

阿托伐他汀的抗炎作用及其机制的研究进展

徐健强¹, 赵国军², 王燕³, 喻思扬¹ 综述, 曾高峰¹ 审校

(南华大学附属第二医院 1. 心血管内科, 3. 麻醉科, 湖南省衡阳市 421001; 2. 桂林医学院组织胚胎学教研室, 广西桂林市 541004)

[关键词] 阿托伐他汀; Toll 样受体; 炎性体; 小 G 蛋白; microRNA; 过氧化体增殖物激活型受体

[摘要] 阿托伐他汀具有强效降脂功能, 目前已被广泛用于高脂血症和心血管疾病的治疗。此外, 阿托伐他汀还能明显抑制白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等促炎因子的合成, 具有显著抗炎效应。但是, 阿托伐他汀抗炎效应的具体机制还未完全阐明。本文综述了 Toll 样受体 (TLR)、炎性体、microRNA (miRNA)、小 G 蛋白和过氧化体增殖物激活型受体 (PPAR) 在阿托伐他汀抗炎效应中的作用, 为深入认识阿托伐他汀的抗炎机制提供了依据。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Advance in the Anti-inflammatory Effect and Mechanism of Atorvastatin

XU Jian-Qiang¹, ZHAO Guo-Jun², WANG Yan³, YU Si-Yang¹, and ZENG Gao-Feng¹

(1. Department of Cardiovascular Medicine, 3. Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Department of Histology and Embryology, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541004, China)

[KEY WORDS] Atorvastatin; Toll-like Receptors; Inflammasome; Small GTPase; MicroRNA; Peroxisome Proliferator-activated Receptor

[ABSTRACT] As we know, atorvastatin has been widely used to treat hyperlipidaemia and cardiovascular diseases. Atorvastatin also has anti-inflammatory effect on inhibiting the expression of pro-inflammatory cytokines, such as interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor- α , etc. However, the underlying mechanisms of anti-inflammatory effect of atorvastatin are still largely unknown. In this review, we summarize the progress of Toll-like receptors, inflammasome, microRNAs, small GTPase and peroxisome proliferator-activated receptors on the anti-inflammatory effect of atorvastatin, in order to provide new evidence for further understanding of the anti-inflammatory mechanisms of atorvastatin.

他汀类药物是肝脏 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A (3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A, HMG-CoA) 还原酶抑制剂, 在胆固醇合成途径中, 通过抑制类异戊二烯合成而抑制甲羟戊酸及其下游产物如焦磷酸牦牛儿基牦牛儿基酯 (geranylgeranylpyrophosphate, GG-PP)、焦磷酸法尼酯 (farnesylpyrophosphate, FPP) 等物质合成发挥调脂作用。阿托伐他汀是全合成他汀类药物, 具有毒性低, 安全性较好的特点, 且见效快, 持续时间长, 与 HMG-CoA 还原酶的亲和力高, 生物利用度高。随着研究不断深入, 阿托伐他汀被发现还具有“非调脂效果”, 如抗炎、改善内皮细胞

功能和抗氧化应激等作用^[1]。本文主要针对阿托伐他汀抗炎作用的分子机制做一综述。

1 Toll 样受体

Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 是一类模式识别受体, 可与特定的分子模式结合, 并启动细胞内信号传导, 促使效应分子表达和分泌。人类 TLR 家族成员至少有 11 个, 其中, TLR2 和 TLR4 已被证实在阿托伐他汀调控炎症反应的过程中扮演了重要角色。

[收稿日期] 2015-11-09

[修回日期] 2016-02-02

[基金项目] 湖南省自然科学基金资助项目 (14JJ5016)

[作者简介] 徐健强, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化病因与防治, E-mail 为 449302757@qq.com。赵国军, 并列第一作者, 博士后, 研究方向为动脉粥样硬化病因与防治, E-mail 为 zzhsu@163.com。通讯作者曾高峰, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化病因与防治, E-mail 为 2379795177@qq.com。

在哺乳动物体内,TLR2 和 TLR4 主要存在于单核细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞及 B 淋巴细胞的细胞膜上。TLR2 和 TLR4 可通过髓样分化因子 88 (myeloid different factor 88, MyD88) 信号通路激活核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B), 启动炎症反应。Bertocchi 等^[2]发现阿托伐他汀可以抑制人冠状动脉血管内皮细胞 TLR2 的表达,并抑制细胞对 TLR2 配体巨噬细胞活化脂肽的敏感性。此外,阿托伐他汀能够同时抑制强直性脊柱炎患者外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) TLR2 和 TLR4 的表达^[3]。最近有研究发现阿托伐他汀能够明显抑制兔动脉粥样硬化斑块内 TLR4 和 NF- κ B 的表达^[4]。阿托伐他汀能够明显下调 THP-1 巨噬细胞 TLR4、MyD88 蛋白的表达,从而减弱 NF- κ B 的活化并抑制 THP-1 巨噬细胞增殖^[5]。上述实验表明,阿托伐他汀可能通过抑制 TLR2 和 TLR4 的表达发挥抗炎作用。

2 炎性体

炎性体是一类识别多种固有免疫系统激活物的多蛋白复合体,通常含有无活性的半胱天冬酶和受体蛋白,某些炎性体还含有凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-recruitment domain, ASC)。受体蛋白包括 NOD 样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain like receptor, NLR) 和细胞质 DNA 传感器黑色素瘤缺乏因子 2 (absent in melanoma 2, AIM2)。根据受体蛋白的不同,这些炎性体可命名为 NLRP1、AIM2、NLRP3、NLRC4 (又称 IPAF) 和 NLRP6 炎性体等。在炎性体内, Caspase-1 得以激活,并参与激活和装配介导白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β) 和白细胞介素 18 (interleukin-18, IL-18) 等多种炎症因子的分泌,在调控炎症反应中起着重要作用。

目前研究最为成熟的炎性体是 NLRP3 炎性体,其参与多种炎症介质表达,并与动脉粥样硬化、心脏病等多种疾病的发生发展相关^[6]。Satoh 等^[7]发现冠状动脉病变 (coronary artery disease, CAD) 患者 PBMC 内 NLRP3 炎性体的表达较正常对照组明显升高,且其与血清 IL- 1β 及 IL-18 水平呈正相关;而且, CAD 患者在使用了阿托伐他汀后, NLRP3 炎性体、IL- 1β 和 IL-18 水平显著下降。Satoh 等^[7]还通过细胞实验发现阿托伐他汀亦能减少 THP-1 巨噬细胞 NLRP3 炎性体、IL- 1β 及 IL-18 的表达。上述

研究表明阿托伐他汀可通过抑制 NLRP3 炎性体表达减少炎症因子分泌,从而发挥抗炎作用。

与 NLRP3 炎性体相比, NLRP1 和 NLRC4 等其它炎性体的研究相对较少。NLRP1 炎性体是第一个被发现的炎性体,近年来有文章报道,阻断 NLRP1 活性能够抑制 Caspase-1 激活,进而减少 IL- 1β 和 IL-18 的表达^[8]。此外,在多种细菌感染模型中, NLRC4 对 Caspase-1 的活化起重要作用,敲除 NLRC4 基因后, IL- 1β 表达明显下降^[9]。上述研究表明, NLRP1 和 NLRC4 炎性体与炎症反应的发生、发展密切相关。然而关于阿托伐他汀是否通过 NLRP1 和 NLRC4 炎性体调控炎症反应还有待进一步研究。

3 小 G 蛋白

小 G 蛋白家族是普遍存在于真核细胞中的一个三磷酸鸟苷结合的蛋白家族,分子量大约在 20~30 kDa 之间,分为 Ras、Rho、Rab、Arf/Sar 和 Ran 5 个亚家族。迄今已发现 Rho 蛋白与 Ras 蛋白参与炎症反应,且能被阿托伐他汀干扰。

Rho 蛋白参与调控细胞骨架重组、有丝分裂和基因表达,且与炎症因子合成有关。受 Rho 蛋白调节的蛋白分子环氧化酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 是前列腺素合成的限速酶,主要存在于血管、胃和肾中,可促进多种炎症介质合成,并通过瀑布式级联反应参与机体各生理、病理过程。研究表明, Rho 蛋白激活后可促进 COX-2 表达,而 COX-2 可在多种细胞模型中促进基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 释放。Massaro 等发现,阿托伐他汀可以降低 Rho 蛋白激酶活性,并抑制 COX-2 和 MMP-9 的合成。GGPP 为胆固醇合成途径中的中间产物,可通过促进 Rho 蛋白戊烯化逆转阿托伐他汀对 Rho 蛋白激酶的调节作用。此外, GGPP 可逆转阿托伐他汀对 IL-6 和 IL-8 表达的抑制效应^[10],提示阿托伐他汀可通过抑制 Rho 蛋白异戊烯化而下调炎症因子表达。

FPP 是胆固醇合成中的另一中间产物,与 GGPP 不同, FPP 不能与 Rho 蛋白共价结合,却能形成 Ras 蛋白的脂肪酸侧链,可使 Ras 蛋白异戊烯化促进免疫球蛋白 IgE 活性和 IL-5 表达,在脂多糖介导的气道炎症反应中起重要作用。研究表明, FPP 可加重支气管痉挛程度,而他汀类药物能够通过抑制 FPP 合成而减轻脂多糖介导的支气管痉挛,故他汀类药物还可能通过抑制 Ras 蛋白异戊烯化发挥抗

炎效应。

4 microRNA

microRNA (miRNA) 是一类小分子非编码单链 RNA, 主要作用于转录后水平, 通过损伤翻译过程或降解目标 RNA 来下调基因表达。近年来研究发现阿托伐他汀可以调节多种 miRNA 表达, 目前发现与炎症反应密切相关的 miRNA 有 let-7i、miR-21、miR-34a、miR-146 和 miR-222。

let-7i 是靶向调节 TLR4 的 miRNA 成员之一, THP-1 细胞转染 let-7i 后, TLR4 表达明显减少, 而阿托伐他汀可以增加 let-7i 表达, 并减少 TLR4 表达^[11]。此外, 有研究指出, let-7i 不仅能靶向调节 TLR4, 还能直接靶向调节 NF- κ B 和 IL-6^[12]。这些研究表明阿托伐他汀可通过上调 let-7i 抑制炎症反应。

miR-21 广泛表达于心肌细胞、巨噬细胞和成纤维细胞等, 在冠心病等领域发挥重要作用。现已发现 miR-21 可通过负向调控程序性细胞死亡因子 4 限制 NF- κ B 炎症信号通路过度激活^[13]。给不稳定型心绞痛患者使用阿托伐他汀, 强化剂量组较常规剂量 miR-21 显著升高, 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 则明显下降^[14], 提示阿托伐他汀可通过增加 miR-21 抑制炎症因子表达。

沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 是在人类细胞中广泛存在的一种组蛋白去乙酰化酶, 可脱去 NF- κ B 乙酰基, 并抑制 NF- κ B 炎症信号通路, 减轻炎症过程中的细胞毒性反应。miR-34a 可直接靶向作用于 SIRT1, 而阿托伐他汀能够通过抑制 miR-34a 的表达促进 SIRT1 分泌^[15], 从而发挥抗炎作用, 说明 miR-34a 可能是介导阿托伐他汀抗炎效应的 miRNA 之一。

一项为期 12 个月的临床跟踪调查发现, CAD 患者 PBMC 内 miR-146a/b 与 TLR4 及其下游信号分子肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumour necrosis factor receptor associated factor 6, TRAF6) 和白细胞介素 1 受体相关激酶 (interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK) 等表达呈正相关, 而使用阿托伐他汀联合血管紧张素受体拮抗剂或者阿托伐他汀联合血管紧张素转换酶抑制剂能降低患者 PBMC 内 miR-146a/b、TLR4 及其下游分子 IRAK 和 TRAF6 的表达^[16]。虽然 miR-146a/b 调节的靶基因尚不明确, 不过有学者对 THP-1 细胞转染 miR-146a 后发现, TLR4、MyD88 和 NF- κ B 转录水平均明显升

高^[17], 证明 miR-146a 可以通过调节 TLR4/NF- κ B 信号通路促进炎症反应发生, 因此阿托伐他汀也可能通过调节 miR-146 发挥抗炎作用。

miR-222 基因位于 X 染色体上, 目前已经明确, miR-222 参与血细胞及血管的生成, 冠心病患者内皮祖细胞中 miR-222 表达明显增多。有研究发现, miR-222 可通过下调转录激活因子 5 抑制动脉粥样硬化中血管新生, 并参与炎症介导的血管重塑^[18]。阿托伐他汀能够明显抑制 CAD 患者内皮祖细胞 miR-222 的表达^[19], 提示阿托伐他汀可能通过下调 miR-222 表达抑制炎症反应。

阿托伐他汀对部分 miRNA 的调控功能已经得到证实, 但其在炎症反应方面研究还只是冰山一角, 仍有大量的 miRNA 功能未知, 阿托伐他汀通过 miRNA 调控炎症还有许多问题亟待解决。

5 过氧化体增殖物激活型受体

过氧化体增殖物激活型受体 (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR) 属于核激素受体超家族成员, 是一类依赖配体活化的转录因子, 有 PPAR α 、PPAR β 和 PPAR γ 三种异构体, 在巨噬细胞和心肌细胞等广泛表达。PPAR 在调节糖稳态、脂质代谢、炎症反应、细胞分化与凋亡等方面发挥重要作用, 近年来发现阿托伐他汀可以调节 PPAR 发挥多种生物效应。

阿托伐他汀可以上调动脉硬化斑块内 PPAR α 表达。近年来还有研究发现, 阿托伐他汀可以抑制小鼠细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子和 IL-6 表达, 而敲除 PPAR α 基因后这种抑制效果被部分阻断^[20], 因此, 阿托伐他汀可能通过上调 PPAR α 而发挥抗炎效应。

在 SD 大鼠肥厚心肌细胞中发现 PPAR β 与 NF- κ B 表达呈负相关, 而阿托伐他汀处理可以上调 PPAR β 并抑制 NF- κ B 表达。对大脑中动脉栓塞的 SD 大鼠预先使用 PPAR β 配体 GW0742 能够明显抑制 NF- κ B 及炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 的表达^[21]; 反之, PPAR β 特异性阻断剂 GSK0660 能够上调 NF- κ B、IL-1 β 以及 TNF- α 表达^[22], 这些结果提示, 阿托伐他汀可通过 PPAR β /NF- κ B 途径发挥抗炎效应。

近年来有研究者对肺炎模型小鼠使用阿托伐他汀后炎症因子 TNF- α 和 IL-6 等明显下降, 并且能够减轻肺损伤程度和巨噬细胞渗出, PPAR γ 拮抗剂 GW9662 处理小鼠后, 阿托伐他汀的这种效果明显

受到抑制^[23]。临床研究发现,强化阿托伐他汀组较常规治疗组能明显降低不稳定型心绞痛经皮冠状动脉介入治疗患者血浆和巨噬细胞内肌酸激酶同工酶、IL-6、高敏C反应蛋白及TNF- α 的表达,而对巨噬细胞使用PPAR γ 拮抗剂后,阿托伐他汀的这一效果受到抑制^[24]。近年来已经证实,阿托伐他汀上调PPAR γ 表达后可通过多种途径发挥抗炎作用:其一是直接抑制NF- κ B炎性通路;其二是阻断酪氨酸激酶信号转导与转录激活子信号通路;其三是抑制激活蛋白1信号转导途径。此外,PPAR γ 可以促进肝X受体(liver X receptor, LXR)转录诱导三磷酸腺苷结合盒转运体A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)表达增加,有研究者对CAD患者巨噬细胞使用阿托伐他汀后发现,LXR及ABCA1表达较对照组明显升高^[25]。近年来发现ABCA1不仅具有平衡胆固醇作用,还有调节免疫抗炎作用。THP-1细胞转染ABCA1 siRNA处理后,NF- κ B信号通路活性增加,因此,激活PPAR γ /LXR/ABCA1信号通路亦可能是阿托伐他汀的潜在抗炎机制之一。

6 总结与展望

综上所述,阿托伐他汀可通过干扰TLR2、TLR4信号,抑制炎性体合成,阻断小G蛋白异戊烯化,调控microRNA表达以及增加PPAR表达等多种机制抑制炎症反应。尽管阿托伐他汀的抗炎作用已得到了证实,但其作用机制还有许多问题亟待解决。如:阿托伐他汀对NLRP1、NLRC4等炎性体表达是否有直接影响?不同他汀类药物对炎症反应调控作用不同,在阿托伐他汀分子结构中起抗炎作用的有效基团是什么?其作用靶点是什么?在阿托伐他汀的众多抗炎机制中,炎性体、小G蛋白、microRNA及PPAR等之间是否存在上下游关系,其具体调节如何?炎症反应错综复杂,阿托伐他汀是否还存在其他抗炎机制?进一步研究这些问题将为我们全面了解炎症反应过程及阿托伐他汀在其中的地位提供借鉴作用。随着对阿托伐他汀药理作用认识的不断加深以及炎症反应发生发展过程研究的进展,我们将更全面、更精确地了解阿托伐他汀调控炎症反应的分子机制,最终为各种炎症性疾病的治疗提供新的药物靶点。

[参考文献]

- [1] Satoh M, Takahashi Y, Tabuchi T, et al. Cellular and molecular mechanisms of statins: an update on pleiotropic effects[J]. Clin Sci (Lond), 2015, 129 (2): 93-105.
- [2] Bertocchi C, Traunwieser M, Dorler J, et al. Atorvastatin inhibits functional expression of proatherogenic TLR2 in arterial endothelial cells[J]. Cell Physiol Biochem, 2011, 28 (4): 625-630.
- [3] 毋静, 梁婉怡, 邓家鑫, 等. 阿托伐他汀对强直性脊柱炎患者外周血单个核细胞体外干预后Toll样受体2、Toll样受体4的表达变化研究[J]. 中国医药导报, 2012, 9 (1): 25-27.
- [4] Fang D, Yang S, Quan W, et al. Atorvastatin suppresses Toll-like receptor 4 expression and NF-kappaB activation in rabbit atherosclerotic plaques[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2014, 18 (2): 242-246.
- [5] Liu M, Tang R, Jiang Y. Study on the function and mechanism of atorvastatin in regulating leukemic cell apoptosis by the PI3K/Akt pathway[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8 (3): 3371-380.
- [6] Li X, Deroide N, Mallat Z. The role of the inflammasome in cardiovascular diseases[J]. J Mol Med (Berl), 2014, 92 (4): 307-319.
- [7] Satoh M, Tabuchi T, Itoh T, et al. NLRP3 inflammasome activation in coronary artery disease: results from prospective and randomized study of treatment with atorvastatin or rosuvastatin[J]. Clin Sci (Lond), 2014, 126 (3): 233-241.
- [8] Li X, Deroide N, Mallat Z. The role of the inflammasome in cardiovascular diseases[J]. J Mol Med (Berl), 2014, 92 (4): 307-319.
- [9] Cai S, Batra S, Wakamatsu N, et al. NLRC4 inflammasome-mediated production of IL-1beta modulates mucosal immunity in the lung against gram-negative bacterial infection[J]. J Immunol, 2012, 188 (11): 5623-635.
- [10] Xiao H, Qin X, Ping D, et al. Inhibition of Rho and Rac geranylgeranylation by atorvastatin is critical for preservation of endothelial junction integrity[J]. PLoS One, 2013, 8 (3): e59233.
- [11] Satoh M, Tabuchi T, Minami Y, et al. Expression of let-7i is associated with Toll-like receptor 4 signal in coronary artery disease: effect of statins on let-7i and Toll-like receptor 4 signal[J]. Immunobiology, 2012, 217 (5): 533-539.
- [12] Sung SY, Liao CH, Wu HP, et al. Loss of let-7 microRNA upregulates IL-6 in bone marrow-derived mesenchymal stem cells triggering a reactive stromal response to prostate cancer[J]. PLoS One, 2013, 8 (8): e71637.
- [13] Sheedy FJ, Palsson-McDermott E, Hennessy EJ, et al. Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21[J]. Nat Immunol, 2010, 11 (2): 141-147.
- [14] 刘洋, 李浪, 苏强, 等. 强化阿托伐他汀对不稳定心

- 绞痛患者冠状动脉介入治疗术后 CD4⁺T 淋巴细胞微小核糖核酸-21 表达的影响[J]. 中国循环杂志, 2014, 29 (1): 26-30.
- [15] Tabuchi T, Satoh M, Itoh T, et al. MicroRNA-34a regulates the longevity-associated protein SIRT1 in coronary artery disease: effect of statins on SIRT1 and microRNA-34a expression[J]. Clin Sci (Lond), 2012, 123 (3): 161-171.
- [16] Takahashi Y, Satoh M, Minami Y, et al. Expression of miR-146a/b is associated with the Toll-like receptor 4 signal in coronary artery disease: effect of renin-angiotensin system blockade and statins on miRNA-146a/b and Toll-like receptor 4 levels [J]. Clin Sci (Lond), 2010, 119 (9): 395-405.
- [17] 王丽莉. MiR-146a 对动脉粥样硬化免疫炎症的影响及普罗布考/瑞舒伐他汀的干预作用[D]. 天津医科大学, 2013.
- [18] 杨蕾, 张国兵. MicroRNA 和动脉粥样硬化的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (11): 916-918.
- [19] Zhang Q, Kandic I, Kutryk MJ. Dysregulation of angiogenesis-related microRNAs in endothelial progenitor cells from patients with coronary artery disease [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 405 (1): 42-46.
- [20] Ouk T, Potey C, Laprais M, et al. PPARalpha is involved in the multitargeted effects of a pretreatment with atorvastatin in experimental stroke[J]. Fundam Clin Pharmacol, 2014, 28 (3): 294-302.
- [21] Chao X, Xiong C, Dong W, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta attenuates acute ischemic stroke on middle cerebral ischemia occlusion in rats [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2014, 23 (6): 1396-402.
- [22] Bao XC, Fang YQ, You P, et al. Protective role of peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta in acute lung injury induced by prolonged hyperbaric hyperoxia in rats[J]. Respir Physiol Neurobiol, 2014, 199: 9-18.
- [23] Malekinejad H, Khoramjouy M, Hobbenaghi R, et al. Atorvastatin attenuates the paraquat-induced pulmonary inflammation via PPARgamma receptors: a new indication for atorvastatin[J]. Pestic Biochem Physiol, 2014, 114: 79-89.
- [24] Yang J, Liu C, Zhang L, et al. Intensive atorvastatin therapy attenuates the inflammatory responses in monocytes of patients with unstable angina undergoing percutaneous coronary intervention via peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation [J]. Inflammation, 2015, 38 (4): 1415-423.
- [25] 钱宗杰, 张连舫, 曾秋棠, 等. 阿托伐他汀对巨噬细胞肝 X 受体表达及胆固醇外流的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26 (3): 446-451.
- (此文编辑 文玉珊)