

文章编号: 1004-0374(2010)06-0579-04

巨噬源性泡沫细胞形成过程中的机理研究及其进展

周 云, 沃兴德*

(浙江中医药大学生命科学学院, 杭州 310053)

摘 要: 巨噬源性泡沫细胞的形成是动脉粥样病变的关键环节, 清道夫受体与胆固醇代谢相关受体在此过程中发挥极其重要的作用。下面就泡沫细胞形成过程中的关键因素及机理做如下综述, 并探讨通过调节这些潜在因素和机理, 开发靶向药物治疗方法, 有效抑制动脉粥样硬化的发生发展。

关键词: 巨噬细胞; 清道夫受体; 酰基辅酶 A; 胆固醇酰基转移酶 (ACAT); ATP 结合盒转运子 AI (ABCA1); 胆固醇酯转运蛋白 (CETP)

中图分类号: Q555⁺.3 **文献标识码:** A

The mechanism research of the macrophage-derived foam cell formation and its progress

ZHOU Yun, WO Xing-de*

(College of Life Science, Zhejiang Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

Abstract: The formation of macrophage derived foam cells is a key link to atherosclerotic lesions, Scavenger Receptors and other relative receptors in cholesterol metabolism play an important role in this process. The following review is on the key factors and mechanisms of foam cells formation, and discuss the potential by modulating these factors and mechanisms, in order to develop targets-specific therapeutics for efficient treatment of atherosclerosis.

Key words: macrophage; scavenger receptor; ACAT; ABCA1; CETP

动脉粥样硬化是多因素参与的复杂病理过程, 在其早期, 泡沫细胞的形成是主要的病理特征。现已证实氧化型低密度脂蛋白(oxidized LDL, OxLDL)是动脉粥样硬化开始和放大因子。OxLDL 通过其溶血卵磷脂部分, 对单核细胞有强大的趋化作用, 能吸引和滞留单核细胞, 使进入内膜的单核细胞被激活并分化成巨噬细胞。巨噬细胞大量表达多种受体, 介导修饰脂蛋白的入胞, 这种无反馈性调节的摄取脂蛋白, 导致大量脂质蓄积, 形成泡沫细胞。在此过程中, 有多种因素参与协同作用。

1 清道夫受体(scavenger receptor, SR)与巨噬源性泡沫细胞

巨噬细胞通过细胞表面低密度脂蛋白(LDL)受体摄取 LDL 且受细胞内胆固醇浓度的负反馈调节。因而, 细胞外LDL水平增加并不引起细胞内胆固醇含量

的增加。但是, 当 LDL 氧化修饰形成 Ox LDL 后, 其受体识别位点发生了改变, 即不能由 LDL 受体识别, 产生了 OxLDL 自身受体结合位点, 被巨噬细胞上的清道夫受体或其他 OxLDL 受体识别和摄取, 且不受细胞内胆固醇浓度的负反馈调节。经清道夫受体吞噬的 OxLDL 被转运到溶酶体, 胆固醇酯被水解成游离胆固醇和脂肪酸。过剩的游离胆固醇在酰基辅酶 A 胆固醇酰基转移酶(Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase, ACAT) 的作用下被酯化, 从而使胆固醇酯在细胞内过量积聚而形成泡沫细胞。参与动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)发生的 SR 主要包括 SR-A、CD36 以及 LOX-1 等。

收稿日期: 2009-11-03; 修回日期: 2010-04-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(30873366)

*通讯作者: E-mail: Woxdtcm@126.com

1.1 SR-A

巨噬细胞清道夫受体(scavenger receptors classA, SR)根据LDL中所含氨基酸种类的不同主要分为SA-I和SA-II,它们是三聚体跨膜糖蛋白,是识别及吞噬修饰LDL(如OxLDL、AcLDL)的细胞膜受体。众多研究已确认它们在泡沫细胞和动脉粥样硬化形成过程中的作用^[1-3]。研究表明,由于SR-AII的特殊结构,更易识别、吞噬AcLDL^[4]。在SRA-II赖氨酸突变的小鼠中,AcLDL的摄取量显著低于SRA-II转染的小鼠,表明SRA-II中的赖氨酸簇是结合AcLDL的必要区域。Lam等^[5]在比较氧化、糖基化,以及氧化糖基化LDL对各种巨噬细胞清道夫受体表达影响的实验中,发现氧化糖基化LDL能倍增SRA和CD36的表达,显著诱导了细胞内胆固醇酯的蓄积。

1.2 CD36

CD36是SR-B家族成员之一,是巨噬细胞表面识别和内吞氧化LDL的主要受体^[6]。CD36在体内的配基相当广泛,参与繁杂的病理生理过程。研究证实,CD36缺失能显著降低巨噬细胞吞噬OxLDL的能力以及动脉损伤程度^[7]。如何调控CD36的表达以降低AS的发病率已成为研究抗AS药物的靶点之一。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^[8]。然而有研究发现,PPAR γ 激动剂虽使CD36表达增高,但并没有加重造模动物的动脉损伤,反而减轻了病情,可能机制是PPAR γ 激动剂通过对抗其他炎症因子的活性而抑制了炎症反应,同时诱导HDL相关受体参与胆固醇逆转运,从而对抗了CD36表达增高带来的影响^[9,10]。AS是多因素参与的复杂病变过程,如何调节各因素之间的平衡来减少AS的发生值得深入研究。

1.3 LOX-1

LOX-1是1997年发现的一种外源性凝集素样氧化性低密度脂蛋白受体,属于E类SR,是内皮细胞膜上OxLDL特异性受体,它不仅能介导内皮细胞识别、摄取OxLDL,诱导各种血管炎症反应,造成内皮功能障碍,而且本身也可作为内皮粘附分子,促进OxLDL和细胞聚集于血管壁,加速脂质沉积,加剧粥样斑块的不稳定性^[11]。最初认为LOX-1为内皮细胞所特有,后来发现在人源和鼠源巨噬细胞上都有表达,且LOX-1的上调受肿瘤坏死因子(TNF- α)表达的影响^[12]。在动脉粥样硬化中,LOX-1与

OxLDL结合后活化细胞内信号传导^[13],包括丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)等,使一些生长因子和转录因子如MCP-1、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OxLDL而形成泡沫细胞。LOX-1能诱导多因素参与AS发展过程,是近年来研究抗动脉粥样硬化药物靶点之一。

2 胆固醇代谢与巨噬源性泡沫细胞

胆固醇在细胞内以游离胆固醇及胆固醇酯两种形式存在。细胞内的胆固醇来源有二:通过LDL受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)途径外源性摄入,或利用乙酰CoA等原料自身合成。正常生理状态下,细胞的胆固醇无论是外源性摄入还是内源性合成,均通过一个依赖于胞内胆固醇水平的反馈调节系统,即主要通过SCAP-SREBPs-LDLR/HMG-CoA reductase蛋白之间的相互作用来保证细胞内胆固醇的稳态平衡。一旦这个平衡被打破,将会造成胆固醇,尤其是胆固醇酯在细胞内异常积聚。当胞内胆固醇水平升高时,SCAP-SREBP复合体会滞留在内质网,LDLR/HMGCoA还原酶基因的转录就会停止^[14,16]。巨噬细胞内影响胆固醇代谢失衡的因素有:酰基辅酶A:胆固醇酰基转移酶、ATP结合盒转运子AI、胆固醇酯水解酶、胆固醇酯转运蛋白等。

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

ACAT能够催化胆固醇与长链脂肪酸生成胆固醇酯,是调节体内胆固醇代谢平衡的关键酶。ACAT有两种亚型:ACAT1和ACAT2。ACAT2只在肝脏和小肠细胞中表达,主要参与胆固醇的吸收和脂蛋白的装配^[17],而ACAT1广泛分布于人体的各种组织中,在巨噬细胞和分泌类固醇激素的细胞中水平最高,主要作用是维持细胞内胆固醇的代谢平衡。研究表明,在THP-1单核细胞经PMA诱导分化成巨噬细胞的过程中,ACAT1基因表达及其酶活性均上调^[18,19]。高表达脂肪分化相关蛋白的THP-1巨噬细胞内ACAT1表达增加,促进胆固醇积蓄,加入ACAT1抑制剂后,ACAT1的表达下调,细胞内胆固醇酯比重下降,实验提示ACAT1影响细胞内脂质积蓄,参与了动脉粥样硬化,原因可能是THP-1在经PMA诱导的过程中激动PKC介导的信号传导途径对ABCA1基因进行调节^[20];也可能是PMA通过促进过氧化物酶体增殖因子激活受体 δ (PPAR δ),诱导

炎症因子的释放和清道夫受体的表达,从而使 THP-1 单核细胞中的胆固醇含量明显增加^[21],胆固醇是 ACAT1 的特异性作用底物,因此能在底物水平促进 ACAT1 酶活性^[22],使细胞内胆固醇积聚。

2.2 ATP结合盒转运子 A1 (ATP Binding cassette transporter A1, ABCA1)

ABCA1 是一种整合膜蛋白,在胆固醇逆运转(RCT)和 HDL 生成的起始步骤中起重要作用^[23]。被称作 RCT 的守门者。它以 ATP 为能源促进细胞内游离胆固醇和磷脂的流出。结合到细胞表面的载脂蛋白 AI 与经 ABCA1 转运出的游离胆固醇和磷脂结合,形成新生的 HDL。ABCA1 功能障碍将导致巨噬细胞内大量的胆固醇沉积而成为泡沫细胞,继而浸润血管壁,促进 AS 的发生发展。ABCA1 的表达受肝 X 受体/视黄醇 X 受体(LXR/RXR)等多种因子的调控^[24],且 ABCA1 mRNA 的表达能够反映 LXR α mRNA 的表达^[25],具有共同趋向性。然而研究显示在动脉粥样硬化斑块中,ABCA1 和 LXR α 的 mRNA 显著增加,而 ABCA1 蛋白表达量却是降低的^[26]。这个惊奇的发现暗示了 mRNA 的水平是否精确反应了蛋白的表达水平,尤其对于 ABCA1 的 mRNA 来说,值得思考,可能 mRNA 转录后的调控是 ABCA1 基因表达的重要环节。有一点值得肯定的是,ABCA1 蛋白在动脉粥样硬化斑块中显著降低,严重影响胆固醇外流,是致动脉粥样硬化的关键因素之一^[27]。

2.3 胆固醇酯转运蛋白(cholesterol ester transfer protein, CETP)

CETP 是胆固醇逆运转过程中的关键酶之一,它将 HDL 中的 CE 转运至含载脂蛋白 B 的脂蛋白中,促进 HDL 与 LDL 间的 CE 和 TG 的交换,使得 HDL 水平下降。CE 是存在于泡沫细胞中的主要脂质物质,如果 LDL 中的 CE 为动脉管壁上的巨噬细胞摄取则促使泡沫细胞产生和聚集,进一步增加发生动脉粥样硬化的危险。胆固醇酯酶抑制剂的研发旨在抑制 CETP 活性以提高 HDL 的水平,降低 VLDL 和 LDL 对心血管的损伤。Torcetrapib 是一种新型的 CETP 抑制剂,研究显示,它能显著降低 LDL 和升高 HDL 的作用^[28, 29];但临床研究发现,它并不能阻止和延缓冠状动脉粥样硬化导致的狭窄,甚至导致血压升高,病情恶化^[30, 31]。胆固醇酯转运蛋白抑制剂确实能有效升高高密度脂蛋白胆固醇水平,但 HDL 不同类型有不同的意义。目前对 CETP 抑制剂是否能有效减少动脉粥样硬化的危险程度尚不明确。

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

细胞内过多的游离胆固醇对细胞有毒害作用^[32],一般通过胆固醇逆运转排出胞外,或者经 ACAT 作用酯化贮存在细胞内。胆固醇酯在巨噬细胞中大量贮存是形成动脉粥样斑块的中心环节。细胞外受体介导的游离胆固醇流出量受限于细胞内胆固醇酯的水解,巨噬细胞内的胆固醇酯只有被水解成游离的胆固醇后才能被转运到胞外。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);另一种是位于细胞质内的中性胆固醇酯酶(NCEH)。溶酶体内酸性酯酶可催化中长链甘油三酯和胆固醇酯水解,该酶活性缺失可导致胆固醇酯和甘油三酯在体内大多数器官组织内大量堆积。研究证实,在 LDL 受体敲除的小鼠中,高表达的 CEH 能够显著降低饮食诱导的动脉粥样硬化的发生^[33]。在小鼠巨噬细胞中,转基因高表达的 CEH 能提高巨噬细胞内 FC 的外流,显著降低了高脂高胆固醇诱导的动脉粥样硬化斑块的损伤。另外,研究发现,在动脉粥样硬化易感性物种中,CEH 显著降低,表明 CEH 具有抗动脉粥样硬化的作用^[34, 35]。

3 展望

OxLDL 在动脉粥样硬化中是开始和放大因子,如果能有效抑制 LDL 的氧化修饰过程,阻止巨噬细胞表面清道夫受体无限制性摄取 OxLDL,延缓或阻断巨噬细胞泡沫化过程,那么该过程可将作为防治动脉粥样硬化的重要措施。深入了解脂质氧化修饰与泡沫细胞相关清道夫受体的作用机制,胆固醇代谢的关键调控步骤及其影响因素,以它们为靶点进行高通量化合物筛选,寻找具有降低 OxLDL 和 LDL 以及升高有功能性 HDL 的化合物,达到延缓甚至抑制泡沫细胞形成的目的,从调节脂代谢入手,为防治动脉粥样硬化寻找新的突破口。

[参 考 文 献]

- [1] Babaev VR, Gleaves LA, Carter KJ, et al. Reduced atherosclerotic lesions in mice deficient for total or macrophage-specific expression of scavenger receptor-A. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(12): 2593-9
- [2] Kunjathoor VV, Febbraio M, Podrez EA, et al. Scavenger receptors class A-I/II and CD36 are the principal receptors responsible for the uptake of modified low density lipoprotein leading to lipid loading in macrophages. *J Biol Chem*, 2002, 277(51): 49982-8
- [3] Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, et al. A role for macroph-

- agescavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature*, 1997, 386(6622): 292-6
- [4] Leyva FJ, Pershouse MA, Holian A. Modified low density lipoproteins binding requires a lysine Cluster region in the murine macrophage scavenger receptor class A type II. *Mol Biol Rep*, DOI10. 1007/s11033-009-9837-3
- [5] Lam MC, Tan KC, Lam KS. Glycoxidized low-density lipoprotein regulates the expression of scavenger receptors in THP-1 macrophages [J]. *Atherosclerosis*, 2004, 177 (2) : 313-20
- [6] Cawla A, Barak Y, Nagy L, et al. PPAR- γ dependent and independent effects on macrophage gene expression in lipid metabolism and inflammation. *Nat Med*, 2001, 7(1): 23-4
- [7] Febbraio M, Hajjar DP, Silverstein RL. CD36: A class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J Clin Invest*, 2001, 108(6): 785-91
- [8] POHL J, RING A, EHEHALT R, et al. Long-chain fatty acid uptake into adipocytes depends on lipid raft function. *Biochemistry*, 2004, 43(14): 4179-87
- [9] Marx N, Duez H, Fruchart JC, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res*, 2004, 94(9): 1168-78
- [10] Nicholson AC, Hajjar DP. CD36, Oxidized LDL and PPAR- γ . Pathological interactions in macrophages and atherosclerosis. *Vascul Pharmacol*, 2004, 41(4-5): 139-46
- [11] 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. *Acta Neurochir: wien*, 2010, 152(4): 589-95
- [12] Moriwaki H, Kume N, Kataoka H, et al. Expression of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in human and murine macrophages: Upregulated expression by TNF- α . *FEBS Lett*, 1998, 440(1-2): 29-32
- [13] Li D, 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. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(4): 1116-22
- [14] Fischer M, You M, Matsumoto M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) agonist treatment reverses PPAR α dysfunction and abnormalities in hepatic lipid metabolism in ethanol-fed mice. *J Biol Chem*, 2003, 278(30): 27997-8004
- [15] Crabb DW, Galli A, Fischer M, et al. Molecular mechanisms of alcoholic fatty liver: role of peroxisome proliferator-activated receptor α . *Alcohol*, 2004, 34(1): 35-8
- [16] Braissant O, Foulfelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the adult rat. *Endocrinology*, 1996, 137(1): 354-66
- [17] Hori M, Satoh M, Furukawa K, et al. Acyl-Coenzyme A: cholesterol acyltransferase-2 (ACAT-2) is responsible for elevated intestinal ACAT activity in diabetic rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(9): 1689-95
- [18] Chang CCY, Huh HY, Cadigan KM, et al. Molecular cloning and functional expression of human acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase cDNA in mutant Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem*, 1993, 268(28): 20747-55
- [19] 袁中华, 刘晓辉, 王中群, 等. 脂肪分化相关蛋白通过蛋白激酶 C 和酰基辅酶 A 胆固醇酰基转移酶 1 促进 THP-1 巨噬细胞蓄积脂质. *中国病理生理杂志*, 2008, 24(5): 833-42
- [20] Kim K, Mayer EP, Nachtigal M. Galectin-3 expression in macrophages is signaled by Ras/ MAP kinase pathway and up-regulated by modified lipoproteins *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1641(1): 13-23
- [21] Vosper H, Khoudoli GA, Palmer CN. The peroxisome proliferator-activated receptor delta is required for the differentiation of THP-1 monocytic cells by phorbol ester. *Nucl Recept*, 2003, 1(1): 9
- [22] 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 Biol Chem*, 2003, 278: 11642-7
- [23] Reiss AB, Patel CA, Rahman, MM, et al. Interferon- γ impedes reverse cholesterol transport and promotes foam cell transformation in THP-1 Human monocytes/macrophages. *Med Sci Monit*, 2004, 10(11): 420-5
- [24] Repa JJ, Turley SD, Lobaccaro JA, et al. Regulation of absorption and ABC1-mediated efflux of cholesterol by RXR heterodimers. *Science*, 2000, 289(5484): 1524-9
- [25] Laffitte BA, Joseph SB, Walczak R, et al. Autoregulation of the human liver X receptor α promoter. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(22): 7558-68
- [26] Albrecht C, Soumian S, Amey JS, et al. ABCA1 expression in carotid atherosclerotic plaques. *Stroke*, 2004, 35(12): 2801-6
- [27] Fabien F, Liliana L, Chinetti G, et al. Genes of cholesterol metabolism in human atheroma: over expression of perilipin and genes promoting cholesterol storage and repression of ABCA1 expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(8): 1711-7
- [28] Clark RW, Sutfin TA, Ruggeri RB, et al. Raising high-density lipoprotein in humans through inhibition of cholesteryl ester transfer protein: an initial multidose study of torcetrapib. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(3): 490-7
- [29] Hansen MK, Mcvey MJ, White RF, et al. Selective CETP inhibition and PPAR α agonism increase HDL cholesterol and reduce LDL cholesterol in human apoB100/Human CETP transgenic mice. *J Cardiovasc pharmacol Ther*, 2010, doi: 10.1177/1074248410362891
- [30] Anders G. Olsson, MD, PhD. Will CETP inhibition survive the demise of torcetrapib. *Curr Atheroscler Rep*, 2008, 10(2): 97-9
- [31] Nicholls SJ, Tuzcu EM, Brennan DM, et al. Cholesteryl ester transfer protein inhibition, high-density lipoprotein raising, and progression of coronary atherosclerosis. *Circulation*, 2008, 118(24): 2506-14
- [32] Tabas I. Consequences of cellular cholesterol accumulation: basic concepts and physiological implications. *J Clin Invest*, 2002, 110(7): 905-11
- [33] Zhao B, Song J, Chow WN, et al. Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase significantly reduces atherosclerosis and lesion necrosis in Ldlr mice. *J Clin Invest*, 2007, 117(10): 2983-92
- [34] Yancey PG, St Clair RW, Mechanism Of the defect in cholesteryl ester clearance from macrophages of atherosclerosis-susceptible white carneau pigeons. *J Lipid Res*. 1994, 35(12): 2114-29
- [35] Hakamata H, Miyazaki A, Sakai M, et al. Species difference in cholesteryl ester cycle and HDL-induced cholesterol efflux from macrophage foam cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1994, 14(11): 1860-5