

脂蛋白对巨噬细胞的作用研究进展

张春妮, 汪俊军, 庄一义, 刘小传, 强宏娟, 陈大宁

(中国人民解放军南京军区南京总医院全军医学检验中心, 江苏省南京市 210002)

[关键词] 生物化学; 脂蛋白对巨噬细胞的作用; 综述; 脂蛋白; 巨噬细胞

[摘要] 脂蛋白的种类、组成、氧化修饰以及基因突变等影响脂蛋白与巨噬细胞的相互作用。载脂蛋白 E 基因敲除鼠血浆极低密度和中间密度脂蛋白组分通过一种特异而不依赖载脂蛋白 E 途径诱导巨噬细胞胆固醇酯蓄积, 是体内主要致动脉粥样硬化脂蛋白。低密度脂蛋白受体基因敲除鼠血浆极低密度和中间密度脂蛋白组分也显著诱导巨噬细胞胆固醇酯蓄积。人载脂蛋白 A iv 第 235 位谷氨酸残基缺失明显降低其促巨噬细胞胆固醇外流能力。人极低密度、低密度、高密度脂蛋白以及脂蛋白(a)等氧化后, 不仅诱导巨噬细胞胆固醇酯蓄积, 也具有显著促巨噬细胞增殖效应。

[中图分类号] Q5

[文献标识码] A

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心脑血管疾病的主要病理基础, 而巨噬细胞衍化的泡沫细胞则是 As 病变的最早细胞成分。已知脂蛋白通过诱导巨噬细胞胆固醇酯蓄积, 转巨噬细胞为泡沫细胞, 在 As 的发生、发展中起关键作用, 而脂蛋白的种类、组成、氧化修饰以及基因突变等直接影响脂蛋白与巨噬细胞的相互作用。因此, 探讨脂蛋白对巨噬细胞的作用及作用机制, 是阐明 As 形成机制及防治 As 的关键。我们利用两种最理想的基因敲除鼠模型, 探讨基因敲除鼠血浆脂蛋白与巨噬细胞的相互作用, 同时分析脂蛋白基因突变以及氧化修饰对巨噬细胞作用的影响。以下是我们近年来的相关研究综述。

1 基因敲除鼠脂蛋白对巨噬细胞的作用

载脂蛋白 E (apolipoprotein E, apo E) 基因敲除鼠可自发 As, 低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR) 基因敲除鼠也可通过高脂膳食诱发 As, 但这两种鼠致 As 的关键脂蛋白及作用机制尚不明确。为探讨这一问题, 我们研究了这两种基因敲除鼠血浆脂蛋白对巨噬细胞的作用, 以期揭开 As 形成的病因和机制, 进一步阐明因同样基因缺陷而导致的人家族性高脂血症和高胆固醇血症的发病机制。

1.1 载脂蛋白 E 基因敲除鼠脂蛋白

鉴于载脂蛋白 E 基因敲除鼠血浆极低密度—中间密度脂蛋白 (very low density-intermediate density lipoprotein, VLDL-IDL) 明显高于非基因敲除鼠, 在血浆中滞留时间长, 更有机

会被氧化和被巨噬细胞摄取, 因此我们以 VLDL-IDL 组分作为主要研究对象。对血浆 VLDL-IDL ($d < 0.019$) 分析显示, 该组分在体内未发生氧化修饰, 属天然脂蛋白, 但有质的变化, 载脂蛋白 B48 比例明显增高。随后观察了 VLDL-IDL 对 J774 巨噬细胞株的作用, 发现 VLDL-IDL 可显著增加 J774 巨噬细胞胆固醇酯的含量^[1]。为反映体内真实情况, 采用更准确、更灵敏的同位素标记方法分析 VLDL-IDL 对载脂蛋白 E 基因敲除鼠腹腔巨噬细胞的作用, 发现 VLDL-IDL 非常显著地诱导鼠腹腔巨噬细胞胆固醇酯的蓄积 (图 1), 并用组织化学染色实验证实了这一结果 (图 2)^[2]。

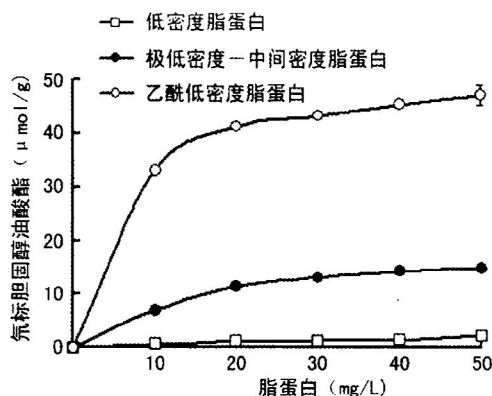


图 1. 载脂蛋白 E 基因敲除鼠极低密度—中间密度脂蛋白对其腹腔巨噬细胞胆固醇酯蓄积的影响

我们又进一步探讨了 VLDL-IDL 与载脂蛋白 E 基因敲除鼠腹腔巨噬细胞的相互作用机制, 通过同位素标记的细胞结合实验、细胞缩和实验及细胞内降解实验发现巨噬细胞表面存在可介导 VLDL-IDL 摄取和降解的高亲和结合位点。该实验揭示载脂蛋白 E 基因敲除鼠血浆非修饰 VLDL-IDL 组分在体内以一种特异而不依赖载脂蛋白 E 途径与巨噬细胞相互作用, 转巨噬细胞为泡沫细胞, 是载脂蛋白 E 基因敲除鼠体内致 As 脂蛋白^[2]。

[收稿日期] 2004-02-20 [修回日期] 2004-08-27

[基金项目] 中国人民解放军总后卫生部留学回国人员科研启动基金(98H005)

[作者简介] 张春妮, 博士, 副主任技师, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化的关系研究, 在国内外发表有关研究论文 40 多篇, E-mail 为 zchunni@public1.ptt.js.cn。汪俊军, 硕士, 副主任技师, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化的关系研究, 在国内外发表有关研究论文 60 多篇。庄一义, 主任医师, 主要从事脂蛋白与动脉粥样硬化的关系研究, 在国内外发表有关研究论文 60 多篇。

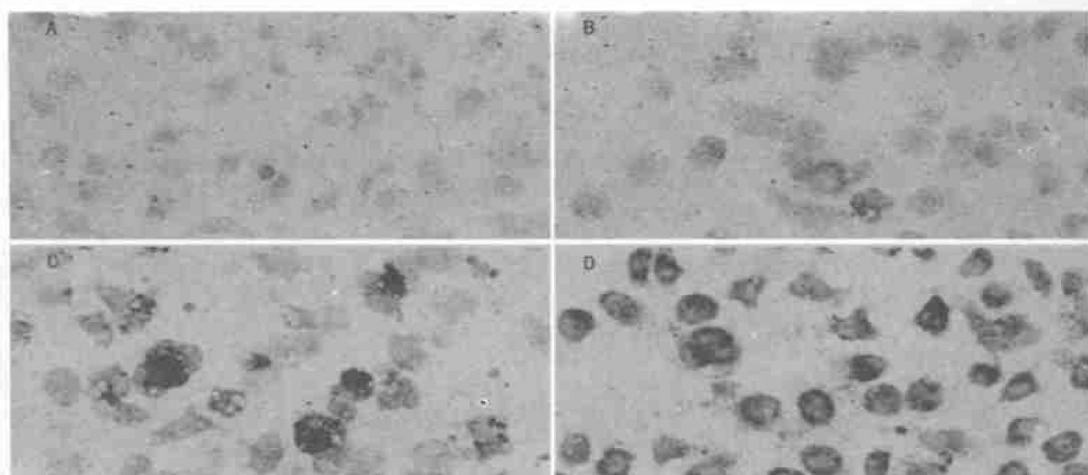


图2. 载脂蛋白 E 基因敲除鼠极低密度—中间密度脂蛋白诱导巨噬细胞胆固醇酯蓄积 A 为培养基, B 为人低密度脂蛋白, C 为极低密度—中间密度脂蛋白, D 为乙酰—低密度脂蛋白。

1.2 低密度脂蛋白受体基因敲除鼠脂蛋白

由于与载脂蛋白 E 基因敲除鼠具有相似的血脂特点, 同样以 VLDL-IDL 组作为主要研究对象。其脂质成分分析显示富含载脂蛋白 B48。随后观察了 VLDL-IDL 对 J774 巨噬细胞的作用, 发现 VLDL-IDL 可被巨噬细胞摄取, 导致细胞胆固醇酯大量蓄积, 提示 VLDL-IDL 可能担当体内致 As 脂蛋白 (表 1)^[3]。

表 1. 低密度脂蛋白受体基因敲除鼠极低密度—中间密度脂蛋白诱导 J774 巨噬细胞胆固醇酯蓄积 (mmol/g)

脂蛋白 (mg/L)	游离胆固醇	胆固醇酯
空白对照	77.56 ± 2.04	8.16 ± 6.12
人低密度脂蛋白	81.63 ± 4.08	8.16 ± 8.16
乙酰—低密度脂蛋白	106.12 ± 4.08	142.86 ± 16.36
极低密度—中间密度脂蛋白	69.39 ± 6.12	89.80 ± 1.25

2 基因突变脂蛋白对巨噬细胞的作用

脂蛋白基因突变与 As 性疾病的关系日渐受到重视。作为高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 的关键载脂蛋白, 载脂蛋白 A iv 基因突变的研究更是受到人们的关注。尽管已发现上百种天然载脂蛋白 A iv 变异体, 但极少能明显影响其主要抗 As 功能——促细胞胆固醇外流能力。我们利用分子重组、同位素标记、细胞培养等技术发现, 一种新的天然存在的载脂蛋白 A iv 变异体 (第 235 位谷氨酸残基缺失) 促小鼠腹腔巨噬细胞胆固醇外流能力仅为正常载脂蛋白 A iv 的

一半 (表 2)^[4]。揭示 C 末端第 235 位谷氨酸残基对载脂蛋白 A iv 的促细胞胆固醇外流能力起关键作用。

表 2. 载脂蛋白 A iv 原变异体促使巨噬细胞胆固醇外流能力降低

脂蛋白 (mg/L)	释放到培养基中的 氟标胆固醇 (dpm/g)
空白对照	0.034 ± 0.005
载脂蛋白 A iv 原	0.126 ± 0.008
载脂蛋白 A iv 原变异体	0.059 ± 0.003
载脂蛋白 A iv	0.210 ± 0.007

3 人氧化型脂蛋白对巨噬细胞的作用

国外有文献报道, LDL 氧化后可通过诱导巨噬细胞增殖加速 As 发展。人体内不仅含有 LDL, 尚含有其他多种脂蛋白, 这些脂蛋白氧化后是否有与氧化 LDL 相似的效应未有相关报道。本研究采用细胞计数、组织化学分析、MTT 渗入实验和 ³H-胸腺嘧啶脱氧核苷掺入实验等观察比较几种体内常见脂蛋白氧化修饰后对小鼠巨噬细胞胆固醇酯蓄积以及 DNA 合成的影响。发现 VLDL 和脂蛋白 (a) 与 LDL 相似, 氧化后不仅显著增加巨噬细胞胆固醇酯含量, 转巨噬细胞为泡沫细胞, 而且在一定浓度范围内与细胞增殖率呈明显正相关, 氧化 VLDL 效应甚至强于氧化 LDL^[5,6]。作为体内主要抗 As 脂蛋白的 HDL 氧化后也与上述致 As 脂蛋白相似, 不仅诱导巨噬细胞转为泡沫细胞, 同时促巨噬细胞增殖, 表现致 As (图 3)^[7]。

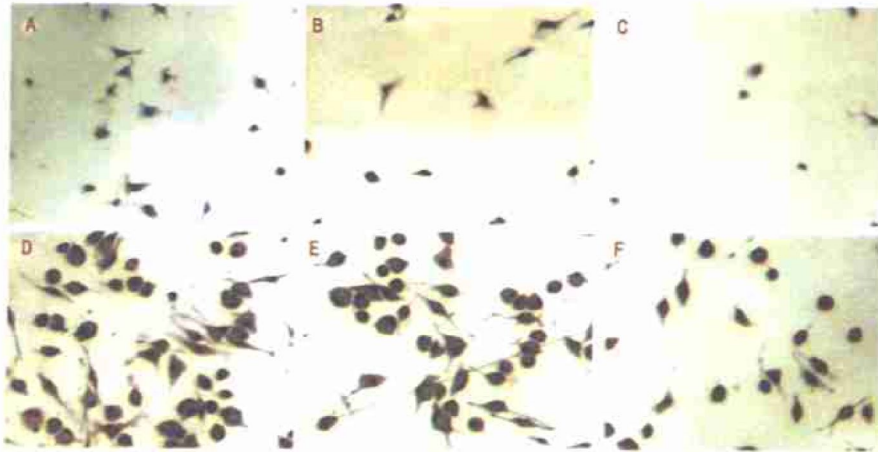


图 3. 氧化型脂蛋白体外诱导巨噬细胞胆固醇酯蓄积和增殖效应 A 为极低密度脂蛋白, B 为低密度脂蛋白, C 为高密度脂蛋白, D 为氧化型极低密度脂蛋白, E 为氧化型低密度脂蛋白, F 为氧化型高密度脂蛋白。

4 巨噬细胞状况对脂蛋白作用的影响

我们不仅研究不同来源及不同形式脂蛋白对巨噬细胞的作用,同时也分析了不同状态下的巨噬细胞尤其是激活的巨噬细胞对脂蛋白作用的影响。用炎症诱发剂 thioglycolate 活化小鼠巨噬细胞,用同位素标记实验观察巨噬细胞活化对载脂蛋白 A iv 促胆固醇外流能力的影响。结果发现,巨噬细胞在激活状态下可显著抑制载脂蛋白 A iv 促细胞胆固醇外流能力,并提出其可能的机制是由于活化后巨噬细胞表面载脂蛋白 A iv 高结合位点减少^[8]。As 损伤部位巨噬细胞处于激活状态,该发现更客观地解释了动脉粥样斑块处载脂蛋白 A iv 对巨噬细胞胆固醇的调节作用。

[参考文献]

- [1] Zhang Chunni, Miyazaki Akira, Hakamata Hideki, Sakaguchi Hisashi, Horiuchi Seikoh. Very low and intermediate density lipoprotein fraction from apolipoprotein E gene knockout mice induce cholesterol ester accumulation in J774 macrophages. *J Chinese Med*, 1999, **112** (6): 543-545
- [2] Hideki Hakamata, Hisashi Sakaguchi, Zhang Chunni, Naomi Sakashita, Hiroshi Suzuki, Akira Miyazaki, et al. Very low and intermediate density lipoprotein fraction isolated from apolipoprotein E-knockout mice transforms macrophages to foam cells through an apolipoprotein E independent pathway. *Biochemistry*, 1998, **37** (39): 13 720-727
- [3] 张春妮, Miyazaki Akira, Hakamata Hideki, Sakaguchi Hisashi, Horiuchi Seikoh. LDL 受体基因敲除鼠 VLDL-IDL 组分诱导 J774 巨噬细胞胆固醇酯蓄积. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (4): 329-331
- [4] 张春妮, Hakamata Hideki, 黄伟, 庄一义. 载脂蛋白 A iv 结构中个别氨基酸置换或缺失对促细胞内胆固醇流出能力的影响. *中国动脉硬化杂志*, 1998, **6** (3): 202-205
- [5] 张春妮, 赵源源, 韩晓冬, 陈大宁, 庄一义. 氧化低密度和极低密度脂蛋白对鼠腹腔巨噬细胞的增殖作用. *南京大学学报(自然科学)*, 2000, **36** (5): 614-618
- [6] 张春妮, 庄一义, 吉维民, 刘小传, 强宏娟. 氧化型脂蛋白(a)对鼠腹腔巨噬细胞增殖的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (4): 305-307
- [7] 陈桂媛, 张春妮, 刘小传, 陈大宁, 庄一义. 氧化修饰高密度脂蛋白对鼠腹腔巨噬细胞增殖的影响. *解放军医学杂志*, 2000, **25** (4): 209-211
- [8] 张春妮, Hakamata Hideki, 庄一义, Horiuchi Seikoh. 激活巨噬细胞抑制载脂蛋白 A iv 促细胞胆固醇流出能力. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (1): 27-29

(此文编辑 文玉珊)

《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》 (生物医药类)一览表(2003 年度)

中国临床心理学杂志
中国临床药理学与治疗学
中国临床药理学杂志
中国临床药学杂志
中国临床医学
中国临床医学影像杂志
中国临床营养杂志

中国麻风皮肤病杂志
中国慢性病预防与控制
中国美容医学
中国免疫学杂志
中国内镜杂志
中国男科学杂志
中国皮肤性病学杂志