

# CD36抗原与动脉粥样硬化

李全忠 综述      杨永宗 审校

(衡阳医学院分子生物学研究中心, 衡阳 421001)

主题词      CD36抗原; 粘附分子; 清道夫受体; 动脉粥样硬化

摘要      CD36抗原是一种细胞膜糖蛋白;它既是粘附分子,又是清道夫受体,参与包括动脉粥样硬化在内的许多生理和病理过程。本文介绍 CD36抗原的生物学特性及其在动脉粥样硬化发生中的作用。

CD36抗原是一种能被 OKM-5和 OKM-8单克隆抗体所识别的白细胞分化抗原,为细胞膜糖蛋白,分布于许多组织、细胞,存在多种配体,具有多种生物学功能,参与包括炎症、止血、免疫清除、脂质代谢和动脉粥样硬化在内的许多生理和病理过程。本文就 CD36抗原的生物学特性及其在动脉粥样硬化中的作用作一综述。

## 1 CD36抗原的生物学特性

CD36抗原是一种细胞表面单链糖蛋白,包括胞质区、跨膜区和细胞外区。在不同的细胞类型其相对分子质量从 $78 \times 10^3 \sim 88 \times 10^3$ 不等,同一物种的 CD36抗原氨基酸顺序基本相同,其分子大小不同可能是一些位点特异性糖化所致,但不能排除是一类密切同源的相关蛋白。氨基酸顺序测定表明该蛋白有两个连续的疏水氨基酸区,分别在近 CD36抗原的氨基端和羧基端。这两个疏水末端固定于胞膜,将 CD36抗原的单链支向胞外。CD36抗原的胞外区高度糖基化,羧基末端侧富含脯氨酸和半胱氨酸,各有2个半胱氨酸在氨基和羧基末端胞内段,但氨基末端与羧基末端并无二硫键连接。在羧基末端的 CXCX5K 序列可能与受体激酶介导的信号传递有关<sup>[1]</sup>。CD36抗原能与多种配体结合,可能与存在两个基本结构有关,一是带电的胶原结构,一是免疫决定区<sup>[2]</sup>。CD36抗原

通过这些结构与这些配体结合后,或者被内吞,或保留在细胞外介导细胞粘附或脂质转运。

CD36抗原属于一个较小的高度保守的基因家族,基因定位于第七号染色体的 q11.2带。有15个外显子,长达32 kb。CD36抗原唯一的转录起点位于 ATG 翻译起始位点位于上第289核苷酸,这与在转录起始位点上游28核苷酸处存在 TATA 盒一致。共同增强子序列 TATA 和 CAAT 盒,分别位于-28位和-121位核苷酸<sup>[3]</sup>。生物化学分析表明在-103位存在转录因子多瘤病毒增强子结合蛋白2家族的一个结合位点,除去这个结合位点会显著降低 CD36抗原启动子的活性<sup>[4]</sup>。

缺乏 CD36抗原的个体表型可以正常。目前已发现两型, I 型表现为血小板和单核细胞均缺乏 CD36抗原,而 II 型表现为血小板缺乏 CD36抗原的表达而单核细胞不缺乏。从 II 型个体序列分析显示 CD36抗原 cDNA 473位 C→T 点突变导致 CD36抗原第90位的脯氨酸代替了丝氨酸,从而使 CD36抗原前体较早降解。II 型个体绝大部分是这种突变的杂合子,而 I 型个体是这种突变的纯合子<sup>[5]</sup>。

CD36抗原广泛存在于多种不同类的细胞,如单核细胞/巨噬细胞,血小板、微血管内皮细胞、脂肪细胞、哺乳动物表皮细胞和成红细胞。CD36抗原可与许多配体相结合,如血栓

反应蛋白(thrombospondin, TSP)、I型和IV型胶原、长链脂肪酸、疟原虫感染的红细胞、多聚阴离子磷脂、氧化的和乙酰化的低密度脂蛋白、凋亡细胞及衰老的中性粒细胞等。体内CD36抗原的表达调节与多种可溶性因子和细胞粘附分子的相互作用有关。CD36抗原在与肿瘤坏死因子激活的内皮细胞相互作用后表达明显增加,单核细胞向巨噬细胞分化时CD36抗原的表达也增加。巨噬细胞集落刺激因子和白细胞介素-4也可使单核细胞表达CD36抗原增加, $\gamma$ -干扰素和脂多糖能下调CD36抗原的表达。

## 2 CD36抗原在动脉粥样硬化中的作用

CD36抗原是血小板的胶原受体,介导血小板与与胶原结合<sup>[6]</sup>,诱导血小板聚集和分泌。CD36抗原也是血小板TSP的受体,CD36抗原-TSP的相互作用与血小板的聚集和血小板与单核细胞的粘附有关<sup>[7]</sup>。CD36抗原对TSP和胶原的选择性可能与CD36抗原的92位苏氨酸转录后磷酸化和去磷酸化有关。在血管内皮损伤的早期CD36抗原即可启动单核细胞与内皮细胞的粘附,促进单核细胞迁移和在内皮下聚集,介导单核细胞与血小板及细胞外基质的相互作用,启动凝血系统。

抗CD36抗原单抗与人类单核细胞共育后可刺激单核细胞发生呼吸爆发,产生活性氧,并可分泌细胞白介素细胞-1和肿瘤坏死因子等细胞因子;与血小板共同孵育后也可导致血小板激活,引起血小板变形、聚集和释放ATP。但这些作用能被钙拮抗剂、蛋白激酶K和鸟苷酸结合蛋白抑制剂所抑制,这说明CD36抗原能参与跨膜信号的传导,从而激活单核细胞和血小板<sup>[8]</sup>。用CD36抗原免疫共沉淀未激活的血小板,发现CD36抗原能与src基因家族的蛋白酪氨酸激酶中的pp60fyn、pp54lyn和pp62yes紧密结合,并可发生自动磷酸化,而其他血小板主要膜蛋白无此作用,这进一步说明CD36抗原能参与信号传导<sup>[9]</sup>。有资料提示配体与CD36抗原结合后诱导CD36抗原双体化,通过跨膜磷酸化机制调节Fyn、Lyn和Yes的活性。

培养的单核细胞在向巨噬细胞分化的早期即出现CD36抗原mRNA明显升高,在培养的第3~4天达到高峰,至第7~8天逐渐下降到原来的水平。用巨噬细胞集落刺激因子处理分化的巨噬细胞可引起CD36抗原表达的持续升高,并能显著促进泡沫细胞的形成。以上作用能被抗CD36抗原抗体所阻断,说明CD36抗原与单核细胞向巨噬细胞分化及单核细胞泡沫化有关<sup>[10]</sup>。Endemann等<sup>[11]</sup>于1993年在鼠巨噬细胞上克隆成功了一种能与ox-LDL结合的蛋白质的cDNA,测序结果表明该蛋白质为CD36抗原。他们将CD36抗原基因转染到293细胞,发现转染后的细胞能表达CD36抗原,且对ox-LDL具有高度的亲和性(KD=1~1.5 mg/L),这一结合过程可被未标记的ox-LDL抑制,但不能被LDL和AcLDL阻断,提示CD36抗原对ox-LDL的结合是特异性的。CD36抗原转染细胞对ox-LDL的降解率大约为1.5,这与转染经典的清道夫受体的巨噬细胞或293细胞对ox-LDL的降解率相同,抗CD36抗原抗体能阻断50%的ox-LDL与血小板和人

类单核样THP细胞株的结合。他们还发现,氧化仅4h的ox-LDL就能被表达CD36抗原的293细胞所识别和摄取,比其他清道夫受体识别的要早,提示CD36抗原可能在泡沫细胞形成的早期就发挥作用。Nicholson等<sup>[12]</sup>证明抗CD36抗原单克隆抗体能阻断ox-LDL与人类来源的单核细胞50%的特异性结合和26%的特异性降解,用人CD36抗原cDNA转染鼠的NIH-3T3细胞株也证明CD36抗原能特异性识别、结合、内吞和降解ox-LDL。他们还证明这种特异性是因为CD36抗原识别ox-LDL上的脂质成分而不是载脂蛋白部分,而经典的清道夫受体识别的是ox-LDL的载脂蛋白部分。Puentes等<sup>[13]</sup>用人和鼠CD36抗原的嵌合体确定CD36抗原的155~183位氨基酸是与ox-LDL的结合位点,它与184~204位氨基酸组成的疏水性氨基酸口袋紧邻,这个疏水性环境有利于与ox-LDL中脂质成分的结合。目前已公认CD36抗原为一种清道夫受体,可与ox-LDL等许多配体高效结合,但不受AcLDL抑制,且结构与经典的清道夫受体不同,故不属于经典的清道夫受体。它和清道夫受体BI(Scavenger receptor BI,SR-BI)同属B类清道夫受体。

Nozaki等<sup>[14]</sup>发现CD36抗原缺乏的家族中很少有患动脉粥样硬化的,进一步研究发现,他们的单核细胞与ox-LDL的最大结合比正常人的单核细胞低40%,单克隆抗体OKM-5能使正常人的单核细胞对ox-LDL的摄取减少53%,但对CD36抗原缺乏的单核细胞无影响。作者还发现,与ox-LDL孵育24h后,CD36抗原缺乏的单核细胞内胆固醇酯堆积比正常单核细胞减少了40%。Pietsch等<sup>[15,16]</sup>证明HMG-CoA还原酶抑制剂洛伐他汀能在转录水平抑制CD36抗原mRNA的表达,却能上调LDL受体mRNA的表达。他们还证明n-3多不饱和脂肪酸二十五碳五烯酸和二十二碳六烯酸对人类单核细胞CD36抗原表达有抑制作用,表现在CD36抗原mRNA和蛋白水平表达的明显减少,而洛伐他汀和n-3多不饱和脂肪酸是常用的防治动脉粥样硬化的有效药物。这些资料提示CD36抗原缺乏或抑制可能是抗动脉粥样硬化的。

最近有人证实CD36抗原通过两套互相协调的受体及细胞膜受体和核受体发挥其生物学作用,即ox-LDL首先作用于单核细胞膜上的CD36抗原受体,被结合内吞加工切除部分酯键释放出其中的9-羟基十八碳二烯酸和13-羟基十八碳二烯酸,它们能激活核内受体过氧化物酶体增殖物活化受体- $\gamma$ (peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$ ,PPAR- $\gamma$ ),后者是核内激素受体超家族中的一员,激活的核内受体PPAR- $\gamma$ 可与9-顺式维甲酸受体形成一个异源二聚体,作为脂代谢有关的基因如脂蛋白脂酶基因等的转录调节因子。现发现这个异源二聚体也能直接作用于CD36抗原受体的启动子,调节CD36抗原mRNA的转录,促进单核细胞的分化和对ox-LDL的摄取。他们还证明PPAR- $\gamma$ 在动脉粥样硬化病变中的泡沫细胞中有较高表达,这进一步说明PPAR- $\gamma$ 与泡沫细胞的形成有密切的关系<sup>[17,18]</sup>。

氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)通过CD36抗原受体与单核细胞结合后,还可产生一些细胞因子,作用于单核细胞及血管壁细胞,促进动脉粥样硬化病变的形成。

### 3 CD36抗原在动脉粥样硬化中作用的问题和展望

尽管以上资料提示 CD36 抗原参与泡沫细胞形成, 可能有致的作用, 但最近文献 [19] 报道 CD36 抗原除能与 ox-LDL 结合外, 还能与 HDL、LDL 和 VLDL 高效结合, 与其有 30% 同源性的 SR-BI 也能与 HDL 等高效结合 [20], 说明 B 类清道夫受体可能还与脂质的正常代谢有关, CD36 抗原与动脉粥样硬化的关系有待进一步研究。CD36 抗原基因敲除鼠的构建将会加深我们对其功能的认识。对 CD36 抗原功能的调控, 可能成为防治动脉粥样硬化的新靶点。

#### 参考文献

- Oquendo P, Hundt E, Lawler J, et al. CD36 directly mediates cytoadherence of plasmodium falciparum parasitized erythrocytes. *Cell*, 1989, **58**: 95-101
- Yamada Y, Doi T, Hamakubo T, et al. Scavenger receptor family proteins: roles for atherosclerosis, host defence and disorders of the central nervous system. *Cell Mol Life Sci*, 1998, **54**: 628-640
- Armesilla AL, Vega MA. Structural organization of the gene for human CD36 glycoprotein. *J Biol Chem*, 1994, **269**: 18 985-991
- Kashiwagi H, Tomiyama Y, Honda S, et al. Molecular basis of CD36 deficiency - Evidence that a 478C→T substitution (proline90→serine) in CD36 cDNA accounts for CD36 deficiency. *J Clin Invest*, 1995, **95**: 1 040-046
- Tandon NN, Kralisz U, Jamieson GA. Identification of glycoprotein IV (CD36) as a primary receptor for platelet-collagen adhesion. *J Biol Chem*, 1989, **264**: 7 576-583
- Silverstein RL, Asch AS, Nachman RL. Glycoprotein IV mediates thrombospondin-dependent platelet-monocyte and platelet-U937 cell adhesion. *J Clin Invest*, 1989, **84**: 546-552
- Leung LLK, Li WX, McGregor JI et al. CD36 peptides enhance or inhibit CD36-thrombospondin binding. *J Biol Chem*, 1992, **267**: 18 244-250
- Ockenhouse CF, Magowan C, Chulay JD. Activation of monocytes and platelets by monoclonal antibodies or malaria-infected erythrocytes binding to the CD36 surface receptor in vitro. *J Clin Invest*, 1989, **84**: 468-475
- Huang M-M, Bolen JB, Barnwell JW, et al. Membrane glycoprotein IV (CD36) is physically associated with the Fyn, Lyn and Yes protein-tyrosine kinases in human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 7 844-848
- Huh HY, Pearce SF, Yesner LM, et al. Regulated expression of CD36 during monocyte-to-macrophage differentiation: Potential role of CD36 in foam cell formation. *Blood*, 1996, **87**: 2 020-028
- Endemann G, Stanton LW, Madden KS, et al. CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 11 811-816
- Nicholson AC, Frieda S, Pearce A, et al. Oxidized LDL binds to CD36 on human monocyte-derived macrophages and transfected cell lines. Evidence implicating the lipid moiety of the lipoprotein as the binding site. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995, **15**: 269-275
- Puente MD, Daviet L, Ninio E, et al. Identification on human CD36 of a domain (155-183) implicated in binding oxidized low-density lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16**: 1 033-039
- Nozaki S, Kashiwagi H, Yamashita S, et al. Reduced uptake of oxidized low density lipoproteins in monocyte-derived macrophages from CD36-deficient subjects. *J Clin Invest*, 1995, **96**: 1 859-865
- Pietsch A, Erl W, Lorenz RL. Lovastatin reduces expression of the combined adhesion and scavenger receptor CD36 in human monocytic cells. *Biochem Pharmacol*, 1996, **52**: 433-439
- Pietsch A, Weber C, Goretzki M, et al. N-3 but not N-6 fatty acids reduce the expression of the combined adhesion and scavenger receptor CD36 in human monocytic cells. *Cell Biochem Funct*, 1995, **13**: 211-216
- Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JGA, et al. PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell*, 1998, **93**: 241-252
- Nagy L, Tontonoz P, Alvarez JGA, et al. Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPARgamma. *Cell*, 1998, **93**: 229-240
- Calvo D, Gomez-Coronado D, Suarez Y, et al. Human CD36 is a high affinity receptor for the native lipoproteins HDL, LDL, and VLDL. *J Lipid Res*, 1998, **39**: 777-787
- Acton S, Rigotti A, et al. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science*, 1996, **271**: 518-520

(此文1998-10-21收到, 1999-03-02修回)

(此文编辑 胡必利)