

高脂血症、单核细胞亚型与动脉粥样硬化

彭雪英^{1,2}, 武怀珠³, 王敏杰^{1,4}, 朱海波¹

(1. 天然药物活性物质与功能国家重点实验室 新药作用机制研究与药效学评价北京重点实验室 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所, 北京市 100050; 2. 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院药学部, 浙江省杭州市 310006; 3. 美国贝勒医学院医学部心血管研究室, 德克萨斯州休斯顿市 77030; 4. 内蒙古医科大学基础医学院 药物筛选中心与新药安全评价和研究中心, 内蒙古呼和浩特市 010110)

[关键词] 高脂血症; 单核细胞亚型; 动脉粥样硬化; 巡逻; 脂质吞噬

[摘要] 单核细胞是天然免疫的重要组成部分,在血管炎症和动脉粥样硬化(As)中发挥重要作用。高脂血症可加速心血管疾病,尤其是As的进展。高脂血症时,循环单核细胞能吸收脂质,形成泡沫状单核细胞,改变表型,可能有助于动脉粥样硬化的发展。长期以来,单核细胞及其不同亚型对高脂血症的响应和对As的作用一直是人们研究的热点。本文探讨了人和小鼠的单核细胞亚型特点,高脂血症对单核细胞的影响,以及单核细胞对As的作用等,重点介绍了单核细胞通过脂质吞噬、泡沫细胞形成、巡逻以及迁移入斑块等途径影响As进程的研究进展。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

Hyperlipidemia, monocyte subtypes and atherosclerosis

PENG Xueying^{1,2}, WU Huaizhu³, WANG Minjie^{1,4}, ZHU Haibo¹

(1. State Key Laboratory for Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines & Beijing Key Laboratory of New Drug Mechanisms and Pharmacological Evaluation Study & Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Department of Clinical Pharmacy, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310006, China; 3. Section of Cardiovascular Research, Department of Medicine, Baylor College of Medicine, Houston, Texas 77030, United States; 4. Center for Drug Screening and Center for New Drug Safety Evaluation and Research, School of Basic Medical Sciences, Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia 010110, China)

[KEY WORDS] hyperlipidemia; monocyte subtype; atherosclerosis; patrolling; lipidphagocytosis

[ABSTRACT] Monocytes are important mediators of the innate immunity and play crucial roles in various inflammatory diseases, including vascular inflammation and atherosclerosis (As). Hyperlipidemia can accelerate cardiovascular disease progression, especially As. Under hyperlipidemia, circulating monocytes can take up lipids, become foamy monocytes and change phenotypes, which may contribute to development of As. For a long time, the response of monocytes and their different subtypes to hyperlipidemia and the effect on As have been the focus of research. This paper discusses the characteristics of monocyte subtypes in human and mice, the effects of hyperlipidemia on monocytes, and the effects of monocytes on As, and focuses on the research progress of monocytes affecting As process through lipid phagocytosis, foam cell formation, patrolling and migration into plaques.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是由多因素导致的一种慢性炎症疾病,是引起冠状动脉疾病、脑血管疾病和外周动脉疾病的主要原因之一,而As

性心血管疾病的发病率和死亡率也常年居首位。

高脂血症是As的重要风险因子,探究高脂血症诱导As的发生机制,预防心血管事件的发生,是目

[收稿日期] 2019-08-10

[修回日期] 2020-01-07

[基金项目] 国家自然科学基金重大研究计划培育项目(91539126);中国医学科学院医学与健康科技创新工程重大协同创新项目(2016-I2M-1-009);国家科技重大专项-重大新药创制(2018ZX09711001-003-011);国家自然科学基金青年科学基金项目(81703511)

[作者简介] 彭雪英,博士,药师,研究方向为脂质代谢与动脉粥样硬化,E-mail为 pengxy1991@126.com。通信作者朱海波,博士,研究员,教授,研究方向为动脉粥样硬化相关疾病新药靶的发现和药物研发,E-mail为 zhuhaibo@imm.ac.cn。

前心血管领域的研究热点。传统研究认为,在 As 发生早期高脂血症可以通过多种途径损伤血管内皮,导致内皮激活并分泌炎症因子和趋化因子,进而诱导单核细胞黏附侵入内皮分化为巨噬细胞;巨噬细胞在斑块内吞噬脂质的同时进一步产生细胞因子和趋化因子,转变为泡沫细胞,促进斑块生成^[1-2]。然而,近期研究认为循环血中单核细胞在 As 早期也可以吞噬循环血中脂蛋白,变为泡沫单核细胞并迁移至内皮促进斑块的生成^[3]。由此可见,单核细胞及其衍生的巨噬细胞在 As 早期对血管内异物的清理、斑块的形成及血管硬化等环节具有重要作用^[3]。近年来,随着实验技术手段的发展,人们发现单核细胞的不同亚型及功能对 As 的作用不尽相同。本文将综述单核细胞亚型、高脂血症对单核细胞亚型的影响以及单核细胞对 As 的作用等方面的研究进展。

1 单核细胞亚型

循环血中单核细胞约占白细胞总数的 10%,是人体免疫系统的重要组成部分。正常生理条件下,单核细胞存在于骨髓、血液和脾脏内^[4]。血液单核细胞主要来源于骨髓前体细胞,由骨髓分泌进入循环血,在血液中短期存留且不具有增殖功能。当机体出现炎症时,单核细胞从血液迁移到组织,发挥

吞噬功能,并产生炎症因子,进而分化为组织巨噬细胞和树突状细胞^[5]。

人外周血单核细胞具有异质性,不同亚型的单核细胞在大小、形态、功能等方面存在巨大的差异(表 1)。人单核细胞为白细胞抗原阳性细胞,根据其表面标志物脂多糖受体 CD14 和 Fc γ III 受体 CD16,分为 CD14⁺⁺CD16⁻经典型、CD14⁺/CD16⁺中间型和 CD14^{dim}/CD16⁺非经典型(表 1)^[5]。经典型单核细胞(classical monocyte, cM)是最早被人们熟知的单核细胞,约占循环血单核细胞数量的 85%~90%。cM 高表达趋化因子受体 2(CC chemokine receptor 2, CCR2),低表达趋化因子 CX3C 受体 1(chemokine CX3C receptor 1, CX3CR1)^[6],其中 CCR2 通过与趋化因子配体(C-C motif chemokine ligand, CCL)如 CCL2、CCL7 和 CCL12 作用调控单核细胞的黏附迁移功能^[7],产生炎症因子白细胞介素 10(interleukin-10, IL-10)。非经典型单核细胞(non-classical monocyte, nM)报道较晚,约占总单核细胞数的 10%,低表达 CCR2,但高表达 CX3CR1,与迁移至炎症内皮部位有关。中间型单核细胞(intermediate monocyte, iM)是 cM 到 nM 的一个中间状态,约占 5%,与 cM、nM 在基因水平和表面标志物表达上有相似性,脂多糖刺激时会同时释放促炎因子和抗炎因子^[6]。

表 1. 单核细胞亚型、表面标志物及在 As 中的作用

Table 1. Markers and role of monocyte subtypes in atherosclerosis

项目	表面标志物	其他标志物	主要作用	
人	cM	CD14 ⁺⁺ /CD16 ⁻	CX3CR1 ^{low} CCR2 ^{high}	释放 IL-10;高吞噬能力
	iM	CD14 ⁺ /CD16 ⁺	CX3CR1 ^{low} CCR2 ^{int}	释放促炎因子和抗炎因子;高内皮黏附能力
	nM	CD14 ^{dim} /CD16 ⁺	CX3CR1 ^{high} CCR2 ^{low}	释放促炎因子;内皮巡逻
小鼠	cM	Ly6C ^{high}	CX3CR1 ^{low} CCR2 ^{high}	大多分化为 M1 型巨噬细胞;迁移入动脉斑块
	iM	Ly6C ^{int}	CX3CR1 ^{low} CCR2 ^{high}	目前尚不明确
	nM	Ly6C ^{low}	CX3CR1 ^{high} CCR2 ^{low}	大多分化为 M2 型巨噬细胞迁移入动脉斑块;内皮巡逻

小鼠单核细胞可根据表面淋巴细胞抗原 6C(Ly6C)的表达水平高低分为 3 类:Ly6C^{high} 经典型、Ly6C^{int} 中间型和 Ly6C^{low} 非经典型(表 1)^[5]。Ly6C^{high} 单核细胞稳定表达细胞黏附分子 CD62, Ly6C^{low} 单核细胞不表达 CD62,但表达整合素家族黏附蛋白 CD11c^[5]。除了 Ly6C^{high} 经典型和 Ly6C^{low} 非经典型之外,在小鼠中可能存在第 3 类单核细胞即 Ly6C^{int} 中间型。iM 可能处于 Ly6C^{high} 到 Ly6C^{low}

转变的一个过渡阶段,也表达 CD11c^[8],具有促炎特性^[7]。目前该群细胞在 As 发展过程中的作用研究较少,因此本文暂不讨论该类亚型。有研究显示小鼠 nM 由血液或者是骨髓中的 cM 转化而来,或是来源于独立的骨髓前体。nM 分化受孤核受体 NR4A1 和 C/EBP 调控,小鼠 NR4A1 或 C/EBP 敲除之后该群细胞消失^[9]。

人与小鼠的转录组对比研究发现,小鼠 Ly6C^{high}

单核细胞与人经典型单核细胞 $CD14^{++}CD16^{-}$ 亚型有很高的功能相似性,而 $Ly6C^{low}$ 则与 $CD14^{dim}/CD16^{+}$ 非经典型相似。例如,人单核细胞普遍表达人类白细胞抗原,而小鼠外周血只有部分单核细胞表达 MHCII。不同种属中 cM 与 nM 的比例不同^[9]。此外,单核细胞的表型随着外界刺激的变化可以相互转化。普遍认为,在人和小鼠的骨髓前体细胞迁移进入循环血后,部分 cM 转化为 nM,该过程在骨髓中也有发生。而 iM 为两者之间的过渡状态,兼具两者的表型与功能,在不同种属中具有各自特性。不同种类的单核细胞均可迁移进入内皮转化为相应的巨噬细胞或树突状细胞,而巨噬细胞的亚型在组织中随着不同刺激也存在相互转化(图 1)^[5]。在 As 不同阶段,单核细胞向巨噬细胞或树突状细胞转化可能不同,且单核细胞如何具体转化为巨噬细胞

或树突状细胞目前也尚不明确,此外,组织中不同种类的细胞对 As 的贡献也是目前研究的热点^[10]。

早期文献报道小鼠 $Ly6C^{high}$ 经典型在循环血中易于聚集在炎症部位,被认为是炎性单核细胞^[11], $Ly6C^{low}$ 非经典型在血管内皮起到巡逻作用,被称为巡逻或滚动单核细胞。Auffray 等^[12]于 2007 年首次报道 $Ly6C^{low}$ 非经典型在 As 过程中也起到促进作用。小鼠的 $Ly6C^{low}$ 非经典型与人 $CD16^{+}$ 中间型/非经典型单核细胞分型类似,均表达水平较高的炎症标志物且具有更强的黏附能力^[13]。然而,对单核细胞亚型分类和功能的研究多基于健康生理状态,在病理情况下单核细胞亚型及其变化的研究较少。近期有学者提出 nM 可以通过感受循环脂代谢异常,同样表现出促炎症功能,进而加剧 As 等疾病的炎症反应^[12,14-15]。

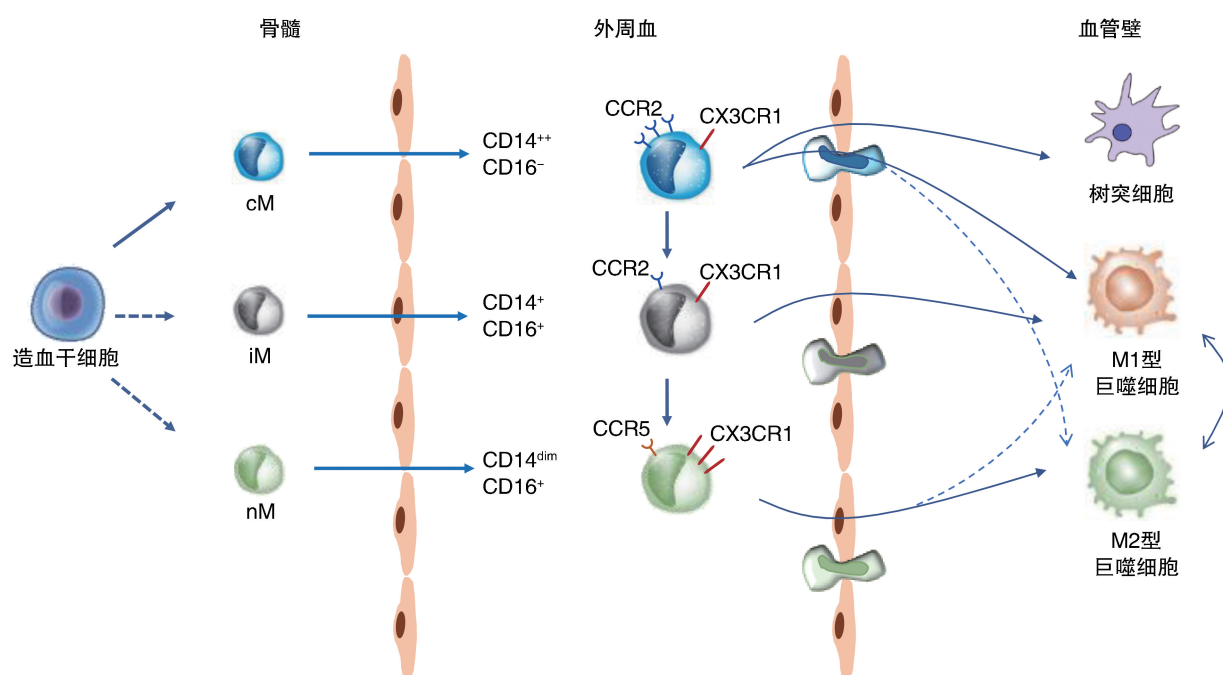


图 1. 单核细胞发展与分化

Figure 1. Monocyte development and differentiation

2 血脂紊乱对单核细胞的影响

血脂异常的主要表现是血浆胆固醇/低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)或甘油三酯/极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)水平升高。高脂血症在早期动脉斑块形成过程中起重要作用,免疫系统的炎性介质作用于功能失调的动脉内皮表面,与修饰的脂蛋白相互作用加剧血管炎症。在饮食诱导的高脂模型和转基因

小鼠模型中,均发现单核细胞增多,且动脉斑块大小与单核细胞亚型数量呈正相关^[16]。因此,白细胞数量增多尤其是单核细胞数量的增多,会增加心血管疾病风险。

大量研究表明,高胆固醇血症会促进单核细胞亚型数量和表型改变,其显著特征是循环血中 LDLC 升高,血管内大量泡沫单核细胞堆积,细胞表面 CCR2 的表达水平线性升高,加速 As,引起早发冠心病^[17]。而通过治疗后,患者血浆 LDLC 水平降

低(约50%),单核细胞内脂质堆积减少,CCR2水平降低,细胞迁移能力下降,对As起到缓解作用^[18]。高胆固醇血症患者同时伴随高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)胆固醇及小粒径HDL等水平的改变,nM与血浆高密度脂蛋白胆固醇水平呈负相关,与小粒径HDL呈正相关,而cM则与nM变化相反。因此,血浆脂蛋白水平会同时影响单核细胞亚型的数量与蛋白表达。

普遍认为高胆固醇血症引起循环血单核细胞数量增多的原因之一是胆固醇诱导普通髓系祖细胞、粒细胞和巨噬细胞祖细胞增殖,从而加速单核细胞生成。载脂蛋白E基因敲除(apolipoprotein E gene knocked-out, ApoE^{-/-})小鼠给予高脂膳食后,白细胞和中性粒细胞的增多与造血干细胞的增殖有关^[17,19],而高脂诱导ApoA1^{-/-}小鼠并未出现单核细胞增多症,进一步研究发现在ApoA1^{-/-}小鼠中,造血干细胞表面脂蛋白ApoE能通过三磷酸腺苷结合盒转运体A1(ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)和ABCG1促进胆固醇外流,减少细胞增殖^[19]。ABCA1^{-/-} ABCG1^{-/-}小鼠细胞胆固醇外流受抑制,干细胞和祖细胞急剧增加,白细胞增多^[20]。而过表达小鼠ApoA1基因,逆转小鼠胆固醇外流缺陷后,骨髓增生现象消失^[20]。因此,ABCA1、ABCG1和HDL可以通过抑制造血干细胞和多潜能祖细胞的增殖,从而抑制白细胞增多,抑制As发展。

甘油三酯是血脂的另一重要成分,近年来的研究逐渐认识到甘油三酯是心血管事件的一个独立危险因素。流行病学研究报告认为血浆甘油三酯水平与冠心病风险之间呈正相关,降低血浆的LDLC水平后,高甘油三酯血症患者依然存在心血管病风险。研究发现,原发性高甘油三酯血症患者,其cM和iM的整合素CD11b和CD18表达水平明显高于对照组,且iM的CD11c水平显著升高^[21]。餐后高甘油三酯是进食后短暂出现的甘油三酯升高现象,此时外周血单核细胞数量上升,iM和nM表达CD11c水平高于cM^[22-23],并且上调内皮黏附因子如细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)和血管细胞黏附分子1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1),促进单核细胞的黏附^[24]。另外,空腹或者餐后状态给予n-3多不饱和脂肪酸会降低血浆甘油三酯水平,同时减少iM数量,减少脂质堆积,降低该类细胞CD11c表达^[22]。部分药物治疗也会引起血浆甘油三酯升高,例如抗艾滋病的高效反转录病毒疗法,在治疗48 h后出现nM数量升高的现象,有可能是该疗法

引起的高甘油三酯血症会改变单核细胞亚型在体内的稳态,造成单核细胞恢复困难^[25]。

甘油三酯对单核细胞的影响非常复杂。在动物实验中,给予野生型小鼠脂蛋白脂肪酶的抑制剂泊咯沙姆407后,小鼠血浆内甘油三酯水平快速上升,循环血中nM数量则急剧下降,同时发现该类细胞在血管内皮的滚动和滞留数量增多,多个器官组织内也发现巨噬细胞数量增加,表明血浆高甘油三酯促进nM迁移至多组织中,分化为巨噬细胞发挥作用。同时也有报道,脂蛋白脂肪酶的缺失会损伤骨髓形成,从而降低循环血中单核细胞水平^[26]。因此,机体内甘油三酯水平升高,促进单核细胞内脂质堆积,尤其是nM,且细胞表面黏附分子的表达水平升高,其黏附至组织内皮的能力增强,而单核细胞亚型数量取决于骨髓生成效率和细胞迁移至组织的效率,不同因素诱导的甘油三酯水平升高,其单核细胞亚型数量变化不同。

3 单核细胞亚型对动脉粥样硬化的影响

在血管内皮损伤后,内皮细胞会释放趋化因子招募循环血中的白细胞,而单核细胞则首先被吸引到内皮损伤部位,通过血管外渗作用进入内皮,从而影响As的发展。因单核细胞存在异质性,单核细胞亚型在正常或炎症状态下对As不同发展阶段的作用均有所区别。本章节主要讨论在As发生过程中单核细胞亚型的变化以及对As进程的影响。

3.1 单核细胞的巡逻功能

Ly6C^{low} nM是执行血管内巡逻功能的主要单核细胞,在稳态或炎症状态下均可清除血管微环境中的微粒、受损细胞和碎片^[7,12]。该类细胞的巡逻行为在毛细血管、小动脉、肠系膜、肾皮质、脾脏、肝脏、肺和大脑中均有发现。正常状态下,以4~20 μm/min(平均12 μm/min)的速度在血管中巡逻,比cM(30 μm/s)的滚动速度慢^[12]。

nM的巡逻功能以及影响巡逻功能的因素已有广泛研究。在正常巡逻过程中,其表面淋巴细胞功能相关抗原1(lymphocyte function-associated antigen 1, LFA-1)与血管内皮上相应配体ICAM-1/2结合^[12],当LFA-1复合物任一亚基CD11a或者CD18被抗体阻断后,会导致细胞与内皮细胞分离,巡逻行为受到破坏。Carlin等^[27]通过基因敲除小鼠进一步证明ICAM-1或ICAM-2的缺失会影响单核细胞巡逻行为。因此,LFA-1和它的配体ICAM-1/2参

与调控单核细胞黏附和爬行^[12,27]。此外, CX3CR1 在 nM 功能调控中也起重要作用, 敲除 CX3CR1 或激活上皮细胞配体 CX3CL1 均会影响 nM 数量与巡逻行为^[12], 而 CCR2 的敲除对 nM 的巡逻行为并无影响^[27]。

当血管损伤时, 炎症位点会释放趋化因子, 单核细胞通过相应的同源受体与其产生应答。当 CCR5 被阻断后, 聚集到 As 位点的 Ly6C^{low} nM 数量减少 40%, 但因为该类细胞表面 CCR5 表达很低, 所以 CCR5 阻断剂是否直接作用于 nM 还值得进一步探究。鞘氨醇磷酸酯是白细胞活化和转运的主要调节因子, 给予鞘氨醇磷酸酯激动剂会减少循环血中 nM 数量, 同时调节其巡逻活动^[7]。血小板释放的富含半胱氨酸的血管生成诱导剂 61 (cysteine-rich angiogenic inducer 61, CYR61, CCN1) 是 nM 的化学诱导剂, 在稳态和炎症条件下, 单核细胞需要在内皮结合 CCN1 完成巡逻行为, 且部分依赖 CD11b。此外, nM 的巡逻活动与 CD36 识别氧化低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 有关, 在 As 早期 nM 识别、吞噬 ox-LDL 后, 其动员和巡逻活动增加^[7]。除了炎症、感染以及组织受损外, 运动或者长期的压力也会改变单核细胞数量, 从而影响 As^[7]。因此, 单核细胞的巡逻功能与 As 发展有密切关系, 通过干预单核细胞本身或者内皮功能, 调节单核细胞的巡逻功能, 可以抑制 As 发展。

3.2 脂质吞噬促进泡沫细胞生成

高脂血症患者血液中存在大量脂质, 而单核细胞及巨噬细胞对脂质的吞噬在 As 形成初期起着关键作用^[28-29]。

对动脉斑块的细胞成分研究发现, 巨噬细胞是动脉斑块中数量最多的免疫细胞, 主要来源于循环血中单核细胞的迁移, 部分来自于斑块内巨噬细胞的增殖^[13]。不同病灶的巨噬细胞亚型具有不同的功能特性, 斑块内巨噬细胞吞噬 ox-LDL 后转化为泡沫细胞, 同时通过多种途径使巨噬细胞向 M1 型转化^[30], 释放大量促 As 的细胞因子和趋化因子, 加快动脉斑块生成^[31], 并通过调节胶原蛋白和基质金属蛋白酶等的产生来影响斑块的稳定性^[3]。在泡沫细胞形成初期, 巨噬细胞表面低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR) 水平因胞内胆固醇水平的上升而下调, 脂质吞噬过程受影响^[31]。另外, 在单核/巨噬细胞对脂质的吞噬过程中, 清道夫受体起到至关重要的作用。清道夫受体是巨噬细胞表面模式识别受体中的一种, 负责识别和处理修饰的 LDL, 包括清道夫受体 A (scavenger

receptor A, SRA)、SRB1、血凝素氧化低密度脂蛋白受体 1 等, 其可以与 ox-LDL 相结合促进泡沫单核细胞的形成^[32-33]。ApoE^{-/-}小鼠中, 敲除 SRA 或 CD36 能够显著减少泡沫单核细胞的形成。近期研究新发现, LDL 在未被修饰情况下也会对泡沫细胞的形成产生作用。当高脂血症发生时, 动脉内膜 LDL 浓度比正常状态下增高, 此时巨噬细胞会直接通过胞吞作用吞噬 LDL, 从而形成泡沫细胞。该途径也将胆固醇传递到胞内溶酶体并刺激胆固醇酯化^[34], 由此可见泡沫细胞的形成也并非只依赖于吞噬 ox-LDL。

最新研究发现, 在巨噬细胞吞噬脂蛋白以及在动脉壁泡沫细胞形成之前, 单核细胞已经对高脂血症产生应答。Wu 等^[35]首次发现高脂诱导的 ApoE^{-/-}小鼠循环血中 CD11c⁺单核细胞内有大量脂质堆积, 并将其定义为泡沫单核细胞。单核细胞在血液中通过清道夫受体吞噬血浆脂质, 当循环脂质含量升高时, CD16⁺和 CD16⁻单核细胞表面 CD36 的表达升高, iM 表面 SRA 的表达也升高^[18,36]。体外实验发现, 激活髓系细胞触发受体 1 (triggering receptor expressed on myeloid cell 1, TREM-1) 不仅增加单核细胞 CD36 的 mRNA 表达, 还提高与脂质摄取相关的其他受体表达, 如巨噬细胞清道夫受体和 LDLR^[14]。TREM-1 激活的单核细胞显示胞内胆固醇转运蛋白尼曼-皮克 C 型蛋白和类固醇样急性调节相关脂质转移域 4 的 mRNA 表达异常^[14], 并且与胞内脂质增加相关。脂质堆积还可以影响胆固醇外排相关基因 ABCA1 和 ABCG1 的表达^[18]。高脂血症的小鼠和人泡沫单核细胞的出现, 表明在循环血中单核细胞与脂蛋白的相互作用。

近期研究也发现, nM 在循环血中起到促进 As 作用。高脂血症小鼠和人体内均发现该类细胞可以在脉管系统吞噬脂质包括 ox-LDL, 同时增加单核细胞数量^[35-36]。动物实验中也发现高脂诱导的 ApoE^{-/-}小鼠血液中, 有超过 80% 的泡沫单核细胞是 CD11c⁺ Ly6C^{low} nM^[8]。通过静脉注射小剂量脂质体氯磷酸盐特异性的清除循环血中泡沫单核细胞, 发现动脉斑块减少, As 减轻^[8], 确定 nM 对 As 具有促进作用。TREM-1 敲除小鼠 nM 的 CX3CR1 和 CD36 表达显著降低, ox-LDL 吞噬减少, As 改善^[15]。血脂异常会显著升高循环血中所有骨髓细胞 TREM-1 的表达, 同时 TREM-1 反过来又促进骨髓细胞向单核细胞定向分化, 导致单核细胞增多加重 As^[14], 而 ApoE^{-/-}小鼠缺失 TREM-1 基因后, 高脂引起的单核细胞增多现象明显改善。

3.3 单核细胞招募进入斑块

氧化应激、细胞因子、病毒或细菌感染、高血糖或者高 LDL 水平等因素均可激活血管内皮, 诱发单核细胞募集, 促进分泌趋化因子 CCL2、CCL5 和 CCL7 等, 上调黏附分子如 ICAM-1 和 VCAM-1^[37-38]。大量的炎症因子释放可以促进循环血中单核细胞滚动、黏附至内皮细胞^[3], 然后迁移入组织或斑块中。

cM 与 nM 因为表面趋化因子受体和黏附分子不同, 其黏附到内皮以及进入斑块的效率不同。单核细胞趋化蛋白 (monocyte chemoattractant protein, MCP) 是最典型的趋化因子, 通过激活其同源受体

CCR2 吸引单核细胞。CCR2 的配体 CCL2 和 CCL7 水平升高促进单核细胞从血液迁移至炎症血管壁, 敲除 CCR2 则影响单核细胞的黏附和动脉斑块形成^[5]。MCP-1 和 MCP-3 敲除小鼠中, 单核细胞数量明显减少, 表明 MCP1、MCP3 对单核细胞激活有重要作用^[39]。此外, 尽管 Ly6C^{high} cM 表达较低水平 CCR5, 但是 CCR5 抗体能够部分阻断 Ly6C^{high} 细胞进入斑块。Ly6C^{low} nM 的 CCR2 表达低, 但可以通过 CX3CR1 进行巡逻和招募, 并部分依赖 CCR5 进入 As 斑块^[40-41], 同时抑制 CCL2、CX3CR1 和 CCR5 几乎可以完全抑制高胆固醇血症小鼠的 As^[16]。单核细胞在 As 中的作用见图 2。

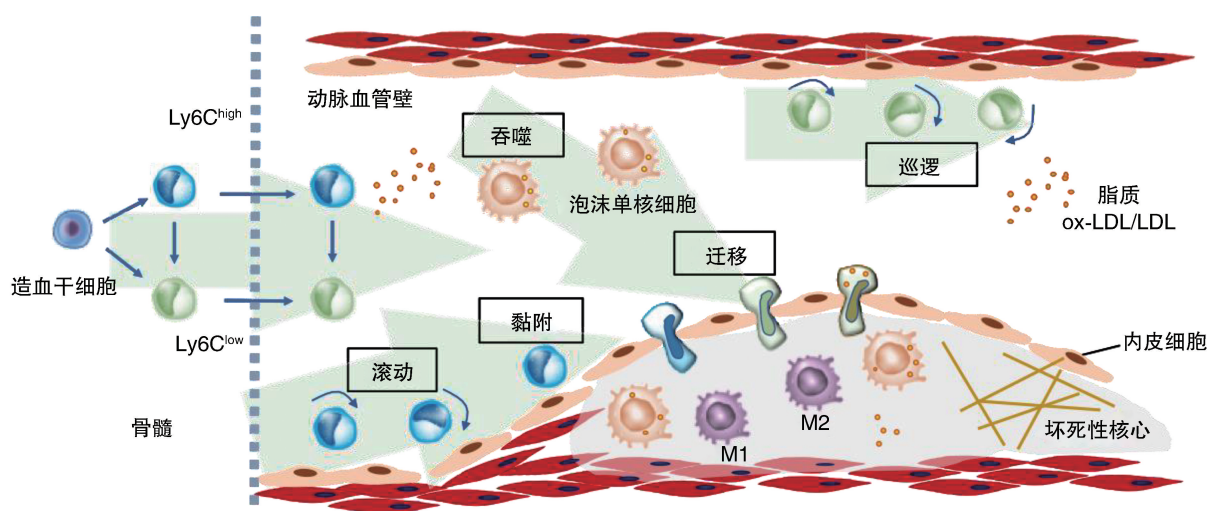


图 2. 单核细胞在 As 中的作用

Figure 2. Role of monocyte in atherosclerosis

除了 MCP 外, P 选择素糖蛋白配体 1 (P-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL-1) 与内皮 P/E 选择素的相互作用也会促进单核细胞定向迁移。小鼠 Ly6C^{high} 和人 CD14⁺⁺ CD16⁻ 经典型单核细胞, 与其对应的 nM 相比表达更高水平的 PSGL-1。因此, 内皮细胞表达的 P/E 选择素与 cM 表面的 PSGL-1 结合, 使 cM 更易黏附迁移至斑块。另外, 单核细胞表面的整合素晚期抗原 4 和 CD11/18, 与内皮 VCAM-1 和 ICAM-1 存在相互作用, 促进 Ly6C^{high} cM 与内皮牢固黏附^[42], 经外渗进入内皮层, 该过程由其他的血管黏附分子介导, 如血小板内皮细胞黏附分子、连接黏附分子或者形成细胞间隙连接的连接素。

普遍认为 Ly6C^{high} cM 在促进动脉斑块形成过程中起到重要作用^[43], 而 Ly6C^{low} nM 的作用也不可忽视^[7]。学者们采用微球示踪单核细胞技术, 发现

Ly6C^{high} 和 Ly6C^{low} 单核细胞均会进入动脉斑块, 但两者进入效率不同^[40-41]。高脂饮食促进 2 种亚型的单核细胞进入斑块速率增加 3 倍, 且在斑块中 nM 比 cM 更易变成 CD11c 阳性细胞^[41], 然后转化为巨噬细胞或树突状细胞。

4 总结

血浆脂质水平升高诱导单核细胞亚型发生变化, 不同亚型单核细胞对 As 发生发展的作用不同。普遍认为 nM 在循环血中识别并吞噬异物、组织碎片等, 起到清理血管的作用, 而近年来 nM 的促炎功能也逐渐被发现, 因此, 不同单核细胞亚型功能还需辩证看待, 生物体是个复杂的环境, 对于 nM 的促炎功能还需要更多的证据支持。

流式细胞术的应用使人们深入了解了单核细

胞亚型。普遍认为人体循环血中存在 3 类单核细胞,不同类型的单核细胞表型与功能有显著差异,而小鼠体内单核细胞分类至今存在争议。仅基于 Ly6C,流式细胞术较难区分 iM,且对于 iM 的表型与功能尚不清楚,是否可以通过其他表面标志物来进一步区别小鼠体内单核细胞亚型也是未来研究的目标之一。

高脂血症是诱发 As 的一个重要因素,可以激活循环中单核细胞的炎症反应,促进其黏附于动脉内皮表面,并迁移入斑块,促进斑块的生成。不同亚型单核细胞对 As 进程的作用复杂,分子靶点包括趋化因子受体和模式识别受体在不同亚型单核细胞中的区别与作用也是发现动脉硬化治疗靶标的研究热点,因此,探究病理条件下如何通过干扰相应分子靶点,可以为 As 的治疗提供新的思路^[9]。

[参考文献]

- [1] Groh L, Keating ST, Joosten LAB, et al. Monocyte and macrophage immunometabolism in atherosclerosis [J]. *Semin Immunopathol*, 2018, 40(2): 203-214.
- [2] Maguire EM, Pearce SWA, Xiao Q. Foam cell formation: A new target for fighting atherosclerosis and cardiovascular disease[J]. *Vascul Pharmacol*, 2019, 112: 54-71.
- [3] Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Cell*, 2011, 145(3): 341-355.
- [4] Kapellos TS, Bonaguro L, Gemund I, et al. Human monocyte subsets and phenotypes in major chronic inflammatory diseases[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2035.
- [5] Vlacil AK, Schuett J, Schieffer B, et al. Variety matters: Diverse functions of monocyte subtypes in vascular inflammation and atherogenesis[J]. *Vascul Pharmacol*, 2019, 113: 9-19.
- [6] Aw NH, Canetti E, Suzuki K, et al. Monocyte subsets in atherosclerosis and modification with exercise in humans [J]. *Antioxidants*, 2018, 7(12): 196.
- [7] Thomas G, Tacke R, Hedrick CC, et al. Nonclassical patrolling monocyte function in the vasculature[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(6): 1306-1316.
- [8] Xu L, Dai Perrard X, Perrard JL, et al. Foamy monocytes form early and contribute to nascent atherosclerosis in mice with hypercholesterolemia[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(8): 1787-1797.
- [9] Guilliams M, Mildner A, Yona S. Developmental and functional heterogeneity of monocytes[J]. *Immunity*, 2018, 49(4): 595-613.
- [10] Mehta NN, Reilly MP. Monocyte mayhem: Do subtypes modulate distinct atherosclerosis phenotypes? [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2012, 5(1): 7-9.
- [11] Swirski FK, Libby P, Aikawa E, et al. Ly6C^{hi} monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(1): 195-205.
- [12] 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.
- [13] Flynn MC, Pernes G, Lee MKS, et al. Monocytes, macrophages, and metabolic disease in atherosclerosis [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 666.
- [14] Zysset D, Weber B, Rihs S, et al. TREM-1 links dyslipidemia to inflammation and lipid deposition in atherosclerosis [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13151.
- [15] Joffre J, Potteaux S, Zeboudj L, et al. Genetic and pharmacological inhibition of TREM-1 limits the development of experimental atherosclerosis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(25): 2776-2793.
- [16] Combadiere C, Potteaux S, Rodero M, et al. Combined inhibition of CCL2, CX3CR1, and CCR5 abrogates Ly6C^{hi} and Ly6C^{lo} monocytosis and almost abolishes atherosclerosis in hypercholesterolemic mice [J]. *Circulation*, 2008, 117(13): 1649-1657.
- [17] Rahman MS, Murphy AJ, Woollard KJ. Effects of dyslipidaemia on monocyte production and function in cardiovascular disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(7): 387-400.
- [18] Bernelot Moens SJ, Neele AE, Kroon J, et al. PCSK9 monoclonal antibodies reverse the pro-inflammatory profile of monocytes in familial hypercholesterolaemia [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(20): 1584-1593.
- [19] Murphy AJ, Akhtari M, Tolani S, et al. Apoe regulates hematopoietic stem cell proliferation, monocytosis, and monocyte accumulation in atherosclerotic lesions in mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(10): 4138-4149.
- [20] Yvan-Charvet L, Pagler T, Gautier EL, et al. ATP-binding cassette transporters and HDL suppress hematopoietic stem cell proliferation[J]. *Science*, 2010, 328(5986): 1689-1693.
- [21] Bernelot Moens SJ, Verweij SL, Schnitzler JG, et al. Remnant cholesterol elicits arterial wall inflammation and a multilevel cellular immune response in humans[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(5): 969-975.
- [22] Dai Perrard XY, Lian Z, Bobotas G, et al. Effects of n-3 fatty acid treatment on monocyte phenotypes in humans with hypertriglyceridemia [J]. *J Clin Lipidol*, 2017, 11(6): 1361-1371.
- [23] Khan IM, Pokharel Y, Dadu RT, et al. Postprandial monocyte activation in individuals with metabolic syndrome[J]. *J*

- Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(11): 4195-4204.
- [24] Gower RM, Wu H, Foster GA, et al. CD11c/CD18 expression is upregulated on blood monocytes during hypertriglyceridemia and enhances adhesion to vascular cell adhesion molecule-1 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(1): 160-166.
- [25] Han J, Zhao H, Ma Y, et al. Highly active antiretroviral therapy (HAART)-related hypertriglyceridemia is associated with failure of recovery of CD14^{low} CD16⁺ monocyte subsets in AIDS patients [J]. *Medicine*, 2015, 94(27): e1115.
- [26] Chang CL, Garcia-Arcos I, Nyren R, et al. Lipoprotein lipase deficiency impairs bone marrow myelopoiesis and reduces circulating monocyte levels [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(3): 509-519.
- [27] Carlin LM, Stamatiades EG, Auffray C, et al. Nr4a1-dependent Ly6C^{low} monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal [J]. *Cell*, 2013, 153(2): 362-375.
- [28] Takahashi S. Triglyceride rich lipoprotein -LPL-VLDL receptor and Lp(a)-VLDL receptor pathways for macrophage foam cell formation [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24(6): 552-559.
- [29] Taghizadeh E, Taheri F, Gheibi Hayat SM, et al. The atherogenic role of immune cells in familial hypercholesterolemia [J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(4): 782-789.
- [30] Qin M, Wang L, Li F, et al. Oxidized LDL activated eosinophil polarize macrophage phenotype from M2 to M1 through activation of CD36 scavenger receptor [J]. *Atherosclerosis*, 2017, 263: 82-91.
- [31] Wu H, Ballantyne CM. Dyslipidaemia: PCSK9 inhibitors and foamy monocytes in familial hypercholesterolaemia [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(7): 385-386.
- [32] Kzhyshkowska J, Neyen C, Gordon S. Role of macrophage scavenger receptors in atherosclerosis [J]. *Immunobiology*, 2012, 217(5): 492-502.
- [33] Singh S, Gautam AS. Upregulated LOK-1 receptor: Key player of the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2019, 21(10): 38.
- [34] Kruth HS. Receptor-independent fluid-phase pinocytosis mechanisms for induction of foam cell formation with native low-density lipoprotein particles [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2011, 22(5): 386-393.
- [35] Wu H, Gower RM, Wang H, et al. Functional role of CD11c⁺ monocytes in atherogenesis associated with hypercholesterolemia [J]. *Circulation*, 2009, 119(20): 2708-2717.
- [36] Mosig S, Rennert K, Krause S, et al. Different functions of monocyte subsets in familial hypercholesterolemia: Potential function of CD14⁺ CD16⁺ monocytes in detoxification of oxidized LDL [J]. *FASEB J*, 2009, 23(3): 866-874.
- [37] Benhamou Y, Miranda S, Armengol G, et al. Infliximab improves endothelial dysfunction in a mouse model of antiphospholipid syndrome: Role of reduced oxidative stress [J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 71: 93-101.
- [38] Oberoi R, Schuett J, Schuett H, et al. Targeting tumor necrosis factor-alpha with adalimumab: Effects on endothelial activation and monocyte adhesion [J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0160145.
- [39] Tsou CL, Peters W, Si Y, et al. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(4): 902-909.
- [40] 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.
- [41] 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): 4410-4417.
- [42] Park JG, Ryu SY, Jung IH, et al. Evaluation of VCAM-1 antibodies as therapeutic agent for atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 226(2): 356-363.
- [43] Soehnlein O, Drechsler M, Doring Y, et al. Distinct functions of chemokine receptor axes in the atherogenic mobilization and recruitment of classical monocytes [J]. *EMBO Mol Med*, 2013, 5(3): 471-481.

(此文编辑 曾学清)