

本文引用: 伍超, 王怀瑶, 胡洁, 等. 脂肪酸结合蛋白5通过上调肉碱棕榈酰转移酶1A促进巨噬细胞脂质蓄积和炎症因子表达加重动脉粥样硬化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2026, 34(9): 824-836. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2026.09.002.

· 霍勇教授代谢性心血管疾病专栏 ·

[文章编号] 1007-3949(2026)34-09-0824-13

脂肪酸结合蛋白5通过上调肉碱棕榈酰转移酶1A促进巨噬细胞脂质蓄积和炎症因子表达加重动脉粥样硬化

伍超, 王怀瑶, 胡洁, 李佩政, 谢作晶, 李燕, 李蔓莎, 汪艳, 刘艳青

昆明医科大学第一附属医院心血管内科, 云南省昆明市 650032

[摘要] **[目的]** 探讨脂肪酸结合蛋白5(FABP5)对动脉粥样硬化(As)脂质代谢及炎症反应的影响,并进一步分析其与肉碱棕榈酰转移酶1A(CPT1A)之间的调控关系及其潜在作用机制。**[方法]** 通过GSE132651数据集筛选冠状动脉内皮功能异常相关差异表达基因,结合STRING数据库构建蛋白互作网络,并进行GO、KEGG富集分析;从Reactome数据库获得脂质代谢相关基因集,并与差异表达基因取交集筛选脂质代谢相关差异基因。采用高脂饮食喂养ApoE^{-/-}小鼠构建As模型,并通过尾静脉注射FABP5敲低慢病毒(sh-FABP5)及FABP5/CPT1A共敲低慢病毒(sh-FABP5+sh-CPT1A)进行体内干预。采用氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)诱导RAW264.7巨噬细胞泡沫化模型,并通过FABP5敲低(si-FABP5)、FABP5过表达(OE-FABP5)及FABP5过表达联合CPT1A敲低(OE-FABP5+si-CPT1A)进行体外验证。采用qPCR检测FABP5、CPT1A及炎症因子mRNA表达水平,采用高效液相色谱法检测细胞内胆固醇水平,采用Western blot检测FABP5、CPT1A及脂质代谢相关蛋白表达,采用ELISA检测炎症因子水平,采用生物化学分析检测血清脂质指标,并通过HE染色、Masson染色及CD68免疫荧光评价主动脉根部斑块病变。**[结果]** GSE132651数据集分析显示,冠状动脉内皮功能异常组与冠状动脉内皮功能正常组之间共筛选出24个显著差异表达基因,其中上调基因11个、下调基因13个;与Reactome脂质代谢相关基因取交集后获得FABP5、FABP4和ANKRD1共3个脂质代谢相关差异基因。ox-LDL处理后,RAW264.7细胞中FABP5、白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素1 β (IL-1 β)的mRNA表达水平,以及细胞内总胆固醇(TC)、游离胆固醇(FC)和胆固醇酯(CE)水平均较正常对照组显著升高($P<0.05$)。与模型组相比,FABP5敲低后IL-6、TNF- α 和IL-1 β mRNA表达及TC、FC和CE水平显著降低;FABP5过表达后上述炎症因子和胆固醇指标进一步升高,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。STRING预测、Co-IP实验及GSE54666数据集分析提示FABP5与CPT1A存在潜在功能关联;在人源原代巨噬细胞泡沫化数据集中,FABP5和CPT1A在ox-LDL诱导的泡沫细胞中均显著升高($P<0.01$)。进一步细胞实验显示,与OE-FABP5组相比,OE-FABP5+sh-CPT1A组IL-6、TNF- α 和IL-1 β mRNA表达及TC、FC和CE水平显著降低($P<0.05$)。动物实验显示,与As组相比,FABP5敲低后小鼠血清TC、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平显著降低,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平显著升高;主动脉根部斑块面积、胶原阳性面积及CD68平均荧光强度均显著降低($P<0.05$)。FABP5与CPT1A共敲低后,血脂异常、炎症反应及主动脉根部斑块病变进一步改善。**[结论]** FABP5可能通过上调CPT1A促进巨噬细胞胆固醇蓄积和炎症因子表达,从而参与As进展;FABP5/CPT1A轴可能成为As脂质代谢紊乱和炎症反应干预的潜在靶点。

[关键词] 动脉粥样硬化; 脂肪酸结合蛋白5; 肉碱棕榈酰转移酶1A; 脂质代谢; 炎症反应

[中图分类号] R543.5

[文献标识码] A

Fatty acid-binding protein 5 exacerbates atherosclerosis by upregulating carnitine palmitoyltransferase 1A to promote cholesterol accumulation and inflammatory cytokine expression in macrophages

[收稿日期] 2026-02-06

[修回日期] 2026-07-29

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(82560070);云南省科技厅科技计划项目(202301AT070093);昆明医科大学第一附属医院“535”高层次人才青年骨干培养项目(2023535Q04);云南省“兴滇英才支持计划”项目;云南省卫生健康委员会医学学科带头人培养项目(D-2024013)

[作者简介] 伍超,硕士,住院医师,研究方向为心血管代谢疾病的研究,E-mail:19982004140@163.com。通信作者刘艳青,硕士,主治医师,研究方向为心血管代谢疾病的诊疗,E-mail:lyq05300510@163.com。

Wu Chao, Wang Huaiyao, Hu Jie, Li Peizheng, Xie Zuojin, Li Yan, Li Mansha, Wang Yan, Liu Yanqing

Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650032, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of fatty acid-binding protein 5 (FABP5) on lipid metabolism and inflammatory responses during atherosclerosis (As), and to explore the potential interaction between FABP5 and carnitine palmitoyltransferase 1A (CPT1A), so as to clarify the molecular regulatory network of FABP5 in the initiation and progression of As and its therapeutic potential. **Methods** Differentially expressed genes associated with coronary endothelial dysfunction were screened using the GSE132651 dataset. A protein-protein interaction network was constructed using the STRING database, followed by GO and KEGG enrichment analysis. Lipid metabolism-related genes were obtained from the Reactome database and intersected with differentially expressed genes to identify lipid metabolism-related candidate genes. An As model was established in ApoE^{-/-} mice fed a high-fat diet, followed by *in vivo* intervention with FABP5 knockdown lentivirus (sh-FABP5) or combined FABP5/CPT1A knockdown lentiviruses (sh-FABP5+sh-CPT1A) via tail vein injection. An oxidized-low density lipoprotein (ox-LDL)-induced RAW264.7 macrophage foam cell model was used for *in vitro* validation, including FABP5 knockdown (si-FABP5), FABP5 overexpression (OE-FABP5), and FABP5 overexpression combined with CPT1A knockdown (OE-FABP5+si-CPT1A). qPCR was used to detect the mRNA expression levels of FABP5, CPT1A, and inflammatory cytokines. High-performance liquid chromatography was used to measure intracellular cholesterol levels. Western blot was performed to detect the expression of FABP5, CPT1A, and lipid metabolism-related proteins. ELISA was used to determine inflammatory cytokine levels, biochemical assays were used to measure serum lipid profiles, and HE staining, Masson staining, and CD68 immunofluorescence were used to evaluate aortic root plaque lesions. **Results** Analysis of the GSE132651 dataset identified 24 significantly differentially expressed genes between the coronary endothelial dysfunction group and the normal endothelial function group, including 11 upregulated and 13 downregulated genes. Intersecting these genes with Reactome lipid metabolism-related genes identified three lipid metabolism-related differentially expressed genes: FABP5, FABP4, and ANKRD1. After ox-LDL treatment, FABP5, interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukin-1 β (IL-1 β) mRNA expression levels and intracellular total cholesterol (TC), free cholesterol (FC), and cholesteryl ester (CE) levels in RAW264.7 cells increased significantly compared with the normal control group ($P < 0.05$). Compared with the model group, FABP5 knockdown significantly reduced IL-6, TNF- α , and IL-1 β mRNA expression, and TC, FC and CE levels. FABP5 overexpression further increased inflammatory cytokine expression and cholesterol accumulation, with statistically significant differences ($P < 0.05$). STRING prediction, Co-IP assays, and GSE54666 dataset analysis suggested a potential functional association between FABP5 and CPT1A. In a human primary macrophage foam cell dataset, both FABP5 and CPT1A were significantly upregulated in ox-LDL-induced foam cells ($P < 0.01$). Further *in vitro* experiments showed that, compared with the OE-FABP5 group, the OE-FABP5 + sh-CPT1A group exhibited significantly lower mRNA expression of IL-6, TNF- α and IL-1 β , as well as lower levels of TC, FC and CE ($P < 0.05$). *In vivo*, compared with the As group, FABP5 knockdown significantly decreased serum TC, TG and LDLC levels while increasing HDLC level; the aortic root plaque area, collagen-positive area and mean fluorescence intensity of CD68 were also markedly reduced ($P < 0.05$). Combined knockdown of FABP5 and CPT1A further improved lipid abnormalities, inflammatory responses, and aortic root plaque lesions. **Conclusions** FABP5 may promote macrophage cholesterol accumulation and inflammatory cytokine expression by upregulating CPT1A, thereby contributing to As progression. The FABP5/CPT1A axis may serve as a potential target for intervention in lipid metabolism disorders and inflammatory responses in As.

[KEY WORDS] atherosclerosis; fatty acid-binding protein 5; carnitine palmitoyltransferase 1A; lipid metabolism; inflammatory response

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)作为心血管疾病的核心病理基础,其发病机制已被重新定义为一种慢性炎症性病变过程^[1]。肥胖引发内脏脂肪沉积与脂质代谢异常被视为 As 的主要独立危险因素^[2],其特征性表现为内膜下脂质异常沉积,进而诱导单核/巨噬细胞浸润、血管平滑肌细胞增殖以及泡沫细胞形成等病理改变^[3]。从分子病理学角

度分析,As 的本质是脂质代谢失衡导致的进行性血管壁损伤^[4]。这一复杂的病理生理过程涉及脂质沉积与炎症反应之间的恶性循环;脂质沉积触发炎症级联反应,而炎症微环境又进一步加剧脂质代谢紊乱,最终导致斑块不稳定甚至破裂^[5]。值得注意的是,虽然 As 的发病率随年龄增长而升高,但血管壁对脂质的摄取和巨噬细胞介导的清除过程贯穿

整个生命周期。巨噬细胞向泡沫细胞转化是斑块形成的核心环节^[6]。近年来研究发现,脂肪酸结合蛋白 5 (fatty acid-binding protein 5, FABP5) 作为细胞内脂质转运的关键调控因子,通过参与脂肪酸代谢重编程和细胞信号转导,在多种类型疾病发展中发挥重要作用^[7]。例如通过激活核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B) 等促炎通路促进炎症因子释放,最终导致血管内皮功能障碍和炎症细胞浸润^[7]。但 FABP5 对 As 的作用仍不明确。基于此,本研究结合生物信息学分析、氧化型低密度脂蛋白 (oxidized-low density lipoprotein, ox-LDL) 诱导的巨噬细胞泡沫化模型及 ApoE^{-/-} 小鼠 As 模型,探讨 FABP5 对 As 脂质代谢和炎症反应的影响,并进一步分析其与肉碱棕榈酰转移酶 1A (carnitine palmitoyltransferase 1A, CPT1A) 的潜在关系。

1 材料和方法

1.1 差异基因筛选

从 GEO 数据库下载 GSE132651^[8] 数据集,该数据集包含 6 例冠状动脉内皮功能正常样本 (NL 组) 和 13 例冠状动脉内皮功能异常样本 (ABNL 组)。采用 R 软件对表达矩阵进行数据整理及标准化处理,并根据数据分布情况进行对数转换。应用 limma 包进行差异表达分析,以 $|\log_2FC| > 1$ 且校正后 $P < 0.05$ 作为筛选阈值,获得 As 早期血管病变相关差异表达基因。结合 STRING 数据库构建蛋白互作网络,对差异基因进行 GO 以及 KEGG 富集分析,从 Reactome 数据库中获得 740 个脂质代谢相关基因,并与差异表达基因取交集获取脂质代谢相关差异基因。

考虑到 As 的发生发展涉及内皮功能障碍、脂质沉积、单核/巨噬细胞募集及泡沫细胞形成等连续病理环节,GSE132651 数据集主要用于筛选 As 早期血管病变相关候选基因。为进一步验证候选基因在人源巨噬细胞泡沫化过程中的表达变化,本研究同时下载 GSE54666^[9] 数据集进行辅助分析。该数据集包含 6 对人源原代巨噬细胞及 ox-LDL 诱导的泡沫细胞样本。根据样本来源将其分为对照巨噬细胞组和 ox-LDL 诱导的泡沫细胞组,并采用 limma 包进行配对差异分析。针对 FABP5 和 CPT1A,提取其对应探针表达值进行组间比较;当同一基因对应多个探针时,选取校正后 P 值最小的探针作为代表探针进行可视化展示。

1.2 动脉粥样硬化动物模型

选用 8 周龄雄性 ApoE^{-/-} 小鼠 ($n=24$) 及 C57BL/6J 野生型小鼠 ($n=6$) 作为研究对象。C57BL/6J 小鼠喂养普通饲料 12 周设为正常对照组。ApoE^{-/-} 小鼠分别给予高脂饮食 (配方:40% 脂肪,1.25% 胆固醇,0.5% 胆酸) 喂养 12 周诱导 As 模型,并按随机数法分为以下 4 组。①As 组: ApoE^{-/-} 小鼠尾静脉注射生理盐水,高脂饮食 12 周。②对照慢病毒组: ApoE^{-/-} 小鼠尾静脉注射对照慢病毒,高脂饮食 12 周;③FABP5 敲低组 (sh-FABP5 组): ApoE^{-/-} 小鼠尾静脉注射 FABP5 敲低慢病毒,高脂饮食 12 周;④FABP5 敲低 + CPT1A 敲低组 (sh-FABP5 + sh-CPT1A 组): ApoE^{-/-} 小鼠尾静脉注射 FABP5 敲低慢病毒以及 CPT1A 敲低慢病毒,高脂饮食 12 周。考虑到 ApoE^{-/-} 小鼠高脂饮食诱导 As 的造模周期较长,本研究采用慢病毒载体介导 shRNA 对 FABP5 和 CPT1A 进行相对稳定的体内基因沉默,以观察其对 As 形成及进展的影响。12 周末禁食 12 h 后摘眼球取血,分离血清后,检测总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 和高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 水平。取主动脉根部用于 HE 染色、Masson 染色及 CD68 免疫荧光检测,以评价斑块形成、胶原沉积及巨噬细胞浸润情况;其余主动脉组织用于 qPCR 或 Western blot 检测 FABP5、CPT1A 及炎症相关分子的表达水平,并验证体内基因敲低效率。

1.3 细胞培养与转染实验

RAW264.7 细胞 (美国 ATCC 公司),在 DMEM 培养基中添加 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素溶液 (普诺赛),置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养。以 1×10^4 个/孔接种于 6 孔板中,使用含 50 mg/L ox-LDL 培养基处理 RAW264.7 细胞 30 h 构建泡沫细胞模型。采用 Lipofectamine 3000 (美国赛默飞) 分别转入对照质粒、FABP5 敲低质粒及 FABP5 过表达质粒,转染 48 h。细胞分为 6 组:①正常对照组:正常培养的 RAW264.7 细胞;②模型组:经 ox-LDL 处理后的泡沫细胞模型;③对照质粒组:经 ox-LDL 处理后转染对照慢病毒质粒;④FABP5 敲低组 (si-FABP5 组):经 ox-LDL 处理后转染 FABP5 敲低质粒;⑤FABP5 过表达组 (OE-FABP5 组):经 ox-LDL 处理后转染 FABP5 过表达质粒;⑥FABP5 过表达 + CPT1A 敲低组 (OE-FABP5 + si-CPT1A 组):经 ox-LDL 处理后转染 FABP5 过表达质粒与 CPT1A 敲低

质粒。

1.4 酶法检测细胞内胆固醇水平

收集各组泡沫细胞后,采用细胞裂解液充分裂解,并测定总蛋白浓度用于结果校正。按照试剂盒说明,使用胆固醇氧化酶法检测细胞裂解液中游离胆固醇(free cholesterol,FC)水平;使用胆固醇氧化酶联合胆固醇酯酶法检测 TC 水平。胆固醇酯(cholesteryl ester,CE)水平按 TC 与 FC 的差值计算,即 $CE=TC-FC$ 。各指标最终以 mg/g 蛋白表示。

1.5 炎症因子以及生物化学检测

采用 ELISA 检测细胞培养上清液中炎症因子白细胞介素 6(interleukin-6,IL-6)(CK-E20188,酶联中国)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)(CK-E20188,酶联中国)和白细胞介素 1 β (interleukin-1 β ,IL-1 β)(KQ105768,科桥生物)的水平。通过生物化学试剂盒检测小鼠血清中 TC(A111-1-1,南京建成)、TG(A110-1-1,南京建成)、LDLC(A113-1-1,南京建成)和 HDLC(A112-2-1,南京建成)的水平,样品均设复孔,取平均值确保准确性。

1.6 形态学染色

HE 染色用于观察主动脉根部病理变化,取主动脉组织固定后石蜡包埋,切片脱蜡至水后,苏木精染核 10 min,盐酸酒精分化,氨水返蓝,伊红染胞质 5 min,梯度乙醇脱水透明,中性树胶封片。Masson 染色用于显示胶原纤维,切片脱蜡至水后,丽春红品红染液染色 5 min,苯胺蓝染液染色 2 min,1%冰醋酸分化,无水乙醇迅速脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。阳性胶原纤维呈蓝色,肌纤维呈红色。免疫荧光检测 CD68 阳性表达,切片脱蜡至水后,用 0.1 mol/L EDTA 溶液(pH 9.0)在 95 ℃ 下进行抗原修复 10 min。组织切片用 5%牛血清白蛋白(bovine serum albumin,BSA)进行封闭,在 37 ℃ 下孵育 1 h,以最大限度地减少非特异性结合。加入一抗兔抗鼠 CD68(1:200,ab213363,Abcam),4 ℃ 孵育过夜,经 PBS 洗涤后,加入 Alexa Fluor 488 标记的二抗(1:500,GB25303,赛维尔生物,中国)于室温孵育 1 h。使用 DAPI(ZLI-9557,中杉金桥)进行核染色,载玻片用抗荧光淬灭封片剂(S2100,赛维尔生物,中国)封片。

1.7 分子检测

采用实时荧光定量 PCR(real time-quantitative PCR,RT-qPCR)检测主动脉组织中炎症相关基因 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的 mRNA 表达水平。取适量主动脉组织以及细胞样本,使用 Trizol 法提取总

RNA,经 NanoDrop 超微量分光光度计测定其浓度与纯度。取 1 μ g 总 RNA,使用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser(RR047A,Takara)进行基因组 DNA 去除及反转录反应,合成 cDNA 第一链。使用 SYBR® Premix Ex Taq™ II(Takara,货号 RR820A)于 QuantStudio 5 实时荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems)上进行 qPCR 扩增。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因 mRNA 的相对表达量,选用 GAPDH 作为内参基因。引物序列如下:FABP5 上游 5'-GCTGTGTCTCACTCAGCTTCT-3',下游 5'-GCAGCAAAGCAAGAACTCCC-3';CPT1A 上游 5'-CACCATGTCCCCATTGCTCT-3',下游 5'-CGTGCT-GAACTTGGGACTCT-3';TNF- α 上游 5'-ATGGT-GAGACAGAAAGAGCGG-3',下游 5'-TTAGCCCT-GAGGTGTCTGGT-3';IL-6 上游 5'-ACTCACCTCT-TCAGAACGAATTG-3',下游 5'-ATTAAGTGGGTGC-CTGCTC-3';IL-1 β 上游 5'-GCTTCCCTCAGGATGCT-TGT-3',下游 5'-TGGATGCTCTGGTGTGTAATG-3';GAPDH 上游 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',下游 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。

细胞通过 RIPA 裂解液裂解后于 4 ℃ 条件下以 12 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,采用 BCA 法测定蛋白浓度,取等量总蛋白上样,通过 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳进行分离。随后采用湿转法将蛋白转移至 PVDF 膜上。转膜结束后使用含 5%脱脂奶粉的 TBST 室温封闭 1 h。封闭后的膜分别与相应一抗 4 ℃ 孵育过夜,所用一抗及稀释比例如下:FABP5 为 1:1 000(Abcam,ab84028),CPT1A 为 1:1 000(Abcam,ab234111),过氧化物酶体增殖物激活受体 α (peroxisome proliferator-activated receptor alpha,PPAR α)为 1:1 000(Abcam,ab126285),脂肪分化相关蛋白(adipose differentiation-related protein,ADRP/PLIN2)为 1:1 000(Abcam,ab201721),脂肪细胞脂质结合蛋白(adipocyte lipid-binding protein,ALBP/FABP4)为 1:1 000(Abcam,ab166878)。TBST 充分洗涤后,与稀释比例为 1:2 000 的山羊抗兔 IgG H&L 二抗(Cell Signaling Technology,#707,中国)室温孵育 1 h。最后使用 ECL 化学发光试剂显影成像。GAPDH(鼠抗 GAPDH,1:5 000)作为内参对照,用于标准化各蛋白条带的表达水平。

1.8 免疫共沉淀实验

采用 RIPA 裂解缓冲液裂解细胞与动物样本。使用 BCA 蛋白定量试剂盒(P0010,碧云天)测定蛋白浓度。蛋白 A/G 磁珠(赛默飞世尔)预先与抗 FABP5 和抗 CPT1A 抗体在 4 ℃ 条件下孵育 2 h。随

后将抗体-磁珠复合物与细胞裂解液在 4 ℃ 条件下旋转孵育过夜。以 IgG 作为阴性对照,免疫沉淀反应结束后,使用预冷的 RIPA 缓冲液清洗磁珠,用 2× SDS-PAGE 上样缓冲液重悬沉淀物进行 Western blot 分析。

1.9 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8.0 软件进行 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 GraphPad Prism 8.3 软件进行统计学分析,组间比较采用单因素方差分析,差异显著者进一步采用 Tukey's 多重比较检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脂质代谢相关差异基因的筛选

为了筛选 As 样本与正常样本之间的差异表达基因,通过下载 GEO 数据库中的 GSE132651 数据集,并进行差异分析与功能注释。对 13 例冠状动脉内皮功能异常样本和 6 例冠状动脉内皮功能正常样本的血液生长内皮细胞进行质控,箱式图显示均一化后数据分布均匀,无明显离群点(图 1A)。主成分分析(principle component analysis, PCA)显示 As 样本与正常样本在基因表达谱上存在明显分离趋势(图 1B)。当筛选标准为 $|\log_2 FC| > 1$ 且调整后 P 值 < 0.05 后,共鉴定出显著差异表达基因 24 个,其

中包括下调基因 13 个,上调基因 11 个。火山图(图 1C)显示了上述差异基因的表达分布情况。其中红色为上调基因,蓝色为下调基因。热图显示了前 50 个差异表达基因的表达模式(图 1D)。对差异表达基因进行 GO 以及 KEGG 功能富集分析后,差异基因显著富集于炎症反应的正向调控(positive regulation of inflammatory response)、肾小球发育(glomerulus development)、炎症反应调控(regulation of inflammatory response)、防御反应的正向调控(positive regulation of defense response)、长链脂肪酸转运蛋白活性(long-chain fatty acid transporter activity)、离子通道调节活性(ion channel regulator activity)、通道调节活性(channel regulator activity)、脂肪酸结合(fatty acid binding)、单羧酸结合(monocarboxylic acid binding)等炎症相关以及脂肪酸代谢相关 GO 条目,而 KEGG 通路则富集于 Rap1 信号通路和 PPAR 信号通路(表 1 和图 1E)。从 Reactome 数据库中获得 740 个脂质代谢相关基因,通过韦恩图与 24 个差异基因取交集,最终获得 3 个脂质代谢相关差异基因,即 FABP5、FABP4 和 ANKRD1(图 1F)。对 24 个差异蛋白通过 STRING 进行 PPI 绘制后得 24 个节点以及 5 个互作关系对,而脂质代谢相关差异基因中, FABP5 与 FABP4 有相互作用(图 1G)。FABP5 富集于长链脂肪酸转运蛋白活性、脂肪酸结合等脂质代谢相关功能条目,因此选择 FABP5 作为核心差异基因之一进行研究。

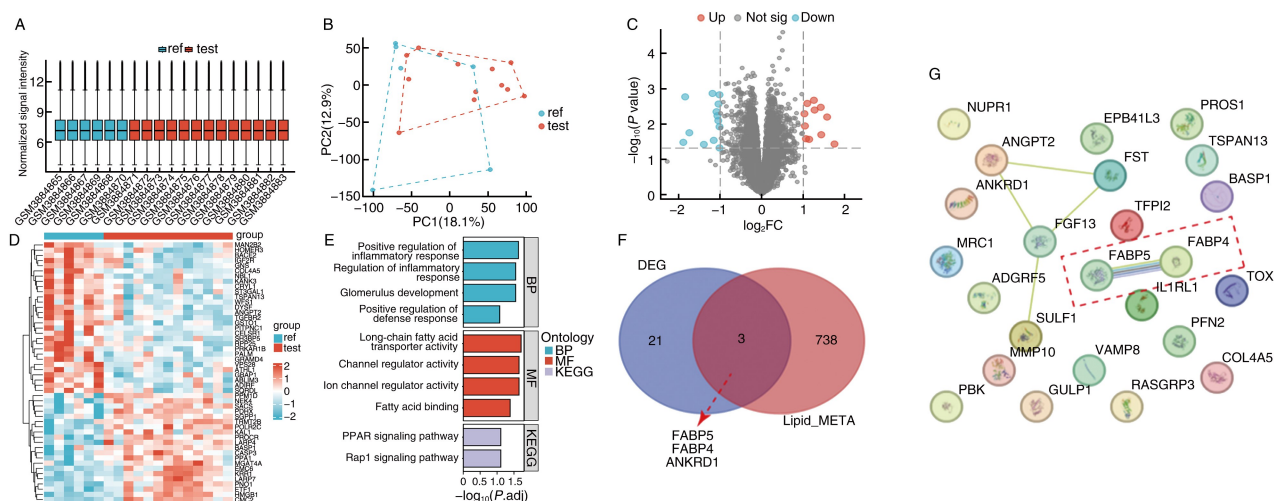


图 1. 脂质代谢相关差异基因筛选

A 为箱式图展示样本均一化;B 为 PCA 分析显示 As 组与对照组样本的聚类分离;C 为火山图呈现差异基因分布,红色为上调基因,蓝色为下调基因;D 为热图显示显著差异基因表达模式;E 为差异基因的 GO 条目以及 KEGG 通路富集;F 为韦恩图展示脂质代谢相关基因与差异基因交集;G 为蛋白-蛋白互作网络。

Figure 1. Screening of lipid-metabolism-related differentially expressed genes

表 1. GO 以及 KEGG 条目富集
Table 1. Enrichment of GO and KEGG

本体类别	条目 ID	条目描述	基因比例	基因 ID	背景基因比例	P 值	校正后 P 值
BP	GO:0050729	炎症反应的正向调控	4/23	FABP4/IL1RL1/VAMP8/NUPR1	145/18800	2.68e-05	0.023 3
BP	GO:0032835	肾小球发育	3/23	ANGPT2/SULF1/BASP1	66/18800	6.96e-05	0.028 2
BP	GO:0050727	炎症反应调控	5/23	FABP4/IL1RL1/VAMP8/NUPR1/PBK	394/18800	9.71e-05	0.028 2
BP	GO:0031349	防御反应的正向调控	4/23	FABP4/IL1RL1/VAMP8/NUPR1	289/18800	0.000 4	0.083 6
MF	GO:0005324	长链脂肪酸转运蛋白活性	2/22	FABP4/FABP5	17/18410	0.000 2	0.019 4
MF	GO:0099106	离子通道调节活性	3/22	VAMP8/FGF13/TSPAN13	138/18410	0.000 6	0.022 4
MF	GO:0016247	通道调节活性	3/22	VAMP8/FGF13/TSPAN13	143/18410	0.000 6	0.022 4
MF	GO:0005504	脂肪酸结合	2/22	FABP4/FABP5	49/18410	0.001 5	0.041 1
MF	GO:0033293	单羧酸结合	2/22	FABP4/FABP5	81/18410	0.004 2	0.088 4
KEGG	hsa04015	Rap1 信号通路	3/12	ANGPT2/RASGRP3/PFN2	210/8164	0.0031	0.077 7
KEGG	hsa03320	PPAR 信号通路	2/12	FABP4/FABP5	75/8164	0.005 2	0.077 7

2.2 FABP5 对 ox-LDL 处理巨噬细胞的作用

为了研究 FABP5 对泡沫细胞的作用,通过 ox-LDL 对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 进行处理,并转染 si-FABP5 或 pcDNA-FABP5 后进行检测。采用 qPCR 验证转染效率,结果显示相较于正常对照组,模型组 FABP5 mRNA 表达升至正常对照组的 2.6 倍 ($P<0.01$);与模型组相比,对照质粒组 FABP5 表达差异无显著性,转染 si-FABP5 (si-FABP5 组)后 FABP5 表达降至模型组的 69% ($P<0.05$),转染 pcDNA-FABP5 (OE-FABP5 组)后 FABP5 表达升至模型组的 1.58 倍 ($P<0.01$),提示 FABP5 敲低及过表达效率良好(图 2A)。qPCR 检测显示炎症因子 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 水平在 ox-LDL 处理后分别升至正常对照组的 3.0 倍、2.7 倍和 3.0 倍(均 $P<0.01$),si-FABP5 组 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β mRNA 表达分别降至模型组的 45%、68% 和 56% ($P<0.01$),而 OE-FABP5 组上述指标分别升至模型组的 1.36 倍、1.54 倍和 1.40 倍 ($P<0.01$;图 2B ~ D)。同时,ELISA 检测结果表明,ox-LDL 处理后,细胞培养上清中 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的分泌水平分别升至正常对照组的 6.4 倍、3.2 倍和 5.6 倍(均 $P<0.01$);而转染 si-FABP5 后,上述炎症因子的分泌水平分别降至模型组的 72%、76% 和 48% ($P<0.01$),转染 pcDNA-FABP5 则分别升至模型组的 1.22 倍、1.33 倍和 1.31 倍 ($P<0.01$;图 2E ~ G)。细胞内胆固醇检测结果显示,与正常对照组相比,模型组 TC、FC 和 CE 水平分别升至正常对照组的 2.6 倍、2.6 倍和 2.6 倍 ($P<0.01$);与模型组相比,si-FABP5 组 TC、FC 和 CE 水平分别降至模型组的 50%、53% 和 49% ($P<0.01$),而 OE-FABP5 组则分别升至模型组的 1.22 倍、1.31 倍和 1.19 倍 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$;图 2H)。同样,通过

Western blot 检测 FABP5 以及脂质代谢关键蛋白 PPAR α 、ADRP 和 ALBP 的表达。与正常对照组相比,模型组 PPAR α 蛋白表达降至正常对照组的 28%,FABP5、ADRP 和 ALBP 蛋白表达分别升至正常对照组的 3.8 倍、3.1 倍和 3.0 倍(均 $P<0.01$);与模型组相比,si-FABP5 组 FABP5 蛋白表达降至模型组的 51%,PPAR α 表达升至模型组的 2.10 倍,ADRP 和 ALBP 表达分别降至模型组的 51% 和 55% ($P<0.01$);OE-FABP5 组 FABP5 蛋白表达升至模型组的 1.57 倍,PPAR α 表达降至模型组的 52%,ADRP 和 ALBP 表达分别升至模型组的 1.67 倍和 1.71 倍 ($P<0.01$;图 2I ~ M)。

2.3 FABP5 与 CPT1A 具有相互作用关系

通过 STRING 数据库分析发现 FABP5 具有 22 个潜在结合蛋白(图 3A 和表 2),其中 CPT1A 同时富集于脂肪酸转运(fatty acid transport)、脂质转运(lipid transport)、脂质储存调控(regulation of lipid storage)、长链脂肪酸转运(long-chain fatty acid transport)及脂质定位(lipid localization)等多个脂质代谢相关通路中,因此对 CPT1A 进行重点分析(表 3)。Co-IP 实验结果显示,FABP5 与 CPT1A 在巨噬细胞中具有明显的沉淀产生,提示 FABP5 与 CPT1A 在 RAW264.7 细胞中存在相互作用(图 3B)。进一步采用人源原代巨噬细胞泡沫化数据集 GSE54666 对 FABP5 与 CPT1A 表达进行验证。结果显示,与对照巨噬细胞相比,FABP5 在 ox-LDL 诱导的泡沫细胞中升至 1.50 倍,差异有统计学意义 ($P<0.01$);CPT1A 在 ox-LDL 诱导的泡沫细胞中升至对照巨噬细胞组的 1.32 倍,差异亦有统计学意义 ($P<0.01$;图 3C)。上述结果提示,FABP5 与 CPT1A 可能存在

潜在功能关联,并共同参与巨噬细胞泡沫化过程中的脂质代谢调控。

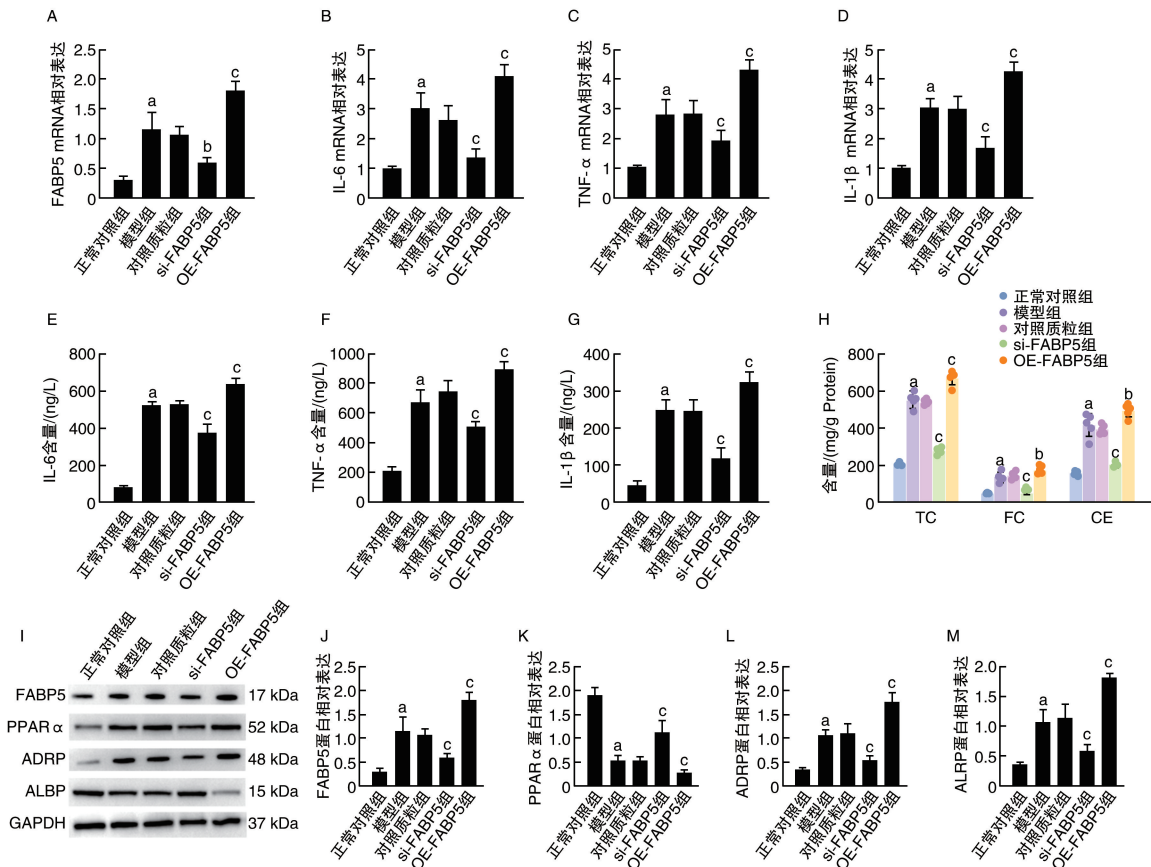


图 2. FABP5 对 ox-LDL 处理后巨噬细胞的作用 ($n=3$)

A ~ D 为 FABP5、IL-6、TNF- α 和 IL-1 β mRNA 表达水平的 qPCR 分析。E ~ G 为培养上清液中 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 分泌的 ELISA 检测。

H 为通过 HPLC 测定的细胞内 TC、FC 和 CE 水平。I ~ M 为 FABP5、PPAR α 、ADPR 及 ALBP 蛋白表达的 Western blot 分析。

a 为 $P<0.01$, 与正常对照组比较; b 为 $P<0.05$, c 为 $P<0.01$, 与模型组比较。

Figure 2. Effects of FABP5 on macrophages treated with ox-LDL ($n=3$)

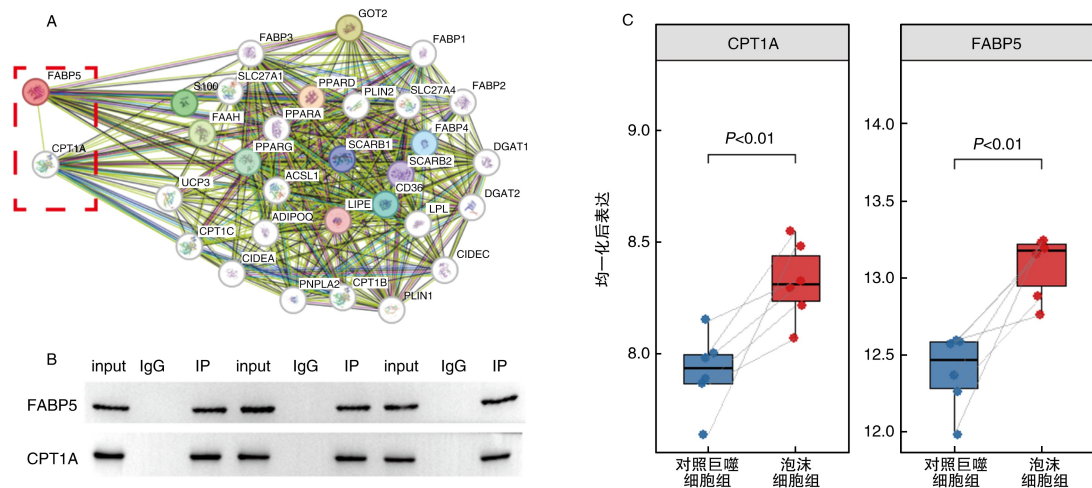


图 3. FABP5 与 CPT1A 存在潜在功能关联 ($n=6$)

A 为 STRING 数据库预测 FABP5 相关蛋白互作网络,红色虚线框标示 FABP5 与 CPT1A; B 为 Co-IP 实验检测 FABP5 与 CPT1A 在 RAW264.7 细胞中的相互作用关系; C 为 GSE54666 数据集中 FABP5 与 CPT1A 在人源原代巨噬细胞泡沫化过程中的表达分析。

Control 代表人源原代巨噬细胞对照组, ox-LDL 代表 ox-LDL 诱导泡沫细胞组。

Figure 3. Potential functional association between FABP5 and CPT1A ($n=6$)

表 2. FABP5 的潜在结合蛋白

Table 2. Potential binding proteins of FABP5

#节点一	#节点二	共表达系数	实验验证互作系数	数据库注释系数	自动文本挖掘系数	综合得分
FABP5	LIPE	0.069	0.088	0.5	0.455	0.737
FABP5	GOT2	0.086	0.068	0	0.888	0.896
FABP5	SLC27A1	0	0	0	0.492	0.492
FABP5	SCARB1	0.06	0	0	0.737	0.742
FABP5	SCARB2	0.061	0	0	0.737	0.742
FABP5	PLIN2	0.055	0	0	0.495	0.503
FABP5	PPARG	0.136	0.298	0	0.739	0.828
FABP5	PLIN1	0.06	0	0	0.41	0.422
FABP5	LPL	0.098	0	0	0.413	0.448
FABP5	SLC27A4	0.057	0	0	0.525	0.533
FABP5	PPARA	0.06	0.05	0	0.699	0.708
FABP5	S100A7	0.05	0.51	0	0.77	0.883
FABP5	PPARD	0.044	0.05	0.5	0.977	0.988
FABP5	ACSL1	0.055	0	0	0.487	0.495
FABP5	ADIPOQ	0.202	0	0	0.423	0.52
FABP5	CD36	0.14	0	0	0.744	0.77
FABP5	CIDEA	0.068	0	0	0.481	0.496
FABP5	CPT1A	0	0	0	0.49	0.49
FABP5	FAAH	0	0	0	0.891	0.891
FABP5	FABP1	0.052	0	0	0.518	0.523
FABP5	FABP2	0	0	0	0.442	0.47
FABP5	FABP4	0.084	0	0.5	0.496	0.756

表 3. FABP5 潜在结合蛋白的 GO 以及 KEGG 条目富集

Table 3. Enrichment of GO and KEGG entries for potential binding proteins of FABP5

类别	条目编号	描述	强度	相关基因
BP	GO:0010876	脂质定位	1.6	DGAT2, GOT2, SLC27A1, FABP4, SCARB1, SCARB2, CPT1A, FABP2, PLIN2, PPARG, FABP1, FABP5, SLC27A4, PPARD, CIDEA, PNPLA2, FABP3, CIDEA, CPT1B, PPARA, CD36, ACSL1, DGAT1
BP	GO:0015908	脂肪酸转运	2.1	GOT2, SLC27A1, FABP4, CPT1A, FABP2, PLIN2, PPARG, FABP1, FABP5, SLC27A4, PPARD, FABP3, CPT1B, CD36, ACSL1
BP	GO:0015909	长链脂肪酸转运	2.18	SLC27A1, FABP4, CPT1A, FABP2, PLIN2, PPARG, FABP1, FABP5, SLC27A4, FABP3, CPT1B, CD36, ACSL1
BP	GO:0006869	脂质转运	1.54	GOT2, SLC27A1, FABP4, SCARB1, SCARB2, CPT1A, FABP2, PLIN2, PPARG, FABP1, FABP5, SLC27A4, PPARD, FABP3, CIDEA, CPT1B, CD36, ACSL1
BP	GO:0006629	脂质代谢过程	1.08	DGAT2, FAAH, LIPE, SLC27A1, SCARB1, CPT1A, FABP2, PPARG, FABP5, PLIN1, SLC27A4, PPARD, CIDEA, UCP3, PNPLA2, CPT1C, CPT1B, PPARA, ADIPOQ, CD36, ACSL1, DGAT1, LPL

2.4 CPT1A 敲低可逆转 FABP5 对 ox-LDL 处理后巨噬细胞的作用

验证 CPT1A 对 FABP5 介导的巨噬细胞脂质代谢和炎症反应调控,在 ox-LDL 诱导的泡沫细胞模型中同时转染 FABP5 过表达以及 CPT1A 敲低质粒。

在确认 CPT1A 与 FABP5 的相互作用后,为了

qPCR 验证转染效率,结果显示相较于正常对照组,模型组 FABP5 和 CPT1A 上升至正常对照组的 2.52 倍和 2.03 倍(均 $P < 0.01$);与模型组相比,对照质粒组 FABP5 表达以及 CPT1A 表达差异无显著性,OE-FABP5 组 FABP5 以及 CPT1A 表达升至模型组的 1.45 倍和 1.79 倍(均 $P < 0.01$)。而同时转染 FABP5 过表达和 CPT1A 敲低质粒后,OE-FABP5 + si-CPT1A 组 FABP5 和 CPT1A 表达降至 OE-FABP5 组的 71% 以及 83% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$;图 4A 和 4B)。

为研究 FABP5 及 CPT1A 对炎症反应的调控,qPCR 检测炎症因子 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 水平。模型组 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 水平分别升高至正常对照组的 2.69 倍、2.76 倍、2.55 倍(均 $P < 0.01$)。而对照质粒组 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 水平与模型组差异无显著性。过表达 FABP5 后,IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 水平分别升高至模型组的 1.41 倍、1.43 倍和 1.47 倍(均 $P < 0.01$)。同时过表达 FABP5 和敲低 CPT1A 后,IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 水平分别降至 OE-FABP5 组的 81%、79% 和 82% ($P < 0.01$;图 4C ~ E)。ELISA 结果显示,与正常对照组相比,模型组细胞培养上清中 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平分别升至 6.51 倍、3.05 倍和 6.61 倍(均 $P < 0.01$);与模型组相比,对照质粒组上述指标差异无显著性;OE-FABP5 组 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平分别升至模型组的 1.36 倍、1.55 倍和 1.49 倍(均 $P < 0.01$);与 OE-FABP5 组相比,OE-FABP5 + sh-CPT1A 组上述炎症因子水平分别降至 OE-FABP5 组的 81%、79% 和 82% ($P < 0.01$;图 4F ~ H)。

通过酶法检测细胞内胆固醇,结果显示,模型组 TC、FC 和 CE 水平分别升至正常对照组的 2.72 倍、2.66 倍和 2.62 倍($P < 0.01$);与模型组相比,对照质粒组 TC、FC 和 CE 水平变化差异无显著性;过表达 FABP5 后,TC、FC 和 CE 水平分别升至模型组的 1.36 倍、2.26 倍和 1.67 倍($P < 0.01$);而 OE-FABP5 + sh-CPT1A 组 TC、FC 和 CE 水平分别降至 OE-FABP5 组的 87%、71% 和 90% ($P < 0.01$;图 4I)。Western blot 结果显示,与正常对照组相比,模型组 FABP5、CPT1A、ADRP 和 ALBP 蛋白表达分别升至 3.58 倍、3.79 倍、3.97 倍和 2.60 倍($P < 0.01$);与模型组相比,对照质粒组上述蛋白表达差异无显著性;与模型组相比,OE-FABP5 组 FABP5、CPT1A、ADRP 和 ALBP 蛋白表达分别升至 1.82 倍、1.78 倍、1.50 倍和 1.45 倍($P < 0.01$);与 OE-

FABP5 组相比,OE-FABP5 + sh-CPT1A 组上述蛋白表达分别降至 73%、76%、80% 和 69% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$;图 4J-N)。上述结果进一步提示,CPT1A 参与 FABP5 介导的巨噬细胞脂质代谢紊乱及炎症反应调控。

2.5 FABP5/CPT1A 轴参与 As 脂质代谢紊乱及炎症反应

为了验证 FABP5 对 As 的调控作用,采用尾静脉注射 FABP5 敲低慢病毒以及 CPT1A 敲低慢病毒,并对 ApoE^{-/-}小鼠模型通过高脂饮食构建 As 模型。通过 qPCR 验证 FABP5 和 CPT1A 的表达水平,结果显示 As 组主动脉组织中 FABP5 和 CPT1A mRNA 表达分别升至正常对照组的 1.9 倍和 2.1 倍(均 $P < 0.01$);与 As 组相比,对照慢病毒组 FABP5 和 CPT1A 表达差异无显著性;sh-FABP5 组 FABP5 和 CPT1A 表达分别降至 As 组的 75% 和 69% ($P < 0.01$);sh-FABP5 + sh-CPT1A 组中二者表达进一步降低,为 sh-FABP5 组的 85% 和 87% ($P < 0.01$),提示体内基因敲低有效(图 5A 和 5B)。对 TC、TG、LDLC 和 HDLC 水平的检测显示,As 组血清 TC、TG 和 LDLC 水平分别升至正常对照组的 3.1 倍、4.9 倍和 5.9 倍,HDLC 水平降至正常对照组的 27% ($P < 0.01$);与 As 组相比,对照慢病毒组上述指标差异无显著性,而 sh-FABP5 组 TC、TG 和 LDLC 水平分别降至 As 组的 78%、68% 和 69%,HDLC 水平升至 As 组的 1.5 倍($P < 0.01$);sh-FABP5 + sh-CPT1A 组 TC、TG 和 LDLC 水平进一步降低,为 sh-FABP5 组的 64%、65% 和 51%,HDLC 水平升至 sh-FABP5 组的 1.4 倍($P < 0.01$;图 5C ~ F)。ELISA 检测结果显示,As 组血清 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平分别升至正常对照组的 3.0 倍、2.3 倍和 2.4 倍(均 $P < 0.01$);与 As 组相比,对照慢病毒组差异无显著性,而 sh-FABP5 组 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平分别降至 As 组的 71%、84% 和 81% ($P < 0.01$);sh-FABP5 + sh-CPT1A 组炎症因子水平较 sh-FABP5 组进一步降低,为 sh-FABP5 组的 78%、76% 和 73% (均 $P < 0.01$;图 5G ~ I)。

HE 和 Masson 染色检测结果显示,As 模型小鼠主动脉根部斑块面积升至正常对照组的 22.1 倍,管壁增厚,脂质沉积明显,胶原纤维沉积升至正常对照组的 18.5 倍($P < 0.01$)。与 As 组相比,对照慢病毒组上述指标差异无显著性;FABP5 敲低后斑块面积降至 As 组的 59%,管壁结构改善,炎症细胞浸润减少,胶原纤维含量降至 As 组的 46% (均 $P < 0.01$);sh-FABP5 + sh-CPT1A 组斑块面积进一步缩

小,为 sh-FABP5 组的 43%,血管病变程度最轻,胶原纤维含量降至 sh-FABP5 组的 57% (均 $P<0.01$; 图 5J、K、M、N)。免疫荧光检测显示,As 组中 CD68 阳性细胞在斑块内升至正常对照组的 5.0 倍 ($P<$

0.01)。FABP5 敲低后,CD68 阳性细胞数量降至 As 组的 55% ($P<0.01$)。sh-FABP5+sh-CPT1A 组中,CD68 阳性信号进一步减弱,为 sh-FABP5 组的 65% ($P<0.01$;图 5L 和 5O)。

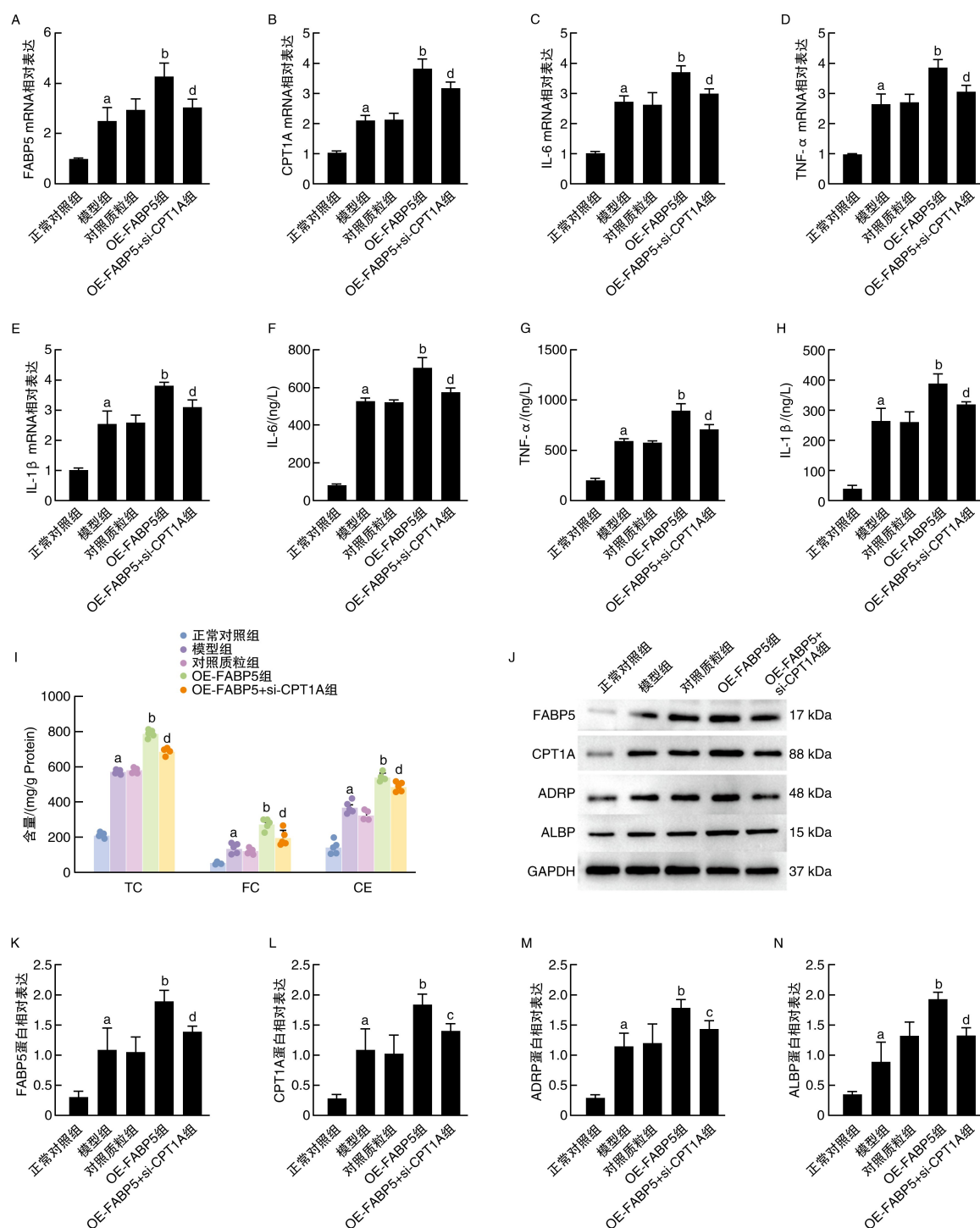


图 4. CPT1A 敲低可逆转 FABP5 对 ox-LDL 处理后巨噬细胞的作用 ($n=3$)

A ~ E 为 FABP5、CPT1A、IL-6、TNF-α 和 IL-1β mRNA 表达水平的 qPCR 分析。F ~ H 为培养上清液中 IL-6、TNF-α 和 IL-1β 蛋白分泌的 ELISA 检测。I 为通过 HPLC 测定的细胞内 TC、FC 和 CE 水平。J ~ N 为 FABP5、CPT1A、ADPR 及 ALBP 蛋白表达的 Western blot 分析。
a 为 $P<0.01$, 与正常对照组比较; b 为 $P<0.01$, 与模型组比较; c 为 $P<0.05$, d 为 $P<0.01$, 与 OE-FABP5 组比较。

Figure 4. Reversal of FABP5 effects by CPT1A knockdown in ox-LDL-treated macrophages ($n=3$)

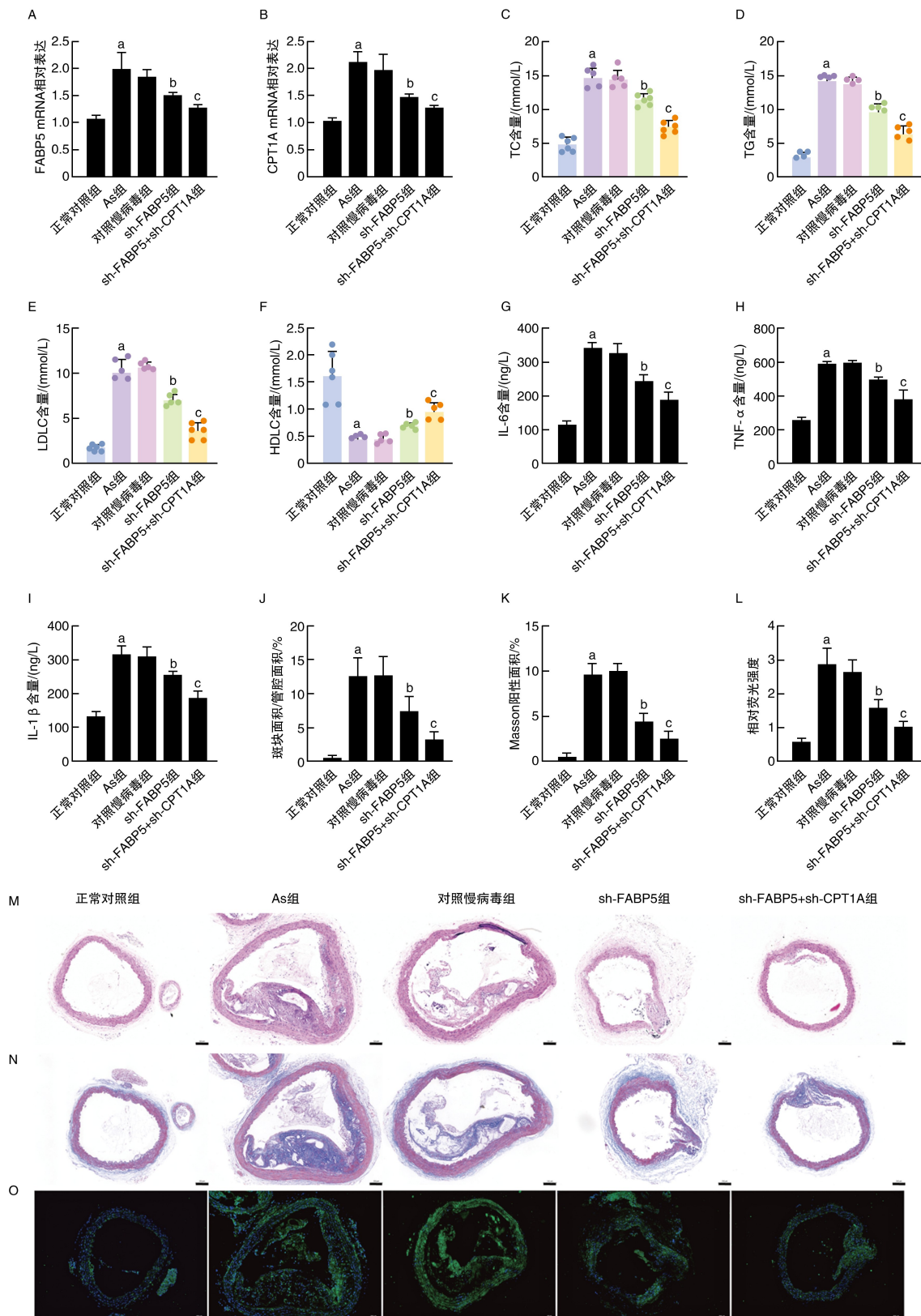


图 5. FABP5/CPT1A 轴参与 As 脂质代谢紊乱及炎症反应 ($n=6$)

A 和 B 为 qPCR 检测 FABP5 以及 CPT1A mRNA 表达; C ~ F 为生化检测 TC、TG、LDLC 和 HDLC 水平; G ~ I 为血清 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平; J 为主动脉根部 HE 染色斑块面积/管腔面积定量; K 为 Masson 染色胶原阳性面积定量; L 为 CD68 平均荧光强度定量; M 为 HE 染色检测 (scale bar = 100 μ m); N 为 Masson 染色 (scale bar = 100 μ m); O 为 CD68 免疫荧光检测 (scale bar = 100 μ m)。
a 为 $P<0.01$, 与正常对照组比较; b 为 $P<0.01$, 与 As 组比较; c 为 $P<0.01$, 与 sh-FABP5 组比较。

Figure 5. Involvement of the FABP5/CPT1A axis in lipid metabolism disorders and inflammatory responses in As ($n=6$)

3 讨论

As 以脂质沉积和炎症反应为核心特征,其中胆固醇代谢异常是 As 发生发展的重要特征^[10],进而引发单核/巨噬细胞浸润^[11]、血管平滑肌细胞增殖^[12]及泡沫细胞形成^[13]等病理改变。脂质代谢的核心作用在于将脂质转运至外周组织以供利用,或将多余脂质返回肝脏进行再循环或清除。这一过程主要通过三条途径实现:外源性途径、内源性途径以及逆向胆固醇转运^[14]。巨噬细胞向泡沫细胞转化并在血管内膜下聚集是 As 早期病变的关键特征。巨噬细胞内脂质蓄积及泡沫细胞形成取决于以下三种主要代谢过程的动态平衡^[15]。(1)巨噬细胞对脂蛋白的摄取;(2)巨噬细胞内脂质生物合成的速率;(3)脂质从巨噬细胞中的外排清除。巨噬细胞中 TG 的堆积可归因于细胞对富含 TG 的极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)摄取增加,或细胞内 TG 生物合成速率上升。本研究分析发现了 24 个差异基因,其中与脂质代谢相关的基因包括 FABP5、FABP4 和 ANKRD1,我们选择了 FABP5 进行后续的功能验证实验。

脂肪酸结合蛋白(fatty acid binding protein, FABP)是细胞内的一类小分子量蛋白质,负责运输和代谢游离脂肪酸^[16]。FABP5 通过调控脂肪酸的摄取与分布,在巨噬细胞脂质代谢平衡中发挥关键作用^[17]。FABP5 在肥胖和糖尿病等代谢性疾病中发挥重要作用^[18]。它作为一种脂肪酸结合蛋白,能够调节脂肪酸的代谢和储存,从而影响机体的能量平衡和代谢状态^[19]。目前,FABP5 抑制剂的研究多集中于银屑病^[20]、骨关节炎^[21]等疾病,在 As 中直接干预斑块形成、泡沫细胞生成及斑块稳定性的证据仍较有限^[22]。本研究发现,FABP5 在 As 斑块以及 ox-LDL 处理后巨噬细胞中的表达显著上调,而抑制 FABP5 的表达后,巨噬细胞内 TC、FC 和 CE 水平明显下降,炎症因子表达下降。且 As 模型的斑块明显减少,脂质相关生物化学指标改善,上述结果提示,FABP5 可能通过促进巨噬细胞脂质蓄积和炎症反应参与 As 进展,抑制 FABP5 具有一定潜在干预价值。但本研究尚未直接采用 FABP5 抑制剂进行药理学验证,因此 FABP5 抑制剂在 As 中的作用仍需通过选择性 FABP5 抑制剂或 FABP4/5 双靶点抑制剂在细胞和动物模型中进一步证实。

CPT1A 是脂肪酸 β 氧化(fatty acid β oxidation, FAO)的限速酶^[23],位于线粒体外膜,负责将长链脂

肪酸转运至线粒体基质进行 β 氧化分解^[24]。CPT1A 活性受丙二酰辅酶 A 的变构抑制,其表达水平直接影响脂肪酸氧化速率^[25]。本研究发现,FABP5 表达下调后,巨噬细胞中 CPT1A mRNA 和蛋白水平显著下降,且同时敲低 FABP5 与 CPT1A 后,模型鼠的斑块进一步减少,且脂质代谢相关生物化学指标进一步改善,炎症因子含量也进一步下降,提示 FABP5/CPT1A 轴可能通过影响脂肪酸转运、脂肪酸氧化及炎症反应,参与巨噬细胞脂质负荷和 As 病变进展。类似地,在多发性骨髓瘤中,巨噬细胞中 CPT1A 的表达受 FABP5/PPAR γ 信号轴调控。抑制 FABP5 可降低 CPT1A 表达,而抑制 CPT1A 能减轻巨噬细胞介导的炎症反应,表明其参与巨噬细胞的脂质代谢重编程^[19]。需要指出的是,本研究 Co-IP 结果提示 FABP5 与 CPT1A 可能存在相互作用或处于同一蛋白复合物中,但 Co-IP 结果尚不足以单独证明二者存在直接物理结合关系。后续仍需通过免疫荧光共定位、原位邻近连接实验、GST pull-down、纯化蛋白体外结合实验、结构域截短突变及 rescue 实验等进一步明确 FABP5 与 CPT1A 之间的直接互作关系及上下游调控机制。

综上所述,本研究提示 FABP5 可能通过影响 CPT1A 相关脂质代谢通路,参与巨噬细胞脂质代谢紊乱和炎症反应,进而促进 As 进展。FABP5/CPT1A 轴可能成为 As 脂质代谢紊乱和炎症反应干预的潜在靶点,但其具体分子机制及药理学干预价值仍需进一步验证。

[参考文献]

- [1] van der Ark-Vonk E M, Puijk M V, Pasterkamp G, et al. The effects of FABP4 on cardiovascular disease in the aging population[J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2024, 26(5): 163-175.
- [2] Zhu B B, Luo S X, Su H, et al. Inhibition of the calcineurin/forkhead box O1/fatty acid binding protein 4 pathway prevents SERCA2 dysfunction-induced foam cell formation and atherosclerosis[J]. *Br J Pharmacol*, 2025, 182(24): 5953-5968.
- [3] Peng X, Sun B, Tang C H, et al. HMOX1-LDHB interaction promotes ferroptosis by inducing mitochondrial dysfunction in foamy macrophages during advanced atherosclerosis[J]. *Dev Cell*, 2025, 60(7): 1070-1086. e8.
- [4] He J H, Dai Y X, Xu F F, et al. High-density lipoprotein-based nanoplatforms for macrophage-targeted diagnosis and therapy of atherosclerosis[J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 306(Part 3): 140826.

- [5] Wu Y W, Chen J W, Tsai H Y, et al. Fatty acid binding protein 3 activates endothelial adhesion of circulating monocytes and impairs endothelial angiogenesis[J]. *Br J Pharmacol*, 2025, 182(9): 1989-2013.
- [6] Song J H, Yan R, Li P, et al. Research progress on macrophage regulation of atherosclerosis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2026, 13: 1682994.
- [7] Wu R, Zeng Y N, Han J C, et al. Circulating FABP5 released by dying macrophages function as a DAMP to exacerbate septic inflammation [J]. *Cell Rep*, 2025, 44(11): 116497.
- [8] Hebbel R P, Wei P, Milbauer L, et al. Abnormal endothelial gene expression associated with early coronary atherosclerosis[J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(14): e016134.
- [9] Reschen M E, Gaulton K J, Lin Da, et al. Lipid-induced epigenomic changes in human macrophages identify a coronary artery disease-associated variant that regulates PPAP2B expression through altered C/EBP-beta binding[J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(4): e1005061.
- [10] Cao L, Zhang J, Yu L W, et al. E3 ubiquitin ligase Listerin regulates macrophage cholesterol efflux and atherosclerosis by targeting ABCA1 [J]. *J Clin Invest*, 2025, 135(16): e186509.
- [11] Härdtnr C, Remmersmann F, Ehlert C, et al. NLRP3 mediates lipid-driven macrophage proliferation in established atherosclerosis[J]. *Basic Res Cardiol*, 2025, 120(6): 1141-1154.
- [12] Miao G L, Zhao X, Chan S L, et al. Vascular smooth muscle cell c-Fos is critical for foam cell formation and atherosclerosis[J]. *Metabolism*, 2022, 132: 155213.
- [13] Chen W J, Liu Y H, Li L, et al. The potential role and mechanism of circRNAs in foam cell formation[J]. *Non-coding RNA Res*, 2023, 8(3): 315-325.
- [14] 耿妙颖, 许梦欣, 王 雲, 等. 中药成分与复方干预巨噬细胞自噬防治动脉粥样硬化进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2025, 33(11): 921-929.
- Geng M Y, Xu M X, Wang Y, et al. Progress in prevention and treatment of atherosclerosis by traditional Chinese medicine components and compound formulas intervening in macrophage autophagy[J]. *Chin J Arterioscler*, 2025, 33(11): 921-929.
- [15] Bai F H, Hu Y Z, Wang Z Q, et al. ANPEP governs macrophage lipid metabolism and macrophage foam cell formation in large-artery atherosclerotic stroke[J]. *Front Immunol*, 2026, 17: 1747321.
- [16] Doswell F, Haley J D, Kaczocha M. Proteomic analysis of signaling pathways modulated by fatty acid binding protein 5 (FABP5) in macrophages[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2024, 391(2): 289-300.
- [17] He Y L, Dou H X, Gao D D, et al. Identification of new dual FABP4/5 inhibitors based on a naphthalene-1-sulfonamide FABP4 inhibitor[J]. *Bioorg Med Chem*, 2019, 27(19): 115015.
- [18] Hou Y X, Wei D, Bossila E A, et al. FABP5 deficiency impaired macrophage inflammation by regulating AMPK/NF- κ B signaling pathway [J]. *J Immunol*, 2022, 209(11): 2181-2191.
- [19] Zhang M Y, Chen J T, Zhang H, et al. Interleukin-10 increases macrophage-mediated chemotherapy resistance via FABP5 signaling in multiple myeloma[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 124(Part A): 110859.
- [20] Xue S, Su Z, Liu D C. Immunometabolism and immune response regulate macrophage function in atherosclerosis [J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 90: 101993.
- [21] Li S L, Nazarenkov N, Alekseeva E, et al. Increased atherosclerosis and expression of inflammarafts in macrophage foam cells in AIBP-deficient mice[J]. *Sci Rep*, 2026, 16(1): 7645.
- [22] Warren W G, Osborn M, Yates A, et al. ART26. 12, an FABP5 inhibitor, shows efficacy in preclinical psoriasis models[J]. *J Invest Dermatol*, 2025, 145(10): 2510-2523. e1.
- [23] Umbarawan Y, Enoura A, Ogura H, et al. FABP5 is a sensitive marker for lipid-rich macrophages in the luminal side of atherosclerotic lesions[J]. *Int Heart J*, 2021, 62(3): 666-676.
- [24] Zhang Z Z, Zhou X M, Liu J Q, et al. D-mannose attenuates lipopolysaccharide-induced osteolysis via CPT1A-Mediated lipid metabolic regulation in macrophages[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 583: 135-141.
- [25] Calle P, Muñoz A, Sola A, et al. CPT1A gene expression reverses the inflammatory and anti-phagocytic effect of 7-ketocholesterol in RAW264.7 macrophages [J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1): 215.
- (此文编辑 许雪梅)