 斑块中检测出病原微生物^[1,3];其次,用病原微生物感染实验动物可以诱发出与人类相似的 As。功能研究发现这些病原微生物与 As 发生、发展及 As 斑块的稳定性之间存在着密切联系,且对斑块的形态也产生一定的影响^[4]。

1. 肺炎衣原体(chlamydia pneumoniae, Cpn): Cpn 是一种普通的呼吸道病原菌,易导致机体的慢性持续感染。1988 年, Saikku 等首次在急慢性冠心病患者检测到 Cpn IgG。随后,应用免疫组织化学、电子显微镜、PCR、原位杂交等多种方法在 As 斑块中检出 Cpn^[5]。动物及体外实验证明 Cpn 能启动并加快 As 过程。目前, Cpn 是 As 中研究最多的病原微生物。

Cpn 引起血管损伤的机制包括: (1) Cpn 在血管内皮细胞、平滑肌细胞(SMC)、巨噬细胞中增殖,引起血管壁细胞功能减退^[6]; (2) Cpn 结构成分脂多糖(LPS)与血浆 LDL-C 及 HDL-C 结合,使之具抗原性和内皮毒性; (3) Cpn 诱导产

基金项目: 中国中医科学院自主选题研究项目(YZ-0608)

作者单位: 100700 北京, 中国中医科学院中医基础理论研究所(马雅奎); 北京同仁医院(秦明照); 首都医科大学北京地坛医院传染病研究所(曾辉)

通讯作者: 曾辉, Email: hzeng98@yahoo.com

生的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-2 (IL-2)、IL-6、IL-8, 干扰素- γ (IFN- γ)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 等细胞因子, 促进 As 的形成、发展。其中, IFN- γ 可抑制脂蛋白酶, 导致脂蛋白代谢紊乱, 使 TG 升高、HDL 下降, 促进 As 发生。TNF- α 诱导 SMC 表达血小板源生长因子 (PDGF)、清道夫受体 (SR) 的 mRNA, 促进 SMC 增殖及 SMC 源泡沫细胞的产生。这些细胞因子还诱导中性粒细胞产生氧自由基、氧化 LDL, 并吸引单核细胞等炎症细胞在损伤内皮处聚集, 加重了局部血管的损伤; (4) Cpn 产物热休克蛋白 60 (cHSP60) 促使 LDL 氧化为 ox-LDL。Cpn 感染后激活的巨噬细胞不仅吞噬病原微生物, 还刺激巨噬细胞 SR 表达, 通过 SR 介导吞噬 ox-LDL, 形成 As 斑块标志——泡沫细胞; (5) Cpn 通过 cHSP 激活机体自身免疫反应在 As 形成中起关键作用。感染 Cpn 的细胞大量表达 cHSP, 使机体产生抗-cHSP 抗体^[7]。cHSP 与人 HSP (hHSP) 具高度同源性, 可引发自体免疫反应, 通过补体激活途径及抗体依赖的细胞毒性作用损伤内皮细胞及巨噬细胞。此外, cHSP60 还诱导巨噬细胞产生 TNF- α 及基质金属蛋白酶 (MMPs)。后者通过降解血管基质成分, 导致斑块破裂。由此可见, Cpn 触发了一系列级联式的炎症反应。

2. 幽门螺旋杆菌 (*helicobacter pylori*, HP): HP 是 1983 年由 Warren 等从胃黏膜活检组织中分离出来的一种微需氧细菌, 它是慢性胃炎的病原菌, 并与胃癌及胃、十二指肠溃疡的发病过程密切相关。1994 年, Mendall 等首次报道了 HP 感染与冠心病存在一定的相关性。之后, 通过聚合酶链反应 (PCR)、免疫组化及免疫荧光均证实 As 斑块中存在 HP^[8]。

HP 导致 As 的机制可能为: (1) 脂质代谢紊乱: HP 感染历时较久者, 所测血浆 apoA 和 HDL 水平下降、TG 浓度升高; (2) 血浆氧自由基浓度升高: 研究表明氧自由基可损伤动脉内膜并使粥样斑块形成; (3) 炎症因子活性增强: TNF- α 、IL-6 等炎症因子表达增多, 致动脉平滑肌损伤过程的应答反应增强; (4) HP 感染引起的胃肠道疾病阻碍维生素的吸收, 在维生素 B6、维生素 B12 和叶酸缺乏的状况下, 导致同型半胱氨酸积聚, 损伤动脉并导致 As 的形成和发展^[9]。

3. 疱疹病毒 (*herpes virus*): 疱疹病毒分为三个亚类: α 2、 β 2、和 γ 2 疱疹病毒。 α 2 疱疹病毒主要包括单纯疱疹病毒-1 (*herpes simplex virus-1*, HSV-1)、HSV-2 和禽类 Marek 病疱疹病毒; β 2 疱疹病毒主要包括人类和鼠类的巨细胞病毒 (*cytomegalovirus*, CMV); γ 2 疱疹病毒包括 EB 病毒 (EBV)、卡波氏肉瘤疱疹病毒和鼠 γ 2 疱疹病毒 68 (MHV268)。其中 HSV-1、HSV-2 和 HCMV 与人 As 相关。临床报道进展的 As 患者疱疹病毒感染率增加, 尤其是 HCMV 感染加速移植心脏 As 的形成, 致使心脏移植手术失败率及病死率增高, 目前已倍受关注^[10]。

疱疹病毒引起 As 主要通过病毒直接侵犯和 (或) 间接的免疫反应的机制: (1) 造成内膜细胞的损伤; (2) 刺激 SMC 的增殖和迁移; (3) 改变脂代谢并促进脂肪在胞内的累积。此外, HCMV 还具有以下作用: ① HCMV 产物 US28 作为病毒趋化因子受体, 增强平滑肌细胞对炎症趋化因子 RANTES (regulated on activation,

normal T expressed and secreted) 和 MCP-1 的反应, 刺激 SMC 的增殖和迁移; ② HCMV 产生的即刻早期反应蛋白(IE72)刺激巨噬细胞启动 SR 的表达, 导致 ox-LDL 摄入增加, 成为 As 形成的早期始动因素; ③ HCMV 的即刻早期反应蛋白(IE84)通过蛋白-蛋白之间的相互作用与 p53 结合, 并使 p53 失活, 失活后的 p53 失去对细胞周期的调控, 细胞异常增殖, 并促进 SMC 的迁移, 导致血管腔狭窄或再狭窄^[1,4]。

4. 艾滋病病毒(human immunodeficiency virus, HIV): HIV 感染能明显增加 As 发生发展的风险^[11]。临床报道 HIV 至少使 CHD 发生率提高 3 倍以上^[12]。HIV 引发 As 发生的机制为: (1) HIV 导致低脂蛋白血症和伴有总胆固醇及 LDL-C 增高的高甘油三酯血症^[13]; (2) HIV 致使巨噬细胞逆向胆固醇运输功能受损, 胆固醇在胞内堆积, 形成泡沫细胞^[14]。同时, 巨噬细胞抗病毒防御功能失调, 病毒在细胞内复制, 损伤机体的先天免疫反应^[15]。

值得注意的是, 使用 HIV 蛋白酶抑制剂(HIV protease inhibitors, PIs)治疗 HIV 感染, 能显著地减低艾滋病(AIDS)的致病率和病死率, 但 PIs 可激活蛋白激酶 C(PKC)依赖的过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ), 诱导巨噬细胞表达清道夫受体 CD36 高表达, 由 CD36 介导吞噬脂质, 形成泡沫细胞^[16], 因此大大提高了接受 PIs 治疗的 HIV 感染者 As 的发生率。

5. 甲型流感病毒(A type fluensa virus): 流感病毒可使急性心绞痛发生率提高 2~3 倍, 流感流行期间也是心脏病病死率高峰期。使用流感疫苗能够显著降低老年患者心脏病和脑卒中发生率和病死率^[17]。研究发现流感病毒抑制抗炎的 HDL 产生, 促进前炎症因子、促凝血因子表达, 引发血管内皮功能失调, 诱导巨噬细胞进入血管壁, 增加血浆黏度, 释放儿茶酚胺引起心动过速^[18]。

6. 牙周感染(periodontal infection): 流行病学资料显示, 各种口腔感染及其治疗(包括牙齿治疗)均可造成不同程度的菌血症, 使 As 及 CHD 的危险性明显增加。Chiu^[19]用免疫染色法首次在人颈 As 中检测到了血链球菌(streptococcus sanguis), 其表达血小板聚集相关蛋白(PAAP), 诱导血小板聚集。血链球菌常位于斑块不稳定部位, 即富含巨噬细胞的肩部。检测出血链球菌的破裂斑块往往伴有血栓以及邻近的血管壁细胞富含凋亡小体, 这提示血链球菌可能影响 As 的进展, 预示斑块的破裂, 触发急性冠脉综合征(ACS)或缺血性中风。Gibson 等^[20]报导了牙龈卟啉单胞菌(porphyrromonas gingivalis)诱导 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)TLR2 和 TLR4 的表达, 通过 TLRs 跨膜信号转导介导天然免疫应答反应, 加速 As。此外, Tuomainen 等^[21]还发现牙周病的主要致病菌放线杆菌(actinobacillus)能导致炎症反应、脂蛋白紊乱以及血管基质重塑, 促进 As 发展。

7. 其他病原微生物: 其他微生物如甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、柯萨奇病毒、EB 病毒及风疹病毒等感染可能与 As 有关^[22]。但目前许多研究结论在诸多方面尚未取得一致。

虽然感染因素在 As 发生和发展中的起重要作用, 但没有确切证据可证明任

何一个单一感染原可致 As, 并且患者还可能同时存在着多种感染。进一步研究发现感染负荷以及多种病原微生物的协同作用与 As 发生及病变程度有明显的相关性^[23]。这表明从目前的资料无法直接肯定感染与 As 的因果关系, 只能提示感染参与 As 的危险。其具体作用机制尚未明确。

二、TLRs 信号转导途径在病原微生物感染引发 As 过程中起重要作用

由于多种微生物与 As 的发生和病情进展具有相关性, 并且这些微生物感染造成血管损伤的机制有很多的相同或相似之处。因此, 很有可能不同微生物通过相同的途径引发相同的血管免疫损伤。越来越多的结果表明 TLRs 传递的信号在病原微生物感染引发 As 过程中起重要作用。TLRs 在中性粒细胞、单核巨噬细胞和树突状细胞中高表达, 而这些细胞尤其是单核巨噬细胞既在天然免疫应答中承担识别抗原微生物的重要作用, TLR 信号可以激活此类细胞, 引发一系列免疫反应; 同时单核巨噬细胞还可通过表达 SR 吞噬 oxLDL。病原微生物(细菌、病毒等)感染还可激活中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞表达 SR^[22]。在 As 发生发展过程中主要激活 TLR4 通路。在 As 早期, oxLDL、革兰阴性菌的结构蛋白 LPS 和 Cpn 的 cHSP 刺激巨噬细胞产生 TLR4, 激活的 TLR4 通路促进巨噬细胞吞噬 oxLDL, 形成泡沫细胞; 产生细胞因子和趋化因子, 这些因子进一步刺激 TLR4 表达。在 As 进展期, LPS 通过 TLR4 通路诱导弹力蛋白降解酶(elastin-degradeing enzyme) cathepsin S 表达, 降解弹力蛋白促进 SMC 内迁。在 As 后期, LPS 通过 TLR4 通路介导 MMP-9 表达, 降解斑块纤维帽胶原蛋白导致斑块破损^[22]。

三、As 炎症标志既是微生物感染的标志, 也是血管炎性反应的标志

动物及体外实验发现 As 斑块中有炎症细胞浸润及多种炎症递质表达^[24], 提示病变内发生了免疫应答。从血清中检测出的炎症标志既反映了免疫学问题, 同时也反映了感染与疾病的关系。临床研究证明, 在冠心病患者血清中 C 反应蛋白(CRP)、IL-6 及 sICAM 等炎症标志的浓度明显升高, ACS 发生前后及介入治疗后有炎症递质升高的表现且与患者的不良预后有一定的关系, 其中对 CRP、TNF- α 及 ICAM 预后意义的研究已经初步得到证实^[25]。流行病学研究进一步发现, CRP、TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-18、纤维蛋白原、VIII 因子、细胞黏附分子-1 以及 P-选择素等炎症标志能预示日后的心肌梗塞、脑卒中、外周血管病及病死率。其中, CRP、IL-6、IL-18、可溶性细胞黏附分子(sICAM)、TNF- α 增高, 预示 As 斑块病变的不稳定、心肌梗死(MI)发生率高、缺血再灌注损伤严重^[24, 25]。现已证实了 CRP、sICAM、IL-6、IL-18、TNF- α 等参与 As 斑块内主要细胞成分如血管内皮细胞、SMC、巨噬细胞、T 淋巴细胞等发生的炎症反应过程及调节作用^[24]。但是, 目前血清学只能反映几种炎症标志物与 As 有关的临床事件相关联, 这些资料不能将感染与 As 的因果关系以及继发感染区别开来。

四、抗炎治疗在 As 治疗中的作用

由于病原微生物感染及其继发的炎症反应在 As 形成、发展中起作用, 因此在 As 治疗中试验性采用抗生素、抗炎剂或其他强有力的免疫治疗, 可能是治疗

As 的另一途径。

1. 抗生素治疗:大规模的临床试验如 WIZARD 试验、ACES 试验、CLARICOR 试验等,使用针对病原微生物的抗生素如阿奇霉素、罗红霉素、四环素及喹诺酮类药物与炎症相关的感染,结果表明抗生素存在一定的益处(即危险下降 20%~30%),降低了 CHD、ACS 的发生率和心血管病的病死率^[1]。但是,另一些研究不能证实使用抗生素的益处,不能肯定抗生素治疗 As 的前景。这可能是由于:(1)与 As 相关的病原微生物有多种,抗生素只能对于其中某些种类起作用;(2)抗生素可以控制病原微生物增殖,但无法抑制已经发生的免疫级联反应。此外,由于感染可以反复发生,因此长期用于抗生素预防治疗 As 是不可行的。

2. 降脂药的抗炎作用:在治疗 As 过程中发现他汀类药物具有抗炎作用,而且不依赖于降脂作用。他汀类的抗炎作用是由于其抑制 3-甲基 3,5-二羟基戊酸形成过程中产生的中间产物异戊二烯,它是脂质类黏附于细胞内的信号分子。通过异戊二烯信号转导途径进一步控制细胞内许多蛋白的活动,包括干扰黏附分子和细胞因子的表达,抑制细胞的分裂和抗原递呈。其次,他汀类药物能降低细胞膜胆固醇水平,可减少 T 细胞抗原受体的集聚^[26]。此外,他汀类能减少斑块内的巨噬细胞和 T 细胞,减少 MMP-2 免疫反应,增加 MMP 组织抑制因子(TIMP)表达和下调 As 的炎性标志,如 CRP 和血清淀粉 A(SAA)水平^[24]。

3. 其他免疫治疗:免疫治疗 As 主要通过调节免疫功能,抑制 COXs、高血压蛋白原酶-血管紧张素系统、炎性细胞因子和 MMPs,能阻止 As 进一步发展^[24]。动物实验中还发现免疫疗法可预防病毒感染引起的脂质集聚和 As 发生^[27]。临床研究表明心脏移植患者使用抗病毒药更昔洛维后,As 的发病率低于服用安慰剂的对照组(34% vs 60%, $P < 0.1$)^[28]。免疫抑制剂环孢霉素 A、雷帕霉素、西罗莫司(Sirolimus)能阻断 T 细胞的激活,明显阻断平滑肌的增殖,抑制内膜的损伤。西罗莫司涂层支架已成功应用于预防血管成形术后再狭窄^[29]。

综上所述,长期、慢性、持续性感染是 As 形成的重要原因。病原微生物不仅作为一种抗原分子引起炎症反应,导致血管内皮功能障碍,促使脂质和炎性细胞在动脉内膜下的沉积,而且亦可作为一种转录因子促进 SMC 的增殖和迁移,血脂代谢异常,促进炎症因子产生,诱导巨噬细胞吸收的脂质,形成泡沫细胞;抑癌基因功能受损与细胞过度增殖、凋亡及斑块破裂有关。感染可能启动 As 的发生,促进 As 的发展,导致动脉痉挛、斑块破裂及血栓形成,促进冠心病、脑卒中等缺血性心血管疾病的发生发展,为缺血性心脑血管疾病的发病机理提供一定的依据,也为缺血性心脑血管疾病的流行病学预防、诊断以及治疗提供有益的参考。

参 考 文 献

- 1 Ludewig B, Krebs P, Scandella E. Immunopathogenesis of atherosclerosis. *J Leukoc Biol*. 2004;76:300-306.
- 2 Stassen FR, Vainas T, Bruggeman CA. Infection and atherosclerosis. An alternative view on an outdated hypothesis. *Pharmacol Rep*. 2008;60:85-92.
- 3 Madjid M, Vela D, Khalili-Tabrizi H, et al. Systemic infections cause exaggerated local inflammation in atherosclerotic coronary arteries: clues to the triggering effect of acute infections on acute coronary syndromes. *Tex Heart Inst J*. 2007;34:11-18.
- 4 Jonasson L. The possible link between infections and atherosclerosis. *Indian J Med Sci*. 2007;61:124-126.

- 5 Campbell LA, Kuo CC. Chlamydia pneumoniae--an infectious risk factor for atherosclerosis? *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2:23-32.
- 6 Kloppenburg GT, de Graaf R, Grauls GE, et al. Chlamydia pneumoniae aggravates vein graft intimal hyperplasia in a rat model. *BMC Microbiol*, 2007, 7:111.
- 7 Watt S, Aesch B, Lanotte P, et al. Viral and bacterial DNA in carotid atherosclerotic lesions. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2003, 22:99-105.
- 8 Singh RK, McMahon AD, Patel H, et al. Prospective analysis of the association of infection with CagA bearing strains of *Helicobacter pylori* and coronary heart disease. *Heart*, 2002, 88:43-46.
- 9 Hamed SA, Amine NF, Galal GM, et al. Vascular risks and complications in diabetes mellitus: the role of *helicobacter pylori* infection. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2008, 17:86-94.
- 10 Kamar N, Mengelle C, Rostaing L. Alteration of direct and indirect effects of cytomegalovirus. *Exp Clin Transplant*, 2007, 5:727-730.
- 11 Eugenin EA, Morgello S, Klotman ME, et al. Human immunodeficiency virus (HIV) infects human arterial smooth muscle cells in vivo and in vitro: implications for the pathogenesis of HIV-mediated vascular disease. *Am J Pathol*, 2008, 172:1100-1111.
- 12 Vittecoq D, Escaut L, Chironi G, et al. Coronary heart disease in HIV-infected patients in the highly active antiretroviral treatment era. *AIDS*, 2003, 17 Suppl 1:S70-S76.
- 13 Fontas E, van Leth F, Sabin CA, et al. Lipid profiles in HIV-infected patients receiving combination antiretroviral therapy: are different antiretroviral drugs associated with different lipid profiles? *J Infect Dis*, 2004, 189:1056-1074.
- 14 Feng B, Tabas I. ABCA1-mediated cholesterol efflux is defective in free cholesterol-loaded macrophages. Mechanism involves enhanced ABCA1 degradation in a process requiring full NPC1 activity. *J Biol Chem*, 2002, 277:43271-43280.
- 15 Bukrinsky M, Sviridov D. Human immunodeficiency virus infection and macrophage cholesterol metabolism. *J Leukoc Biol*, 2006, 80:1044-1051.
- 16 Dressman J, Kincer J, Matveev SV, et al. HIV protease inhibitors promote atherosclerotic lesion formation independent of dyslipidemia by increasing CD36-dependent cholesteryl ester accumulation in macrophages. *J Clin Invest*, 2003, 111:389-397.
- 17 Nichol KL, Nordin J, Mullooly J, et al. Influenza vaccination and reduction in hospitalizations for cardiac disease and stroke among the elderly. *N Engl J Med*, 2003, 348:1322-1332.
- 18 Madjid M, Aboshady I, Awan I, et al. Influenza and cardiovascular disease: is there a causal relationship? *Tex Heart Inst J*, 2004, 31:4-13.
- 19 Chiu B. Multiple infections in carotid atherosclerotic plaques. *Am Heart J*, 1999, 138:S534-S536.
- 20 Gibson FC 3rd, Ukai T, Genco CA. Engagement of specific innate immune signaling pathways during *Porphyromonas gingivalis* induced chronic inflammation and atherosclerosis. *Front Biosci*, 2008, 13:2041-2059.
- 21 Tuomainen AM, Jauhainen M, Kovanen PT, et al. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* induces MMP-9 expression and proatherogenic lipoprotein profile in apoE-deficient mice. *Microb Pathog*, 2008, 44:111-117.
- 22 Michelsen KS, Doherty TM, Shah PK, et al. TLR signaling: an emerging bridge from innate immunity to atherogenesis. *J Immunol*, 2004, 173:5901-5907.
- 23 Espinola-Klein C, Rupprecht HJ, Blankenberg S, et al. Impact of infectious burden on extent and long-term prognosis of atherosclerosis. *Circulation*, 2002, 105:15-21.
- 24 Stoll G, Bendszus M. Inflammation and atherosclerosis: novel insights into plaque formation and destabilization. *Stroke*, 2006, 37:1923-1932.
- 25 Koenig W, Khuseynova N. Biomarkers of atherosclerotic plaque instability and rupture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27:15-26.
- 26 Halkin A, Keren G. Potential indications for angiotensin-converting enzyme inhibitors in atherosclerotic vascular disease. *Am J Med*, 2002, 112:126-134.
- 27 Schepers A, de Vries MR, van Leuven CJ, et al. Inhibition of complement component C3 reduces vein graft atherosclerosis in apolipoprotein E3-Leiden transgenic mice. *Circulation*, 2006, 114:2831-2838.
- 28 Valantine HA, Gao SZ, Menon SG, et al. Impact of prophylactic immediate posttransplant ganciclovir on development of transplant atherosclerosis: a post hoc analysis of a randomized, placebo-controlled study. *Circulation*, 1999, 100:61-66.
- 29 Kastrati A, Mehilli J, von Beckerath N, et al. Sirolimus-eluting stent or paclitaxel-eluting stent vs balloon angioplasty for prevention of recurrences in patients with coronary in-stent restenosis: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2005, 293:165-171.

(收稿日期:2008-09-12)

(本文编辑:温少芳)

马雅奎,秦明照,曾辉. 感染与动脉粥样硬化[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版, 2009, 3(1): 86-91.