

巨噬细胞胆固醇转运相关蛋白研究进展*

欧含笑¹⁾ 郭冰冰¹⁾ 田期先^{1,2)} 蒋湘^{1,2)} 唐朝克³⁾ 莫中成^{1)**}

(¹⁾ 南华大学医学院组织学与胚胎学教研室, 衡阳 421001; (²⁾ 南华大学医学院 2015 级卓越医师班, 衡阳 421001;

(³⁾ 南华大学心血管疾病研究所, 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 衡阳 421001)

摘要 动脉粥样斑块中泡沫细胞的形成与巨噬细胞胆固醇的转运密切相关, 巨噬细胞胆固醇转运是胆固醇逆转运中的一个重要过程, 它可清除外周组织过多的胆固醇, 对维持细胞内胆固醇稳定、延缓动脉粥样硬化的发生发展有着重要意义。这个过程涉及到许多转运相关蛋白的作用, 如三磷酸腺苷结合盒转运体 A1/G1、载脂蛋白 A- I、胆固醇脂转运蛋白、卵磷脂胆固醇酰基转移酶等。本文就巨噬细胞胆固醇转运过程中相关蛋白的作用做一综述, 以期对动脉粥样硬化相关疾病的防治研究提供新的思路。

关键词 胆固醇转运, 巨噬细胞, 动脉粥样硬化

学科分类号 R363, R310.11

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0282

流行病学研究显示, 血浆高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 的浓度和动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 性疾病及心血管意外的发生率呈负相关, HDL 抗动脉粥样硬化的主要机制是促进胆固醇从外周细胞流出, 并将其运送至肝脏合成胆汁酸和类固醇激素等^[1]。巨噬细胞胆固醇代谢是维持体内胆固醇稳态的重要因素, 也是机体胆固醇清除的必要途径。巨噬细胞是影响 As 发生发展的关键细胞, As 的主要特征是氧化低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, oxLDL) 侵入到内皮下被巨噬细胞吞噬形成泡沫细胞, 进而演变成动脉粥样斑块, 而胆固醇从血管壁荷脂巨噬细胞中流出则可防止 As 的发生。然而, 尽管对巨噬细胞胆固醇转运和 As 的相关性研究了近 30 年, 但仍然存在着诸多争议。近年来, 对巨噬细胞胆固醇转运的系列研究显示, 巨噬细胞胆固醇转运是 As 易感性的预测因素, 而且也发现了许多调控巨噬细胞胆固醇转运的相关靶点及治疗药物, 在探讨 As 的发病机制及防治中起着十分重要的作用, 本文将简述其相关研究进展。

1 巨噬细胞胆固醇转运

巨噬细胞胆固醇转运是一个受多基因调控的复

杂过程 (图 1)。巨噬细胞中胆固醇酯在中性胆固醇酯水解酶 (neutral CE hydrolase, CEH) 的作用下水解, 其中三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)、ABCG1 和 B 类 I 型清道夫受体 (scavenger receptor class B type I, SR-B I) 是影响巨噬细胞胆固醇流出的关键蛋白质分子^[2-3]。ABCA1 主要介导胆固醇流出至贫脂的载脂蛋白 A- I (apoA- I), 而 ABCG1 和 SR-B I 主要介导胆固醇流出至成熟的 HDL 微粒。在新生的盘状 HDL 微粒中, 胆固醇进一步被卵磷脂酰基转移酶 (lecithin cholesterol acyl transferase, LCAT) 酯化, 这是维持游离胆固醇与 HDL 之间浓度梯度的关键步骤^[4]。成熟 HDL 中的游离胆固醇和胆固醇酯可通过结合肝脏 SR-B I 而被选择性吸收, 这称为直接途径。另外, 也可经胆固醇脂转运蛋白 (cholesteryl ester transfer protein, CETP) 转运到含

* 国家自然科学基金 (81670401), 湖南省自然科学基金项目 (2016JJ6133), 南华大学大学生研究性学习和创新性实验计划 (2016NH053XJXZ), 南华大学“蒸湘学者计划” (Xiangyang Tang) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0734-8578033, E-mail: zhchmo@hotmail.com

收稿日期: 2016-12-26, 接受日期: 2017-01-17

apoB 的脂蛋白, 然后通过低密度脂蛋白受体 (low-density lipoprotein receptor, LDLR) 等的介导而经肝脏清除, 这种途径称之为间接途径. HDL

和 LDL 中的胆固醇再以游离胆固醇和胆汁酸的形式分泌到胆汁和粪便中清除.

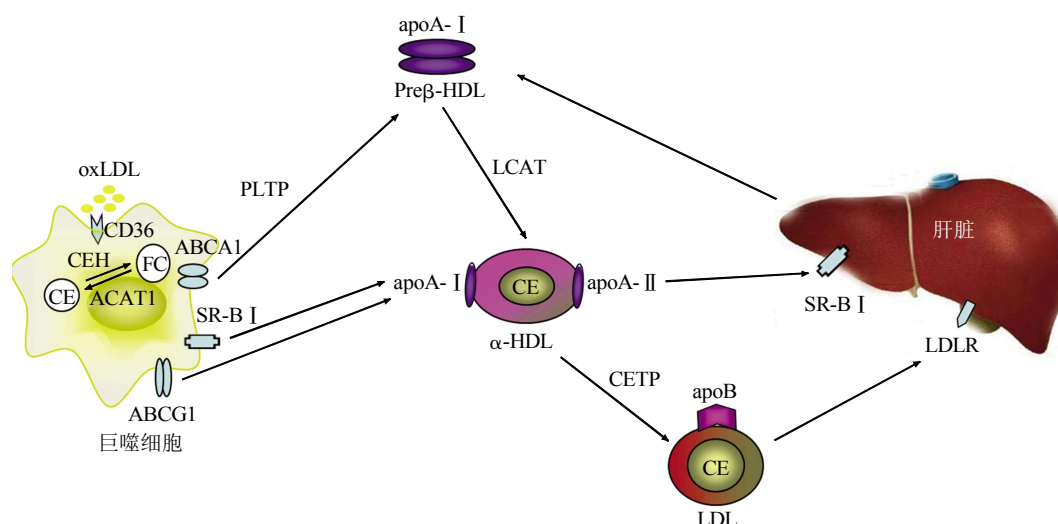


Fig. 1 The role of relevant proteins mediated cholesterol transport in Macrophages

图 1 巨噬细胞胆固醇转运相关蛋白的作用

2 调控巨噬细胞胆固醇转运的相关蛋白

2.1 三磷酸腺苷结合盒转运体家族

2.1.1 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1

ABCA1 基因是调节细胞内胆固醇外流的关键限速基因. 人类的 ABCA1 基因位于 9q31, 其片段长度为 149 kb, 含有 50 个外显子和 49 个内含子, 编码的蛋白含有 2261 个氨基酸, 分子质量为 254 ku. ABCA1 多表达于巨噬细胞、T 细胞和 B 细胞等炎症细胞, 也可见于纤维母细胞、间质细胞和肝细胞等非炎症细胞^[1,5]. Tangier 病(tangierdisease, TD)又称为 α - 蛋白血症, 是 ABCA1 中一个基因突变引起的, 其主要特征是血浆 HDL、apoA- I 水平显著降低、伴有正常或高水平的甘油三酯(triglyceride, TG), 细胞内游离胆固醇外流障碍, 组织中巨噬细胞聚集, 早期 As 相关基因表达增加, 致使 As 的危险性增加, 并可表现为早发冠心病^[6]. 然而, 目前对其与心血管疾病之间的关系还存在有争议. HDL-C、apoA- I 水平降低与 As 性心血管疾病的发生呈负相关, 但是 TD 是否增加 As 性心血管疾病的风险并不确定, 有研究认为 TD 仅轻度增加 As 性心血管疾病发生的风险, 但也有研究表明不会增加这类疾病的风险. 在哥本哈根进行的一项研

究表明, 杂合子 ABCA1 基因突变的 1 741 位缺血性心脏病患者与非携带者相比, 血浆 HDL-C 水平平均值仅相差 170 mg/L, 差异不显著 (Frikke-Schmidt R, *et al.* JAMA, 2008, **299** (21): 2524–2532). 而 Serfaty-Lacrosniere 等^[7]则在研究中发现 TD 病人间存在异质性, 大多数病人表现为周围神经病变, 而心血管疾病只是到中老年时才出现. 有些 TD 患者并不并发心血管疾病, 这可能与低水平 LDL-C 相关. 因此, ABCA1 突变是否增加心血管疾病的风险并不明确. 此外, TD 杂合子的 HDL 水平降低 40%~50%, TG 升高 40%, 杂合子比正常人发生冠心病的时间约提早 25 年, 而普通人群的 ABCA1 基因变异引起 ABCA1 蛋白功能障碍也影响血浆中 HDL 水平, 但是否是诱发冠心病的因素还需进一步研究^[8].

ABCA1 主要介导巨噬细胞胆固醇的流出, 在人类动脉粥样硬化病变部位表达明显上调, 而且巨噬细胞源性泡沫细胞中 ABCA1 mRNA 的表达量是正常的 3 倍^[9]. ABCA1 基因突变可导致细胞内胆固醇和磷脂不能向贫脂或无脂的 apoA- I 转运, 从而引起 apoA- I 迅速降解, HDL 生成不足, 并且导致外周细胞胆固醇蓄积. 研究表明, ABCA1 和 ABCG1 能够介导荷脂巨噬细胞内的脂质进入细胞

外基质, 这个结果提示 ABCA1 不仅可介导脂质的选择性转运, 它也参与调节体内巨噬细胞胆固醇流出, 并且细胞外的胆固醇也有可能促进 As 的发展^[9-10]. Mukhamedova 等^[11]发现, 野生型小鼠的巨噬细胞过表达人的 ABCA1, 可增强胆固醇向肝脏和粪便的分泌. 缺乏 ABCA1 和 SR-B I 的小鼠由于有严重的低胆固醇血症并不发生 As^[12]. 也有研究发现, 与正常巨噬细胞比较, 野生型鼠腹腔注射从 ABCA1^{-/-} 小鼠骨髓移植的巨噬细胞后, 运输至肝脏、胆汁和排泄物的胆固醇减少约 50%^[13], 这与高胆固醇血症 apoE 缺陷和 LDLR 缺陷鼠移植 ABCA1 缺陷鼠的骨髓后, 其 As 易感性增加的现象完全一致. 但是 LDLR 缺陷鼠移植过表达人 ABCA1 的骨髓后, 尽管其 HDL-C 水平没有改变, 但是 As 病变明显减少. 饮食诱导 As 小鼠内皮细胞中 ABCA1 的表达, 似乎可以降低饮食对 As 的诱导作用, 而且与血浆 HDL-C 水平升高、内皮细胞基因表达变化等有关^[14]. 此外, MiR-144、MiR-26 能降低巨噬细胞 ABCA1 的表达, 抑制胆固醇流出, 并降低血浆 HDL-C 水平^[15-16]. 本课题组研究中也发现, 血浆中氧化修饰的蛋白产物, 如晚期氧化蛋白产物 (advanced oxidation protein products, AOPPs) 也能下调 ABCA1 的表达, 抑制 THP-1 巨噬细胞胆固醇的流出进而促进 As 的发展^[17]. 因此, 影响 ABCA1 的表达促进泡沫细胞的形成及 As 的发展, 以 ABCA1 为靶点开发相应的激动剂能为有效地防止 As 的发展提供新的治疗方案.

2.1.2 三磷酸腺苷结合盒转运体 G1

人类 ABCG1 基因位于染色体 21q22.3 上, 包括 23 个外显子. 它的 cDNA 编码含 678 个氨基酸的蛋白质, 分子质量约为 76 ku, 2 个 ABCG1 转运体通过形成 ABCG1-ABCG1 同型二聚体或形成 ABCG1-ABCG4 异型二聚体活化发挥生物效应^[1]. ABCG1 在肺、肾上腺、脑、脾和巨噬细胞等各个器官及细胞均有表达, 它在巨噬细胞中的作用类似 ABCA1, 能防止过量的脂质蓄积, 从而阻碍 As 的发展^[18].

给予 ABCG1^{-/-} 小鼠高脂肪饮食, 可导致巨噬细胞中脂质蓄积, 而过表达人 ABCG1 基因则可抑制饮食诱导的脂质蓄积^[19]. 体内外实验表明, ABCG1 在减少巨噬细胞凋亡及稳定斑块中起重要作用, ABCG1^{+/+} 巨噬细胞与 ABCG1^{-/-} 巨噬细胞相比, 其 ox-LDL 和游离胆固醇诱导的凋亡率显著下降^[20]. ABCA1 介导形成的新生 HDL 颗粒是

ABCG1 介导的胆固醇流出中的有效受体^[21]. 小鼠体内注入稳定过表达 ABCG1 巨噬细胞后, 可促进其体内胆固醇转运, 而注入 ABCG1 缺陷巨噬细胞, 则损害其体内胆固醇转运^[22], 注入 ABCA1/ABCG1 缺陷型巨噬细胞则明显损害体内巨噬细胞依赖性的胆固醇转运^[23]. 由此可见, ABCA1 和 ABCG1 在体内巨噬细胞胆固醇转运中有协同作用, 其机制可能是通过提高胆固醇在细胞膜双分子层间的流动来增加巨噬细胞的趋化性, 从而增强 HDL 的作用, 发挥抗 As 的作用. 此外, 巨噬细胞 ABCG1^{-/-}/ABCA1^{-/-} 复合缺陷加速高胆固醇血症杂合子 LDLR^{-/-} 鼠 As 的发生, 而对纯合子 LDLR 缺陷小鼠 As 的影响较小, 这可能与含 apoB 的脂蛋白水平低以及促炎性的 T 细胞减少有关^[24]. 此外, 也有研究表明 ABCA1 和 ABCG1 之间还存在着互补效应, 即 ABCG1 蛋白在 ABCA1^{-/-} 细胞中增加, 而 ABCA1 蛋白在 ABCG1^{-/-} 细胞中增加, 并且还能促进其他接受体如 apoE 的分泌^[4]. ABCG1^{-/-} 小鼠的骨髓巨噬细胞移植到 LDLR^{-/-} 小鼠体内, ABCA1 的表达增加, As 病变明显减少^[25]. 在 apoE 基因敲除小鼠中, AOPPs 能够下调 ABCA1 和 ABCG1 的表达, 促进脂质蓄积, 加速 As 的发生发展^[26]. 初榨橄榄油可增加培养的巨噬细胞 ABCG1 表达, 促进脂质流出^[27], 表明炎症和饮食因素也能通过影响 ABCG1 的表达及其介导的胆固醇转运而影响 As 的发生发展. 有研究认为, ABCA1 参与体内原代肝细胞胆固醇流出和新生 HDL 的形成, 而 ABCG1 却不利于肝细胞新生 HDL 颗粒的形成^[21], 也有研究认为体内巨噬细胞过表达 ABCG1 并不影响粪便胆固醇的分泌. 因此, 调控巨噬细胞胆固醇转运可能是 ABCG1 影响 As 的一种因素, 但不是唯一的因素.

2.2 B 类 I 型清道夫受体

SR-B I 是 HDL 的受体, 它在胆固醇逆向转运中发挥关键作用. 研究发现, 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)、肝 X 受体 (liver X receptor, LXR)、人绒毛膜促性腺激素 (human chorionic gonadotropin, HCG) 和催乳素调节元件结合蛋白 (prolactin regulatory element-binding protein, PREBP) 能上调 SR-B I 的表达, 而维生素 E、IFN- α 和 LPS 则使其表达下调^[5]. HDL 中酯化或未酯化的胆固醇主要通过肝脏 SR-B I 进行选择吸收, 肝脏过表达 SR-B I 增加胆汁中胆固醇的含量, 并促使肝脏向胆汁转运胆固

醇, 导致 As 易感性降低. 当鼠敲除 SR-B I 基因或者其肝 SR-B I 表达下降, 胆汁中胆固醇含量和分泌减少, 导致 As 易感性增高. 饲喂正常饮食的 apoE^{-/-} 鼠和饲喂西餐的 LDLR^{-/-} 鼠中, 完全破坏鼠体内的 SR-B I 基因也可加速其 As 的发生^[28]. 此外, 研究表明, HDL 能上调 THP-1 巨噬细胞 SR-B I 的表达, 促进 THP-1 巨噬细胞内胆固醇流出, 而 oxLDL 则下调 THP-1 巨噬细胞 SR-B I 的表达, 促进巨噬细胞内胆固醇蓄积. 这些研究说明 SR-B I 在巨噬细胞表达上调能增加细胞内胆固醇的流出, 减少细胞蓄脂, 延缓 As 的发生^[29]. 然而, 有关巨噬细胞 SR-B I 依赖性的胆固醇转运在 As 中的作用也存在着相互矛盾的研究结果. 如家族性 SR-B I 突变, 血浆 HDL-C 水平增加, 肾上腺类固醇激素生成减少, 但 As 性心血管疾病的风险并没有增加^[30]. 注入 SR-B I^{-/-} 鼠的骨髓源性和腹膜巨噬细胞并不影响体内巨噬细胞依赖性的胆固醇转运^[22]. 过表达巨噬细胞 SR-B I 和 Caveolin-1 明显促进巨噬细胞依赖性的胆固醇向 HDL 转运^[11]. 骨髓移植过表达巨噬细胞 SR-B I 可减轻 LDLR^{-/-} 小鼠和 apoE^{-/-} 小鼠的 As 病变. 但值得注意的是, 巨噬细胞过表达 SR-B I 可抑制 ABCA1 介导的胆固醇流出^[31].

SR-B I 和 As 的负相关可能是由于 SR-B I 在介导巨噬细胞胆固醇转运中的作用. 腺病毒介导的 SR-B I 过表达可减少 HDL-C 的水平, 增加其体内巨噬细胞至粪便的胆固醇转运, 而敲除小鼠 SR-B I 后, 尽管血浆中 HDL-C 水平升高, 但选择性 HDL-C 的清除减少, 巨噬细胞胆固醇转运受损, As 的形成也增加, 这在选择性地敲除肝 SR-B I 基因小鼠上得到验证, 但在这种基因敲除小鼠表达 CETP 基因却阻止 As 形成, 提示 HDL-C 的代谢可能比血浆中 HDL-C 水平的升高更重要^[32]. HDL-C 通过 SR-B I 吸收, 在肝脏则被 CEH 快速分解, 从而发挥抗 As 的作用. 此外, 炎症反应参与了 As 发生发展过程中 As 斑块破裂和血栓形成的全过程, 血清淀粉样蛋白 A 能通过 p38-MAPK 的磷酸化下调 SR-B I 的表达促进 THP-1 细胞的炎症反应, 从而促进血管炎症的产生和动脉粥样斑块的形成. 而用抗氧化剂或降血脂药处理 SR-B I^{-/-} 鼠, 则可以恢复正常的未酯化胆固醇和酯化胆固醇的比率, 这有利于巨噬细胞经 SR-B I 非经典途径发挥抗 As 效应^[28,33].

2.3 CD36

CD36 属于 B 族清道夫受体, 为高度保守的膜

蛋白, 相对分子质量为 88 ku. 人 CD36 基因位于染色体 7q11, 在许多代谢及免疫相关的细胞中均有表达, 如脂肪细胞、单核 / 巨噬细胞等. CD36 的功能主要是参与细胞识别、吸收和利用脂质相关分子, 比如饮食中长链脂肪酸及天然或氧化的脂蛋白等^[34-35]. Handberg 等^[36]研究认为, 血浆 CD36 水平与胰岛素抵抗、脂肪肝和 As 的发生呈正相关. 急性冠脉综合征患者单核细胞表面 CD36 表达水平增加^[37]. CD36 也是 oxLDL 的高亲和力受体, 能促进泡沫细胞的形成. 用 oxLDL 处理 J774 细胞, 可显著上调其 CD36 的表达^[38]. CD36 缺陷的小鼠巨噬细胞对 oxLDL 的结合和摄取能力显著降低, 血浆胆固醇水平升高, 乳糜微粒向淋巴的分泌以及餐后 TG 的清除减少^[39]. 而转染或过表达 CD36 基因则可增加巨噬细胞对 oxLDL 结合、内吞以及降解的能力, 促进 As 的发展, 增加斑块的不稳定性^[40]. CD36 基因缺失可以减轻 apoE^{-/-} 小鼠的 As 病变^[41], 并且在 apoE^{-/-} As 模型鼠的基础上进一步建立巨噬细胞表达或不表达 CD36 的鼠模型, 发现巨噬细胞缺乏 CD36 的 apoE^{-/-} 鼠主动脉病变较表达 CD36 的 apoE^{-/-} 鼠的病变明显减少, 而重新导入表达 CD36 的巨噬细胞后, 其病变面积明显增加^[42].

此外, CD36 基因的表达缺陷可使人巨噬细胞与 oxLDL 和胆固醇酯的结合减少约 40%, 而转染 CD36 基因后, 巨噬细胞结合、内吞以及降解 oxLDL 的能力增加 4 倍, 以抗 CD36 的抗体处理巨噬细胞, 可使细胞摄取 oxLDL 的量减少 50%. 他汀类药物在降脂的同时, 减少血浆 CD36 的浓度并抑制巨噬细胞对 oxLDL 的摄取. 研究证实, 低分子 CD36 抑制剂可以减少血脂在动脉壁的沉积, 并提高胰岛素敏感性和糖耐量^[43]. apoE^{-/-} 小鼠予以 CD36 的合成配体 EP80317, 可通过促进胆固醇向粪便排泄的逆向胆固醇转运过程发挥抗 As 作用^[44]. 尽管 CD36 在脂类的吸收和代谢中的作用已经明确, 但对于 CD36 基因多态性是否影响人类脂质的代谢, 以及与心血管疾病的发生是否具有相关性等暂不明确. 研究发现, CD36 基因变异可以影响空腹血脂及增加代谢综合征的风险, CD36 DNA 的甲基化能够减少脂肪组织和心脏 CD36 的表达, 进而造成个体差异性的餐后脂质代谢异常^[45]. 然而, 在 CD36 缺乏时, 巨噬细胞也可分化成为泡沫细胞^[46], As 的易感性增加^[47], 这对 CD36 介导 oxLDL 吸收而致 As 的作用提出质疑. 因此, 深入研究 CD36 的功能及表达的调控机制, 对于探讨脂质代谢和

As 的防治均具有十分重要的意义。

2.4 载脂蛋白 A- I

apoA- I 是 HDL 中的主要载脂蛋白成分, 是一种抗 As 形成的分子. apoA- I 与细胞膜上特异的位点结合而激活 ABCA1, 从而促进胆固醇流出. apoA- I 特异性突变可能影响 apoA- I /ABCA1 间相互作用, 抑制 HDL 生物合成, 并可能诱发高 TG 血症和高胆固醇血症^[48]. 在小鼠和兔体内转基因或过表达人的 apoA- I, 血浆、肝脏和粪便中巨噬细胞源性^{[3]H}胆固醇水平增高, 产生抗 As 的效应. 嗅结构域和外侧末端结构域(bromodomain and extraterminal domain, BET)抑制剂 RVX-208 能通过增加人 apoA- I 基因的转录、蛋白的表达并影响巨噬细胞胆固醇转运过程而发挥抗 AS 的作用^[49]. 此外, apoA- I 的突变型 apoA1 Milano(apoA-IM)及 apoA1 Paris(apoA-IP)由于其快速的代谢率及受 LCAT 的活性影响, 使胆固醇不能流出至贫脂 apoA-1 形成成熟的 HDL, 而是形成大量的前 β -HDL, 从而干扰其抗 As 的作用^[52]. 也有研究显示, apoA- I 的结构域特征影响其介导巨噬细胞胆固醇转运的能力, 破坏人 apoA- I 结构 N 端螺旋的稳定性或增加 C 端的疏水性可以增强其抗 As 的能力^[50], 另外, apoA- I 经氧化修饰或胞外蛋白酶分解后, 也会抑制其诱导的巨噬细胞胆固醇流出^[51]. 因此, apoA- I 在巨噬细胞胆固醇流出过程中发挥作用需要保证其结构的稳定性。

2.5 胆固醇脂转运蛋白

人类代谢性疾病发生脂质紊乱时, 包括胰岛素抵抗和高 TG 血症等, 患者体内 CETP 活性增高, 这些疾病与早发性 As 等心血管疾病密切相关^[52]. 然而, CETP 在致 As 和抗 As 方面均起作用, 而且遗传性 CETP 缺陷者是否能抵抗 As 性心血管病的发生尚不清楚. 研究发现, CETP 抑制剂能升高血浆 HDL-C、apoA- I 和餐后胰岛素的量^[53]. CETP 纯合子突变使血浆 HDL-C 水平升高, 能减少冠状动脉粥样硬化性血管病的发生, 而 CETP 的杂合子突变会增加冠状动脉粥样硬化性血管病的风险^[54]. 血脂异常的仓鼠 CETP 抑制不刺激胆固醇转运过程, 而和降低 LDL 的药物黄连素共同作用的附加效果却能促进胆固醇转运的过程^[55]. CETP 抑制剂虽然能明显增加 HDL-C 水平, 但这并不能降低冠状动脉粥样硬化性血管病的发生^[54]. 表达人 CETP 基因的骨髓源性巨噬细胞移植到 LDLR^{-/-} 小鼠后, 可明显促进其 As 的发展, 并且 CETP 对 As 的作用并

不依赖于巨噬细胞依赖性的胆固醇转运. 因此, 过表达 CETP 的 LDLR^{-/-} 鼠体内 As 病变的增加可能是由于胆固醇从 HDL 到含 apoB 脂蛋白间重新分布所致^[56].

2.6 酶

2.6.1 巨噬细胞中性胆固醇酯水解酶

胆固醇酯在巨噬细胞中蓄积是形成 As 斑块的核心环节. 胆固醇酯只有被水解成游离胆固醇后才能被转运到胞外, 因此, 巨噬细胞内胆固醇酯的水解在一定程度上限制了细胞外受体介导的游离胆固醇的流出. 中性胆固醇酯水解酶(neutral cholesteryl ester hydrolase, CEH)是表达在巨噬细胞和肝脏的一种酶, 是影响细胞内胆固醇酯动员的关键酶. 研究显示, LDLR^{-/-} 鼠体内过表达人的 CEH, 可增加其体内胆固醇酯微粒的动员, 促进胆固醇转运, 从而减少饮食诱导的 As 病变^[57]. 在小鼠巨噬细胞中, 转基因高表达 CEH 后, 能提高巨噬细胞内游离胆固醇的流出, 显著降低高胆固醇诱导的 As 斑块的损伤. 此外, 腺病毒介导的人肝脏 CEH 过表达后, 在 SR-B I 的参与下也能促进巨噬细胞源性胆固醇的清除. 在 As 易感性物种中, CEH 显著降低^[58]. 这些研究均提示 CEH 具有抗 As 的作用, 而且其机制主要是通过促进巨噬细胞胆固醇转运。

2.6.2 卵磷脂胆固醇酰基转移酶

LCAT 是一种在肝脏合成的糖蛋白, 它可促进胆固醇转运, 促使盘状新生 HDL 转化为成熟 HDL 微粒, 因此成为提高 HDL-C 水平和调节胆固醇转运的一个潜在治疗靶点^[54]. LCAT 缺失患者血浆中存在大量的小 α -HDL 微粒, LCAT 缺陷小鼠血浆中主要为 pre β -HDL 和 α 4-HDL 微粒, 腺病毒转染表达人 LCAT 基因后, 血浆中产生大 α -HDL 颗粒, 而表达突变 LCAT 基因则产生 pre β -HDL, 伴随有小颗粒的 α 4、 α 3 和 α 2-HDL 产生, 这可能与 LCAT 酯化游离胆固醇的功能有关. 此外, 对于 apoA- I 突变所造成的 ABCA1 介导的胆固醇流出受阻并不能因过表达 LCAT 而纠正^[48]. apoA- I 转基因鼠的肝脏过表达人 LCAT 后, 体内 HDL-C 水平增高, 但是巨噬细胞至粪便的胆固醇转运减少^[59]. 肝脏过表达 SR-B I 和 CETP 时, LCAT 的表达不能促进体内胆固醇转运过程^[59]. 过表达 LCAT 的转基因鼠, 其 As 易感性降低, LCAT 缺陷导致巨噬细胞至血浆和粪便的胆固醇转运显著减少^[59]. 有报道表明有些 LCAT 缺陷的病人提前发生心血管疾病, 而也有研究认为即使 LCAT 缺陷的病人

HDL-C 水平低于正常人的 5%，其冠状动脉粥样硬化性血管病发生的风险也不会增加^[54]。另外，LCAT 不是胆固醇向血浆转运所必需的分子，早发性心血管疾病与遗传性 LCAT 缺陷病人的特征也不一致^[60]。因此，LCAT 与 As 的关系还需进一步研究。

2.6.3 磷脂转运蛋白

在人血浆中，脂质在脂蛋白间的转运主要通过磷脂转运蛋白(phospholipid transfer protein, PLTP)和 CETP 的作用。PLTP 介导磷脂从富含 TG 的脂蛋白转运至 HDL，并参与调节 HDL 大小和组成。因此，PLTP 缺乏能显著降低 HDL-C 水平，并影响 HDL 的生物学特性。PLTP^{-/-}小鼠^[3H]标记的胆固醇向胆汁及粪便的分泌率下降，并且与胆固醇转运过程相关的 LXRα、ABCA1 及胆固醇 7α-羟化酶 A1 蛋白在肝脏的表达量上调，这说明全身性的 PLTP 缺乏能损伤体内巨噬细胞的胆固醇转运^[61]。而转基因鼠体内过表达人 PLTP 可增加前 β-HDL 的生成。另外，在 apoE 缺陷鼠体内，采用腺病毒介导 PLTP 过表达，可增加 As 病变及氧化脂蛋白(含 apoB)的自身抗体含量。研究发现，人血浆 PLTP 活性与冠心病风险的增加有关^[62]。人 PLTP 过表达可损害体内巨噬细胞至排泄物的胆固醇转运^[63]，因此，PLTP 对巨噬细胞胆固醇转运的作用可能影响 As 的发生发展。

PLTP 在 As 病变处的巨噬细胞中高表达，但是局部巨噬细胞 PLTP 的效应似乎与鼠全身 PLTP 的诱导作用不同，巨噬细胞 PLTP 的缺乏跟 apoE 缺陷鼠、LDLR 缺陷鼠的 As 风险增加相关^[64]。此外，野生型小鼠注入 PLTP 过表达巨噬细胞并不影响其胆固醇转运率^[65]。当然，巨噬细胞 PLTP 抗 As 的效应也可能是归因于增加细胞内维生素 E 的含量，导致氧化应激减少。

3 展 望

胆固醇代谢与 As 的关系错综复杂，越来越多的研究显示，巨噬细胞胆固醇转运是抗 As 的主要途径。临床前的试验也证实，一些针对整个巨噬细胞胆固醇转运中的相关蛋白及基于 HDL 功能的一些治疗药物也具有较好的前景。LXR 和 PPAR 激动剂、肠胆固醇吸收抑制剂也被纳入至改善巨噬细胞胆固醇转运和 As 的治疗策略。上调 apoA-I 水平的因子或 apoA-I 的类似物能够增加巨噬细胞依赖性的胆固醇转运，因此，apoA-I、apoA-I

Milano 或类似肽可能用于治疗或预防心血管疾病。

巨噬细胞 ABCA1、CEH、apoA-I、apoE、肝脏 SR-B I 和 CEH 都是正向调节巨噬细胞胆固醇转运的分子，发挥着抗 As 的效应，因此这些分子均可作为临床治疗 As 的靶点，但它们在人体生理和疾病过程中的确切作用尚需深入研究，许多相关问题有待进一步阐明，比如，SR-B I 几乎表达在所有组织中，其功能应该不仅仅只局限在胆固醇代谢方面，尽管其可以作为抗 As 的一个诱人的靶点，但它在人体内对 HDL 和 LDL 代谢的作用尚需进一步评估。此外，SR-B I 的抑炎作用也能抗 As 的发展，然而在临床试验中抗炎治疗并没有取得预期的效果，如何把 SR-B I 的抑炎作用应用于 As 等心脑血管疾病治疗中，是未来抗 As 治疗的研究方向之一。内源性 apoA-I 表达上调有望成为临床上抗 As 治疗的重要方法，但是对于能上调 apoA-I 转录及调控 HDL 的代谢和功能的调节剂研发还需进一步努力。因此，对 HDL 代谢及其与巨噬细胞胆固醇转运途径蛋白关系的进一步研究可望为抑制和逆转人类 As 病变提供一些新的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Uehara Y, Saku K. High-density lipoprotein and atherosclerosis: roles of lipid transporters. *World J Cardiol*, 2014, **6**(10): 1049–1059
- [2] Bechor S, Zolberg R N, Harari A, *et al.* 9-cis beta-Carotene increased cholesterol efflux to HDL in macrophages. *Nutrients*, 2016, **8**(7): 435
- [3] Chistiakov D A, Bobryshev Y V, Orekhov A N. Macrophage-mediated cholesterol handling in atherosclerosis. *J Cell Mol Med*, 2016, **20**(1): 17–28
- [4] 郭赞婧, 曹 进. ABCA1 和 ABCG1 在胆固醇逆转运中作用的研究进展. *国外医学(医学地理分册)*, 2012, **33**(03): 213–217
Guo Y J, Cao J. *Foreign Medical Sciences (Section of Medgeography)*, 2012, **33**(03): 213–217
- [5] Mo Z C, Ren K, Liu X, *et al.* A high-density lipoprotein-mediated drug delivery system. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, **106** (Pt A): 132–147
- [6] Westerterp M, Murphy A J, Wang M, *et al.* Deficiency of ATP-binding cassette transporters A1 and G1 in macrophages increases inflammation and accelerates atherosclerosis in mice. *Circ Res*, 2013, **112**(11): 1456–1465
- [7] Serfaty-Lacrosniere C, Civeira F, Lanzberg A, *et al.* Homozygous Tangier disease and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 1994, **107**(1): 85–98
- [8] 孙明慧, 马依彤. ABCA1 与早发冠状动脉粥样硬化性心脏病. *中国循证心血管医学杂志*, 2010, **02**(3): 184–186
Sun M H, Ma Y T. *Chinese Journal of Evidence-Based Cardiovascular Medicine*, 2010, **02**(3): 184–186

- [9] Ong D S, Anzinger J J, Leyva F J, *et al.* Extracellular cholesterol-rich microdomains generated by human macrophages and their potential function in reverse cholesterol transport. *J Lipid Res*, 2010, **51**(8): 2303–2313
- [10] Jin X, Freeman S R, Vaisman B, *et al.* ABCA1 contributes to macrophage deposition of extracellular cholesterol. *J Lipid Res*, 2015, **56**(9): 1720–1726
- [11] Mukhamedova N, Escher G, D'Souza W, *et al.* Enhancing apolipoprotein A- I -dependent cholesterol efflux elevates cholesterol export from macrophages *in vivo*. *J Lipid Res*, 2008, **49**(11): 2312–2322
- [12] Zhao Y, Pennings M, Vratsis C L, *et al.* Hypocholesterolemia, foam cell accumulation, but no atherosclerosis in mice lacking ABC-transporter A1 and scavenger receptor B I . *Atherosclerosis*, 2011, **218**(2): 314–322
- [13] Wang M D, Franklin V, Marcel Y L. *In vivo* reverse cholesterol transport from macrophages lacking ABCA1 expression is impaired. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27**(8): 1837–1842
- [14] Vaisman B L, Demosky S J, Stonik J A, *et al.* Endothelial expression of human ABCA1 in mice increases plasma HDL cholesterol and reduces diet-induced atherosclerosis. *J Lipid Res*, 2012, **53**(1): 158–167
- [15] Sun D, Zhang J, Xie J, *et al.* MiR-26 controls LXR-dependent cholesterol efflux by targeting ABCA1 and ARL7. *FEBS Lett*, 2012, **586**(10): 1472–1479
- [16] de Aguiar V T, Tarling E J, Kim T, *et al.* MicroRNA-144 regulates hepatic ATP binding cassette transporter A1 and plasma high-density lipoprotein after activation of the nuclear receptor farnesoid X receptor. *Circ Res*, 2013, **112**(12): 1602–1612
- [17] Mo Z C, Xiao J, Liu X H, *et al.* AOPPs inhibits cholesterol efflux by down-regulating ABCA1 expression in a JAK/STAT signaling pathway-dependent manner. *J Atheroscler Thromb*, 2011, **18**(9): 796–807
- [18] Demina E P, Miroshnikova V V, Schwarzman A L. Role of the ABC transporters A1 and G1, key reverse cholesterol transport proteins, in atherosclerosis. *Mol Biol (Mosk)*, 2016, **50**(2): 223–230
- [19] Kennedy M A, Barrera G C, Nakamura K, *et al.* ABCG1 has a critical role in mediating cholesterol efflux to HDL and preventing cellular lipid accumulation. *Cell Metab*, 2005, **1**(2): 121–131
- [20] Terasaka N, Wang N, Yvan-Charvet L, *et al.* High-density lipoprotein protects macrophages from oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis by promoting efflux of 7-ketocholesterol *via* ABCG1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(38): 15093–15098
- [21] Ji A, Wroblewski J M, Cai L, *et al.* Nascent HDL formation in hepatocytes and role of ABCA1, ABCG1, and SR-B I . *J Lipid Res*, 2012, **53**(3): 446–455
- [22] Wang X, Collins H L, Ranalletta M, *et al.* Macrophage ABCA1 and ABCG1, but not SR-B I , promote macrophage reverse cholesterol transport *in vivo*. *J Clin Invest*, 2007, **117**(8): 2216–2224
- [23] Out R, Jessup W, Le Goff W, *et al.* Coexistence of foam cells and hypocholesterolemia in mice lacking the ABC transporters A1 and G1. *Circ Res*, 2008, **102**(1): 113–120
- [24] 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
- [25] Ranalletta M, Wang N, Han S, *et al.* Decreased atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor knockout mice transplanted with Abcg1⁺ bone marrow. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26**(10): 2308–2315
- [26] Mo Z C, Xiao J, Tang S L, *et al.* Advanced oxidation protein products exacerbates lipid accumulation and atherosclerosis through downregulation of ATP-binding cassette transporter A1 and G1 expression in apolipoprotein E knockout mice. *Circ J*, 2014, **78**(11): 2760–2770
- [27] Helal O, Berrougui H, Loued S, *et al.* Extra-virgin olive oil consumption improves the capacity of HDL to mediate cholesterol efflux and increases ABCA1 and ABCG1 expression in human macrophages. *Br J Nutr*, 2013, **109**(10): 1844–1855
- [28] 莫中成, 尹小波, 易光辉. B 类 I 型清道夫受体在动脉粥样硬化中的作用. *心血管病学进展*, 2006, **27**(05): 646–648
- Mo Z C, Yin X B, Yi G H. *Advances in Cardiovascular Diseases*, 2006, **27**(05): 646–648
- [29] 莫中成, 陈欣, 谢远杰, 等. 高密度脂蛋白对 THP-1 巨噬细胞 B 类 I 型清道夫受体的表达及胆固醇流出的影响. *实用医学杂志*, 2010, **26**(05): 726–728
- Mo Z C, Chen X, Xie Y J, *et al.* *The Journal of Practical Medicine*, 2010, **26**(05): 726–728
- [30] Khovidhunkit W. A genetic variant of the scavenger receptor BI in humans. *N Engl J Med*, 2011, **364**(14): 1375–1376, 1376
- [31] Ji Y, Jian B, Wang N, *et al.* Scavenger receptor B I promotes high density lipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux. *J Biol Chem*, 1997, **272**(34): 20982–20985
- [32] Niesor E J. Will lipidation of ApoA1 through interaction with ABCA1 at the intestinal level affect the protective functions of HDL? *Biology (Basel)*, 2015, **4**(1): 17–38
- [33] 朱明燕, 王燕, 王毓, 等. 血清淀粉样蛋白 A 经 p38-MAPK/SR-B I 途径促进巨噬细胞炎症反应. *生理学报*, 2016, **68**(03): 293–300
- Zhu M Y, Wang Y, Wang Y, *et al.* *Acta Physiologica Sinica*, 2016, **68**(03): 293–300
- [34] Febbraio M, Podrez E A, Smith J D, *et al.* Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice. *J Clin Invest*, 2000, **105**(8): 1049–1056
- [35] Hames K C, Vella A, Kemp B J, *et al.* Free fatty acid uptake in humans with CD36 deficiency. *Diabetes*, 2014, **63**(11): 3606–3614
- [36] Handberg A, Hojlund K, Gastaldelli A, *et al.* Plasma sCD36 is associated with markers of atherosclerosis, insulin resistance and fatty liver in a nondiabetic healthy population. *J Intern Med*, 2012, **271**(3): 294–304
- [37] Piechota M, Banaszewska A, Dudziak J, *et al.* Highly upregulated expression of CD36 and MSR1 in circulating monocytes of patients

- with acute coronary syndromes. *Protein J*, 2012, **31**(6): 511–518
- [38] 莫中成, 易光辉, 陈欣, 等. 氧化低密度脂蛋白对 THP-1 巨噬细胞 CD36 表达的影响. *医学研究生学报*, 2006, **19**(1): 6–9
Mo Z C, Yi G H, Chen X, *et al.* *Journal of Medical Postgraduates*, 2006, **19**(1): 6–9
- [39] Masuda D, Hirano K, Oku H, *et al.* Chylomicron remnants are increased in the postprandial state in CD36 deficiency. *J Lipid Res*, 2009, **50**(5): 999–1011
- [40] Voloshyna I, Hai O, Littlefield M J, *et al.* Resveratrol mediates anti-atherogenic effects on cholesterol flux in human macrophages and endothelium *via* PPARgamma and adenosine. *Eur J Pharmacol*, 2013, **698**(1–3): 299–309
- [41] Guy E, Kuchibhotla S, Silverstein R, *et al.* Continued inhibition of atherosclerotic lesion development in long term Western diet fed CD36⁰/apoE⁰ mice. *Atherosclerosis*, 2007, **192**(1): 123–130
- [42] Febbraio M, Guy E, Silverstein R L. Stem cell transplantation reveals that absence of macrophage CD36 is protective against atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (12): 2333–2338
- [43] Geloën A, Helin L, Geeraert B, *et al.* CD36 inhibitors reduce postprandial hypertriglyceridemia and protect against diabetic dyslipidemia and atherosclerosis. *PLoS One*, 2012, **7**(5): e37633
- [44] Bujold K, Mellal K, Zoccal K F, *et al.* EP 80317, a CD36 selective ligand, promotes reverse cholesterol transport in apolipoprotein E-deficient mice. *Atherosclerosis*, 2013, **229**(2): 408–414
- [45] Love-Gregory L, Kraja A T, Allum F, *et al.* Higher chylomicron remnants and LDL particle numbers associate with CD36 SNPs and DNA methylation sites that reduce CD36. *J Lipid Res*, 2016, **57**(12): 2176–2184
- [46] Moore K J, Kunjathoor V V, Koehn S L, *et al.* Loss of receptor-mediated lipid uptake *via* scavenger receptor A or CD36 pathways does not ameliorate atherosclerosis in hyperlipidemic mice. *J Clin Invest*, 2005, **115**(8): 2192–2201
- [47] Yuasa-Kawase M, Masuda D, Yamashita T, *et al.* Patients with CD36 deficiency are associated with enhanced atherosclerotic cardiovascular diseases. *J Atheroscler Thromb*, 2012, **19**(3): 263–275
- [48] 莫中成, 欧含笑, 易光辉. 载脂蛋白 A- I 在高密度脂蛋白生物合成中的作用研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2015, **42**(09): 788–795
Mo Z C, Ou H X, Yi G H. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2015, **42**(09): 788–795
- [49] Gilham D, Wasiak S, Tsujikawa L M, *et al.* RVX-208, a BET-inhibitor for treating atherosclerotic cardiovascular disease, raises ApoA- I /HDL and represses pathways that contribute to cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 2016, **247**: 48–57
- [50] Alexander E T, Vedhachalam C, Sankaranarayanan S, *et al.* Influence of apolipoprotein A- I domain structure on macrophage reverse cholesterol transport in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, **31**(2): 320–327
- [51] Lee-Rueckert M, Kovanen P T. Mast cell proteases: physiological tools to study functional significance of high density lipoproteins in the initiation of reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, 2006, **189**(1): 8–18
- [52] Chapman M J, Le Goff W, Guerin M, *et al.* Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *Eur Heart J*, 2010, **31**(2): 149–164
- [53] Siebel A L, Natoli A K, Yap F Y, *et al.* Effects of high-density lipoprotein elevation with cholesteryl ester transfer protein inhibition on insulin secretion. *Circ Res*, 2013, **113**(2): 167–175
- [54] Levinson S S, Wagner S G. Implications of reverse cholesterol transport: recent studies. *Clin Chim Acta*, 2015, **439**: 154–161
- [55] Briand F, Thieblemont Q, Muzotte E, *et al.* Upregulating reverse cholesterol transport with cholesteryl ester transfer protein inhibition requires combination with the LDL-lowering drug berberine in dyslipidemic hamsters. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, **33**(1): 13–23
- [56] Van Eck M, Ye D, Hildebrand R B, *et al.* Important role for bone marrow-derived cholesteryl ester transfer protein in lipoprotein cholesterol redistribution and atherosclerotic lesion development in LDL receptor knockout mice. *Circ Res*, 2007, **100**(5): 678–685
- [57] Zhao B, Song J, Chow W N, *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): 2983–2992
- [58] 周云, 沃兴德. 巨噬源性泡沫细胞形成过程中的机理研究及其进展. *生命科学*, 2010, **22**(06): 579–582
Zhou Y, Wu X D. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2010, **22**(06): 579–582
- [59] Tanigawa H, Billheimer J T, Tohyama J, *et al.* Lecithin: cholesterol acyltransferase expression has minimal effects on macrophage reverse cholesterol transport *in vivo*. *Circulation*, 2009, **120** (2): 160–169
- [60] Calabresi L, Baldassarre D, Castelnovo S, *et al.* Functional lecithin: cholesterol acyltransferase is not required for efficient atheroprotection in humans. *Circulation*, 2009, **120**(7): 628–635
- [61] Si Y, Zhang Y, Chen X, *et al.* Phospholipid transfer protein deficiency in mice impairs macrophage reverse cholesterol transport *in vivo*. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2016, **241**(13): 1466–1472
- [62] Schlitt A, Blankenberg S, Bickel C, *et al.* PLTP activity is a risk factor for subsequent cardiovascular events in CAD patients under statin therapy: the AtheroGene study. *J Lipid Res*, 2009, **50** (4): 723–729
- [63] Samyn H, Moerland M, van Gent T, *et al.* Elevation of systemic PLTP, but not macrophage-PLTP, impairs macrophage reverse cholesterol transport in transgenic mice. *Atherosclerosis*, 2009, **204**(2): 429–434
- [64] Valenta D T, Bulgrien J J, Bonnet D J, *et al.* Macrophage PLTP is atheroprotective in LDLr-deficient mice with systemic PLTP deficiency. *J Lipid Res*, 2008, **49**(1): 24–32

Advances of Proteins Mediated Cholesterol Transport in Macrophages*

OU Han-Xiao¹⁾, GUO Bing-Bing¹⁾, TIAN Qi-Xian^{1,2)}, JIANG Xiang^{1,2)}, TANG Chao-Ke³⁾, MO Zhong-Cheng^{1)**}

¹⁾ Department of Histology and Embryology, University of South China, Hengyang 421001, China;

²⁾ 2015 Class of Excellent Doctor, University of South China, Hengyang 421001, China;

³⁾ Institute of Cardiovascular Disease, Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province,
University of South China, Hengyang City 421001, China)

Abstract The formation of foam cells in atherosclerotic plaques is closely related to the cholesterol transport of macrophages, which is an important process in reverse cholesterol transport. The cholesterol transport is key procedure for eliminating excess cholesterol from peripheral tissue, maintaining cholesterol homeostasis and delaying the development of atherosclerosis. The cholesterol transport of macrophages is mediated by multiple proteins, such as ATP binding cassette transporter A1/G1, apolipoprotein A- I , cholesteryl ester transfer protein and lecithin: cholesterol acyltransferase. This review focuses on the current views on cholesterol transport process in macrophages and various functions of transporter proteins, in order to provide the new therapeutic ways for atherosclerosis-related diseases.

Key words cholesterol transport, macrophages, atherosclerosis

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0282

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81670401), The Natural Science Foundation of Hunan Province (2016JJ6133), College Students' Research Learning and Innovative Experiment Plan in University of South China (2016NH053XJXZ) and the Zhengxiang Scholar (Xiangyang Tang) Program in University of South China.

**Corresponding author.

Tel: 86-734-8578033, E-mail: zhchmo@hotmail.com

Received: December 26, 2016 Accepted: January 17, 2017