

Wnt 信号通路介导胆固醇逆向转运与炎症应答的交互作用

张婵娟, 覃 丽

(湖南中医药大学药学院药理学教研室, 湖南省长沙市 410208)

[关键词] Wnt 信号通路; 胆固醇逆向转运; 炎症应答; 交互作用; 动脉粥样硬化

[摘 要] 动脉粥样硬化是以脂质代谢紊乱、内皮损伤、单核-巨噬细胞浸润及血栓形成为主要病理特征的慢性炎症性疾病。近年来证实 Wnt 信号通路在动脉粥样硬化斑块的启动和进展中发挥重要作用。Wnt 家族是富含半胱氨酸的分泌型糖蛋白, 其通过经典和非经典通路参与多种生物学过程的调控。研究发现 Wnt 家族及其信号通路是协调胆固醇逆向转运(RCT)和炎症应答之间交互作用的关键平台, 也是促进动脉粥样硬化病变的重要参与者。本文就 Wnt 家族及其信号通路与 RCT 和炎症应答之间的交互作用作一综述, 以为动脉粥样硬化的预防和治疗提供科学的理论依据。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Crosstalk between reverse cholesterol transport and inflammatory response mediated by Wnt signaling pathway in atherosclerosis

ZHANG Chanjuan, QIN Li

(Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[KEY WORDS] Wnt signaling pathway; reverse cholesterol transport; inflammatory response; interaction; atherosclerosis

[ABSTRACT] Atherosclerosis (As) is a chronic inflammatory disease characterized by dyslipidemia, monocyte-macrophage infiltration, endothelial injury, and thrombosis. Recently, Wnt family plays an important role in the initiation and progression of atherosclerotic plaque. Wnt family is a cysteine-rich secreted glycoprotein which involved in the regulation of various biological processes through both canonical and non-canonical pathways. Previous studies suggest that Wnt family and its signaling pathways regulate the interaction between reverse cholesterol transport (RCT) and inflammatory responses, and play an important role in triggering atherosclerotic lesions. This review summarized the mechanisms of RCT and inflammatory response via Wnt family and its signaling pathway, which might provide novel diagnostic and therapeutic strategies for prevention and treatment of As.

心血管疾病是导致人类死亡的主要病因, 而动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是心血管疾病发生发展最重要的病理基础^[1]。As 是以脂质代谢紊乱、内皮损伤、单核-巨噬细胞浸润及血栓形成为主要病理特征的慢性炎症性疾病^[2]。其中, 血脂异常是最重要的危险因素。目前研究发现胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)在维持机体胆固醇稳态平衡方面具有重要作用。RCT 是将多余胆

固醇从外周细胞和组织转运至肝脏再循环或以胆酸形式代谢排出的过程, RCT 可通过介导高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)清除动脉壁中的胆固醇, 防止脂质侵入内膜及在内膜中大量积聚^[3]。在脂质代谢异常、内皮损伤或氧化应激等多种诱因作用下, 过量的低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)积聚于内皮下被氧化修饰为 ox-LDL, 并作为促炎因子诱导内皮细胞表面黏附分子

[收稿日期] 2018-05-23

[修回日期] 2018-06-13

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81774130);湖南省自然科学基金杰出青年基金项目(2018JJ1018);湖南省教育厅重点项目(15A138)

[作者简介] 张婵娟, 硕士研究生, 研究方向为脂质异常相关疾病的发病机制及中医药防治, E-mail 为 1162201647@qq.com。通信作者覃丽, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为脂质异常相关疾病的发病机制及中医药防治, E-mail 为 lqin1011@126.com。

的表达,增加白细胞外渗。持续性炎症可使单核细胞分化成巨噬细胞并继续摄取 ox-LDL,形成泡沫细胞,同时分泌趋化因子和炎症因子^[4]。而增加的炎症细胞导致脂核内粥样物质增多,降低斑块稳定性。晚期斑块中血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)的凋亡导致纤维成分合成减少,使得斑块变薄而易破裂,释放多种炎症因子,如 IL-1 α 、IL-8、MCP-1,加剧斑块内炎症反应^[5],因此,慢性炎症状态下免疫细胞和代谢细胞的相互干扰在脂代谢紊乱和 As 发展中发挥核心作用。近年来研究表明,Wnt 家族及其信号通路是协调 RCT 和炎症应答之间交互作用的重要平台,同时也是促进 As 病变的重要参与者^[6]。

1 Wnt 家族及其信号通路

Wnt 家族是调控富含半胱氨酸的分泌型糖蛋白,包括 19 个高度保守基因组,其糖蛋白可充当细胞外信号传导配体。1978 年首次在突变无翼果蝇中发现 Wnt 基因,被称为 Wingless 基因^[7]。随后,在脊椎动物的 Int-1 基因中发现了类似的同源性序列,并在 1991 年将两词合并成 Wnt^[8]。哺乳动物体内有 19 种 Wnt 蛋白亚型,其成员主要有 Wnt1、Wnt3a、Wnt5a、Wnt8b、Wnt10 等。Wnt 蛋白由 350~400 个氨基酸组成,含有 22~24 个参与形成二硫键的半胱氨酸残基^[9]。由于其高度疏水性,Wnt 蛋白分泌后,需与自身细胞的膜受体结合发挥自分泌调节作用,或与邻近细胞膜上的受体结合发挥旁分泌作用。Wnt 受体包括卷曲蛋白(Frizzled, FZD)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 5/6(low density lipoprotein receptor related protein, LRP5/6)、酪氨酸激酶样孤儿受体 2(tyrosine kinase-like orphan receptor 2, Ror2)、蛋白质酪氨酸激酶 7(protein Tyr kinase 7, PTK7)、受体酪氨酸激酶(receptor Tyr kinase, RYK)、肌肉骨骼受体 Tyr 激酶(muscle skeletal receptor Tyr kinase, MUSK)和蛋白聚糖家族^[10]。Wnt 信号通过与细胞膜上的受体结合启动下游多种信号转导,包括产生-修饰-分泌-转运一系列过程。

Wnt 信号通路分为两种:其一是以 Wnt3a 为代表的经典 Wnt 信号通路,即依赖于 β -链蛋白(β -catenin)通路。Wnt 信号与细胞表面 FZD4、LRP5/6 受体结合后,激活蓬乱蛋白(dishevelled, Dvl),抑制糖原合成酶激酶(glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、轴素(Axin)、大肠腺瘤样蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)和酪蛋白激酶 1 α (casein kinase

1 α , CK1 α)复合物的形成,使 β -catenin 在胞质中稳定存在,促进其进入细胞核,与核内转录因子 T 细胞因子/淋巴增强子(T-cell factor/lymphoid enhancing factor, TCF/LEF)家族作用,调控下游靶基因的转录^[11]。另一条是以 Wnt5a 为代表的非经典 Wnt 信号通路,又称非依赖 β -catenin 信号通路,包括 Wnt-Ca²⁺、Wnt-JNK、Wnt-PCP、Wnt-ROR1/ROR2、Wnt-mTOR、Wnt-Ryk 等。Wnt 可通过 FZD 家族(FZD2、FZD4、FZD8)在 G 蛋白的介导下释放细胞内 Ca²⁺以激活蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)、钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II(calmodulin dependent kinase II, CamKII)和 Jun N-末端激酶(Jun N-terminal kinase, JNK),也可直接激活 JNK^[12]。JNK 一旦被激活,胞质中的 JNK 转移至细胞核,与激活转录因子 2(activating transcription factor 2, ATF2)及 c-Jun 的氨基末端区域结合,使其发生磷酸化,调节活化 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T cell, NFAT)、核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)等基因的转录^[13]。非经典 Wnt-PCP(planar cell pathway)通路也可诱导 Rho 和 Rac 激酶,进而激活 JNK 或 Rho 相关蛋白激酶(rho-associated protein kinase, ROCK)^[14]。外源性 Wnt5a 与 Ror1/Ror2 结合,招募鸟嘌呤交换因子(guanine exchange factors, GEF),激活 RhoA 和 Rac1,促进淋巴细胞迁移^[15]。Wnt-mTOR 通路诱导上皮细胞衰老,有助于维持干细胞的遗传完整性,抑制肿瘤形成^[16]。Wnt-Ryk 通路阻断 Ca²⁺依赖性信号,如 CaMKII 和 PKC γ ,减少趋化因子 2 释放,减轻炎症反应并降低神经性疼痛^[17]。值得一提的是,Wnt 的活性主要取决于细胞环境和受体,Wnt1、Wnt2、Wnt3、Wnt3a 和 Wnt8b 主要激活 β -catenin,而 Wnt4、Wnt5a、Wnt5b、Wnt6、Wnt7、Wnt11 主要参与非经典通路。但是越来越多的研究表明经典和非经典通路间存在交叉对话,例如 Wnt-Ca²⁺信号通路激活 PKC,阻断 Dvl 磷酸化,并抑制 LEF/TCF 转录激活,进而调控 VSMC 表型转换^[18]。

Wnt 信号通路在真核生物中广泛存在,对胚胎发育和机体生长至关重要,可调节多种生物学过程,包括细胞增殖、分化和迁移。本团队致力于以 Wnt5a 为代表的非经典通路,发现其参与脂质代谢紊乱、炎症疾病、血管生成、恶性肿瘤的发生发展及转移等生理或病理过程^[19-21]。

2 Wnt 信号通路与胆固醇逆向转运

胆固醇的合成和代谢可分为内源性和外源性

途径。在内源性途径中,胆固醇由肝脏和肝外组织合成,并作为脂蛋白的组分进入循环,或分泌到胆汁中进行代谢;外源性途径中,膳食和胆汁来源的胆固醇被肠道吸收并最终进入循环^[22]。由于缺乏外周胆固醇分解代谢机制,因此细胞内胆固醇的逆向转运和外周胆固醇向肝脏的转运至关重要,可避免胆固醇结晶的累积^[23]。本团队基于研究工作和文献归纳、整理,提出了荷脂细胞胆固醇外向转运的工作模式^[24]:“四个体系、一个中心、偶联转运、网络调控”,即小凹蛋白 1 (Caveolin-1) 胞内转运体系、三磷酸腺苷结合盒转运体 A1 (ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1) 跨膜转运体系、清道夫受体 BI (scavenger receptor-BI, SR-BI) 跨膜转运体系、HDL-载脂蛋白 AI (apolipoprotein AI, ApoAI) 胞外转运体系和小凹 (Caveolae) 转运中心。小凹是细胞胆固醇外向转运的主要部位,其骨架蛋白 Caveolin-1 可将血管内膜沉积的胆固醇转移至 HDL 和 ApoAI, ABCA1 将胆固醇和磷脂转移至 ApoAI, ABCG1 将胆固醇转移至 HDL。SR-BI 和 HDL 之间双向流动介导胆固醇外流。

研究显示 Wnt5a 不仅在 As 病变的富含巨噬细胞区域中高表达,在内皮细胞和平滑肌细胞中也观察到高水平的 Wnt5a mRNA,提示 Wnt5a 在 As 的发生发展中发挥了重要作用^[25]。我们在前期研究中发现用 ox-LDL 处理的 RAW264.7 巨噬细胞和血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 中 Wnt5a 的表达呈时量依赖性增加,而在敲低 Wnt5a 细胞中 Caveolin-1 和 ABCA1 的表达显著降低,提示 Wnt5a 可能通过调节 Caveolin-1 和 ABCA1 以降低荷脂细胞中胆固醇的蓄积^[26]。Wnt5a 还可特异性诱导 ABCG1 的表达,ABCG1 进而通过肝 X 受体/类视黄醇 X 受体 (liver X receptor/retinoid X receptor, LXR/RXR) 异源二聚体从内质网转移至胞膜,促进胆固醇流向 HDL^[27]。此外, Wnt5a 表达上调可抑制胆固醇生物合成并增加胆固醇流出。一方面, Wnt5a 通过与低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (low density lipoprotein receptor-related protein 1, LRP1) 的膜外结构域结合,抑制固醇调节元件结合蛋白 2 (sterol regulatory element-binding protein-2, SREBP-2) 的激活,降低 3-羟基-3-甲基戊二酰基辅酶 A 还原酶 (3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, HMGCR) 的表达,从而阻断胆固醇生物合成。另一方面, Wnt5a 通过 LRP1 细胞质结构域内的 C-末端 NPXY 基序与细胞外调节蛋白激酶 (extracellular

regulated protein kinase 2, ERK2) 结合后,抑制 ERK1/2 磷酸化,进而抑制胞质型磷脂酶 A2 (cytosolic phospholipase A2, cPLA2) 的磷酸化,上调中性胆固醇酯水解酶 1 (neutral cholesterol ester hydrolase 1, nCEH1) 及 ABCA1、ABCG1 的表达,促进胆固醇酯水解,并将游离胆固醇转运至细胞外^[28]。因此, Wnt5a 的双重作用能有效地维持细胞内的胆固醇稳态。

巨噬细胞中 SR-B 的亚型之一 CD36 主要参与脂质摄取,对泡沫细胞的形成至关重要。已有研究证实 ox-LDL 诱导巨噬细胞荷脂后,诱导 Wnt5a 与 FZD5 结合,上调 CD36,加速脂质摄入,促进泡沫细胞形成^[29]。此外,过氧化物酶体增殖物激活型受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 也可调节脂质代谢,抑制巨噬细胞泡沫化,延缓 As 发生。PPAR γ 与 TCF4 的协同作用正向调控 CD36 的表达,增强巨噬细胞中脂筏摄取 ox-LDL 的能力。研究进一步证明粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 可诱导巨噬细胞中 Wnt1 与 FZD1 结合,促使 Wnt1 的 5' 端启动子与配对盒基因 (pair box 3, Pax3) 结合,并募集 β -catenin 和 PPAR γ 至 CD36 启动子区域 DR-1 基序,促进 CD36 转录,使其表达上调^[30]。研究发现 Wnt3a/ β -catenin 经典通路与脂肪形成有关的基因的表达, Wnt3a 与 FZD 的结合对于维持未分化状态下的前脂肪细胞是必需的。因此 β -catenin 在 3T3-L1 前脂肪细胞中高表达,并与 TCF1/LEF1 复合物结合促进 PPAR γ 和 LXR α 基因表达,激活 RCT^[31]。已有研究表明, PPAR γ 介导 LXR α 增加 ABCA1、ABCG1 和 SR-BI 的表达,促进胆固醇流出^[32]。Caveolin 家族成员 (Caveolin-1、Caveolin-2、Caveolin-3) 可作为骨架蛋白将胆固醇、鞘脂和脂质修饰的信号分子聚集于胞膜 Caveolae 区域,转运至细胞膜的脂质再经由 HDL 介导而逆转运回肝脏^[33]。Wnt3a 可上调 Caveolin-1,诱导 Caveolae 将脂筏中的 LRP6 内吞,并募集 GSK-3 β /Axin 复合物与 LRP6 结合,诱导 LRP6 磷酸化,抑制 Axin 与 β -catenin 结合,导致 β -catenin 在胞质中积聚,促进 β -catenin 核转位,进而激活 Wnt/ β -catenin 通路^[34]。

综上, Wnt 家族可通过经典或非经典信号通路影响多种介导 RCT 蛋白的表达 (图 1),其在胆固醇转运及维持细胞内胆固醇的平衡中发挥了不可忽视的作用。

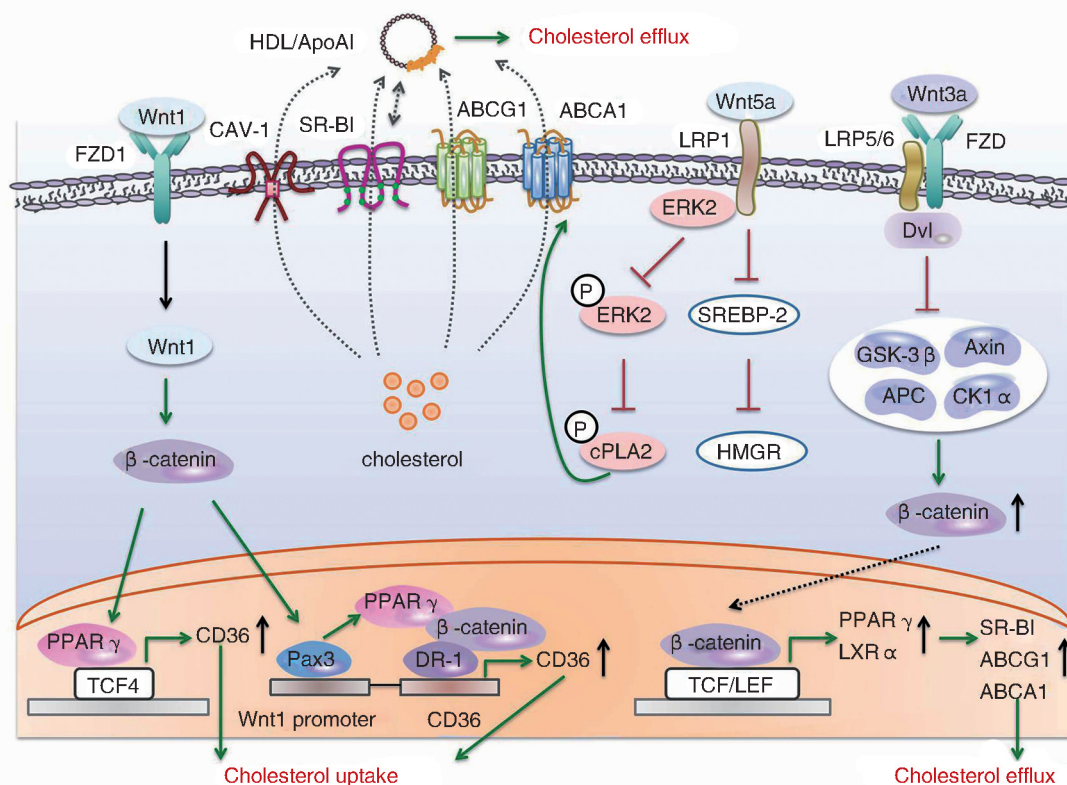


图 1. Wnt 家族通过经典或非经典信号通路对 RCT 的调控作用 Wnt5a 与 LRP1 结合后一方面抑制 ERK2 和 cPLA2 磷酸化,上调 ABCA1;另一方面抑制 SREBP-2,降低 HMGR 的表达。Wnt3a/β-catenin 经典通路通过上调 PPAR γ 和 LXR α 基因的表达,诱导 ABCA1、BCG1 和 SR-BI,促进胆固醇流出。此外,Wnt1 启动子与 Pax3 结合,募集 β-catenin 和 PPAR γ 至 CD36 启动子区域 DR-1 基序,Wnt1 也可介导 PPAR γ 及 TCF4 协同作用,上调 CD36 的表达。

Figure 1. Wnt family regulate RCT through canonical or non-canonical signaling pathways

3 Wnt 信号通路与炎症应答

Ross 提出 As 是慢性炎症性病理改变,炎症细胞浸润和炎症介质的分泌释放是 As 发生发展的关键机制^[35]。本团队曾就 Wnt5a 与炎症反应的相互作用进行综述,阐述了炎症应答可被内皮损伤、氧化应激、修饰脂蛋白(如 ox-LDL)等多种因素诱导,并且受到不同类型细胞间所构成的微环境的影响^[36]。已有研究证实内皮细胞和平滑肌细胞中存在 Wnt5a 表达。Wnt5a 在内皮细胞中可通过诱导 Ryk 信号通路上调白细胞介素 1 α (interleukin-1 α , IL-1 α)、IL-6、IL-8 等,促进炎症发生^[37]。Wnt5a 也是一种巨噬细胞效应分子,其在人和小鼠 As 病变的巨噬细胞富集区域中呈高表达。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ) 诱导巨噬细胞 Wnt5a 的表达增加,激活 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR) 信号传导和转录活化因子 3 (signal transducer and activator of transcription3, STAT3)、IL-6 及 NF- κ B 级联通路^[38]。小鼠颈动脉

结扎损伤后,炎症因子(IL6、IL1 β 和 CCL2)表达显著增加,Wnt5a 信号减少,抑制转录因子如心肌素和 GATA 结合因子 6(GATA-binding factor 6, GATA6)的表达,下调平滑肌收缩蛋白,如 Myh11、Tagln 等,从而阻断 VSMC 由收缩表型转变为合成表型^[39]。因此,Wnt5a 同时被认为是炎症反应的关键调节因子。已证实 Wnt5a-FZD5 通过磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)和脂筏依赖性途径诱导巨噬细胞吞噬作用,增加促炎细胞因子的分泌^[40]。Wnt5a/PCP 通过激活 JNK 促进 IL-6、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 表达,诱发脂肪组织炎症,从而导致全身炎症、肥胖、代谢和心血管并发症等相关疾病的发展^[41]。敲低 Wnt5a 则通过抑制促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)/NF- κ B 通路减少炎症介质分泌,减小斑块大小并增加其稳定性,延缓 As 发生发展^[42]。

血管内皮细胞也是炎症应答的重要参与者,在诱导动脉炎症反应中发挥关键作用。内皮炎症受

Wnt 经典与非经典通路双重调节。内皮活化分为两阶段:包括 I 型非转录激活,主要介导急性炎症应答;II 型转录激活主要介导炎症基因表达^[43]。在炎症起始阶段,血管内皮细胞通过自分泌 Wnt5a,激活非经典 Wnt5a/Ca²⁺ 通路,迅速产生环氧化酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2), 诱发炎症。Wnt5a/Ca²⁺/PKC 通路也可介导 II 型转录激活,激活 NF- κ B 调控下游炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 的转录^[44]。在凝血酶受体活化肽 SFLRN 诱导下内皮细胞分泌 Dickkopf-1 (DKK1), 抑制 Wnt/ β -catenin 通路并增强炎症基因的表达^[45]。Wnt/ β -catenin 通过抑制促炎细胞因子 (TNF- α 、IL-6) 和趋化因子 (IL-8、CXCL2) 减轻内皮细胞和上皮细胞炎症反应^[46]。在 LPS 诱导下, Wnt1 介导 NF- κ B 促进清道夫受体 A (scavenger receptor A, SRA) 表达, 分泌 IL-6、TNF- α 和诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 等因子, 进而诱发炎症反应^[47]。Wnt/ β -catenin 还可通过 TLR-4/NLRP-3 促进 CCL-2、IL-17A、IL-1 β 、CXCL1 和细胞间黏附分子 1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 的表达, 增强炎症应答^[48]。

综上, Wnt 信号通路在炎症应答中发挥了双刃剑的作用。既可通过 Wnt 非经典通路引发促炎信号级联并增加促炎细胞因子和趋化因子的分泌, 启动炎症反应, 又可通过 Wnt/ β -catenin 经典通路抑制炎症应答。

4 Wnt 信号通路介导胆固醇逆向转运与炎症应答的交互作用

游离脂肪酸、ox-LDL、脂多糖等代谢产物常会诱发慢性炎症反应, 其参与并促进 As 病程进展。在早期阶段, 巨噬细胞通过膜受体如 SRA 和 CD36 吞噬 ox-LDL, 诱导 IL-1 β 和 TNF- α 释放, 转变成泡沫细胞^[49]。巨噬细胞也可吞噬胆固醇晶体, 激活 NLRP3 炎症小体, 并促进 IL-1 β 分泌, 削弱胆固醇逆向转运能力, 导致巨噬细胞源性泡沫细胞形成^[50]。促炎因子进而诱导 VSMC 从正常分化的收缩表型转变为激活的“合成”状态。合成型 VSMC 从动脉中膜迁移到内膜并增殖, 吞噬 ox-LDL 后再次分泌促炎因子, 并加剧炎症应答^[51]。反之, 激活巨噬细胞中的 NF- κ B 可通过调节 SREBP-2 减少 ABCA1 和 ABCG1 的表达, 抑制 RCT^[52]。有学者认为胆固醇本身就是一种炎症因子, 当血管壁内膜细胞荷脂过多时, 胆固醇通过 ABCA1、ABCG1 和 SR-BI 转运至 HDL 或

ApoAI 流出细胞, 引发持续性炎症反应, 形成炎症微环境^[53]。

研究发现 LDL 受体家族参与脂蛋白转运和血浆 LDL 清除, 调节 As 进展的关键环节, 包括脂质沉积, 炎症浸润, 内皮损伤和泡沫细胞形成^[54]。LRP1 作为 LDL 受体家族中的一员, 属于内吞性跨膜蛋白, 通过诱导 Wnt/ β -catenin 通路抑制促炎分子 ICAM-1、缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 等的表达^[55]。在 ox-LDL 诱导的巨噬细胞中, Wnt5a 与 LRP1 结合, 诱导 LRP1 磷酸化, 上调 PI3K/AKT 和 PPAR γ /LXR 诱导的 ABCA1 表达, 调节细胞质膜胆固醇含量和膜结构, 尤其是脂筏的形成^[56]。Wnt5a 通过介导 FZD3/G α s/cAMP/PKA 信号通路诱导 ABCA1 丝氨酸磷酸化, 促进细胞内磷脂和胆固醇流出, 也可上调 STAT3 抑制巨噬细胞产生炎性细胞因子 (IL-1 β 、IL-6、TNF- α)^[57-59]。LPS 激活 TLR4/NF- κ B 途径, 促进炎性细胞因子释放, 抑制 Wnt3a/ β -catenin 通路^[60]。在炎症或荷脂的状态下, LRP1 与脂筏中 Src 家族激酶的结合有利于 LRP1 磷酸化, 促进 ABCA1 表达, 加速细胞内胆固醇流出。在 ox-LDL 和 β -淀粉样蛋白刺激的巨噬细胞中, ABCA1 将 TLR4 和 TLR6 运输至脂筏, 与 ox-LDL、CD36 结合形成复合物, 募集髓样分化因子 (myeloid differentiation factor 88, MyD88), 从而引发炎症^[61]。MyD88 激活 NF- κ B 抑制蛋白激酶 (inhibitor of NF- κ B kinase, IKK) 后, 磷酸化并降解 NF- κ B 抑制蛋白 α (inhibitor of NF- κ B- α , I κ B- α), 抑制 GSK3- β 和 APC 活性, 导致胞质 β -catenin 积累, 上调 β -catenin/TCF/LEF, 调节 Wnt/ β -catenin 信号通路^[62]。高胆固醇血症的野生型小鼠体内循环白细胞中的胆固醇水平与 Wnt 基因表达呈正相关。给予植物甾醇酯 (phytosterol ester, PSE) 后, 野生型小鼠血浆胆固醇水平降低, 下调 Wnt/ β -catenin 通路中关键分子 (LRP5、 β -catenin、LEF1) 的表达, 激活 ABCG5 和 ABCG8, 促进 RCT; 而在高胆固醇血症 LRP5^{-/-} 小鼠中 Wnt/ β -catenin 通路被抑制, 促炎基因如 IL-1 β 、TNF- α 及 TGF- β 的表达增加^[63]。ApoE 是一种多态性蛋白, 参与脂蛋白的转化与代谢过程。ApoE4 可通过与 LRP1 相互作用, 诱导 GSK-3 β 活性, 抑制 Wnt7a/ β -catenin 信号通路^[64]。缺乏 LRP1 和 ApoE 的小鼠则表现出严重的高胆固醇血症, 脂肪耐受性受损和晚期 As^[65]。

尽管血脂异常和炎症是 As 形成的独立危险因素, 但 RCT 与炎症反应之间的相互作用对 As 的发展具有直接影响。脂质代谢紊乱可以诱导炎症反

应。反之亦然,炎症刺激物(如LPS)可诱导脂蛋白代谢所致As病变。因此,荷脂细胞中RCT的能力及炎症应答是决定As病变的关键因素。

5 展望

As的两个主要病理改变是动脉壁过量胆固醇沉积和炎症反应。炎性细胞浸润和脂质积聚也是晚期斑块易损性的危险因素。大量研究均显示了As发生发展过程中RCT和炎症应答的交互作用。脂质代谢紊乱是As形成的必要条件,炎症是As形成的充分条件,两者相互协调,交叉影响。Wnt家族介导的RCT及炎症应答的作用可发生在As斑块形成的不同阶段中,并受到研究的细胞类型、与之结

合的受体类型以及细胞或机体本身所存在的微环境不同的影响。虽然目前已有许多研究Wnt家族通过经典和非经典通路介导RCT及炎症应答的交互作用(图2),但不同情况下Wnt家族调控RCT及炎症应答的具体机制尚未完全阐明,在未来研究中可通过CRISPR/CAS9系统或小干扰RNA进行全基因组筛选,并与不同细胞类型(内皮细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞等)中的蛋白质相互作用网络结合,从而深入了解Wnt信号与受体结合后,其上下游分子的修饰改变,在信号转导过程中建立实时蛋白质相互作用和空间定位。因此,通过Wnt家族成员协调RCT及炎症应答可作为减少As斑块受损和降低急性心血管事件发生率的新策略,有望为As防治和药物开发提供重要的靶点。

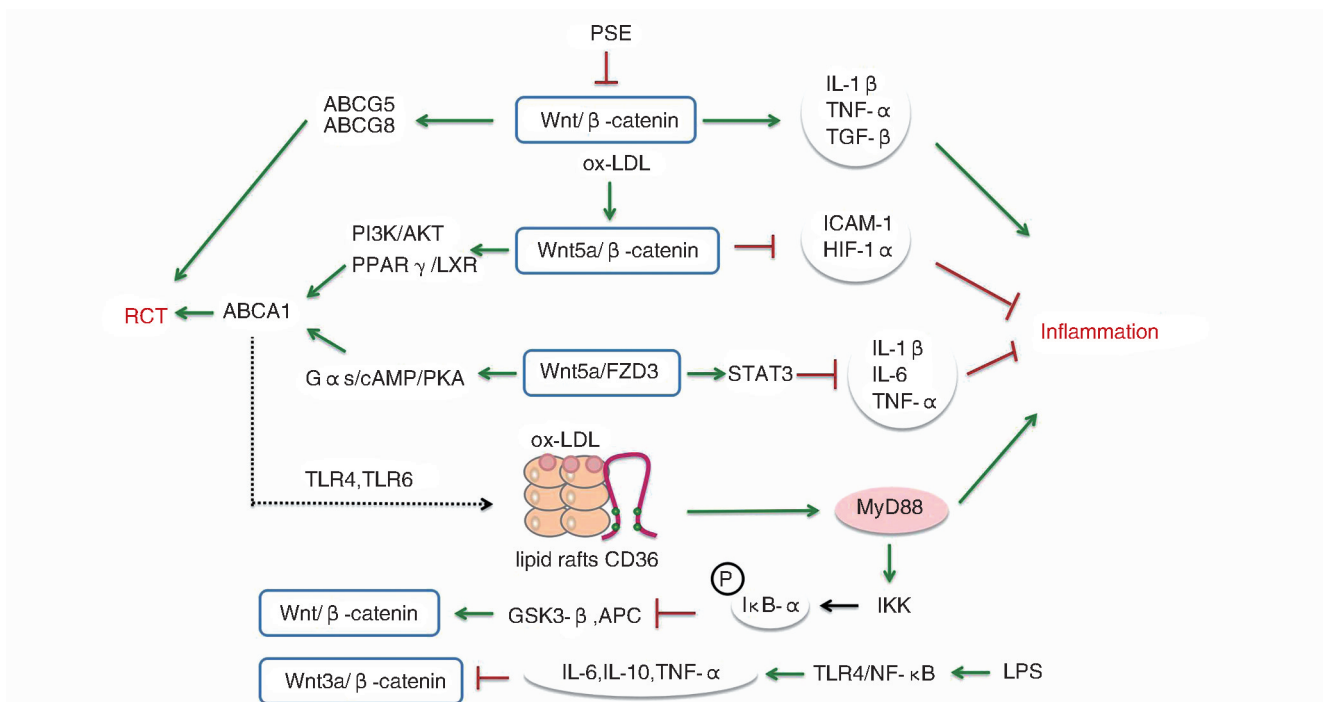


图2. Wnt信号通路介导RCT及炎症应答的交互作用 植物甾醇酯(phytosterol esters, PSE)抑制Wnt/β-catenin激活ABCG5和ABCG8,促进胆固醇逆向转运,并增加IL-1β、TNF-α、TGF-β的表达。ox-LDL诱导Wnt5a/β-catenin一方面促进PI3K/AKT和PPARγ/LXR上调ABCA1表达,激活RCT;另一方面降低ICAM-1、HIF-1α的表达从而抑制炎症应答。Wnt5a调控FZD3/Gαs/cAMP/PKA通路,诱导ABCA1磷酸化,促进RCT,并介导STAT3抑制IL-1β、IL-6和TNF-α的分泌。此外,ABCA1可将TLR4和TLR6转运至脂筏,与ox-LDL、CD36结合后募集MyD88,引发炎症反应。MyD88可通过激活IKK调节Wnt/β-catenin通路。此外,LPS诱导的炎症应答也可抑制Wnt5a/β-catenin通路。

Figure 2. Crosstalk between RCT and inflammatory response mediated by Wnt signaling pathway

[参考文献]

- [1] Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al. Heart disease and stroke statistics-2017 update: A Report From the American Heart Association[J]. Circulation, 2017, 135(10): e146-e603.
- [2] Viola J, Soehnlein O. Atherosclerosis--A matter of unresolved inflammation[J]. Semin Immunol, 2015, 27(3): 84-193.
- [3] Favari E, Chroni A, Tietge UJ, et al. Cholesterol efflux and reverse cholesterol transport[J]. Handb Exp Pharmacol, 2015, 224(7): 181-206.
- [4] Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword[J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6(7): 508-519.
- [5] Bennett MR, Sinha S. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis[J]. Circ Res, 2016, 118(4): 692-702.
- [6] Pashirzad M, Shafiee M, Rahmani F, et al. Role of Wnt5a in the

- pathogenesis of inflammatory diseases [J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(7): 1611-1616.
- [7] Deak II. Thoracic duplications in the mutant wingless of *Drosophila* and their effect on muscles and nerves [J]. *Dev Biol*, 1978, 66(2): 422-441.
- [8] Nusse R, Brown A, Papkoff J, et al. A new nomenclature for int-1 and related genes: the Wnt gene family [J]. *Cell*, 1991, 64(2): 231.
- [9] Ke J, Xu HE. Lipid modification in Wnt structure and function [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2013, 24(2): 129-133.
- [10] Niehrs C. The complex world of WNT receptor signaling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(12): 767-779.
- [11] Pai SG, Carneiro BA, Mota JM, et al. Wnt/beta-catenin pathway: modulating anticancer immune response [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 101.
- [12] Huang L, Jin Y, Feng S, et al. Role of Wnt/ β -catenin, Wnt/c-Jun N-terminal kinase and Wnt/Cap pathways in cisplatin-induced chemoresistance in ovarian cancer [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(6): 3851-3858.
- [13] Lawrence MC, Naziruddin B, Levy MF, et al. Calcineurin/nuclear factor of activated T cells and MAPK signaling induce TNF- α gene expression in pancreatic islet endocrine cells [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(2): 1025-1036.
- [14] Vivancos V, Chen P, Spassky N, et al. Wnt activity guides facial branchiomotor neuron migration, and involves the PCP pathway and JNK and ROCK kinases [J]. *Neural Dev*, 2009, 4: 7.
- [15] Yu J, Chen L, Cui B, et al. Wnt5a induces ROR1/ROR2 heterooligomerization to enhance leukemia chemotaxis and proliferation [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(2): 585-598.
- [16] Castilho RM, Squarize CH, Chodosh LA, et al. mTOR mediates Wnt-induced epidermal stem cell exhaustion and aging [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 5(3): 279-289.
- [17] Yang QO, Yang WJ, Li J, et al. Ryk receptors on unmyelinated nerve fibers mediate excitatory synaptic transmission and CCL2 release during neuropathic pain induced by peripheral nerve injury [J]. *Mol Pain*, 2017, 13: 1744806917709372.
- [18] Thrassivoulou C, Millar M. Activation of intracellular calcium by multiple Wnt ligands and translocation of β -catenin into the nucleus: a convergent model of Wnt/ Ca^{2+} and Wnt/ β -catenin pathways [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(50): 35651-35659.
- [19] Shi YN, Zhu N, Liu C, et al. Wnt5a and its signaling pathway in angiogenesis [J]. *Clin Chim Acta*, 2017, 471: 263-269.
- [20] Zhu N, Qin L, Luo Z, et al. Challenging role of Wnt5a and its signaling pathway in cancer metastasis (Review) [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(1): 3-8.
- [21] Qin L, Yin YT, Zheng FJ, et al. WNT5A promotes stemness characteristics in nasopharyngeal carcinoma cells leading to metastasis and tumorigenesis [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(12): 10239-10252.
- [22] Shepherd J. The role of the exogenous pathway in hypercholesterolaemia [J]. *Eur Hear J Suppl*, 2001, 3: 2-5.
- [23] Phillips MC. Molecular mechanisms of cellular cholesterol efflux [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(35): 24020-24029.
- [24] Luo DX, Cao DL, Xiong Y, et al. A novel model of cholesterol efflux from lipid-loaded cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(10): 1243-1257.
- [25] Christman MA, Goetz DJ, Dickerson E, et al. Wnt5a is expressed in murine and human atherosclerotic lesions [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294(6): H2864-H2870.
- [26] Qin L, Hu R, Zhu N, et al. The novel role and underlying mechanism of Wnt5a in regulating cellular cholesterol accumulation [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2014, 41(9): 671-678.
- [27] Tarling EJ. Dancing with the sterols: critical roles for ABCG1, ABCA1, miRNAs, and nuclear and cell surface receptors in controlling cellular sterol homeostasis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1821(3): 386-395.
- [28] El Asmar Z, Terrand J, Jenty M, et al. Convergent signaling pathways controlled by LRP1 (receptor-related protein 1) cytoplasmic and extracellular domains limit cellular cholesterol accumulation [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(10): 5116-5127.
- [29] Ackers I, Szymanski C, Duckett KJ, et al. Blocking Wnt5a signaling decreases CD36 expression and foam cell formation in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2018, 34: 1-8.
- [30] Wang S, Sun Z, Zhang X, et al. Wnt1 positively regulates CD36 expression via TCF4 and PPAR- γ in macrophages [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(4): 1289-1302.
- [31] Rajan S, Puri S, Kumar D, et al. Novel indole and triazole based hybrid molecules exhibit potent anti-adipogenic and antidyslipidemic activity by activating Wnt3a/ β -catenin pathway [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 143: 1345-1360.
- [32] Jiang T, Ren K, Chen Q, et al. Leonurine prevents atherosclerosis via promoting the expression of ABCA1 and ABCG1 in a PPAR γ /LXR α signaling pathway-dependent manner [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(4): 1703-1717.
- [33] 廖端芳, 覃丽. 小凹及小凹蛋白 1: 胆固醇逆向转运与炎症应答的共同分子平台 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(5): 385-392.
- [34] Yamamoto H, Komekado H, Kikuchi A. Caveolin is necessary for Wnt-3a-dependent internalization of LRP6 and accumulation of beta-catenin [J]. *Dev Cell*, 2006, 11(2): 213-223.
- [35] Ross R. Atherosclerosis is an inflammatory disease [J]. *Am Heart J*, 1999, 138 (5Pt2): S419-S420.
- [36] 刘征, 吴洪涛, 倪亚光, 等. Wnt5a 与炎症信号在炎症性疾病中的交叉互动 [J]. *生理学报*, 2015, 67(4): 437-445.
- [37] Skaria T. Inflammatory Wnt5A signaling pathways affecting barrier function of human vascular endothelial cells [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2017, 14: 15.
- [38] Zhao C, Ma H, Bu X, et al. SFRP5 inhibits gastric epithelial cell migration induced by macrophage-derived Wnt5a [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(1): 146-152.
- [39] Herring BP, Hoggatt AM, Griffith SL, et al. Inflammation and vascular smooth muscle cell dedifferentiation following carotid artery ligation [J]. *Physiol Genomics*, 2017, 49(3): 115-126.
- [40] Maiti G, Naskar D. The Wingless homolog Wnt5a stimulates phagocytosis but not bacterial killing [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(41): 16600-16605.
- [41] Zuriaga MA, Fuster JJ, Farb MG, et al. Activation of non-canonical

- Wnt signaling in human visceral adipose tissue contributes to local and systemic inflammation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 17326.
- [42] Yang L, Chu Y, Wang Y, et al. siRNA-mediated silencing of Wnt5a regulates inflammatory responses in atherosclerosis through the MAPK/NF- κ B pathways[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(4): 1147-1152.
- [43] Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(10): 803-815.
- [44] Kim J, Kim J, Kim DW, et al. Wnt5a induces endothelial inflammation via beta-catenin-independent signaling [J]. *J Immunol*, 2010, 185(2): 1274-1282.
- [45] Ueland T, Otterdal K, Lekva T, et al. Dickkopf-1 enhances inflammatory interaction between platelets and endothelial cells and shows increased expression in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(8): 1228-1234.
- [46] Fang Y, Kang Y, Zou H, et al. β -elemene attenuates macrophage activation and proinflammatory factor production via crosstalk with Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Fitoterapia*, 2018, 124: 92-102.
- [47] Zhao W, Sun Z, Wang S, et al. Wnt1 participates in inflammation induced by lipopolysaccharide through upregulating scavenger receptor A and NF- κ B [J]. *Inflammation*, 2015, 38(4): 1700-1706.
- [48] Wong DWL, Yiu WH, Chan KW, et al. Activated renal tubular Wnt/ β -catenin signaling triggers renal inflammation during overload proteinuria[J]. *Kidney Int*, 2018, 93(6): 1367-1383.
- [49] Stewart CR, Stuart LM, Wilkinson K, et al. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(2): 155-161.
- [50] Castro-Alves VC. α - and β -d-Glucans from the edible mushroom *Pleurotus albidus* differentially regulate lipid-induced inflammation and foam cell formation in human macrophage-like THP-1 cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 111: 1222-1228.
- [51] Autieri MV. IL-19 and other IL-20 family member cytokines in vascular inflammatory diseases[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 700.
- [52] Zhao GJ, Tang SL, Lv YC, et al. NF- κ B suppresses the expression of ATP-binding cassette transporter A1/G1 by regulating SREBP-2 and miR-33a in mice[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 171(3): e93-e95.
- [53] Hu J, Luo T, Xi D, et al. Silencing ZAP70 prevents HSP65-induced reverse cholesterol transport and NF- κ B activation in T cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 102: 271-277.
- [54] Go GW, Mani A. Low-density lipoprotein receptor (LDLR) family orchestrates cholesterol homeostasis [J]. *Yale J Biol Med*, 2012, 85(1): 19-28.
- [55] Hossain A, Tauhid L, Davenport I, et al. LRP-1 pathway targeted inhibition of vascular abnormalities in the retina of diabetic mice [J]. *Curr Eye Res*, 2017, 42(4): 640-647.
- [56] Xian X, Ding Y, Dieckmann M, et al. LRP1 integrates murine macrophage cholesterol homeostasis and inflammatory responses in atherosclerosis[J]. *Elife*, 2017, 6: e29292.
- [57] Hansen C, Howlin J, Tengholm A, et al. Wnt-5a-induced phosphorylation of DARPP-32 inhibits breast cancer cell migration in a CREB-dependent manner [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(40): 27533-27543.
- [58] Hu YW, Ma X, Li XX, et al. Eicosapentaenoic acid reduces ABCA1 serine phosphorylation and impairs ABCA1-dependent cholesterol efflux through cyclic AMP/protein kinase A signaling pathway in THP-1 macrophage-derived foam cells [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 204(2): e35-e43.
- [59] Tang C, Houston BA, Storey C. Both STAT3 activation and cholesterol efflux contribute to the anti-inflammatory effect of apoA-I/ABCA1 interaction in macrophages[J]. *J Lipid Res*, 2016, 57(5): 848-857.
- [60] Pei J, Fan L, Nan K, et al. Excessive activation of TLR4/NF- κ B interactively suppresses the canonical Wnt/ β -catenin pathway and induces SANFH in SD rats[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11928.
- [61] Ito A, Hong C, Rong X, et al. LXRs link metabolism to inflammation through Abca1-dependent regulation of membrane composition and TLR signaling[J]. *ELife*, 2015, 4: e08009.
- [62] Ma B, Hottiger MO. Crosstalk between Wnt/ β -catenin and NF- κ B signaling pathway during inflammation[J]. *Front Immun*, 2016, 7: 378.
- [63] Borrell-Pages M, Carolina Romero J. LRP5 and plasma cholesterol levels modulate the canonical Wnt pathway in peripheral blood leukocytes[J]. *Immunol Cell Biol*, 2015, 93(7): 653-661.
- [64] Caruso A, Motolese M, Iacovelli L, et al. Inhibition of the canonical Wnt signaling pathway by apolipoprotein E4 in PC12 cells[J]. *J Neurochem*, 2006, 98(2): 364-371.
- [65] Magoori K, Kang MJ, Ito MR, et al. Severe hypercholesterolemia, impaired fat tolerance, and advanced atherosclerosis in mice lacking both low density lipoprotein receptor-related protein 5 and apolipoprotein E[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(13): 11331-11336.

(此文编辑 文玉珊)