

巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇代谢与动脉粥样硬化

徐艳杰, 程晓曙*

(南昌大学 第二附属医院 心内科, 江西 南昌 330006)

摘要:巨噬细胞源性泡沫细胞的形成是动脉粥样硬化形成和发展中的早期变化。巨噬细胞向泡沫细胞的转变与巨噬细胞清道夫受体介导脂蛋白的吸收,ATP 结合盒转运子介导胆固醇的流出及细胞内胆固醇的代谢机制相关。对巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇代谢的研究,将为防治动脉粥样硬化寻找新的突破口。

关键词:巨噬细胞;清道夫受体;ATP 结合盒转运子;酰基辅酶 A;胆固醇酰基转移酶;胆固醇酯水解酶

中图分类号:R 5 文献标志码:A

Cholesterol metabolism of macrophage foam cells and atherosclerosis

XU Yan-jie, CHENG Xiao-shu*

(Dept. of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract: Foam cells is formed in early stage of atherosclerosis. The transformation of macrophage foam cell involves the disruption of a homeostatic mechanism that controls the uptake, intracellular metabolism and efflux of cholesterol by macrophages. The research of the mechanism of foam cells has a great significance for the prevention and the treatment for the atherosclerosis.

Key words: macrophage; scavenger receptor; ABC transporter; ACAT; CEH

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是包括我国在内的世界许多国家主要心脑血管疾病之一。在动脉粥样硬化的病理生理过程中,从早期的脂纹期到进一步的斑块形成期巨噬细胞源性泡沫细胞均起了至关重要的作用^[1]。脂纹(fatty streak)的形成首先是由血液中的单核细胞与内皮细胞黏附活化内皮细胞开始的,继而在趋化因子的影响下被黏附的单核细胞趋化迁移至血管内皮下转变成为巨噬细胞。巨噬细胞在内皮下可大量吞噬吸收修饰后低密度脂蛋白(modified low density lipoprotein, modified LDL),当细胞内吸收胆固醇超过胆固醇的排泄,此时的巨噬细胞就成为了超载脂质的泡沫细胞。巨噬细胞向

泡沫细胞的转变与细胞内胆固醇稳态失衡、胆固醇的吸收与排泄、胞内的代谢等机制相关^[2],通过对这些潜在因素和机理探讨分析,可为防治动脉粥样硬化寻找新的突破口。

1 巨噬细胞内脂蛋白吸收

1.1 清道夫受体-A(SR-A)

清道夫受体-A(SR-A)为77 ku三聚体蛋白,在血小板、单核/巨噬细胞表面均有表达,可与氧化LDL及乙酰化LDL结合,促进巨噬细胞对脂蛋白的吸收。研究发现动脉血管损伤处的巨噬细胞通过SR-A不断摄取ox-LDL和糖基氧化的LDL,导致巨

收稿日期:2011-12-26 修回日期:2012-05-03

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划(2008BA I 68B02)

*通信作者(corresponding author): xiaoshumenfan@126.com

噬细胞内脂质蓄积,最终形成病变早期特征性标志泡沫细胞^[3]。利用基因 RNA 干扰技术沉默 SR-A 的活性时发现,可减少动脉粥样硬化斑块及泡沫细胞的形成^[4]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 及白介素-6 (IL-6) 炎症因子致动脉粥样硬化效应可能与其上调清道夫受体蛋白表达有关^[5]。

1.2 CD36

CD36 是具有 88 ku 糖基化跨膜蛋白,属于 SR-B 家族。它在血小板、骨骼肌、心肌、脂肪细胞、单核细胞、微血管内皮细胞表面均有表达。CD36 可与氧化型磷脂、血小板结合蛋白 (thrombospondin-1)、凋亡细胞、脂肪酸等配体结合。CD36 介导 50% ~ 60% 的 ox-LDL 的内吞,是主要的 ox-LDL 受体^[3]。在巨噬细胞中,CD36 可与 ox-LDL 中特异性氧化型磷脂 sn-2 处缩短的不饱和脂肪酸结构识别与结合。CD36 与 ox-LDL 相互作用可引起 src 蛋白家族激酶 Lyn, MAPK, Vav 家族鸟嘌呤核苷酸转化因子等信号通路的激活,导致配体分子内化,泡沫细胞的形成及抑制迁移^[6]。CD36 的配基与信号传导过程相关,其中过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ , PPAR γ) 被认为是调节 CD36 表达的关键因子^[7]。

1.3 血凝集素样低密度脂蛋白受体 (LOX-1)

血凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 (LOX-1), 是氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 在体内的受体之一,属于 SR-E 家族的成员,主要表达于血管内皮细胞表面,在巨噬细胞、平滑肌细胞和血小板表面也有表达,对 ox-LDL 起到结合、吞噬和降解的作用。LOX-1 可与 ox-LDL、凋亡细胞、活化的血小板和细菌等配体结合^[8]。ox-LDL 与 LOX-1 结合不仅能活化蛋白激酶 C (PKC) 和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号传导,还能诱导细胞凋亡,在 AS 斑块和病变部位对凋亡和坏死细胞形成发挥主要作用。LOX-1 通过 MAPK 途径可使一些生长因子和转录因子如 MCP-1 和 NF- κ B mRNA 表达增强,一些黏附分子和炎症分子也表达增加,引起单核细胞等向内皮下聚集,导致单核细胞吞噬大量 ox-LDL 而形成泡沫细胞^[9]。

1.4 SR-BI

SR-BI 是 82 ku 膜糖蛋白,具有一个胞外区和二

个跨膜区,也是 SR-B 家族的成员之一。SR-BI 可与天然脂蛋白、氧化型脂蛋白等配体结合,主要的生理功能是介导细胞选择性的吸收脂蛋白,尤其是 HDL 中的胆固醇酯吸收以及细胞与脂蛋白非酯化胆固醇的双向流动。研究证实,体内大量氧化型磷脂的堆积可抑制胆固醇的运输,致机体高脂血症和 AS 的形成^[10]。但现今对于巨噬细胞中 SR-BI 的表达在 AS 中的作用仍存在争议。有研究显示动脉血管壁局部巨噬细胞 SR-BI 的表达,可能具有抗动脉粥样硬化的作用,其机制主要是通过促进胆固醇的流出,抑制泡沫细胞形成的作用^[11]。但在高脂血症模型研究中证实 SR-BI 的表达可促进粥样斑块的发展。于是对于 SR-BI 的正确认识,有助于揭示清道夫受体 B 家族在 AS 中可能起双刃剑的作用。

2 巨噬细胞胆固醇的流出

2.1 ABCA1

ABCA1 最初是在高密度脂蛋白缺乏症 (Tangier 病) 患者中发现,此种患者由于 ABCA1 基因突变使得其介导胆固醇流出载脂蛋白 A (apoA-1) 功能受损,进一步使 HDL 合成低下,大量的胆固醇沉积在组织中,巨噬细胞内胆固醇酯的集聚,从而增加了冠心病的发病率。人 ABCA1 是染色体 9q31 编码 220 ku 蛋白,介导细胞胆固醇的分泌,在 apoA-1 介导胆固醇转运中起到关键限速作用,这种转运体在巨噬细胞中大量表达^[12]。ABCA1 的表达受人巨噬细胞胆固醇负荷的调节,乙酰化-LDL 可上调 ABCA1 mRNA 和蛋白的表达, HDL 转运胆固醇后下调 ABCA1 的表达。apoA-1 也可促进 apoE 的分泌, ApoE 是具有抗动脉粥样硬化作用的血浆载脂蛋白, ApoE 可通过 ABCA1 促进巨噬细胞内胆固醇向外源性受体流动。过表达人 ABCA1 的转基因小鼠,血清中 HDL-C 明显增加。免疫和炎症反应也可通过调节 ABCA1 的表达致脂质紊乱 AS 的形成^[13]。

2.2 ABCG1

在巨噬细胞中 ABCG1 与 ABCA1 一样可抑制细胞内大量脂质负荷。人巨噬细胞中 ABCG1 表达的上调不仅可通过 acLDL, 还可通过其他 ox-LDL。ABCG1 是 LXR 的靶基因。OxLDL 通过 LXR 受体介导细胞内 ABCG1 的转录。在正常生理状态下, ABCG1 主要在细胞内发现,细胞膜上并不表达。当

LXR 受体激活时, ABCG1 可重新在细胞表面表达^[14]。PPAR- γ 的激活也可增加 ABCG1 的表达刺激胆固醇外流至外周 HDL。在内皮细胞中腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 是异源三聚体酶与细胞内能量代谢平衡有关, 在 ABCG1 介导抑制高胆固醇血症中发挥重要作用^[15]。与 ABCA1 不同, ABCG1 介导胆固醇转运至成熟 HDL, 而不转运至 apoA-1。研究发现在 LDL^{-/-} 小鼠模型中 ABCG1 沉默小鼠动脉粥样硬化斑块面积与对照组相比显著性增加^[16]。

3 巨噬细胞内胆固醇的代谢

3.1 酰基辅酶 A: 胆固醇酰基转移酶 (Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase, ACAT)

ACATs 是膜连接蛋白可利用长链脂肪酰基辅酶 A 和胆固醇合成胆固醇酯类。在哺乳动物中有两种 ACATs 同工异构酶, 即 ACAT1 和 ACAT2。其中 ACAT1 广泛分布于人体的各种组织中, 是内质网膜融合蛋白, 主要作用是维持细胞内胆固醇的代谢平衡^[17]。细胞内多余的胆固醇通过 ACAT1 催化生成胆固醇酯 (CE) 储存在细胞中。在正常情况下, 细胞内 CE 水平较低, 但在 AS 中, CE 在巨噬细胞内逐渐积聚是细胞泡沫化形成 AS 早期特征性表现。胆固醇是 ACAT1 强效激活剂, 可通过变构调节作用调节 ACAT1 的活性^[18]。实验证明人单核细胞在分化为巨噬细胞的过程中 ACAT-1 活性明显上升, 人动脉粥样硬化斑块中 ACAT-1 蛋白的表达也明显增加。致 AS 的诸多危险因素与 ACAT1 的表达密切相关, 如肺炎衣原体 (Chlamydia pneumonia, C. Pn)、糖基化终产物 (AGEs)、INF- γ 等均可上调 ACAT-1 的表达, 促进 AS 的发生^[19]。巨噬细胞在变性的 LDL 的刺激下可增加内质网源性 ACAT1 阳性囊泡的形成, 现认为其机制可能是通过升高 ACAT1 酶的活性而非增加 ACAT1 蛋白的表达^[20]。

3.2 胆固醇酯水解酶 (cholesterol ester hydrolase, CEH)

CEH 与 ACAT1 作用相反, 可使胆固醇酯水解形成胆固醇和脂肪酸, 水解成游离的胆固醇, 是细胞内胆固醇流出的重要来源。所以, 近年来 CEH 被认为是抑制泡沫细胞形成、抗动脉粥样硬化形成的新

型靶蛋白。巨噬细胞内主要含有两种胆固醇酯水解酶, 一种是位于溶酶体内的酸性胆固醇酯酶 (ACEH); 一种是位于细胞质内的中性胆固醇酯酶 (NCEH)。其中 nCEH 介导的水解细胞内胆固醇酯是释放游离胆固醇流出细胞的第一步, 起到限速酶的作用^[21], 但对真正的 NCEH 作用蛋白分子至今仍存在质疑。现发现在巨噬细胞中 nCEH 的可能有两种, 一为激素敏感性脂肪酶 (hormone-sensitive lipase, LIPE), 另一种为中性胆固醇酯酶 1 (NCEH1)^[22]。LIPE 是细胞内中性脂肪酶, 可催化水解三酰甘油、二酰甘油、一酰甘油和胆固醇酯等。在巨噬细胞中有大量的 LIPE 表达, 最初认为是细胞内主要 NCEH。但是巨噬细胞中 LIPE 缺陷只能部分消除其对 CE 的水解作用, 提示细胞内可能还有其他的 nCEH。通过基因筛选的方法发现 NCEH1 (之前被认为是 KIAA1363/AADACL1) 可能为巨噬细胞内 nCEH 的候选基因。研究表明 Nceh1 在鼠外周血巨噬细胞中和 AS 区域过表达。过表达的 Nceh1 可抑制 THP-1 巨噬细胞中 CE 的集聚, 且通过 SiRNA 下调 Nceh1 表达时可显著性降低 MPMs 细胞 nCEH 的活性^[23]。在 ApoE 缺陷小鼠中, Nceh1 缺陷小鼠发生 AS 概率是非 Nceh1 缺陷鼠的 2 倍。人 NCEH1 在人巨噬细胞, AS 斑块中表达较高且在巨噬细胞分化的过程中表达上升。

4 展望

胆固醇酯在巨噬细胞中大量贮存, 泡沫细胞的形成是形成动脉粥样斑块的中心环节。目前, 对于巨噬细胞内胆固醇平衡机制仍不完全清楚, 对于胆固醇摄入来说, 是否存在其他的调控机制和未知受体介导摄入还有待继续深入研究。另外, 与 AS 相关的胆固醇逆向转运由 ATP 结合转运子介导的胆固醇从泡沫细胞流出, 还没有完全阐明其复杂的转录和转录后的调控机制; 细胞内胆固醇的代谢, 尤其对新型靶向蛋白 NCEH 深入研究, 也许能找出抗泡沫细胞形成的新方法和新途径。深入研究巨噬细胞源性泡沫细胞内胆固醇吸收和流出平衡机制, 可能为心脑血管疾病的防治提供新的思路。

参考文献:

- [1] Badimon L, Storey RF, Vilahur G. Update on lipid, inflammation and atherothrombosis [J]. *Thromb Haemost*, 2011, 105: 34 – 42.
- [2] McLaren JE, Michael DR, Ashlin TG, *et al.* Cytokines, macrophage lipid metabolism and foam cells: implications for cardiovascular disease therapy [J]. *Prog Lipid Res*, 2011, 50: 331 – 347.
- [3] Ashraf MZ, Gupta N. Scavenger receptors: Implications in atherothrombotic disorders [J]. *Int J Biochem Cell Bio*, 2011, 43: 679 – 700.
- [4] Makinen PI, Lappalainen JP, Heinoen SE, *et al.* Silencing of either SR-A or CD36 reduces atherosclerosis in hyperlipidaemic mice and reveals reciprocal upregulation of these receptors [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 88: 530 – 538.
- [5] Hashizume M, Mihara M. Atherogenic effects of TNF- α and IL-6 via up-regulation of scavenger receptors [J]. *Cytokine*, 2012, 58: 424 – 430.
- [6] Kennedy DJ, Kuchibhotla SD, Guy E, *et al.* Dietary cholesterol plays a role in CD36-mediated atherogenesis in LDLR-knockout mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29: 1481 – 1487.
- [7] Pohl J, Ring A, Ehehalt R, *et al.* Long-chain fatty acid uptake into adipocytes depends on lipid raft function [J]. *Biochemistry*, 2004, 43: 4179 – 4187.
- [8] Saito A, Fujimura M, Inoue T, *et al.* Relationship between lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 expression and preoperative echogenic findings of vulnerable carotid plaque [J]. *Acta Neurochir*, 2010, 152: 589 – 595.
- [9] Li DY, Mehta JL. Upregulation of endothelial receptor for oxidized LDL (LOX-1) by oxidized LDL and implications in apoptosis of human coronary artery endothelial cells evidence from use of antisense LOX-1 mRNA and chemical inhibitors [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20: 1116 – 1122.
- [10] Kocher O, Krieger M. Role of the adaptor protein PDZK1 in controlling the HDL receptor SR-BI [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2009, 20: 236 – 241.
- [11] Ji A, Mever JM, Cai L, *et al.* Scavenger receptor SR-BI in macrophage lipid metabolism [J]. *Atherosclerosis*, 2011, 217: 106 – 112.
- [12] Fitzgerald ML, Mujawar Z, Tamahiro N, *et al.* ABC transporter, atherosclerosis and inflammation [J]. *Atherosclerosis*, 2010: 361 – 370.
- [13] Bared SM, Buechler C, Boettcher A, *et al.* Association of ABCA1 with syntaxin 13 and flotillin-1 and enhanced phagocytosis in tangier cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15: 5399 – 5407.
- [14] Sato M, Kawata Y, Erami K, *et al.* LXR Agonist increases the lymph HDL transport in rats by promoting reciprocally intestinal ABCA1 and apo-1 mRNA levels [J]. *Lipids*, 2008, 43: 125 – 131.
- [15] Lammers B, Out R, Hildebrand RB, *et al.* Independent protective roles for macrophage Abcg1 and Apoe in the atherosclerotic lesion development [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 205: 420 – 426.
- [16] Meurs L, Lammers B, Zhao Y, *et al.* The effect of ABCG1 deficiency on atherosclerotic lesion development in LDL receptor knockout mice depends on the stage of atherogenesis [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 221: 41 – 47.
- [17] Buhman KF, Accad M, Farese RV. Mammalian acyl-CoA: cholesterol acyltransferases [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1529: 142 – 154.
- [18] Zhang Y, Yu CJ, Liu J, *et al.* Cholesterol is superior to 7-ketocholesterol or 7 α -hydroxycholesterol as an allosteric activator for acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase 1 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 11642 – 11647.
- [19] Shindou H, Shimizu T. Acyl-CoA:lysophospholipid acyltransferases [J]. *J Biol Chem* 2009, 284: 1 – 5.
- [20] Sakashita N, Chang CC, Lei XF, *et al.* Cholesterol loading in macrophages stimulates formation of ER-derived vesicles with elevated ACAT1 activity [J]. *J Lipid Res*, 2010, 51: 1263 – 1272.
- [21] Sekiya M, Osuga J, Iqarashi M, *et al.* The role of neutral cholesterol ester hydrolysis in macrophage foam cells [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2011, 18: 359 – 364.
- [22] Ghosh S, Zhao B, Bie J, *et al.* Macrophage cholesterol ester mobilization and atherosclerosis [J]. *Vasc Pharmacol*, 2010, 52: 1 – 10.
- [23] Sekiya M, Osuga J, Nagashima S, *et al.* Ablation of neutral cholesterol ester hydrolase 1 accelerates atherosclerosis [J]. *Cell Metab*, 2009, 10: 219 – 228.