

本文引用: 李斯锦, 刘萍. 巨噬细胞对动脉壁淋巴管生成的调节作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(2): 171-177.  
DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.02.011.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-02-0171-07

· 文献综述 ·

## 巨噬细胞对动脉壁淋巴管生成的调节作用

李斯锦, 刘萍

上海中医药大学附属龙华医院, 上海市 200032

[摘要] 巨噬细胞在动脉粥样硬化中发挥多重作用。动脉粥样硬化的进展与病变部位动脉的淋巴管的形态和功能改变有关,但其机制尚不完全清楚。文章主要对动脉粥样硬化中巨噬细胞的来源、分型、标志物及对动脉粥样硬化的功能作用,淋巴管的起源、结构功能及标志物,动脉粥样硬化病变不同时期动脉壁淋巴管生成的变化,淋巴管生成在动脉粥样硬化中的功能作用,巨噬细胞的淋巴管迁移及其参与淋巴管新生的作用机制进行综述,以期为动脉粥样硬化的机制研究和临床治疗提供依据。

[关键词] 动脉粥样硬化; 巨噬细胞; 淋巴管内皮细胞; 淋巴管

[中图分类号] R5;R363

[文献标识码] A

### Regulation of lymphangiogenesis in the arterial wall by macrophages

LI Sijin, LIU Ping

Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

[ABSTRACT] Macrophages play multiple roles in atherosclerosis. The progression of atherosclerosis is associated with morphological and functional changes in the lymphatic vessels of the diseased arteries, but the mechanism is not fully understood. This paper mainly reviews the origin and classification, the markers and the function of macrophage in atherosclerosis, the origin, the structure function and the markers of lymphatic vessels in atherosclerosis, the changes of arterial wall lymphangiogenesis in different stages of atherosclerotic lesions, the functional role of lymphangiogenesis in atherosclerosis, the lymphatic migration of macrophages and its mechanism involved in lymphangiogenesis, in order to provide a basis for the mechanism research and clinical treatment of atherosclerosis.

[KEY WORDS] atherosclerosis; macrophage; lymphatic endothelial cell; lymphatic vessel

冠心病、脑卒中等以动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)为病理基础的多种心脑血管疾病,目前仍然是人类死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。虽然流行病学研究已经揭示了与As相关的几个重要危险因素,如血脂异常、高血压、糖尿病、遗传因素、吸烟等,但As的发病机制尚未完全阐明<sup>[2]</sup>。过度炎症反应贯穿As的发生、发展全程,增加心血管疾病患者的死亡率,抑制慢性炎症反应一直是治疗As的研究重点和难点。淋巴系统与免疫系统的功能动态相关,出生后的淋巴管生成主要由慢性炎症介导,这一过程在细胞水

平上主要由巨噬细胞调节。巨噬细胞在免疫应答和炎症修复等方面起重要作用<sup>[3]</sup>。越来越多的研究表明,巨噬细胞介导的淋巴管增生在心肌梗死性心脏病等相关疾病中起着重要作用<sup>[4]</sup>。人和小鼠的动脉壁中新生淋巴管密度与其As的严重程度呈正相关<sup>[5-6]</sup>。然而,调控As中淋巴管生成的机制尚不完全清楚。深入了解As中淋巴管生成的机制,以及巨噬细胞对淋巴管生成的调节作用,对寻找潜在且有效抑制As的治疗靶点具有重要的临床意义。

[收稿日期] 2023-07-18

[修回日期] 2023-10-10

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82074200,82204849和81873117)

[作者简介] 李斯锦,博士研究生,研究方向为中西医结合防治动脉粥样硬化相关心脑血管疾病,E-mail:690826500@qq.com。通信作者刘萍,博士,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向为中西医结合防治动脉粥样硬化相关心脑血管疾病,E-mail:liuping0207@yeah.net。

## 1 动脉粥样硬化中的巨噬细胞

### 1.1 巨噬细胞的来源

巨噬细胞是 As 斑块中最丰富的免疫细胞类型,在协调斑块组织稳态,参与免疫应答等方面起着重要作用。As 病理过程中的巨噬细胞主要有三种来源:一种是组织驻留巨噬细胞,起源于胚胎趋化因子受体 1 阳性前体细胞,以表达淋巴管内皮透明质酸受体 1 (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1, LYVE-1)、主要组织相容性复合体 II (major histocompatibility complex II, MHC II) 和巨噬细胞甘露糖受体 C 型为特征,出生后立即被骨髓来源的单核细胞循环补充,并在成年期通过局部增殖维持,但主动脉内膜巨噬细胞的增殖能力有限,需要单核细胞募集以促进 As 斑块的进展<sup>[7]</sup>。第二种主要来源于循环单核细胞。在健康的动脉中,单核细胞很少见,高胆固醇血症促进造血干细胞和祖细胞增殖,导致循环中单核细胞增多,脂蛋白和趋化因子在内皮下累积可触发单核细胞流入 As 易感部位血管壁<sup>[8]</sup>, C-C 基序趋化因子受体 2 (C-C motif chemokine receptor 2, CCR2) 及其主要配体 C-C 基序趋化因子配体 2 (C-C motif chemokine ligand 2, CCL2) 可调节单核细胞的募集,单核细胞流入斑块并分化为巨噬细胞。第三种是来源于动脉内膜平滑肌细胞 (smooth muscle cell, SMC) 的转分化<sup>[9]</sup>。斑块中的 SMC 来源于血管中膜的平滑肌层,在晚期 As 斑块中的这些细胞亚群可分化为巨噬细胞或泡沫细胞。

### 1.2 巨噬细胞的分型、标志物及对动脉粥样硬化的功能作用

巨噬细胞具有显著的可塑性和异质性,可以随着斑块内环境的变化生成不同的巨噬细胞亚型,发挥不同的作用。粒细胞巨噬细胞刺激因子、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、干扰素  $\gamma$ 、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 等可刺激巨噬细胞活化成为促炎的 M1 型巨噬细胞,主要依赖糖酵解途径代谢并产生大量一氧化氮、活性氧等中间产物,促进 As 斑块炎症及 Th1 细胞反应,其表面标志物有 MHC II、CD40、CD68、CD80、CD86、Toll 样受体 2/4 (Toll like receptor 2/4, TLR2/4)、白细胞介素 1 受体 (interleukin-1 receptor, IL-1R)、CD163, 分泌性标志物主要有 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12、IL-23、IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和环氧合酶 2 (cyclooxygenase-2, COX-2)、诱导型一氧化氮合酶、C-X-C 基序趋化因子配体 9 (C-X-C motif chemokine ligand 9, CXCL9)、CXCL10 等<sup>[10]</sup>。

巨噬细胞集落刺激因子、IL-4、IL-10 和 IL-13 等

可以刺激巨噬细胞极化为 M2 型巨噬细胞,其代谢以氧化磷酸化为主,具有抗炎、抗 As 作用。M2 型巨噬细胞可分为 M2A、M2B、M2C、M2D 等亚型。M2A 型巨噬细胞主要有抗炎、维持组织稳态的作用,其表面标志物在人类中主要有 CD206、IL-1R $\alpha$ 、IL-1R II、CD86、CD163、人类白细胞 DR 抗原 (human leukocyte antigen DR, HLA-Dr), 在小鼠中还可特异性表达 I 型精氨酸酶 (arginase I, Arg I)、抵抗素样  $\alpha$  (resistin-like alpha, Retnl $\alpha$ )、几丁质酶样 3/4 (chitinase-like 3/4, Chil3/4、Ym1/2) 等,其共有分泌性标志物主要有 IL-10、转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、CCL17/18/22/24。M2B 型巨噬细胞主要参与 Th2 激活和免疫调节,其表面标志物有 CD86、CD163、HLA-Dr, 分泌性标志物有 IL-10、IL-12、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 。M2C 型巨噬细胞主要参与吞噬凋亡细胞,其表面高表达 CD86、CD163、TLR1/8, 分泌性标志物主要是 IL-10、TGF- $\beta$ 、CCL16/18、CXCL13。M2D 型巨噬细胞主要参与血管新生,其表面标志物有 CD86、CD163, 分泌性标志物有血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、IL-10、IL-12、TNF- $\alpha$ <sup>[11]</sup>。

促炎型 M1 和抗炎型 M2 巨噬细胞代表了巨噬细胞极化中的两个极端,然而由于巨噬细胞的起源及机体内微环境的不同,斑块中往往会出现多个巨噬细胞亚群。表达血管生成素受体 Tie2 的 TEM 亚型巨噬细胞,参与组织重塑和血管生成。在 As 斑块出血区域的 HA-mac 亚型巨噬细胞,高表达 CD163, 清除血红蛋白的速度更快,并且减少过氧化氢的释放,从而发挥抗 As 作用。受 CXCL4 刺激分化的 M4 亚型巨噬细胞可以表达基质金属蛋白酶 7 (matrix metalloproteinase 7, MMP-7)、MMP-12、S100A8、TNF- $\alpha$ 、IL-6 等标志物。Mhem 和 M (Hb) 亚型巨噬细胞分别由血红素和血红蛋白诱导,可以减少脂质积累和泡沫细胞形成,并表现出抗炎表型。此外, Mox 亚型巨噬细胞为啮齿类动物特异性巨噬细胞,由斑块中氧化磷脂刺激而来,并由转录因子核相关因子 2 介导,高表达血红素氧合酶,加重 As 的进展<sup>[12]</sup>。总之,巨噬细胞亚型与斑块炎症和脂质沉积相关,可通过刺激因子表达特定因子影响斑块的进展。

## 2 动脉粥样硬化中的淋巴管

### 2.1 淋巴管的起源、结构功能及标志物

淋巴管起源于胚胎早期主静脉,分化自淋巴干/祖细胞,再分化自现有血管。除经典的静脉源

性分化外,具有潜在分化能力的细胞,如造血细胞、淋巴内皮祖细胞(lymphatic endothelial progenitor cell, LEPC)、间充质干细胞、髓系巨噬细胞、脂肪来源干细胞等均可分化为淋巴内皮细胞(lymphatic endothelial cell, LEC)并参与淋巴管生成,这些细胞不仅出现在胚胎期,而且在出生后各种刺激下的淋巴管生成中发挥重要作用<sup>[6]</sup>。

淋巴管主要包括毛细淋巴管(也称初始淋巴管)、前集合淋巴管、集合淋巴管。毛细淋巴管由单层的 LEC 组成,基底膜不完整,由纤维细丝连接,呈不连续纽扣状,具有高渗透性;前集合淋巴管和集合淋巴管是由 LEC 通过拉链样紧密连接,并覆盖有平滑肌细胞和基底膜,集合淋巴管腔内还含有瓣膜,以调节组成淋巴的蛋白质、脂质和大分子的单向流动,最终通过胸导管引流至左锁骨下静脉返回静脉循环<sup>[13]</sup>。淋巴管通过将外周组织液中的脂蛋白、免疫细胞和炎症分子等从间隙引流至血液循环,对维持循环免疫稳态至关重要。

目前发现的淋巴管特异性标志物主要有:LYVE-1、血管内皮生长因子受体 3(vascular endothelial growth factor receptor-3, VEGFR-3)、Podoplanin(也称为 T1 $\alpha$ /Podoplanin 或 D2-40)、Prox1。此外,整合素  $\alpha 9$  和神经纤毛蛋白 2(neuropilin-2, NRP2)也常被联合用来区分淋巴管和血管。VEGFR-3 是最早被发现的标志物,它是血管内皮生长因子 VEGF-C 和 VEGF-D 的酪氨酸激酶受体,在淋巴管生成和淋巴管内皮的维持中起作用。LYVE-1 是成人 LEC 最特异的标志物之一,是淋巴管壁上细胞外基质糖胺聚糖透明质酸的主要受体。LYVE-1 可将透明质酸转运到 LEC 中进行分解代谢,并将代谢物质反向转运到传入淋巴管管腔中。此外,LYVE-1 还在活化的巨噬细胞中表达<sup>[14]</sup>,而在静息巨噬细胞中不表达,提示巨噬细胞可能向 LEPC 转分化。Podoplanin 是一种主要存在于 LEC 表面的跨膜糖蛋白,在血管和淋巴管分离中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。Prox1 被称作“淋巴总开关”,作为转录因子参与许多器官的多种发育过程,在胚胎发育中起关键作用,并作为淋巴管生成的关键调节蛋白发挥作用。此外,LEC 也可以通过整合素  $\alpha 9$  和 NRP2 识别。

## 2.2 动脉粥样硬化病变不同时期淋巴管生成的变化

动脉壁主要由内膜、中膜和外膜三层构成。内膜是位于主动脉内侧的一层由单层扁平上皮细胞组成的薄膜。中膜是主动脉壁的中间层,主要由平

滑肌细胞和弹性纤维组成。外膜是主动脉壁最外层的结缔组织,在维持血管稳态中起着至关重要的作用。早在 100 多年前的研究中就证实了动脉壁中淋巴管的存在,后续相继有研究发现,在人类、山羊、马、猪、狗、家兔、豚鼠等各种小、大型哺乳动物的正常动脉外膜和外膜周围区域中都有不规则的淋巴管丛,而在动脉内膜和中膜中没有,表明其解剖位置具有保守性<sup>[16]</sup>。

在生理条件下,除肠道乳糜管、卵巢和妊娠期间的生殖器官外,成人的大多数淋巴管是成熟和静止的。在 As 炎症反应等病理条件下静息状态可被破坏<sup>[13]</sup>。各种内外刺激因素可影响和调节淋巴管的生长、结构和功能。Kholová 等<sup>[17]</sup>证实了 As 血管外膜层中淋巴管增生,并在富含钙和胆固醇晶体的进行性 As 病变中显示内膜和中膜层淋巴管生成增加,阻断过多的淋巴管生成可能起到抗 As 作用。Drozd 等<sup>[18]</sup>也在人 As 颈动脉的外膜区域发现了淋巴管,并证明淋巴管数量随着 As 严重程度而增加,还提出炎症环境促进 As 动脉壁中的淋巴管生成。此外,Kutkut 等<sup>[19]</sup>证明了在人颈动脉内膜切除术标本的斑块外膜和斑块内区域都有淋巴管增生。As 斑块部位的淋巴管起源于小血管附近的动脉外膜,可能受到炎症细胞分泌的淋巴因子的诱导<sup>[20]</sup>。冠状动脉疾病患者血管周围脂肪组织中淋巴管生成和局部血管生成素 2、VEGF-C 和 VEGF-D 等淋巴管生成生长因子表达增加<sup>[21]</sup>。在冠状动脉粥样硬化病变进程中,内膜和中膜淋巴管数量均增加,但外膜淋巴管数量到晚期才明显增加,且外膜淋巴管增生数量与血管内膜增生程度呈正相关,而内膜增生也是 As 主要病理过程之一<sup>[22]</sup>。然而,与以上研究结论相反,Eliska 等<sup>[23]</sup>和 Nakano 等<sup>[24]</sup>研究发现尽管动脉壁中有高水平的 VEGF-C,但在正常和 As 的人冠状动脉中没有检测到或与血管新生相比检测到极少量的淋巴管生成。

总之,目前关于 As 病变不同时期动脉壁、动脉斑块内及动脉周围脂肪组织中淋巴管生成变化的研究尚存在争议,仍需进一步的研究证实。

## 2.3 淋巴管生成在动脉粥样硬化中的功能作用

炎症诱导的淋巴管生成可能是有益的,也可能是有害的,这取决于组织和损伤。近年来,大多数研究中报道淋巴管生成具有抗 As 作用,通过不同机制作用于淋巴管生成及功能改善有利于抗 As。血小板反应蛋白 1(thrombospondin 1, TSP1)通过激活 LEC 中的 CD47 通路来抑制淋巴管生成,而 LEC 中 CD47 缺失可以减少 As 病变的形成,表明 CD47 可

作为 As 潜在的治疗靶点<sup>[25]</sup>。Podoplanin 主要与 C 型凝集素样蛋白 2 (C-type lectin-like protein 2, CLEC-2) 协同作用,通过抑制炎症和调节淋巴管功能发挥抗 As 作用<sup>[26]</sup>。氧化型低密度脂蛋白可通过 CD36 通路抑制淋巴管生成,而阻断 LEC 的 CD36 通路可促进动脉外膜淋巴管生成,从而增加动脉壁胆固醇清除和改善 As<sup>[27]</sup>。外膜周围淋巴管在促进胆固醇转运和减轻斑块慢性炎症方面发挥重要作用<sup>[28-29]</sup>。在高脂饮食的载脂蛋白 E 基因敲除 (apolipoprotein E<sup>-/-</sup>, ApoE<sup>-/-</sup>) 小鼠中,用 VEGF-C-156S 处理可促进淋巴管生成,改善胆固醇逆向转运,进而发挥抗 As 作用,但通过抑制 VEGFR-3 可减少淋巴管生成,这表明高胆固醇血症可能通过部分依赖于 VEGF-C 的机制触发淋巴管生成<sup>[30]</sup>。然而,有研究得出相反的结果,抑制 VEGF-C/D/VEGFR-3 途径并没有阻止斑块外膜的淋巴管生成,而是非经典的淋巴管生成途径 CXCL12/CXCR4 轴对淋巴管生成起重要作用<sup>[31]</sup>。内皮因子介导的 miR-19b 可能通过下调转化生长因子  $\beta$  受体 II (transforming growth factor-beta receptor II, TGF- $\beta$ R II) 的表达来破坏 As 小鼠的淋巴系统功能而加重 As<sup>[32]</sup>。人类和小鼠 As 中 R 底板反应蛋白 2 (R-spondin 2, RSPO2) 表达增加,RSPO2 通过富含亮氨酸重复序列 G 蛋白偶联受体 4 (leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 4, LGR4) 抑制磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B/内皮型一氧化氮合酶 (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/endothelial NO synthase, PI3K/PKB/eNOS) 信号传导,并抑制经典 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的激活,从而抑制淋巴管生成。沉默 LGR4 和抑制 RSPO2/LGR4 信号可消除 RSPO2 对淋巴管生成的抑制作用,增加动脉淋巴管密度,并改善淋巴引流,减轻 As<sup>[33]</sup>。

然而,有研究表明抑制淋巴管生成也可能成为刺激 As 淋巴引流和诱导斑块消退的创新方法<sup>[6]</sup>。VEGF-C 的过表达可以增加淋巴管生成,并有害地加剧移植相关的血管重塑。相反,通过注射高选择性 VEGFR-3 抑制剂,抑制淋巴管生成可有效改善同种异体移植血管的新生内膜增生、外膜纤维化和三级淋巴器官形成。因此,早期抑制淋巴管生成可以缓解内膜增生,表明淋巴管生成可能是移植 As 治疗的潜在治疗靶点。虽然关于淋巴管生成及功能在 As 中的作用存在争议,甚至是相反的研究结论,但上述发现可能传递了一个信息,即淋巴管是 As 一个潜在的治疗靶点。

### 3 动脉粥样硬化中巨噬细胞的淋巴管迁移

淋巴管在 As 进程中除了发挥引流和排泄作用外,还可将巨噬细胞等抗原提呈细胞转运到局部淋巴结参与诱导免疫应答<sup>[20]</sup>。巨噬细胞在 As 斑块中积累的原因主要是单核细胞募集到斑块中的数量增加、斑块中巨噬细胞增殖和/或存活的变化,以及巨噬细胞无法通过外膜淋巴管从斑块迁移到淋巴结等。有研究将有斑块的主动脉段从 As 小鼠转移到低胆固醇血症小鼠中,发现斑块泡沫细胞的快速清除与它们依赖于 CCR7 向引流淋巴结迁移有关。相反,如果转移到高胆固醇血症小鼠中,则主动脉新转移部分的斑块会进展并继续积累泡沫细胞,难以迁移到淋巴结,提示单核细胞来源的巨噬细胞通过淋巴管从斑块迁移出可减轻 As<sup>[6]</sup>。由于 ApoE 可降低血浆胆固醇并提高高密度脂蛋白,有研究用编码 ApoE 的病毒治疗 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠,发现斑块巨噬细胞含量的减少不是由于从淋巴管迁移出,也不依赖 CCR7,这表明单核细胞来源的巨噬细胞通过淋巴管的迁移可能不是从 As 斑块清除的主要机制<sup>[34]</sup>。此外,在 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠中,结扎腹主动脉引流管可促进内膜中巨噬细胞、胶原和平滑肌细胞的聚集,以及外膜层中巨噬细胞的浸润;结扎野生型小鼠淋巴管虽然不能促进 As 斑块的形成,但可以诱导巨噬细胞在血管外膜聚集,而且与野生型小鼠相比, ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠的主动脉淋巴引流显著受损<sup>[17]</sup>,这表明主动脉淋巴引流的缺陷通过阻止单核细胞来源的细胞迁移会加重 As。

### 4 巨噬细胞在胚胎淋巴管和炎症刺激的淋巴管生成中的作用

巨噬细胞在胚胎淋巴管和炎症刺激的淋巴管生成中发挥重要作用。在炎症疾病状态下巨噬细胞通过三种潜在机制参与新生淋巴管生成:一是作为 LEPC 的来源,通过转分化为 LEC 并融入生长中的淋巴管;二是分泌促淋巴管生长的生长因子和蛋白酶,从而触发淋巴管的生长或增生;三是通过与淋巴管分支前缘或外膜表面的 LEC 直接物理接触和黏附作用,影响 LEC 的增殖(图 1)。此外,巨噬细胞对淋巴管的生成作用还受到不同亚型的影响。

#### 4.1 巨噬细胞转分化为 LEPC

虽然 LEPC 可以来源于多种祖细胞类型,但多数研究认为髓系 CD11b<sup>+</sup> 单核细胞是最主要来源。在炎症刺激下巨噬细胞可以转分化为 LEPC,并整

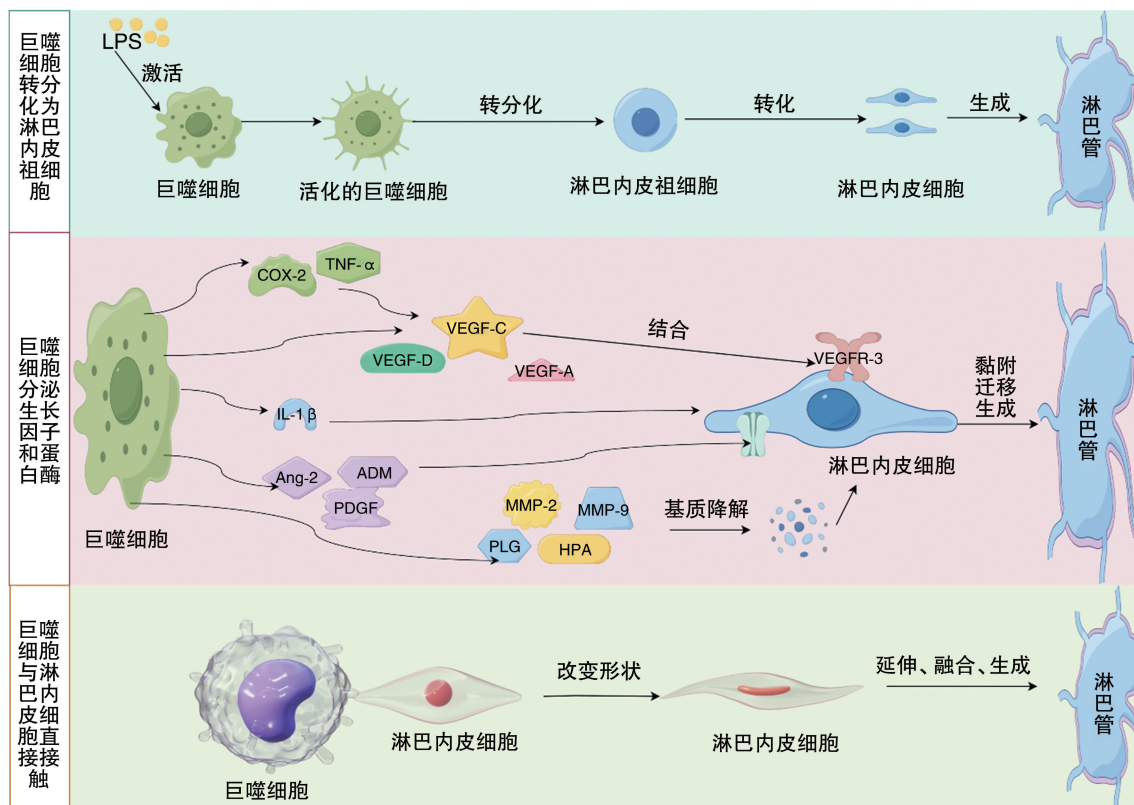


图 1. 巨噬细胞参与淋巴管生成的机制

Figure 1. Mechanism of macrophage involvement in lymphangiogenesis

合到淋巴管中,这在人类间质性肺炎、肾移植的活检中以及角膜炎症、伤口愈合、癌症、肾纤维化及心肌梗死的动物模型中均已被证实<sup>[35]</sup>。巨噬细胞来源的 LEC 的识别和定量方法主要是使用绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 等荧光染料标志物追踪巨噬细胞来源的祖细胞,并通过抗髓系标志物 (如 CD68、CD11b) 和淋巴特异性标志物 (如 LYVE-1、Podoplanin、VEGFR-3、Prox1 或 Tie2) 的抗体进行双重或多重染色。Matrigel 基质胶可以模拟体内细胞外环境,也常被用于鉴定巨噬细胞来源的 LEC 形成管状结构的能力。Hall 等<sup>[36]</sup>用 LPS 处理 RAW264.7 巨噬细胞,并将 GFP 标记的 RAW264.7 巨噬细胞注射到 LPS 处理的小鼠中,在体内重现了招募到炎症淋巴管生成部位的 LEC 的基因表达谱和表型,建立了巨噬细胞向 LEC 分化的新模型,体外用 LPS 激活的小鼠骨髓来源的 CD11b<sup>+</sup>/F4/80<sup>+</sup>巨噬细胞也形成了 Podoplanin 阳性的管状结构,而未处理的巨噬细胞既不形成管状结构,也不表达 Podoplanin。

#### 4.2 巨噬细胞分泌促淋巴管生成的生长因子和蛋白酶

炎症激活的巨噬细胞可以通过分泌淋巴管生长因子或其他介质上调淋巴管生长因子来直接或

间接增加淋巴管生成。活化的巨噬细胞分泌多种促淋巴管生长的生长因子,如 VEGF-C、VEGF-D 和 VEGF-A。VEGF-A 可以在各种炎症模型中激活 LEC 并直接诱导淋巴管生成。VEGF-C 和 VEGF-D 作为 VEGFR-3 的配体是淋巴管生成的关键诱导因子。活化的巨噬细胞分泌的其他与淋巴管生成有关的介质有血小板源生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF)、肾上腺髓质素 (adrenomedullin, ADM) 和血管生成素 2 (angiogenin-2, Ang-2), 它们可作用于表达相应受体的 LEC 直接参与淋巴管生成<sup>[37]</sup>。其他因子如 COX-2、TNF- $\alpha$  等通过上调 VEGF-C 和 VEGF-D 间接诱导淋巴管生成<sup>[38]</sup>。巨噬细胞分泌的 IL-1 $\beta$  可促进 LEC 的黏附和迁移。活化的巨噬细胞还分泌大量的基质金属蛋白酶和其他蛋白酶,如 MMP-2、MMP-9、乙酰肝素酶 (heparanase, HPA) 和纤溶酶原 (plasminogen, PLG) 等<sup>[35]</sup>, 促进细胞外基质的降解,调节淋巴管生成。PLG 是另一种炎症巨噬细胞的产物,能够通过蛋白水解去除前肽,促进生成成熟的 VEGF-C 和 VEGF-D 等生长因子,进而促进淋巴管生成。

#### 4.3 巨噬细胞与 LEC 物理接触和黏附

不同组织中的巨噬细胞可能发挥不同的淋巴

管生成作用, 在一些特定组织中巨噬细胞直接与 LEC 进行物理接触和黏附调控淋巴管生成。有研究通过在原代胚胎 LEC 中加入原代胚胎巨噬细胞导致 LEC 增殖增加, 而巨噬细胞条件培养基不能显著促进 LEC 的增殖, 表明巨噬细胞介导的淋巴管体外增殖可能依赖于细胞与细胞直接接触。此外, 小鼠胚胎真皮的淋巴系统独立于髓系细胞谱系而产生, 排除了巨噬细胞在这些情况下作为 LEPC 的来源<sup>[39]</sup>。Cahill 等<sup>[40]</sup>观察到驻留在组织中的巨噬细胞参与心脏淋巴管的发育, 它们的调节作用是由分支前缘或血管壁外膜表面的巨噬细胞-淋巴管内皮细胞直接接触介导的。将人原代 LEC 和人诱导多能干细胞来源的巨噬细胞共培养, 在体外模拟了淋巴毛细管形成和出芽过程, 发现巨噬细胞靠近 LEC, 改变其形状, 明显引导 LEC 延伸并融合到邻近的 LEC, 从而形成管样结构, 并且证实了这一过程是由巨噬细胞透明质酸介导的。

#### 4.4 不同的巨噬细胞亚型对淋巴管生成的影响

不同的巨噬细胞亚型由于其对炎症反应的促进或抑制作用, 也影响了它们对淋巴管生成的影响。IL-4、IL-13 和 IL-10 这些 M2 型巨噬细胞诱导因子可以促进来源于骨髓髓系细胞向 LEPC 的分化。在肾纤维化微环境中, M1 型巨噬细胞被认为是促进淋巴管生成的因子, 并通过经典的 VEGF-C/VEGFR-3 信号通路促进淋巴管生成。此外, 通过促进 M1 型巨噬细胞极化可增加 LEC 生长因子的表达, 使 M1 型巨噬细胞在体内外均可转分化为 LEC<sup>[41]</sup>。相对而言, M2 型巨噬细胞以消除炎症促进组织修复为特征, 其转分化倾向较低<sup>[42]</sup>。

## 5 小结与展望

有关 As 中新生淋巴管的研究很少, 其治疗靶点仍存在争议。我们前期在高脂饮食诱导的 As 小鼠模型中证实了巨噬细胞从斑块周围的血管中广泛大量渗漏并参与淋巴管新生的过程, 加重了斑块区域的炎症反应和脂质积聚, 而羟基红花黄色素 A 可以通过抑制 PI3K 调控巨噬细胞 PKB/雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)和核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 通路调节淋巴管生成和炎症, 从而减轻 ApoE<sup>-/-</sup> 鼠动脉粥样硬化<sup>[43]</sup>。因此, 我们推测巨噬细胞介导的 As 斑块的炎性浸润和病理性淋巴管生成可能是治疗 As 的新靶点。虽然在炎症刺激相关疾病中不同亚型的巨噬细胞和单核细胞祖细胞通过转分化为 LEPC, 细胞间物理

接触调节 LEC 的增殖, 以及分泌相关促淋巴管生成的生长因子和蛋白酶来调控淋巴管增生, 但在 As 中是否通过这些途径导致淋巴管增生尚不完全清楚。未来研究中可采用髓系细胞来源的祖细胞谱系追踪技术、单细胞测序或开发新的巨噬细胞转分化模型, 进一步确定巨噬细胞来源的信号在 As 淋巴管生成中的确切身份和功能贡献, 以深入研究巨噬细胞参与 As 淋巴管增生的机制, 有助于寻求 As 新的治疗靶点。

#### [参考文献]

- [1] NAYOR M, BROWN K J, VASAN R S. The molecular basis of predicting atherosclerotic cardiovascular disease risk[J]. *Circ Res*, 2021, 128(2): 287-303.
- [2] FAN J L, WATANABE T. Atherosclerosis: known and unknown [J]. *Pathol Int*, 2022, 72(3): 151-160.
- [3] 石茗西, 江丽萍, 陈金智, 等. 动脉粥样硬化中巨噬细胞表型调控的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(4): 364-368. SHI M X, JIANG L P, CHEN J Z, et al. Progress in the regulation of macrophage phenotype in atherosclerosis[J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(4): 364-368.
- [4] LI Q Y, ZHOU C X, ZHAO K, et al. Lymphatic endothelial sphingosine 1-phosphate receptor 1 enhances macrophage clearance via lymphatic system following myocardial infarction[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 872102.
- [5] MIYAZAKI T, MIYAZAKI A. Hypercholesterolemia and lymphatic defects: the chicken or the egg? [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 701229.
- [6] MOU R, CHEN K, ZHU P W, et al. The impact of stem/progenitor cells on lymphangiogenesis in vascular disease[J]. *Cells*, 2022, 11(24): 4056.
- [7] WILLIAMS J W, ZAITSEV K, KIM K W, et al. Limited proliferation capacity of aortic intima resident macrophages requires monocyte recruitment for atherosclerotic plaque progression[J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(10): 1194-1204.
- [8] KIM K W, IVANOV S, WILLIAMS J W. Monocyte recruitment, specification, and function in atherosclerosis[J]. *Cells*, 2020, 10(1): 15.
- [9] LI Y, ZHU H, ZHANG Q Y, et al. Smooth muscle-derived macrophage-like cells contribute to multiple cell lineages in the atherosclerotic plaque[J]. *Cell Discov*, 2021, 7(1): 111.
- [10] LIN P, JI H H, LI Y J, et al. Macrophage plasticity and atherosclerosis therapy[J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 679797.
- [11] WCULEK S K, DUNPHY G, HERAS-MURILLO I, et al. Metabolism of tissue macrophages in homeostasis and pathology[J]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(3): 384-408.
- [12] 陈萍, 陈文娜. 不同亚型巨噬细胞调控动脉粥样硬化转归的免疫学机制探析[J]. *辽宁医学杂志*, 2019, 33(4): 59-63. CHEN P, CHEN W N. Study on the immunological mechanism of different subtypes of macrophages in the regulation of atherosclerosis [J]. *Med J Liaoning*, 2019, 33(4): 59-63.
- [13] LIU X L, CUI K, WU H, et al. Promoting lymphangiogenesis and lymphatic growth and remodeling to treat cardiovascular and metabolic diseases[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43(1): e1-e10.

- [14] LAWRENCE W, BANERJI S, DAY A J, et al. Binding of hyaluronan to the native lymphatic vessel endothelial receptor LYVE-1 is critically dependent on receptor clustering and hyaluronan organization[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(15): 8014-8030.
- [15] MARUYAMA Y, MARUYAMA K, KATO Y, et al. The effect of podoplanin inhibition on lymphangiogenesis under pathological conditions[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(8): 4813-4822.
- [16] YEO K P, LIM H Y, ANGELI V. Leukocyte trafficking via lymphatic vessels in atherosclerosis[J]. *Cells*, 2021, 10(6): 1344.
- [17] KHOLOVÁ I, DRAGNEVA G, ČERMÁKOVÁ P, et al. Lymphatic vasculature is increased in heart valves, ischaemic and inflamed hearts and in cholesterol-rich and calcified atherosclerotic lesions [J]. *Eur J Clin Invest*, 2011, 41(5): 487-497.
- [18] DROZDZ K, JANCZAK D, DZIEGIEL P, et al. Adventitial lymphatics of internal carotid artery in healthy and atherosclerotic vessels[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2008, 46(4): 433-436.
- [19] KUTKUT I, MEENS M J, MCKEE T A, et al. Lymphatic vessels: an emerging actor in atherosclerotic plaque development[J]. *Eur J Clin Invest*, 2015, 45(1): 100-108.
- [20] FENG X T, DU M, ZHANG Y F, et al. The role of lymphangiogenesis in coronary atherosclerosis[J]. *Lymphat Res Biol*, 2022, 20(3): 290-301.
- [21] DROSOS I, PAVLAKI M, ORTEGA CARRILLO M D P, et al. Increased lymphangiogenesis and lymphangiogenic growth factor expression in perivascular adipose tissue of patients with coronary artery disease[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(7): 1000.
- [22] 孙鑫, 吴鸿飞. 淋巴管功能在动脉粥样硬化中的作用及药物干预研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2023, 39(9): 1618-1622.
- SUN X, WU H F. Role of lymphatic vessel function in atherosclerosis and research progress of drug intervention[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2023, 39(9): 1618-1622.
- [23] ELISKA O, ELISKOVA M, MILLER A J. The absence of lymphatics in normal and atherosclerotic coronary arteries in man: a morphologic study[J]. *Lymphology*, 2006, 39(2): 76-83.
- [24] NAKANO T, NAKASHIMA Y, YONEMITSU Y, et al. Angiogenesis and lymphangiogenesis and expression of lymphangiogenic factors in the atherosclerotic intima of human coronary arteries[J]. *Hum Pathol*, 2005, 36(4): 330-340.
- [25] SINGLA B, AITHBATHULA RV, PERVAIZ N, et al. CD47 activation by thrombospondin-1 in lymphatic endothelial cells suppresses lymphangiogenesis and promotes atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43(7): 1234-1250.
- [26] HUANG Y Q, LU M L, WANG Y, et al. Podoplanin: a potential therapeutic target for thrombotic diseases[J]. *Front Neurol*, 2023, 14: 1118843.
- [27] SINGLA B, LIN H P, AHN W, et al. Oxidatively modified LDL suppresses lymphangiogenesis via CD36 signaling[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(2): 331.
- [28] 郑治, 廖雪姣, 秦雅婧, 等. 淋巴管参与胆固醇逆向转运[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(10): 1063-1069.
- ZHENG Z, LIAO X J, QIN Y J, et al. Lymphatic vessels: involvement of reverse cholesterol transport[J]. *Chin J Arterioscler*, 2018, 26(10): 1063-1069.
- [29] 易光辉. 淋巴管: 干预动脉粥样硬化发生发展的潜在途径 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(10): 973-979.
- YI G H. Lymphatic vessels: a potential path to intervene the development of atherosclerosis[J]. *Chin J Arterioscler*, 2018, 26(10): 973-979.
- [30] YEO K P, LIM H Y, THIAM C H, et al. Efficient aortic lymphatic drainage is necessary for atherosclerosis regression induced by ezetimibe[J]. *Sci Adv*, 2020, 6(50): eabc2697.
- [31] RADEMAKERS T, VAN DER VORST E P C, DAISSORMONT I T M N, et al. Adventitial lymphatic capillary expansion impacts on plaque T cell accumulation in atherosclerosis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45263.
- [32] YU S R, CUI Y X, SONG Z Q, et al. Endothelial microparticle-mediated transfer of microRNA-19b inhibits the function and distribution of lymphatic vessels in atherosclerotic mice[J]. *Front Physiol*, 2022, 13: 850298.
- [33] SINGLA B, LIN H P, CHEN A, et al. Role of R-spondin 2 in arterial lymphangiogenesis and atherosclerosis[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(6): 1489-1509.
- [34] POTTEAUX S, GAUTIER E L, HUTCHISON S B, et al. Suppressed monocyte recruitment drives macrophage removal from atherosclerotic plaques of ApoE<sup>-/-</sup> mice during disease regression[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(5): 2025-2036.
- [35] RAN S, MONTGOMERY K E. Macrophage-mediated lymphangiogenesis: the emerging role of macrophages as lymphatic endothelial progenitors[J]. *Cancers (Basel)*, 2012, 4(3): 618-657.
- [36] HALL K L, VOLK-DRAPER L D, FLISTER M J, et al. New model of macrophage acquisition of the lymphatic endothelial phenotype[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e31794.
- [37] TABRIZI Z B, AHMED N S, HORDER J L, et al. Transcription factor control of lymphatic quiescence and maturation of lymphatic neovessels in development and physiology [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 672987.
- [38] CHEN S M, ZHAO C K, YAO L C, et al. Aiphanol, a multi-targeting stilbenolignan, potently suppresses mouse lymphangiogenesis and lymphatic metastasis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2023, 44(1): 189-200.
- [39] GORDON E J, RAO S, POLLARD J W, et al. Macrophages define dermal lymphatic vessel calibre during development by regulating lymphatic endothelial cell proliferation [J]. *Development*, 2010, 137(22): 3899-3910.
- [40] CAHILL T J, SUN X, RAVAUD C, et al. Tissue-resident macrophages regulate lymphatic vessel growth and patterning in the developing heart[J]. *Development*, 2021, 148(3): dev194563.
- [41] WEN J H, LI D Y, LIANG S, et al. Macrophage autophagy in macrophage polarization, chronic inflammation and organ fibrosis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 946832.
- [42] ZHANG Y, ZHANG C H, LI L X, et al. Lymphangiogenesis in renal fibrosis arises from macrophages via VEGF-C/VEGFR3-dependent autophagy and polarization[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(1): 109.
- [43] FENG X T, DU M, LI S J, et al. Hydroxysafflor yellow A regulates lymphangiogenesis and inflammation via the inhibition of PI3K on regulating AKT/mTOR and NF-κB pathway in macrophages to reduce atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice[J]. *Phytomedicine*, 2023, 112: 154684.