

动脉粥样硬化中胆固醇外流的研究进展*

路倩¹⁾ 陈五军^{1, 2)} 尹凯^{1, 3)} 赵国军^{1, 4)} 唐朝克^{1)**}

¹⁾ 南华大学心血管疾病研究所, 动脉硬化湖南省重点实验室, 生命科学研究中心, 衡阳 421001;

²⁾ 南华大学药物药理研究所, 衡阳 421001; ³⁾ 南华大学诊断学教研室, 衡阳 421001; ⁴⁾ 南华大学组织胚胎学教研室, 衡阳 421001)

摘要 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ABCA1)、三磷酸腺苷结合盒转运体 G1(ABCG1)和 B 族 I 型清道夫受体(SR-B I)介导的胆固醇外流是巨噬细胞内 3 条主要的胆固醇外流途径, 对维持细胞内胆固醇动态平衡至关重要, 其中转运体的功能及其表达的调节、胞外接受体的数量和活性等对细胞内胆固醇外流效率有重要的决定作用。最新研究发现, 动脉粥样硬化(As)病变中出现的脂类蓄积、炎症、氧化应激、缺氧和胰岛素抵抗等病理情况, 显著影响胆固醇转运体的表达, 进而影响胆固醇外流及 As 的发生发展。本文主要针对 As 病变细胞内各胆固醇外流途径的作用及常伴随的脂类蓄积、炎症、氧化应激、缺氧和胰岛素抵抗现象, 对胆固醇转运体表达调节的最新进展做一综述, 以期为 As 治疗提供新理论依据和药物靶点, 推动 As 治疗方法的发展。

关键词 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1, 三磷酸腺苷结合盒转运体 G1, B 族 I 型清道夫受体, 高密度脂蛋白, 动脉粥样硬化
学科分类号 R363 **DOI:** 10.3724/SP.J.1206.2011.00301

泡沫细胞的形成是早期动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的一个典型的病理特征, 巨噬细胞胆固醇代谢稳态的失衡贯穿于泡沫细胞形成的整个过程^[1], 研究发现, 胆固醇外流是调节巨噬细胞胆固醇动态平衡的关键环节, 对减少细胞内胆固醇蓄积、防止泡沫细胞形成和 As 发生具有重要意义。胆固醇外流主要由三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)、三磷酸腺苷结合盒转运体 G1(ATP-binding cassette transporter G1, ABCG1)和 B 族 I 型清道夫受体(scavenger receptor class B type I, SR-BI)等膜蛋白介导, 高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)和载脂蛋白 A- I (apolipoprotein A- I, apoA- I)作为接受体在胆固醇的跨膜转运中也起关键作用。最新研究发现, 胞内胆固醇转运体功能、接受体的数量和活性等对胆固醇外流效率有重要的决定作用。As 中出现的脂类蓄积、炎症、氧化应激、缺氧和胰岛素抵抗等能通过调节胆固醇转运体表达, 影响胆固醇外流和 As 的发展进程。本文主要针对 As 中胆固醇外流的最新进展做一综述, 以期为减缓 As 进程及 As 的治疗提供新的靶点和作用途径。

1 细胞内的胆固醇外流途径及其接受体

血浆高密度脂蛋白(HDL)具有抗 As 的作用, 其机制主要与其接受细胞内的胆固醇并转运至肝脏进行代谢, 即促进胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)有关。HDL 是一类由异质性颗粒组成的大小不均一的脂蛋白, 双向电泳-免疫印迹法显示 HDL 可分为贫脂圆盘状的 pre- β -HDL (pre- β_1 -HDL、pre- β_2 -HDL、pre- β_3 -HDL)和富脂球形的成熟 α -HDL (HDL_{3c}、HDL_{3b}、HDL_{3a}、HDL_{2a}、HDL_{2b}), HDL 各亚型间在一系列酶和受体的作用下, 形成一个由 pre- β -HDL 向大颗粒的 HDL₂ 逐步成熟的过程, 同时各亚型间可以发生相互转化^[2]。研究发现, ABCA1 诱导胞内的磷脂和游离胆固醇

* 国家自然科学基金(81170278, 81070220)和湖南省自然科学基金衡阳联合基金(10JJ9019)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0734-8281853, E-mail: tchaoke@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-07-03, 接受日期: 2011-09-26

转移至 apoA- I 形成 pre- β - HDL, 即新生的 HDL, pre- β -HDL 在卵磷脂胆固醇酰基转移酶(lecithin-cholesterol acyltransferase, LCAT)的作用下, 摄取外周细胞的脂质转变为成熟的 α -HDL, 提示 apoA- I 对 ABCA1 介导的胆固醇外流具有重要作用, 并且 ABCA1 对 HDL 的形成至关重要, 其中, 颗粒较小的 pre- β -HDL 和 HDL₃ 亚型所含胆固醇较少, 较易通过 ABCA1 途径接受外周细胞的胆固醇, 参与 RCT 过程, 而 HDL₂、HDL₃ 可以通过 ABCG1 接受细胞内的胆固醇, 成为 RCT 的另一条通路. 大颗粒的 HDL₂ 还能通过与 SR-B I 结合形成疏水通道接受胆固醇, 提示 ABCA1、ABCG1 和 SR-B I 三者共同促进细胞内的胆固醇外流(图 1). 最新研究发现, 在炎症状态下, 血清淀粉样蛋白(serum amyloid, SAA)可以替代 apoA- I, 在 ABCA1 和 ABCG1 介导的胆固醇外流中发挥重要作用^[3], 表明病变状态下胆固醇外流机制的复杂性.

1.1 ABCA1 介导胆固醇外流至贫脂的 apoA- I

ABCA1 是一种整合膜蛋白, 主要分布在质膜和内含体中, 它以 ATP 为能源促进细胞内游离胆固醇和磷脂外流至贫脂的 apoA- I, 在 RCT 和 HDL 生成的起始步骤中起关键作用. ABCA1 主要通过影响膜外侧的磷脂分布, 生成一个脂质微环境, 以有利于 apoA- I 的结合, 一旦 apoA- I 结合到细胞表面, ABCA1 就介导胆固醇和磷脂外流至 apoA- I, 形成新生 HDL, 进而启动 RCT 过程^[4]. 研究显示, ABCA1 在胞内的运输与其介导的胆固醇外流密切相关, ABCA1 主要经内质网及高尔基体的修饰, 再分类转运至质膜等部位行使生理功能, 其中 apoA- I 能促进胞内 ABCA1 向细胞表面转运, apoA- I 缺乏就会使 ABCA1 被降解^[5]. 进一步研究发现, ABCA1 的降解主要发生在溶酶体中, 泛素化修饰途径在 ABCA1 向溶酶体的转运中起辅助作用. Mizuno 等^[6]研究显示, 内体蛋白分选转运装置(endosomal sorting complex required for transport, SCRT)能将胞膜上被泛素蛋白标记的 ABCA1 挑选出来, 并送入内体中进行降解, 其中肝细胞生长因子调节的酪氨酸激酶底物(hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate, HRS)能促进胞膜和胞浆中的 ABCA1 降解, 而肿瘤易感基因 101 (tumor susceptibility gene 101, TSG101)只对胞浆中的 ABCA1 起作用. 突变 HRS, ABCA1 表达上调, apoA- I 介导的胆固醇外流增加. 突变 TSG101, ABCA1 表达也上调, 但 apoA- I 介导的胆固醇外

流不受影响, 提示胞膜上的 ABCA1 对胆固醇外流起重要作用.

1.2 ABCG1 介导胆固醇外流至成熟的 α -HDL

ABCG1 是 ABC 转运体超家族成员之一, 可转运胆固醇(包括游离胆固醇和 7- 酮基胆固醇)至成熟的 α -HDL. ABCG1 作为一种整合膜蛋白半转运体, 必须形成同源或异源二聚体才能发挥作用, 但以何种形式的同源或异源二聚体发挥作用还不清楚. 细胞内胆固醇增多能促进 ABCG1 由胞内细胞器向质膜转运, 分布到细胞表面的 ABCG1 进而介导胆固醇外流至成熟的 α -HDL. 研究发现, ABCG1 介导的胆固醇转运呈单向性, 且不需要与 HDL 结合^[7]. ABCG1 不能转运胆固醇至无脂或贫脂的 apoA- I, 而需要含磷脂的接受体, Sano 等^[8]发现, 神经酰胺转移蛋白(ceramide transfer protein, CERT)发生突变可引起细胞内鞘磷脂水平减少, 导致 ABCG1 介导的胆固醇外流减少, 相反, CERT 过表达则增加 ABCG1 介导的胆固醇外流, 进一步提示 ABCG1 介导的胆固醇外流为鞘磷脂依赖性途径.

1.3 SR-B I 促进胆固醇外流至成熟的 α -HDL

SR-B I 是体内介导细胞选择性摄取 HDL-胆固醇酯(HDL-cholesterol ester, HDL-CE)的主要受体, 同时也介导胆固醇外流至大颗粒的 HDL₂, 但不包括小颗粒的 HDL₃ 和贫脂的 apoA- I. 研究发现, SR-B I 主要在无胆固醇蓄积的巨噬细胞内发挥作用, 可与 HDL 发生可逆性的结合, 介导胆固醇跨质膜的双向流动, 并对细胞总胆固醇量无显著影响^[9]. 细胞和血浆 HDL 间胆固醇浓度梯度决定 SR-B I 介导的胆固醇流动方向. 当细胞内胆固醇浓度高时, SR-B I 与 HDL 结合加快胆固醇的流动, 介导细胞内胆固醇外流, 以维持胆固醇微环境的平衡^[10]. 研究发现, SR-B I 也能与无脂的 apoA- I 结合, 但 SR-B I 并不介导胆固醇外流至无脂的 apoA- I, 提示接受体中磷脂成分对 SR-B I 介导的胆固醇外流至关重要.

2 细胞内胆固醇外流途径的相互作用

As 病变中巨噬细胞源性泡沫细胞并不是通过某一单独途径转运胆固醇, 不同途径间的相互作用也会导致胆固醇外流增加或减少.

ABCA1 将胆固醇和磷脂转运给贫脂的 apoA- I, 生成的新生 HDL 是 ABCG1 介导胆固醇外流的接受体, 而 ABCG1 促进细胞内的胆固醇流向细胞表

面, 则有利于 ABCA1 介导胆固醇转运至 apoA-I。可见 ABCA1 和 ABCG1 在外周组织细胞 RCT 过程中具有协同作用, ABCG1 提供的 RCT 是 ABCA1 转运能力的有益补充。研究发现, 低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)和 ABCA1 双敲除小鼠腹膜巨噬细胞源性泡沫细胞数比 LDLR 敲除鼠只有少量增加, LDLR/ABCG1 双敲除小鼠也有类似现象, 而 ABCA1、ABCG1 和 LDLR 联合敲除的小鼠不同组织和腹腔内有大量泡沫细胞蓄积^[11-12], 进一步说明 ABCA1 和 ABCG1 在促进细胞内胆固醇外流及防止泡沫细胞形成具有协同作用。

SR-B I 与 ABCG1 相似, 都需要包含磷脂的受体才能诱导胆固醇外流。SR-B I 可与多种配体结合, 如糖基化终末产物、生理脂蛋白(如 HDL 和 LDL)、化学修饰脂蛋白(如 ox-LDL 和 Ac-LDL)等, 既介导巨噬细胞选择性摄取 HDL-CE 和 LDL-CE, 又促进胆固醇外流至 α -HDL, 其作用会随着研究条件的不同而变化, 使得 SR-B I 对体内泡沫细胞形成的净效应很难预测。研究显示泡沫细胞内胆固醇

外流大部分由 ABCA1 和 ABCG1 介导, SR-B I 敲除的巨噬细胞内胆固醇外流比野生型巨噬细胞只有少量减少, 且不影响小鼠体内 RCT。但也有实验表明, apoE/SR-B I 双敲除小鼠比 apoE 敲除鼠的腹膜巨噬细胞内有更多游离胆固醇和胆固醇酯蓄积^[13], 提示 SR-B I 在调节细胞胆固醇动态平衡中的作用不容忽视。进一步的研究发现, 巨噬细胞 ABCA1 和 SR-B I 联合缺失将导致高脂膳食喂养的 LDLR 敲除鼠腹腔和脾脏中形成大量的泡沫细胞^[14], 提示在高胆固醇血症情况下, ABCA1 和 SR-B I 在体内胆固醇动态平衡中均发挥至关重要的作用, 可能协同介导细胞胆固醇外流, 对防止体内过量泡沫细胞形成具有重要意义。

3 As 病变中胆固醇外流途径的调节

研究发现, As 病变中常伴随出现的脂类蓄积、炎症、氧化应激、缺氧和胰岛素抵抗现象能够调节胆固醇转运体表达, 进而调控细胞内胆固醇外流, 影响 As 的发生发展(图 1)。

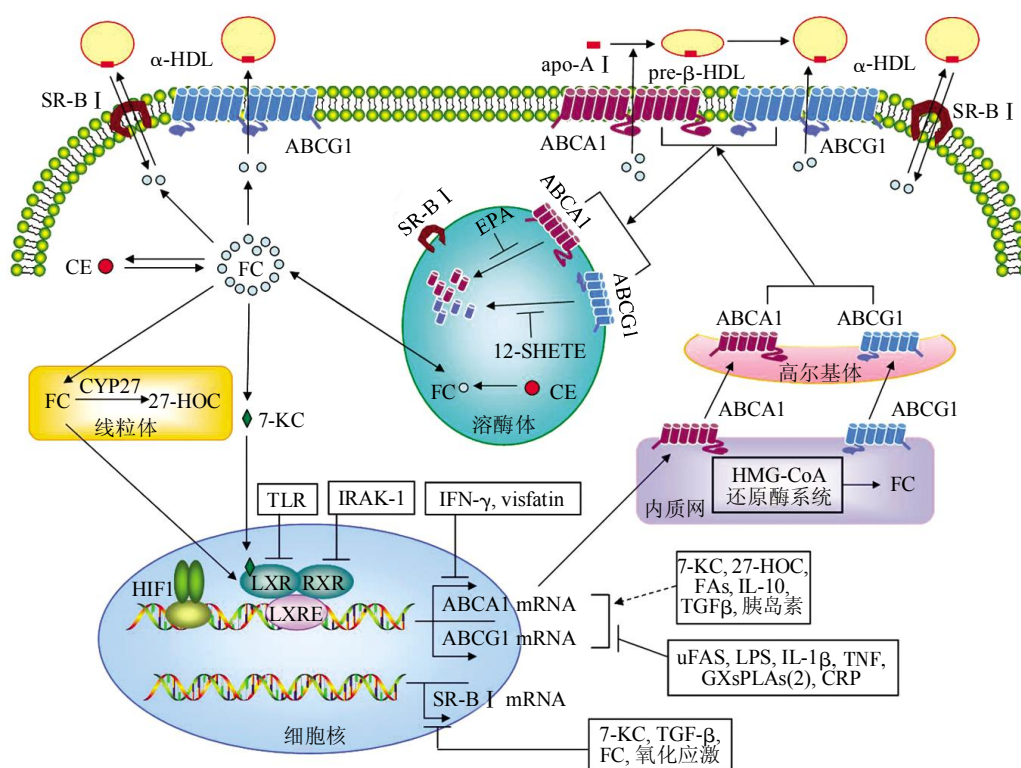


Fig. 1 Regulation of cholesterol efflux from macrophages in atherosclerotic lesions

图 1 巨噬细胞胆固醇外流及其在 As 病变中的调节

---→: 促进作用, —|: 抑制作用, FC: 游离胆固醇, CE: 胆固醇酯, 12-SHETE: 12 羟基二十碳四烯酸, EPA: 二十碳五烯酸, CYP27: 固醇 27 羟化酶, 27-HOC: 27 羟基胆固醇, HIF1: 缺氧诱导因子 1, uFAs: 不饱和脂肪酸, LPS: 脂多糖, IL-1 β : 白介素 1 β , TNF α : 肿瘤坏死因子 α , GX sPLA(2): X 分泌型磷脂酶 A2, CRP: C 反应蛋白, 7-KC: 7 酮基胆固醇, FC: 游离胆固醇, FAs: 饱和脂肪酸, IL-10: 白介素 10, TGF β : 转化生长因子 β , TLR: Toll 样受体, IRAK-1: IL-1 受体结合激酶 1, IFN- γ : 干扰素 γ , visfatin: 内脂素。

3.1 脂类蓄积

研究证实, 脂质蓄积贯穿整个 As 病理过程, 是影响 As 发生发展的重要因素. 肝 X 受体(liver-X-receptor, LXR)是体内脂质平衡稳定的主要调节器, 分为 LXR α 和 LXR β 两种亚型, 通过与维甲酸 X 受体(retinoid X receptor, RXR)形成异源二聚体发挥作用. ABCA1 和 ABCG1 蛋白质水平都受到 LXR 在转录和转录后水平的高度调节, 而 LXR 发挥上调作用还是下调作用主要取决于其结合的配体性质.

研究发现, As 病变中可产生一种高毒性氧化固醇, 即 7 酮基胆固醇(7-ketcholesterol, 7-KC), 它是 LXR 的激动剂, 可通过激活 LXR 诱导 ABCA1 和 ABCG1 转录, 从而上调其蛋白质表达, 促进细胞内的胆固醇外流^[15], 但 7-KC 会抑制 SR-B I 转录, 减少其蛋白质水平^[16], 其具体机制还未阐明. 27 羟基胆固醇(27-Hydroxycholesterol, 27-HOC)也是巨噬细胞内一种内源性的 LXR 配体, 由固醇 27 羟化酶(sterol 27-hydroxylase, CYP27A1)羟化胆固醇生成, 能激活 LXR, 上调 ABCA1 和 ABCG1 表达. 此外, 24(S)-252 环氧胆固醇、22(R)-2 羟基胆固醇等氧化固醇也能增加 ABCA1 和 ABCG1 基因转录, 进而增加细胞内的胆固醇外流^[17]. 研究发现, 胆固醇能增加低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)蓄积, 从而激活 LXR, 诱导 ABCA1 和 ABCG1 蛋白表达, 但在早期 As 中, 巨噬细胞内游离胆固醇大量蓄积, 会激活蛋白酶体(calpain)介导的降解作用, 反而下调 ABCA1 蛋白表达, 使胆固醇外流至 apoA-I 减少^[18], 提示胞内胆固醇调节转运体表达的复杂性. 最新研究发现, ABCG1 与 ABCA1 一样, 主要由 calpain 介导降解^[19], 然而大量游离胆固醇蓄积是否也能通过翻译后机制下调 ABCG1 表达, 尚需深入探讨. Yu 等^[20]研究发现, 巨噬细胞内胆固醇能在转录水平降低 SR-B I 水平, 且并不依赖 LXR 和固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins, SREBP)途径, 其具体机制还有待研究.

不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acid, uFAs), 如亚油酸和花生四烯酸, 通过增加 ABCA1 和 ABCG1 的降解, 下调其蛋白质水平^[21], 减少胆固醇外流. 相反, 饱和脂肪酸——棕榈酸则能增加二者的表达, 但棕榈酸不改变 SR-B I 表达^[22]. 我们的研究显示, 多不饱和脂肪酸——二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)一方面通过促进 ABCA1

蛋白降解, 下调 ABCA1 蛋白表达, 另一方面经 cAMP/PKA 信号途径减少 ABCA1 丝氨酸磷酸化, 使 ABCA1 活性降低, 从而损害其介导的胆固醇外流, 具有促进 As 发生发展的作用^[23].

3.2 炎症

研究证实, As 是一种慢性炎症过程, 其病变部位常包含多种细胞因子, 促炎症因子和抗炎因子平衡能调节各转运体的表达, 影响胆固醇外流, 从而决定泡沫细胞的形成.

促炎症因子 LPS、白介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF α)通过下调 LXR/RXR 表达, 减少 ABCA1 和 ABCG1 的蛋白质水平. X 分泌型磷脂酶 A2(group X secretory phospholipase A2, GX sPLA(2))是一种炎症性疾病相关分子, 能水解质膜生成溶血磷脂和游离脂肪酸, 抑制 LXR 的活性, 从而下调 ABCA1 和 ABCG1 的表达^[24]. 我们的研究也发现, 在 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞中, 干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)通过 LXR/JAK/STAT1 信号通路减少 ABCA1 表达和胆固醇外流^[25]. 另有报道显示, IFN- γ 使 CYP27A1 表达减少, 阻碍胆固醇外流, 从而加速 As 进程^[26], 但 IFN- γ 是否下调 ABCG1 表达还未有明确报道. 此外, 急性期炎症蛋白——C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)诱导的超氧阴离子通过激活胞外信号调节激酶 1/2(extracellular signal regulated kinase 1/2, ERK1/2)抑制泡沫细胞中 ABCA1 和 ABCG1 表达, 减少胆固醇外流^[27]. Zhou 等^[28]研究表明, 抑制 ERK1/2 和激活 LXR 协同诱导 ABCA1、ABCG1 表达和巨噬细胞胆固醇外流, 提示 ERK1/2 和 LXR 的联合靶向作用可能成为治疗 As 的新靶点. 相反, 抗炎因子 IL-10 主要通过激活 PPAR γ -LXR 途径来上调 ABCA1 和 ABCG1 蛋白表达^[29-30], 而对 SR-B I 没有影响^[31]. 我们也发现, 转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β)能通过激活 LXR α 增加巨噬细胞源性泡沫细胞内 ABCA1、ABCG1 和 SR-B I 表达, 促进细胞内胆固醇外流^[32]. 由此可见, LXR 是联系炎症和 RCT 的重要分子基础.

除炎症因子外, 炎症反应中还存在一些内源性信号转导分子, 如腺苷(adenosine, A)通过激活并结合与 G 蛋白偶联的腺苷受体(adenosine receptors, ARs)来发挥生理学作用, 有研究表明腺苷激活 A_{2A}R, 通过 cAMP/PKA 途径诱导 ABCA1 表达, 但对 ABCG1 没有影响, 其具体机制还未阐明^[33].

大量临床病理与流行病学研究提示, 细菌、病毒等极有可能是导致 As 的感染性危险因子. 微生物配体通过激活 Toll 样受体(toll-like receptor, TLR)信号转导, 抑制 LXR 活性, 从而减少 ABCA1 和 ABCG1 表达, 增加巨噬细胞内脂质蓄积^[34-35]. Maitra 等^[36]研究发现, 维甲酸受体(retinoic acid receptor, RAR)和激活型 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T-cells, NFAT)与 ABCA1 启动子存在特异性结合位点, 这种结合可促进 ABCA1 转录, 而 IL-1 受体结合激酶 1(IL-1 receptor-associated kinase 1, IRAK-1)作为一种重要的先天免疫信号转导激酶, 可通过下调 RAR α 和 NFATc2 抑制 ABCA1 转录, 而对 ABCG1 的转录无显著影响, 且 IRAK-1 只选择性地调节 apoA- I 介导的巨噬细胞内胆固醇外流, 提示先天免疫信号传导与调节 ABCA1 表达存在相关联系, 可能成为 As 治疗的一种新型潜在靶标.

3.3 氧化应激

氧化应激与 As 的发生发展密不可分, 其中促使泡沫细胞形成的 ox-LDL 就可直接导致氧化应激的发生. 研究发现氧化应激降低 ABCA1 和 ABCG1 中 mRNA 与蛋白质的表达, 抑制细胞内的胆固醇外流^[27, 37]. 诱导氧化应激的 12/15 脂氧合酶 (12/15 lipoxygenase, 12/15 LO)在早期 As 中高表达, Nagelin 等^[38]发现 12/15 LO 能产生不饱和脂肪酸代谢物 12 羟基二十碳四烯酸 (12S-hydroxyeicosatetraenoic acid, 12SHETE)而影响 ABCG1 稳定性. 进一步研究发现, 12 SHETE 通过 p38 MAPK 和 JNK2 信号通路促进 ABCG1 丝氨酸磷酸化, 加速 ABCG1 降解, 下调 ABCG1 蛋白水平, 减少胆固醇外流至 HDL, 而 apoA- I 介导的胆固醇外流并未受到明显影响^[39], 提示 12/15 LO 优先调节 HDL 介导的胆固醇外流. 12/15 LO 通过下调 ABCG1 的表达, 抑制细胞内的胆固醇外流, 具有明显的促 As 作用, 但也有报道显示 12/15 LO 突变后并没有表现出预期的动脉保护作用^[40], 因此, 对 12/15 LO 的评价还存在争议, 需要进一步研究. 对氧磷酶 1 (paraoxonase 1, PON1)是一种主要的 HDL 相关抗氧化酶, PON1 缺失会降低腹膜巨噬细胞 SR-B I mRNA 和蛋白质水平, 继而影响其介导的胆固醇外流^[41], 提示氧化应激对 SR-B I 介导的胆固醇外流也有影响.

3.4 缺氧

As 病变中斑块的增厚及泡沫细胞耗氧量的增

加, 极易导致局部缺氧情况的产生. 临床研究表明 As 病变诱导缺氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF1)的表达和聚集, 斑块缺氧区激活的 HIF1 可进一步促进巨噬细胞源性泡沫细胞表达多种炎症因子. HIF1 是氧气敏感的二聚体, 由 HIF1 α 和 HIF1 β 组成. 研究发现, 在缺氧诱导下, HIF1 与 ABCA1 启动子的 HIF1 应答元件发生特异性结合, 形成的 HIF1 复合物能增强 ABCA1 启动子的活性, 上调 ABCA1 表达, 从而缓解缺氧造成的炎症因子分泌、脂肪酸生物合成、ATP 降解和脂质微滴形成, 一定程度上减缓 As 病变进程. 并且发现, HIF1 β 是 ABCA1 的主要调节子^[42-43], 而低氧使 HIF1 α 蛋白在细胞质中积聚, HIF1 α 表达增加会诱导血管生成, 促进粥样斑块生长, 进而加速 As 发展, 提示 HIF1 对 As 发展具有多重作用, 其净效应有待进一步探讨. 生物信息学显示 ABCG1 启动子区也存在 HIF1 应答元件, 但 HIF1 是否对 ABCG1 介导的胆固醇外流具有调控作用还未阐明. 此外, 脂肪组织分泌的细胞因子——内脂素(visfatin)在巨噬细胞中高表达, 与缺氧、内皮功能紊乱、易损斑块破裂等密切相关, 能促进 As 的发生发展. 研究发现 visfatin 通过下调 THP-1 源性巨噬细胞内 ABCA1 蛋白表达, 减少游离胆固醇外流, 从而增加细胞内胆固醇酯聚集, 促进泡沫细胞的形成^[4]. 巨噬细胞处于缺氧环境下也会影响 SR-B I 转录而减少其蛋白质表达^[44], 其机制有待深入探讨.

3.5 胰岛素抵抗

巨噬细胞有功能性胰岛素受体信号转导途径, 胰岛素抵抗导致这个信号通路下调, 促进早期 As 病变进程^[45]. 而最近 Attia 等^[46]发现, 肥胖及胰岛素抵抗会增加 ABCA1 介导的胆固醇外流, 尤其是在餐后时期作用尤为明显, 其原因可能与血浆中升高的 pre-HDL 水平有关, 提示胰岛素抵抗与胆固醇外流之间可能存在更为复杂的关系, 有待进一步研究. 糖尿病的发病通常是胰岛素抵抗的结果, 糖尿病与 As 密切相关. 研究发现, 在糖尿病中高糖会降低巨噬细胞中 ABCA1 和 ABCG1 mRNA 及蛋白质水平, 给予胰岛素仅增加二者蛋白质水平, 而不增加 mRNA 水平, 提示胰岛素主要在转录后水平调控细胞内的胆固醇外流^[21, 47]. 此外, 激活蛋白 2 α (activator protein 2 α , AP-2 α)是 HDL 生成的关键调节蛋白, AP-2 β 的表达与 II 型糖尿病密切相关, 有研究发现蛋白激酶 D (protein kinase D, PKD)

丝氨酸的磷酸化抑制 AP-2 α 和 AP-2 β 的转录活性, 可下调 ABCA1 表达, 减少细胞内胆固醇外流^[48].

最新研究表明, 糖尿病对 SR-B I 蛋白表达有上调作用, 但其净效应是导致胆固醇摄取增多, 最终加速 As 病变进程, 提示 SR-B I 调节胆固醇平衡的复杂性^[49].

4 小 结

以往 As 的治疗一直以升高 HDL 水平为主要目标, 而越来越多的研究显示, HDL 的质量和功能存在较大的异质性, HDL 水平并不代表 HDL 体内功能即 RCT 的转运效率, 因此单纯地提高血浆 HDL 水平可能达不到理想的心血管保护作用, 而促进细胞内胆固醇外流, 提高胆固醇外流效率则成为治疗 As 的有效作用途径. 以 ABCA1、ABCG1 和 SR-B I 为基础的胆固醇外流途径构成了细胞内胆固醇外流的最主要方式, 胆固醇外流效率既与各途径间的相互作用密切联系, 又与各转运体自身的功能与活性显著相关, 探讨三者介导的胆固醇外流及其相互作用必将为 As 的防治和治疗提供新的作用靶点和手段. As 病变中常出现的脂类蓄积、炎症、氧化应激、缺氧及胰岛素抵抗等都显著影响胆固醇转运体的表达, 进而影响 As 进程, 因此, 探讨上述病理情况对胆固醇转运体表达的影响及其机制, 对延缓 As 进程及 As 的治疗具有重要意义. 目前, 对调节 ABCA1 表达的研究已取得重要进展, 而对 ABCG1、SR-B I 及各转运体间内在联系的研究还有待深入, 多种病理情况间相互诱导及并发的现象, 也使今后的研究面临更大挑战. 加深对胆固醇外流机制的认识, 进一步理解各转运体和接受体的功能及其调节方式, 探索新型治疗方法, 以期增加 HDL 数量, 提高 HDL 功能, 必将为防治 As 提供直接的作用靶点, 从而推动新型治疗方法的发展.

参 考 文 献

- [1] 康 静, 成 蓓, 姜 蕾. 内脂素对 THP-1 源性巨噬细胞 ATP 结合盒转运蛋白 A1 表达的影响. 中国病理生理杂志, 2011, **27**(2): 234-237
Kang J, Cheng B, Jiang L. Chin J Pathophysiology, 2011, **27**(2): 234-237
- [2] 李传伟, 陈玉成, 曾 智. 高密度脂蛋白亚型分布同冠心病关系的研究进展. 心血管病学进展, 2009, **30**(6): 930-934
Li C W, Ch Y C, Zeng Z. Adv Cardiovasc Dis, 2009, **30**(6): 930-934
- [3] de Beer M C, Ji A, Jahangiri A, *et al.* ATP binding cassette G1-dependent cholesterol efflux during inflammation. J Lipid Res, 2011, **52**(2): 345-353
- [4] Vedhachalam C, Duong P T, Nickel M, *et al.* Mechanism of ATP-binding cassette transporter A1-mediated cellular lipid efflux to apolipoprotein A-I and formation of high density lipoprotein particles. J Biol Chem, 2007, **282**(34): 25123-25130
- [5] Kang M H, Singaraja R, Hayden M R. Adenosine-triphosphate-binding cassette transporter-1 trafficking and function. Trends Cardiovasc Med, 2010, **20**(2): 41-49
- [6] Mizuno T, Hayashi H, Naoi S, *et al.* Ubiquitination is associated with lysosomal degradation of cell surface-resident ABCA1 through the ESCRT pathway. Hepatology, 2011, **54**(2): 631-643
- [7] Zhao Y, Van Berkel T J, Van Eck M. Relative roles of various efflux pathways in net cholesterol efflux from macrophage foam cells in atherosclerotic lesions. Curr Opin Lipidol, 2010, **21**(5): 441-453
- [8] Sano O, Kobayashi A, Nagao K, *et al.* Sphingomyelin-dependence of cholesterol efflux mediated by ABCG1. J Lipid Res, 2007, **48**(11): 2377-2384
- [9] Ji A, Meyer J M, Cai L, *et al.* Scavenger receptor SR-B I in macrophage lipid metabolism. Atherosclerosis, 2011, **217**(1): 106-112
- [10] de la Llera-Moya M, Rothblat G H, Connelly M A, *et al.* Scavenger receptor B I (SR-B I) mediates free cholesterol flux independently of HDL tethering to the cell surface. J Lipid Res, 1999, **40**(3): 575-580
- [11] Out R, Hoekstra M, Habets K, *et al.* Combined deletion of macrophage ABCA1 and ABCG1 leads to massive lipid accumulation in tissue macrophages and distinct atherosclerosis at relatively low plasma cholesterol levels. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, **28**(2): 258-264
- [12] Yvan-Charvet L, Ranalletta M, Wang N, *et al.* Combined deficiency of ABCA1 and ABCG1 promotes foam cell accumulation and accelerates atherosclerosis in mice. J Clin Invest, 2007, **117**(12): 3900-3908
- [13] Yancey P G, Jerome W G, Yu H, *et al.* Severely altered cholesterol homeostasis in macrophages lacking apoE and SR-B I. J Lipid Res, 2007, **48**(5): 1140-1149
- [14] Chen S G, Xiao J, Liu X H, *et al.* Ibrilipim increases ABCA1/G1 expression by the LXRA α signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. Acta Pharmacol Sin, 2010, **31**(10): 1343-1349
- [15] Zhou X, He W, Huang Z, *et al.* Genetic deletion of low density lipoprotein receptor impairs sterol-induced mouse macrophage ABCA1 expression. A new SREBP1-dependent mechanism. J Biol Chem, 2008, **283**(4): 2129-2138
- [16] Han J, Nicholson A C, Zhou X, *et al.* Oxidized low density lipoprotein decreases macrophage expression of scavenger receptor B- I. J Biol Chem, 2001, **276**(19): 16567-16572
- [17] Salehipour M, Javadi E, Reza J Z, *et al.* Polyunsaturated fatty acids and modulation of cholesterol homeostasis in THP-1 macrophage-derived foam cells. Int J Mol Sci, 2010, **11**(11): 4660-4672

- [18] 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**(45): 43271–43280
- [19] Hori N, Hayashi H, Sugiyama Y. Calpain-mediated cleavage negatively regulates the expression level of ABCG1. *Atherosclerosis*, 2011, **215**(2): 383–391
- [20] Yu L, Cao G, Repa J, *et al.* Sterol regulation of scavenger receptor class B type I in macrophages. *J Lipid Res*, 2004, **45**(5): 889–899
- [21] Maurer R, Ebert S, Langmann T. High glucose, unsaturated and saturated fatty acids differentially regulate expression of ATP-binding cassette transporters ABCA1 and ABCG1 in human macrophages. *Exp Mol Med*, 2009, **41**(2): 126–132
- [22] Ishiyama J, Taguchi R, Yamamoto A, *et al.* Palmitic acid enhances lectin-like oxidized LDL receptor (LOX-1) expression and promotes uptake of oxidized LDL in macrophage cells. *Atherosclerosis*, 2010, **209**(1): 118–124
- [23] Hu Y W, Ma X, Li X X, *et al.* Eicosapentaenoic acid reduces ABCA1 serine phosphorylation and impairs ABCA1-dependent cholesterol efflux through cyclic AMP/protein kinase A signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *Atherosclerosis*, 2009, **204**(2): e35–43
- [24] Shridas P, Bailey W M, Gizard F, *et al.* Group X secretory phospholipase A2 negatively regulates ABCA1 and ABCG1 expression and cholesterol efflux in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, **30**(10): 2014–2021
- [25] Hao X R, Cao D L, Hu Y W, *et al.* IFN-gamma down-regulates ABCA1 expression by inhibiting LXRA in a JAK/STAT signaling pathway-dependent manner. *Atherosclerosis*, 2009, **203**(2): 417–428
- [26] Reiss A B, Patel C A, Rahman M M, *et al.* Interferon-gamma impedes reverse cholesterol transport and promotes foam cell transformation in THP-1 human monocytes/macrophages. *Med Sci Monit*, 2004, **10**(11): BR420–425
- [27] Wang X, Liao D, Bharadwaj U, *et al.* C-reactive protein inhibits cholesterol efflux from human macrophage-derived foam cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, **28**(3): 519–526
- [28] Zhou X, Yin Z, Guo X, *et al.* Inhibition of ERK1/2 and activation of liver X receptor synergistically induce macrophage ABCA1 expression and cholesterol efflux. *J Biol Chem*, 2010, **285**(9): 6316–6326
- [29] Han X, Kitamoto S, Lian Q, *et al.* Interleukin-10 facilitates both cholesterol uptake and efflux in macrophages. *J Biol Chem*, 2009, **284**(47): 32950–32958
- [30] Han X, Kitamoto S, Wang H, *et al.* Interleukin-10 overexpression in macrophages suppresses atherosclerosis in hyperlipidemic mice. *FASEB J*, 2010, **24**(8): 2869–2880
- [31] Rubic T, Lorenz R L. Downregulated CD36 and oxLDL uptake and stimulated ABCA1/G1 and cholesterol efflux as anti-atherosclerotic mechanisms of interleukin-10. *Cardiovasc Res*, 2006, **69**(2): 527–535
- [32] Hu Y W, Wang Q, Ma X, *et al.* TGF-beta1 up-regulates expression of ABCA1, ABCG1 and SR-BI through liver X receptor alpha signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells. *J Atheroscler Thromb*, 2010, **17**(5): 493–502
- [33] Bingham T C, Fisher E A, Parathath S, *et al.* A2A adenosine receptor stimulation decreases foam cell formation by enhancing ABCA1-dependent cholesterol efflux. *J Leukoc Biol*, 2010, **87**(4): 683–690
- [34] Yvan-Charvet L, Welch C, Pagler T A, *et al.* Increased inflammatory gene expression in ABC transporter-deficient macrophages: Free cholesterol accumulation, increased signaling *via* toll-like receptors, and neutrophil infiltration of atherosclerotic lesions. *Circulation*, 2008, **118**(18): 1837–1847
- [35] Kurokawa K, Lee H, Roh K B, *et al.* The triacylated ATP binding cluster transporter substrate-binding lipoprotein of staphylococcus aureus functions as a native ligand for toll-like receptor 2. *J Biol Chem*, 2009, **284**(13): 8406–8411
- [36] Maitra U, Parks J S, Li L. An innate immunity signaling process suppresses macrophage ABCA1 expression through IRAK-1-mediated downregulation of retinoic acid receptor alpha and NFATc2. *Mol Cell Biol*, 2009, **29**(22): 5989–5997
- [37] Marcil V, Delvin E, Sane A T, *et al.* Oxidative stress influences cholesterol efflux in THP-1 macrophages: Role of ATP-binding cassette A1 and nuclear factors. *Cardiovasc Res*, 2006, **72**(3): 473–482
- [38] Nagelin M H, Srinivasan S, Lee J, *et al.* 12/15-Lipoxygenase activity increases the degradation of macrophage ATP-binding cassette transporter G1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, **28**(10): 1811–1819
- [39] Nagelin M H, Srinivasan S, Nadler J L, *et al.* Murine 12/15-lipoxygenase regulates ATP-binding cassette transporter G1 protein degradation through p38- and JNK2-dependent pathways. *J Biol Chem*, 2009, **284**(45): 31303–31314
- [40] Weibel G L, Joshi M R, Alexander E T, *et al.* Overexpression of human 15 (S)-lipoxygenase-1 in RAW macrophages leads to increased cholesterol mobilization and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, **29**(6): 837–842
- [41] Fuhrman B, Gantman A, Aviram M. Paraoxonase 1 (PON1) deficiency in mice is associated with reduced expression of macrophage SR-B I and consequently the loss of HDL cytoprotection against apoptosis. *Atherosclerosis*, 2010, **211**(1): 61–68
- [42] Hulten L M, Levin M. The role of hypoxia in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 2009, **20**(5): 409–414
- [43] Ugocsai P, Hohenstatt A, Paragh G, *et al.* HIF-1beta determines ABCA1 expression under hypoxia in human macrophages. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, **42**(2): 241–252
- [44] Svensson P A, Englund M C, Snackestr nd M S, *et al.* Regulation and splicing of scavenger receptor class B type I in human macrophages and atherosclerotic plaques. *BMC Cardiovasc Disord*, 2005, **5**: 25
- [45] Tabas I, Tall A, Accili D. The impact of macrophage insulin resistance on advanced atherosclerotic plaque progression. *Circ Res*, 2010, **106**(1): 58–67

- [46] Attia N, Fournier N, Védie B, *et al.* Impact of android overweight or obesity and insulin resistance on basal and postprandial SR-B I and ABCA1-mediated serum cholesterol efflux capacities. *Atherosclerosis*, 2010, **209**(2): 422–429
- [47] Brunham L R, Kruit J K, Pape T D, *et al.* Beta-cell ABCA1 influences insulin secretion, glucose homeostasis and response to thiazolidinedione treatment. *Nat Med*, 2007, **13**(3): 340–347
- [48] Iwamoto N, Yokoyama S. Protein kinase D regulates the adiponectin gene expression through phosphorylation of AP-2: A common pathway to the ABCA1 gene regulation. *Atherosclerosis*, 2011, **216**(1): 90–96
- [49] Gantman A, Fuhrman B, Aviram M, *et al.* High glucose stimulates macrophage SR-B I expression and induces a switch in its activity from cholesterol efflux to cholesterol influx. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, **391**(1): 523–528

Research Advances of Cholesterol Efflux in Atherosclerosis*

LU Qian¹⁾, CHEN Wu-Jun^{1,2)}, YIN Kai^{1,3)}, ZHAO Guo-Jun^{1,4)}, TANG Chao-Ke^{1)**}

¹⁾ Institute of Cardiovascular Disease, Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, Life Science Research Center, University of South China, Hengyang 421001, China;

²⁾ Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China, Hengyang 421001, China;

³⁾ The Department of Diagnostics, University of South China, Hengyang 421001, China;

⁴⁾ Department of Histology and Embryology, University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract The major pathways of cholesterol efflux from macrophages are the transmembrane transports mediated by membrane proteins involved ATP-binding cassette transporters A1, ATP-binding cassette transporters G1 and scavenger receptor class B type I, which are essential for cellular cholesterol homeostasis. The efficiency of cellular cholesterol efflux is determined by the activity of membrane transporters and regulation of their expression, the quantity and quality of extracellular acceptors and so on. Recent advances indicate that conditions locally in the atherosclerotic lesion, including lipids accumulation, inflammation, oxidative stress, hypoxia and insulin resistance, critically influence the expression of cholesterol transporters, which is in line affects the happen and progress of atherosclerosis associated with a change of cholesterol efflux. This review focuses on the current views on the relative roles of different cellular cholesterol efflux pathways, and the regulation on transporters of lipids accumulation, inflammation, oxidative stress, hypoxia and insulin resistance, which often accompany with the happen of atherosclerotic lesion, aiming at providing new theoretical evidence and drug targets to promote the development of therapies on atherosclerosis.

Key words ATP-binding cassette transporters A1, ATP-binding cassette transporters G1, scavenger receptor class B type I, high density lipoprotein, atherosclerosis

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00301

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81170278, 81070220) and The Heng Yang Joint Funds of The Hunan Provincial Natural Sciences Foundation of China (10JJ9019).

**Corresponding author.

Tel: 86-734-8281853, E-mail: tchaoke@yahoo.com.cn

Received: July 3, 2011 Accepted: September 26, 2011