

单核细胞表型与动脉粥样硬化关系的研究进展

杨 阳 综述, 彭道泉 审校

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 单核细胞表型; 动脉粥样硬化; 炎症

[摘要] 大量证据表明动脉粥样硬化是一种慢性炎症疾病, 而单核细胞则在动脉粥样硬化的发生发展中起关键作用。近来研究发现单核细胞存在异质性, 其不同表型在动脉粥样硬化、类风湿性关节炎、川崎病等炎症和免疫相关疾病中的作用逐渐被认识。本文就单核细胞表型、功能, 及其与小鼠和人类动脉粥样硬化关系的研究进展作一简要综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Recent Progress of Monocyte Subsets and Atherosclerosis

YANG Yang and PENG Dao-Quan

(Department of Cardiology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

[KEY WORDS] Monocyte Subsets, Atherosclerosis, Inflammation

[ABSTRACT] A mass of evidence has showed that atherosclerosis is a chronic inflammatory disease and monocytes play a crucial role in the pathogenesis of atherosclerotic plaques. It is found that in recent studies monocytes in human peripheral blood are heterogeneous. There is a growing awareness that distinct functional monocyte subsets play different roles in several inflammatory and immunological diseases, like atherosclerosis, rheumatoid arthritis, Kawasaki disease. This review aims to make a brief summary for the phenotype and function of monocytes as well as discussion about their correlation to atherosclerosis in mice and humans.

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是临床最常见的心血管病变, 亦是导致冠心病 (coronary heart disease, CHD) 的病理基础, 其发病机制备受关注但至今尚未阐明。目前认为动脉粥样硬化是脂质代谢异常、慢性炎症、免疫紊乱及遗传等多种因素相互作用的结果。炎症细胞尤其是单核细胞在动脉粥样硬化发生发展中起关键作用^[1, 2]。血单核细胞水平升高是冠心病的独立危险因素^[3]。动物实验亦证实降低血单核细胞水平可延缓动脉粥样硬化病变的进展^[4, 5]。然而, 近年来人们发现单核细胞在人、鼠及其他哺乳动物中均存在异质性, 且单核细胞表型的比例失衡与类风湿性关节炎^[6]、川崎病^[7, 8]等疾病明显相关, 其不同表型在动脉粥样硬化中的作用已引起大量研究者的关注。本文简述了单核细胞的表型和功能, 并就其与小鼠和人类动脉粥样硬化关系的研究进展作一综述。

1 单核细胞的表型及功能

单核细胞与动脉粥样硬化斑块的发生发展密切相关。其粘附于激活的内皮后侵入病变部位, 分化成巨噬细胞, 通过表面的清道夫受体摄入氧化的脂质后形成泡沫细胞。同时其通过分泌细胞因子, 刺激平滑肌细胞的迁移及增殖, 促进斑块的进展、破裂, 甚至血栓形成, 这已为人们所熟知^[9-12]。然而, 单核细胞作为一种固有免疫细胞, 在炎症、急性损伤或应激状态时迅速反应以保护机体^[13]。提示片面的干预单核细胞可能会影响机体的稳态及免疫功能^[14]。

大量证据表明单核细胞在细胞表型、功能等方面都存在异质性。鉴于其表面标记物的差异表达, 小鼠的单核细胞一般分为两个亚群, 即 Ly6C^{high}CCR

[收稿日期] 2011-04-09

[作者简介] 杨阳, 硕士研究生, 研究方向为血脂、炎症与动脉粥样硬化, Email为 yangyang2561229@163.com。通讯作者彭道泉, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为血脂、炎症与动脉粥样硬化, Email为 pengdq@hotmail.com。

2^+ CX3CR1^{low} 单核细胞和 Ly6C^{low} CCR2⁻ CX3CR1^{high} 单核细胞^[15-17]。Ly6C^{high} 单核细胞也被称为促炎型单核细胞,经促炎因子如趋化因子 CCL2刺激后其高表达炎性介质,并分化为促炎型巨噬细胞或树突状细胞参与炎症反应^[18]。在缺乏炎症刺激时,有学者认为其可转化成 Ly6C^{low} 单核细胞^[17],但目前这一观点仍有争议^[19-21]。反之, Ly6C^{low} 单核细胞被认为是抗炎表型,参与组织修复、巡视血管进而对 endothelial 细胞及周围组织进行免疫监视^[16-22]。

单核细胞起源于骨髓,短暂逗留后进入血液,随后移行进入组织,受周围环境因素刺激后,在组织中分化成巨噬细胞。既往研究表明巨噬细胞存在异质性^[23],其分为 M1、M2 巨噬细胞。M1 又被称为经典激活的巨噬细胞,即体外经脂多糖、粒巨噬细胞集落刺激因子等炎症因子刺激后生成的巨噬细胞。M2 又被称为替代激活的巨噬细胞,即体外经白介素 4、白介素 13 等细胞因子刺激后生成的巨噬细胞。关于 Ly6C^{high} 单核细胞是否选择性分化成 M1 巨噬细胞,而 Ly6C^{low} 单核细胞则选择性分化成 M2 巨噬细胞,目前还缺乏足够的证据。

与小鼠单核细胞分型相类似,人单核细胞也大致可分为两型:即 CD14⁺ CD16⁻ CCR2⁺ 单核细胞和 CD14⁺ CD16⁺ CX3CR1⁺ 单核细胞^[24]。根据趋化因子受体 CX3CR1 及 CCR2 的表达,小鼠的 Ly6C^{hi}、Ly6C^{lo} 单核细胞分别对应于人的 CD16⁻、CD16⁺ 单核细胞,提示对小鼠单核细胞表型的研究可以为体内探讨人单核细胞表型的分布和功能提供依据。但意外的是,大量临床试验显示 CD16⁺ 单核细胞呈炎症表型。在机体出现炎症时,其在血循环中水平显著增高^[25]。且体外试验亦证实 CD16⁺ 单核细胞能分泌肿瘤坏死因子 α 等促炎因子^[26]。种属差异并不能完全解释已有矛盾^[14]。因此,人单核细胞的促炎表型目前仍不明确,有待进一步研究阐明。

2 单核细胞表型与鼠动脉粥样硬化

早期关于单核细胞表型的研究多是基于动物的。起初的实验表明单核细胞亚型在炎症免疫相关性疾病的各病理生理阶段具有不同功能。而单核细胞与动脉粥样硬化斑块进展密切相关,其表型与动脉粥样硬化的关系备受关注。

2.1 单核细胞表型与动脉粥样斑块形成及进展

Swirski 等^[27]研究发现高脂饮食可诱导小鼠血 Ly6C^{hi} 单核细胞增多,该型单核细胞依赖趋化因子

受体 CCR2、CCR5、CX3CR1 等具有很强的内皮粘附及迁移能力,并最终在病变处分化成巨噬细胞。而他汀体内干预能抑制高脂诱导的 Ly6C⁺ 单核细胞增多,进而抑制斑块的进展。提示高脂饮食,除了促进病变的脂质沉积,诱导巨噬细胞集落刺激因子生成进而促进局部单核细胞分化成巨噬细胞,亦能直接升高血 Ly6C^{hi} 单核细胞的水平。然而,高脂对 Ly6C^{lo} 单核细胞的水平未见明显影响。他们的研究证实 Ly6C^{hi} 单核细胞介导的慢性炎症反应在 Atherosclerosis 的发生发展中起重要作用。

关于 Ly6C^{lo} 单核细胞与动脉粥样硬化的关系,目前仍有争议。有证据表明同时阻断 CCR2、CCR5、CX3CR1 对病变的改善最为显著,间接提示 Ly6C^{hi}、Ly6C^{lo} 单核细胞均能促进病变进展^[28-29]。然而,既往研究表明 Ly6C^{lo} 单核细胞呈抗炎表型,其主要参与肉芽组织形成促进组织修复。因此,有学者提出其可促进斑块稳定^[30-31]。此外,Take 等^[32]利用胶乳珠标记单核细胞发现, Ly6C^{lo} 单核细胞选择性上调树突状细胞相关标志物 CD11c 提示其可分化成树突状细胞,参与调节适应性免疫。最后,新近研究还发现 Ly6C^{lo} 单核细胞可沿血管巡逻,提示其可能参与调控其他单核细胞入侵粥样斑块^[22]。

2.2 单核细胞亚型的募集

单核细胞从骨髓途经血液移行病变组织依赖各粘附分子及趋化因子的调控。一些研究旨在探讨影响单核细胞亚型募集的可能因素。Take 等^[32]证实 Ly6C^{lo} 单核细胞进入斑块并不依赖 CX3CR1,而是部分依赖 CCR5 而后者在载脂蛋白 E 缺陷 (apoE^{-/-}) 小鼠中选择性上调。相反, Ly6C^{hi} 单核细胞向斑块的归巢依赖 CX3CR1、CCR2、CCR5 的协同作用。在许多炎症模型中,单核细胞的迁移依赖 CCR2 而不是 CX3CR1,提示 CX3CR1 的拮抗剂既可以有效减少 Ly6C^{hi} 单核细胞向斑块的募集,又不至影响依赖 CCR2 的机体炎症反应。此外, P-/E 选择素介导的单核细胞沿血管壁的滚动是其向 Atherosclerosis 病变组织归巢的起始阶段,而 P 选择素糖蛋白配体 1 (P-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL-1) 是 P-/E 选择素的共同配体。因此,An 等^[33]观察了 PSGL-1 在各动物模型 (野生型、ApoE^{-/-} 小鼠、PSGL-1 及 ApoE 双基因敲除 ApoE^{-/-} PSGL-1^{-/-} 小鼠) 的不同单核细胞亚群的表达及功能。结果发现 PSGL-1 在 Ly6C^{hi} 单核细胞表面高表达,且其结合液相 P-/E 选择素能力更强。在体外流体试验及离体灌注的颈动脉模型中均观察到类似结果。在 ApoE^{-/-} PSGL-1^{-/-} 小鼠中,线圈损伤诱导的新生内膜及 Atherosclerosis 病变处的单核细胞

浸润明显减少,相应的内膜增生及As病变亦得到明显改善。提示PSGL-1在Ly6C^{hi}单核细胞向As的归巢中起重要作用。

2.3 单核细胞表型与动脉粥样硬化危险因素

关于动脉粥样硬化已知危险因素对单核细胞表型影响的相关研究相对较少。既往证据表明Ly6C^{hi}单核细胞增多与脂质异常有关^[27]。高同型半胱氨酸血症(hyperhomocysteinemia HHcy)是As的独立危险因素。新近研究探讨了HHcy对单核细胞表型的影响。Zhang等^[34]选取载脂蛋白E和胱硫醚 β 合成酶均缺陷(Tg-hCBS apoE^{-/-} Cbs^{-/-})小鼠为实验动物模型,该基因缺陷小鼠极易形成高胆固醇血症、高同型半胱氨酸血症及自发的动脉粥样硬化。他们发现HHcy可选择性升高血液、脾脏及骨髓等多个部位的Ly6C^{hi}和Ly6C^{int}单核细胞水平,且HHcy的这种作用在Tg-hCBS apoE^{-/-} Cbs^{-/-}和Tg-S466L Cbs^{-/-}小鼠(仅有高同型半胱氨酸血症而无高脂血症)组间没有差别。左旋高半胱氨酸体外干预可维持Ly6C^{hi}单核细胞,且可诱导原代脾细胞分化成Ly6C^{int}单核细胞,而过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、NAD(P)H氧化酶抑制剂香荚兰乙酮联合干预则可抑制该诱导效应。提示HHcy可通过促进NAD(P)H氧化酶介导的促炎型单核细胞生成间接发挥促As作用。

3 单核细胞表型与人动脉粥样硬化

已有的证据表明Ly6C^{hi}单核细胞介导的慢性炎症反应在动脉粥样硬化的发生发展中起重要作用^[27],但因为人单核细胞的炎症表型尚不明确,这种基于动物的发现与临床的相关性知之甚少。新近一些研究为阐明人单核细胞表型与As的关系提供了若干线索。

Rothe等^[35]证实高胆固醇血症患者CD16⁺单核细胞水平与高密度脂蛋白呈正相关,与致动脉粥样硬化脂质呈负相关,提示单核细胞表型与脂质代谢有关。大规模临床试验证实CHD患者的CD16⁺单核细胞显著增多,且控制了血糖、血压及血脂等混杂因素后,CD16⁺单核细胞仍与CHD独立相关,提示其与As疾病的进展有关^[36]。Takashi等^[37]通过多排探测器CT(multidetector computed tomography MDCT)评估斑块的稳定性,发现CD14⁺CD16⁺单核细胞与稳定型心绞痛患者斑块的不稳定性相关。之后,他们又通过光相干断层扫描(optical coherence

tomography OCT)评估非钙化斑块纤维帽厚度(fibrous cap thickness FCT),发现FCT的变化值与CD16⁺单核细胞的变化比值呈显著负相关;CD16⁺单核细胞水平在他汀治疗组显著低于对照组;CD16⁺单核细胞水平与C反应蛋白密切相关,而与脂质无关^[38]。提示CD16⁺单核细胞与不稳定型心绞痛患者的斑块不稳定性亦相关。此外,他们还证实急性心梗患者植入裸金属支架后,CD16⁺单核细胞水平与迟发型支架内再狭窄有关。并提出CD16⁺单核细胞水平是迟发型支架内再狭窄的独立预测因子^[39]。

4 小结与展望

随着对单核细胞异质性在各炎症免疫相关疾病中作用的逐步认识,单核细胞表型在动脉粥样硬化中的作用已引起大量研究者的关注。虽然对单核细胞表型在小鼠及人动脉粥样硬化中的作用已有了相当深入的研究,但仍有许多问题尚待解决。如单核细胞表型是分布于不同病变,还是同一病变的不同阶段?病变处的单核细胞的转归如何?人单核细胞促炎表型仍有待进一步明确等^[14]。

斑块不稳定破裂与其局部炎症反应密切相关,因此,促进斑块稳定依赖于促进斑块炎症状态向抗炎状态的转变。理论上来说,以特定细胞亚型如促炎型单核细胞为靶点,调节机体炎症状态的治疗思路是可行的。既往研究多利用体外细胞培养、离体流式细胞学、免疫组化、转基因修饰或重建改良骨髓细胞等分析特定时间点的单核细胞表型及分布。但免疫反应是一个动态的过程,随着细胞分子显像技术的发展及应用,如Moritz等^[40]已使用磁性纳米颗粒离体观察单核细胞亚型水平,体内动态追踪单核细胞亚型的分布并分析其功能即将成为可能,而单核细胞亚型也将成为动脉粥样硬化的新的生物标记物甚至是治疗靶点。

[参考文献]

- [1] 徐也鲁. 动脉粥样硬化——一种慢性炎症过程[J]. 中国动脉硬化杂志, 2001, (02): 93-95
- [2] 范乐明. 动脉粥样硬化炎症机制的再认识[J]. 中国动脉硬化杂志, 2005, (03): 249-253
- [3] Home BD, Anderson JL, John JM, et al. Which white blood cell subtypes predict increased cardiovascular risk [J]? J Am Coll Cardiol. 2005, 45(10): 1638-643
- [4] Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, et al. Decreased athero-

- sclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(18): 8 264-268
- [5] Stoneman V, Braganza D, Figg N, et al. Monocyte/macrophage suppression in CD11b diphtheria toxin receptor transgenic mice differentially affects atherogenesis and established plaques [J]. *Circ Res*, 2007, 100(6): 884-893
- [6] Baeten D, Boots AM, Steenbakkers PG, et al. Human cartilage gp-39⁺, CD16⁺ monocytes in peripheral blood and synovium: correlation with joint destruction in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43(6): 1 233-243
- [7] Mizuno K, Tama T, Tsukiji H, et al. Selective expansion of CD16 high CCR2⁻ subpopulation of circulating monocytes with preferential production of haem oxygenase (HO)-1 in response to acute inflammation [J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 142(3): 461-470
- [8] Katayama K, Matsubara T, Fujiwara M, et al. CD14⁺ CD16⁺ monocyte subpopulation in Kawasaki disease [J]. *Clin Exp Immunol*, 2000, 121(3): 566-570
- [9] Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword [J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(7): 508-519
- [10] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 868-874
- [11] Swirski FK, Pittet MJ, Kircher MF, et al. Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(27): 10 340-345
- [12] 刘守钾, 杨智承, 刘苑, 等. 动脉粥样硬化中单核细胞招募与泡沫细胞形成 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009(11): 957-960
- [13] Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(12): 953-964
- [14] Swirski FK, Weissleder R, Pittet MJ. Heterogeneous in vivo behavior of monocyte subsets in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(10): 1 424-432
- [15] Drevets DA, Dillon MJ, Schawang JS, et al. The Ly-6C high monocyte subpopulation transports *Listeria monocytogenes* into the brain during systemic infection of mice [J]. *J Immunol*, 2004, 172(7): 4 418-424
- [16] Geissmann F, Jung S, Littman DR. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties [J]. *Immunity*, 2003, 19(1): 71-82
- [17] Sunderkotter C, Nikolic T, Dillon MJ, et al. Subpopulations of mouse blood monocytes differ in maturation stage and inflammatory response [J]. *J Immunol*, 2004, 172(7): 4 410-417
- [18] Wollard KJ, Geissmann F. Monocytes in atherosclerosis subsets and functions [J]. *Nat Rev Cardio*, 2010, 7(2): 77-86
- [19] Geissmann F, Auffray C, Palfram R, et al. Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses [J]. *Immunol Cell Biol*, 2008, 86(5): 398-408
- [20] Varol C, Landsman L, Fogg DK, et al. Monocytes give rise to mucosal but not splenic conventional dendritic cells [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(1): 171-180
- [21] Tacke F, Randolph GJ. Migratory fate and differentiation of blood monocyte subsets [J]. *Immunobiology*, 2006, 211(6-8): 609-618
- [22] Auffray C, Fogg D, Garfa M, et al. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior [J]. *Science*, 2007, 317(5838): 666-670
- [23] Van Ginderachter JA, Movahedi K, Hassanzadeh Ghasabeh G, et al. Classical and alternative activation of mononuclear phagocytes: picking the best of both worlds for tumor promotion [J]. *Immunobiology*, 2006, 211(6-8): 487-501
- [24] Grage-Griebenow E, Flad HD, Emst M. Heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets [J]. *J Leukoc Biol*, 2001, 69(1): 11-20
- [25] Ziegler-Heitbrock L. The CD14⁺ CD16⁺ blood monocytes: their role in infection and inflammation [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(3): 584-592
- [26] Belge KU, Dayyani F, Horelt A, et al. The proinflammatory CD14⁺ CD16⁺ DR⁺⁺ monocytes are a major source of TNF [J]. *J Immunol*, 2002, 168(7): 3 536-542
- [27] Swirski FK, Libby P, Aikawa E, et al. Ly-6C^{hi} monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocyto-sis and give rise to macrophages in atheromata [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(1): 195-205
- [28] Combadiere C, Poteaux S, Rodero M, et al. Combined inhibition of CCL2, CX3CR1, and CCR5 abrogates Ly6C (hi) and Ly6C (lo) monocyto-sis and almost abolishes atherosclerosis in hypercholesterolemia mice [J]. *Circulation*, 2008, 117(13): 1 649-657
- [29] Saederup N, Chan L, Lira SA, et al. Fractalkine deficiency markedly reduces macrophage accumulation and atherosclerotic lesion formation in CCR2^{-/-} mice: evidence for independent chemokine functions in atherogenesis [J]. *Circulation*, 2008, 117(13): 1 642-648
- [30] Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, et al. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(12): 3 037-047

- [31] Weber C, Zernecke A, Libby P. The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models [J]. *Nat Rev Immunol* 2008; 8 (10): 802-815.
- [32] Tacke F, Alvarez D, Kaplan TJ, et al. Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques [J]. *J Clin Invest* 2007; 117(1): 185-194.
- [33] An G, Wang H, Tang R, et al. P-selectin glycoprotein ligand-1 is highly expressed on Ly-6C^{hi} monocytes and a major determinant for Ly-6C^{hi} monocyte recruitment to sites of atherosclerosis in mice [J]. *Circulation* 2008; 117(25): 3227-3237.
- [34] Zhang D, Jiang X, Fang P, et al. Hyperhomocysteinemia promotes inflammatory monocyte generation and accelerates atherosclerosis in transgenic cystathionine beta-synthase-deficient mice [J]. *Circulation* 2009; 120(19): 1893-902.
- [35] Rothe G, Gabriel H, Kovacs E, et al. Peripheral blood mononuclear phagocyte subpopulations as cellular markers in hypercholesterolemia [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16(12): 1437-447.
- [36] Schlitt A, Heine GH, Blankenberg S, et al. CD14⁺ CD16⁺ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF- α levels [J]. *Thromb Haemost* 2004; 92(2): 419-424.
- [37] Kashiwagi M, Manishi T, Tsujiohara H, et al. Association of monocyte subsets with vulnerability characteristics of coronary plaques as assessed by 64-slice multidetector computed tomography in patients with stable angina pectoris [J]. *Atherosclerosis* 2010; 212(1): 171-176.
- [38] Manishi T, Ikejima H, Tsujiohara H, et al. Association of monocyte subset counts with coronary fibrous cap thickness in patients with unstable angina pectoris [J]. *Atherosclerosis* 2010; 212(2): 628-635.
- [39] Liu Y, Manishi T, Ikejima H, et al. Association between circulating monocyte subsets and in-stent restenosis after coronary stent implantation in patients with ST-elevation myocardial infarction [J]. *Circ J* 2010; 74(12): 2585-591.
- [40] Wildgruber M, Lee H, Chudnovskiy A, et al. Monocyte subset dynamics in human atherosclerosis can be profiled with magnetic nano-sensors [J]. *PLoS ONE* 2009; 4 (5): e5663.

(此文编辑 曾学清)