

胆固醇酯水解酶与动脉粥样硬化

霍晓川, 关宁, 冯旭, 王超, 甄为, 罗俊生
(辽宁医学院附属第一医院, 辽宁省锦州市 121001)

[关键词] 胆固醇酯; 胆固醇酯水解酶; 动脉粥样硬化

[摘要] 胆固醇酯以脂滴的方式存储在胞浆内是泡沫细胞的主要特点,也是动脉粥样硬化斑块发生发展的关键因素。只有游离胆固醇才能从细胞内外流到细胞外与胆固醇接受体结合,巨噬细胞内胆固醇酯代谢的第一步就是“水解”。水解是游离胆固醇外流的限速步骤,该反应由中性胆固醇酯水解酶催化。此外,胆固醇酯水解酶还调节胆固醇逆转运,从而参与体内胆固醇的最终清除。本综述旨在分析当前各种胆固醇酯水解酶的特点,阐述其参与细胞胆固醇酯水解来调节动脉粥样硬化的作用,为进一步明确能够作为防治动脉粥样硬化形成靶点的水解酶提供线索。

[中图分类号] R5 [文献标识码] A

Cholesteryl Ester Hydrolase and Atherosclerosis

HUO Xiao-Chuan, GUAN Ning, FENG Xu, WANG Chao, ZHEN Wei, and LUO Jun-Sheng
(The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

[KEY WORDS] Cholesteryl Ester; Cholesteryl Ester Hydrolase; Atherosclerosis

[ABSTRACT] Accumulation of cholesteryl ester (CE) stored as cytoplasmic lipid droplets is the main characteristic of macrophage foam cells. It is central to the development of atherosclerotic plaques. Since only unesterified or free cholesterol (FC) can be effluxed from the cells to extracellular cholesterol acceptors, hydrolysis of CE is the obligatory first step in CE mobilization from macrophages. This reaction, catalyzed by neutral cholesteryl ester hydrolase (CEH), is increasingly being recognized as the rate-limiting step in FC efflux. CEH, therefore, regulates the process of reverse cholesterol transport and ultimate elimination of cholesterol from the body. In this review, we discussed the characteristics of the various candidates recognized to date and examined their roles in hydrolyzing cellular CE and thus regulating atherogenesis. We aim to provide clues for using hydrolase as a therapeutic target for atherosclerosis.

心脑血管疾病是危害人类健康最常见的一种疾病。随着人口老龄化进程的加速,高血压、高血脂、糖尿病患者不断增多,心脑血管疾病的发病率不仅在中老年中有所增加,而且年轻化趋势日见明显。动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是各类心脑血管疾病的主要病因。As 斑块导致管径狭窄和血栓形成。As 以脂类在血管壁沉积为特点,作为一种慢性疾病,As 通常在青少年时开始发生,并且悄无声息地慢慢发展,直到 40 岁左右开始出现临床症状。富含脂类的巨噬泡沫细胞在血管壁上聚集是 As 的显著特征。目前有两种理论描述 As 发生的过程,虽然互相不同,但也并不排斥。“损伤反应”理

论认为 As 发生的始动因素是血管内皮损伤,从而导致单核细胞以及以低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)为主的循环脂蛋白迁移到内膜间隙,从而并引起单核细胞源性巨噬细胞摄入修饰 LDL(modified low density lipoprotein, mLDL)的增加,最终导致泡沫细胞形成^[1,2]。“滞留反应”理论指出,LDL 首先迁移到内膜间隙,与蛋白多糖结合后滞留在间隙中并被修饰,随后被浸润入的巨噬细胞摄取,进而引起泡沫细胞形成和发展^[3]。两种理论的最终结果都是泡沫细胞形成并聚集,并导致脂纹形成。随着泡沫细胞的不断堆积,这些脂纹进展成 As 斑块。脂质聚集不仅引起 As 斑块的体积增加,而且

会增强斑块相关的炎症反应,从而增加其易损性并引起破裂^[4]。因此,降低斑块体积并增加斑块稳定性行之有效的方法就是减少斑块的脂质核心^[5]。

目前,临床治疗 As 的主要方案为降胆固醇药物,如他汀类,其通过抑制内源性胆固醇合成来减少血浆胆固醇。虽然他汀类药物能够减少炎症反应并增加斑块稳定性,但目前没有直接有效的方法来减少 As 斑块的脂质含量。Nissen 等^[6]最先通过临床研究证实了清除巨噬泡沫细胞内胆固醇有逆转 As 形成的作用。通过提高游离胆固醇(free cholesterol, FC)外流来减少斑块脂质含量是防治 As 的有效策略。胆固醇以胆固醇酯(cholesteryl ester, CE)方式集聚以及 CE 水解为 FC 外流由诸多相互作用的途径来调节,明确这些调节方式,对 As 的防治具有重要的意义。

1 胆固醇酯的形成及代谢

1.1 胆固醇酯循环

巨噬细胞通过低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)来摄取 LDL,此反应根据 LDLR 表达水平不同,由细胞内胆固醇的含量来调节,巨噬细胞还表达 CD36 和清道夫受体 A(scavenger receptor A, SR-A),它们可以对修饰后的 LDL 进行非调控性摄取。这种具有净化功能的摄取对清除修饰后的脂蛋白至关重要,但是如果摄取持续不断,会引起 CE 在巨噬细胞内过度聚集,导致泡沫细胞形成^[7]。CE 以脂滴(lipid droplets, LD)方式在细胞质中存储,Brown 等^[8]指出 CE 在细胞内处于一种动态平衡的循环过程中:脂蛋白源的 CE 被酸性胆固醇酯水解酶(acid cholesteryl ester hydrolase, ACEH)在溶酶体内水解,释放出的 FC 被酰基辅酶 A:胆固醇酰基转移酶 1(acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase 1, ACAT1)在胞浆内质网表面再酯化为 CE,最后形成的 CE 存储在胞浆的脂滴中,其能被中性胆固醇酯水解酶(cholesteryl ester hydrolase, CEH)水解成 FC,并进行外排。细胞内过多的 FC 会再次被 ACAT1 酯化,以防止 FC 聚集引起的细胞毒性反应。胆固醇酯化和水解的平衡过程被称之为“胆固醇酯循环”,起到了维持细胞内适宜的 FC 和 CE 浓度的作用^[9]。

1.2 胆固醇酯代谢

细胞内 FC 有以下两种命运:被 ACAT1 再酯化或外排到细胞外接受体。抑制 ACAT 是减少细胞内 CE 的一种策略,通过药物抑制 ACAT 曾经被推崇为

一种抑制泡沫细胞形成的方法^[10-13]。另一个方法就是提高 CEH 活性,促进 CE 水解。表面看来这两种方法对于减少细胞内 CE 均可行,但是两种方法是有实质上的区别的。

一方面,抑制 ACAT 从而减少 FC 酯化时,细胞内 FC 的清除只能靠细胞外接受体介导的 FC 外排。因此,抑制 ACAT 导致了细胞内 FC 聚集,FC 在质膜和内质网上产生了毒性作用、内质网应激和凋亡。通过增加细胞外胆固醇接受体的浓度能够部分缓解抑制 ACAT 产生的 FC 毒性作用^[14]。另一方面,提高 CEH 介导的 CE 水解,产生的 FC 既能够被 ACAT 再酯化,也能够从细胞内外排出去。因此,即使在细胞外接受体浓度有限的情况下,CEH 水解产生的 FC 也会被功能性 ACAT1 再酯化,从而防止细胞内生成过多的 FC。使用稳定过表达 ACAT1 的细胞,在有限的(0.5% BSA)或足够(10% FBS)的细胞外 FC 接受体的条件下,来比较抑制 ACAT 和瞬时 CEH 过表达的效果^[15]:在 ACAT 抑制的条件下,FC 较易在细胞内聚集;然而,在同等条件下 CEH 过表达不仅能够同样减少 CE,而且不引起细胞内 FC 的增加。此外,如果细胞外接受体足够多,CEH 过表达会引起明显的 CE 动员,这种动员在 ACAT 抑制的细胞内更为明显,并且细胞内 FC 的水平没有明显增加。这些结果表明,与 ACAT 抑制不同,CEH 过表达不会引起细胞内 FC 的增加,这两种直觉上相似,都能减少细胞内 CE 的方案,在本质上是存在差异的。这些差异在体内将产生明显不同的后果:ACAT 抑制或缺陷会导致 FC 聚集相关毒性和黄瘤形成,而 CEH 转基因过表达则减少 CE 聚集和 As 形成。

ACAT 有两种基因,ACAT1 存在于巨噬细胞和其他组织内,ACAT2 仅存在于肝脏和肠内。在明确这两种基因分型前,药理学方面就已经推崇抑制 ACAT 来减少细胞内 CE 聚集,而且还发现一些其他的抑制剂,并测定其降低泡沫细胞形成的潜能^[10-13]。然而,在体内对巨噬细胞 ACAT 或 ACAT1 进行药物抑制却导致小鼠和兔 As 模型斑块形成增加^[16]。在高胆固醇血的载脂蛋白 E 缺陷及 LDLR 缺陷大鼠中,抑制 ACAT1 引起明显的全身性脂质稳定异常,导致 FC 在皮肤和脑组织内的广泛沉积^[17,18],这与在细胞内抑制 ACAT 的结果一致。Fazio 等^[19]指出在 LDLR 缺陷大鼠中,巨噬细胞 ACAT1 缺失会增加 As 形成。Bocan 等^[20]研究表明,抑制 ACAT1 能减少斑块中巨噬细胞和中性脂质含量并提高斑块的稳定性。然而,在 ACAT1 缺陷大

鼠中出现病变面积增加以及全身性脂质异常,这表明 ACAT1 缺陷会产生害处,与增加细胞内 FC 相关性一致。

证据表明,细胞内 CE 水解是调节 CE 代谢的重要步骤。当诱发 As 形成的 β -极低密度脂蛋白(β -very low density lipoprotein, β -VLDL)存在时,同降低 CEH 活性相比,在巨噬细胞内增加中性 CEH 活性会减少 CE 聚集^[21]。但在 As 动物模型中,如高胆固醇兔和白卡尔诺鸽,巨噬细胞内的 CE 表现出对水解及代谢的抵抗^[22,23]。Hakamata 等^[24]将巨噬泡沫细胞形成的种属特异性差异归因于 CE 代谢的不同。国外研究的证据表明 CEH 介导的 CE 代谢是调节泡沫细胞形成和 As 的关键步骤,确定哪个酶对巨噬细胞水解起主要作用,成为近些年实验研究的热点问题,哪个水解酶起关键作用成为脂质代谢领域研究争论的热点。

2 胆固醇酯水解酶

Brown 等^[8]首先指出,在巨噬泡沫细胞中,CE 在溶酶体外被水解,这需要 CEH,CEH 能水解与脂滴连接的 CE,并释放出 FC。因而许多候选的水解酶被指出可能有这种活性。以下是文献报道的水解酶。

2.1 激素敏感脂肪酶

激素敏感脂肪酶 (hormone-sensitive lipase, HSL)是催化 CE 水解的第一个候选酶^[25,26]。国外研究首先发现 cAMP 能增强 FC 从巨噬细胞中外流,原因是 cAMP 激活了 HSL,所以 HSL 被认为是巨噬细胞 CE 水解可能的候选者^[25,26]。国内主要进行了 HSL 在猪脂肪组织的表达规律的初步研究^[27]。HSL 在鼠巨噬细胞中表达^[28],但是在人巨噬细胞中的表达尚有争议^[29-31]。尽管 HSL 缺失最初表现出对巨噬细胞 CE 水解活性没有作用^[32,33],但 Buchebner 等^[34]最近的研究指出,体外实验中表明 HSL^{-/-}的巨噬细胞 CE 水解活性明显降低,但在小鼠体内却没有 CE 水解的活性,这表明在体外实验 HSL 表达引起的 CE 水解活性变化不能反应其在体内对 CE 水解的影响。尽管最初不认为 HSL 在肝脏中有表达,但最近的研究指出 HSL 在小鼠的肝脏中有表达^[35],并指出它在水解细胞质 CE 中的作用^[36]。肝脏中表达的 HSL 是否能够调节胆固醇代谢,能否促进胆固醇由巨噬细胞外流到粪便中,从而最终达到清除胆固醇,尚有待研究证实。

2.2 羧基酯脂肪酶

第二个可能在巨噬细胞 CE 动员中起到作用的候选酶是羧基酯脂肪酶(carboxyl ester lipase, CEL)。CEL 以依赖胆盐激活的胆固醇脂酶为特点从胰腺中被发现^[37,38]。它同样存在于乳腺等组织,并且能被分泌到乳汁中来促进婴儿和新生儿对 CE 的消化^[39]。Li 等^[30]指出,在 THP-1 细胞及外周血单核巨噬细胞中无 HSL 表达,却有 CEL 的表达。但作为一种分泌酶,尽管 CEL 在巨噬细胞中表达,其在巨噬细胞 CE 水解中起的作用是有限的^[40]。

需要指出的是,胆固醇逆转运(reverse cholesterol transport, RCT)在胆固醇最终清除过程中的传统观点已经受到挑战,胆固醇经过肠道直接分泌(transintestinal cholesterol efflux, TICE)被认定为一个新的机制并且 TICE 相关的分子组成目前已被确定^[41-43],在这个过程中胆固醇直接分泌到小肠中从而外排到粪便中。在此外流机制中,CEL 的缺陷会导致非水解的 HDLCE 在胆汁和粪便中外排的增多,这是由于缺少小肠 CEL 而引起的胆固醇重吸收的降低^[44]。

2.3 羧酸酯酶

Ghosh 等^[45,46]纯化并克隆了大鼠肝脏细胞质中的中性 CEH,它属于羧酸酯酶(carboxylesterase, CES)家族且明显不同于 HSL 和 CEL。通过同源克隆方法确定了人巨噬细胞 CEH (CES1, NG_012057),其在 THP-1 人单核/巨噬细胞系和人外周血单核/巨噬细胞中表达。该酶在脂质负荷细胞内与脂滴表面相结合,水解脂滴中的 CE^[47]。该酶高表达会引起细胞 CE 代谢增强^[48],这证实了其在调节细胞 CE 聚集中的作用。

CES 长期以来一直被认为是参与内源性和外源性物质代谢的非特异性酯酶,它能水解芳香族和脂肪族的酯类^[49]。此外,这些酶还在肺及中枢神经系统中起着对酯或酰胺化合物解毒的作用。

大鼠肝脏 CEH 被认定为 CES 后,首次阐明了 CES 在脂质代谢中的作用。在人类,至少有 5 种 CES 基因(CES1、CES2、CES3、CES4 和 CES7),除了 CES1 外,其它 CES 的整体特点和各个基因产物的生理作用尚不明确。近年,Zhao 等^[50]最先对 CES3 在细胞中的生理作用进行了初步研究,指出在巨噬细胞内过表达 CES3 能够提高 CE 水解活性,动员细胞内脂质代谢,降低细胞内脂质含量。既往对 CES1 的研究较多,人 CES1 不仅能够水解酯类及可卡因和海洛因上酰胺键,还能够水解 CE 和甘油三酯的

酰基酯键^[51]。国外 Ghosh 等^[52]从人肝脏细胞中克隆并构建了 CES1,并指出这个酶能够增强 HDL 源 CE 的水解,增加胆固醇逆转运,并且促进胆盐在粪便中的分泌^[53]。在 THP-1 细胞中稳定过表达 CEH 能够明显提高 FC 外排到载脂蛋白 A I、HDL 以及血浆,这表明通过 CEH 介导的细胞内 CE 水解引起的 FC 释放能够通过已知的各种途径外排^[54]。此外,近年 Ghosh 等^[55,56]研究表明 CES1 还能增加动物模型的糖耐量,并通过抑制炎症反应增加机体对胰岛素的敏感性。对于 CES1 的研究,国内罗俊生等^[57,58]构建了 CES1 的病毒质粒,并通过瞬时转染等方式在细胞中初步验证了其在促进脂质代谢,抑制 As 形成中的作用。以上的这些数据均表明 CES 具有降低巨噬细胞内 CE 含量和促进 FC 外排的作用。

2.4 甘油三酯水解酶

在小鼠中,Dolinsky 等^[59]最先从肝脏中发现了水解甘油三酯的 CES,基于该酶的活性,它被命名为甘油三酯水解酶(triacylglycerol hydrolase, TGH)。通过分析小鼠的基因,发现至少有 9 种不同的基因与 TGH 同源,都存在于第 8 号染色体上,并且都属于 CES 家族的基因。

TGH 的官方基因标记是 Ces3,是人 CEH/CES1 的鼠类同源基因^[60]。即使 Ces3/TGH 在肝脏及脂肪组织中高表达,它的表达在小鼠巨噬细胞却检测不到,它在 RCT 中的作用也尚未被评价。Ces3/TGH 被认为是参与极低密度脂蛋白装配,并且敲除 Ces3 导致明显的血浆甘油三酯和载脂蛋白 B100 水平的下降^[61]。因此,与人 CES1 研究的深入程度不同,鼠 Ces3 在巨噬细胞 CE 水解以及在肝脏清除 HDLCE 中的作用尚有待探讨。

2.5 中性胆固醇酯水解酶 1

Okazaki 等^[62]提出了与芳乙酰胺脱乙酰酶 1(AADACL1)或 KIAA1363 活性相关的 CEH,并把这个酶命名为中性胆固醇酯水解酶 1(neutral cholesterol ester hydrolase 1, NCEH1),其基因位于人 3 号染色体上并且与小鼠 3 号染色体上的基因部分同源。尽管敲除 KIAA1363/NCEH1 在载脂蛋白 E^{-/-}和 LDLR^{-/-}小鼠中能够降低 As,但其单纯缺失在 C57BL/6 小鼠中对 As 的影响尚未被鉴定^[63]。然而,Buchebner 等却指出在 KIAA1363/NCEH1 缺陷巨噬细胞中,CE 的水解活性是没有变化的。有人指出,KIAA1363/NCEH1 同样在分化的人巨噬细胞中存在,并且有研究表明 CES1 特异性小干扰 RNA 不

能完全抑制 CEH 活性,这暗示人巨噬细胞中主要的 CEH 是 KIAA1363/NCEH1 而不是 CES1^[64]。然而 Quiroga 等^[60]重新评估了这些数据,并指出通过 RNAi 技术观察到 50% 的 CES1 表达下降不足以降低 CES1 介导的水解作用,并且不能排除 CES1 在人巨噬细胞中对 CE 的水解作用。值得关注的是,KIAA1363/NCEH1 在肝脏中表达非常低^[65],而且即使有作用的话,它在肝脏中清除 HDLCE 的能力仍有待阐明。

3 CEH 与动脉粥样硬化形成

尽管主要的 CEH 尚不确定,但目前的研究表明它在亚细胞的位置、同生理性底物结合的能力、在 CE 动员中的重要性及最终减轻 As 的作用都是毋庸置疑的。

CEH 的作用最初在构建 HSL 转基因小鼠时被检验^[66],但结果正相反,HSL 转基因促进了小鼠 As 的形成,这可能是鉴于细胞外 FC 受体有限。随后,在 C57BL/6 小鼠中,Choy 等^[67]制备了载脂蛋白 A IV 和 HSL 双转基因,并发现同 HSL 转基因相比,减轻了食物诱发 As 形成。然而 HSL 基因敲除无法提高巨噬细胞 CE 水解活性^[32],这提示 HSL 在巨噬细胞胆固醇动态平衡中不起作用^[33],目前尚无对 HSL 缺陷小鼠 As 进展的直接研究。同早期的数据和结论相反,Sekiya 等^[63]最近报道指出 HSL^{-/-}小鼠巨噬细胞中 CE 水解活性下降,在使用 LDLR^{-/-}骨髓重建时能轻微促进饮食诱导的 As 形成。HSL 在 As 形成中的确切作用需要更多系统性的研究。

因为 CEL 在人巨噬细胞中有表达,Kodvawala 等^[40]使用巨噬细胞特异性 CEL 转基因小鼠来评估 CE 水解酶在 As 进展中的作用。在 As 易感的载脂蛋白 E^{-/-}条件下,CEL 转基因小鼠较非 CEL 转基因载脂蛋白 E^{-/-}小鼠 As 病变区域要增加近 4 倍。有可能是因为其位于细胞外,或者因为它水解神经酰胺和溶血磷脂胆碱导致胆固醇酯化增加,并且降低了胆固醇外流从而促进了 As 进展。无论潜在的机制如何,这些研究指出,CEL 在巨噬细胞 CE 动员和 As 形成中的作用较小。

Ghosh 等为了评价 CEH 在泡沫细胞形成和 As 中的作用,构建了巨噬细胞特异性 CEH 转基因小鼠,并且与易感性的 LDLR^{-/-}小鼠交叉。通过分析高脂饮食诱导的 As 形成,发现与单纯 LDLR^{-/-}小鼠相比,LDLR^{-/-}-CEH 转基因小鼠的病变面积减少了近 50%。此外,CEH 介导的 CE 动员增加还能够

减少病变的坏死。需要指出的是,As 和坏死的减少是在生理性浓度的细胞外胆固醇受体存在下产生的。这与 HSL 转基因鼠形成对比,在非载脂蛋白 A IV 过表达的条件下,HSL 转基因相反的增加了 As 形成^[66],而且仅在载脂蛋白 A IV 和 HSL 双转基因感染时才能起到降低病变进展的作用^[67]。同 Ghosh 等体外的研究一致,CEH 转基因小鼠的巨噬细胞表现出较高的 FC 外排能力,并且在以 mLDL 负荷时能降低细胞内 CE 水平。单纯巨噬细胞 CEH 过表达就能增加 RCT 的过程,并提高胆固醇在 CEH 转基因小鼠粪便中的清除^[68]。

通过转基因小鼠过表达新鉴定的 CE 水解酶 (KIAA1363 或 NCEH) 尚未见报道,这个酶在影响 As 形成中的作用尚有待研究。然而,Sekiya 等^[63]在载脂蛋白 E^{-/-}的基础上构建 NCEH^{-/-}小鼠,发现能促进高质饮食诱导 As 形成。然而,这些研究不能评价 NCEH 缺陷在 C57BL/6 小鼠中的作用,且 NCEH 消除在增加 As 进展风险中的直接作用还不明显。仍然需要强调的是,尽管 NCEH 的表达完全缺乏,巨噬细胞 CE 水解活性以及 FC 外排仅减少了 40%,这支持巨噬细胞 CE 水解是一个多酶参与的过程。转基因表达 CEH 能够成功地减轻 As 进展和病变坏死,强调了 CE 水解酶在 As 中的重要作用。值得一提的是,CEH 转基因鼠的成熟斑块中仍然包含大量存活的巨噬细胞,这提示 CEH 在调整成熟斑块的特征上可能起重要作用。进一步的研究将确定 CEH 对增加斑块稳定性的作用。然而,出于对临床的实用性和益处考虑,必须明确 CE 水解的内部调节机制,这样 CEH 才能被用作药物干预的靶点。

4 结 论

单一基因敲除被用于证实巨噬细胞 CEH 的作用。然而,这些研究都表明目的基因表达缺失和细胞内 CE 水解活性两者间缺少相关性。最初的研究指出 HSL 缺陷在细胞内 CE 水解中没有作用,即使 Buchebner 等^[34]最近指出 HSL 缺陷引起明显的 CE 水解活性降低,但 CE 逆转仍然没有改变。相似的是,KIAA1363/NCEH1 缺陷仅在细胞内降低了 30%~35%的水解酶活性,而对体内 CE 水解活性没有影响^[63],Buchebner 等^[34]也发现 KIAA1363 缺陷对巨噬细胞 CE 水解没有影响。Ces3/TGH 缺失仅仅引起肝脏中活性下降 30%^[61]。总之,细胞内存在多种 CEH,当某一个 CEH 不能完全水解 CE 或逆转胆固醇形成时,那么就不能得出单一 CEH 在 CE 水

解中起重要作用的结论。
CE 水解速度调控着胆固醇从体内的最终清除,这是一个多酶参与的反应。因此,在研究单一基因敲除或缺失时,对候选 CEH 中任一个得出结论时都要谨慎。识别所有调节细胞内 CE 聚集的 CEH 固然重要,但对于临床来说,更重要的是明确促进 CE 水解的方法,而不是关注于在巨噬细胞或肝脏中谁是主要的 CEH。进一步的研究应着力于建立有效提高 CE 水解酶转录或活性的方法,并证实其能够增强细胞内 CE 水解功能。

[参考文献]

[1] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for the 1990s[J]. Nature, 1993, 362 (6423): 801-809.

[2] Ross R, Glomset J, Harker L. Response to injury and atherogenesis [J]. Am J Pathol, 1977, 86 (3): 675-684.

[3] Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1995, 15 (5): 551-561.

[4] Davies MJ, Thomas AC. Plaque fissuring-the cause of acute myocardial infarction, sudden ischaemic death, and crescendo angina[J]. Br Heart J, 1985, 53 (4): 363-373.

[5] Libby P, Aikawa M. New insights into plaque stabilisation by lipid lowering[J]. Drugs, 1998, 56 (Suppl 1): 9-13.

[6] Nissen SE, Tsunoda T, Tuzcu EM, et al. Effect of recombinant apoA-I milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: A randomized controlled trial[J]. JAMA, 2003, 290 (17): 2 292-300.

[7] 林韬琦, 卢德赵, 沃兴德. 巨噬细胞内胆固醇平衡机制研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18 (11): 919-921.

[8] Brown MS, Ho YK, Goldstein JL. The cholesteryl ester cycle in macrophage foam cells. Continual hydrolysis and re-esterification of cytoplasmic cholesteryl esters[J]. J Biol Chem, 1980, 255 (19): 9 344-352.

[9] Ghosh S. Early steps in reverse cholesterol transport; Cholesteryl ester hydrolase and other hydrolases[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2012, 19 (2): 136-141.

[10] Matsuda K. Acat inhibitors as antiatherosclerotic agents: Compounds and mechanisms[J]. Med Res Rev, 1994, 14 (3): 271-305.

[11] Matsuo M, Ito F, Konto A, et al. Effect of FR145237, a novel ACAT inhibitor, on atherogenesis in cholesterol-fed and WHHL rabbits. Evidence for a direct effect on the arterial wall[J]. Biochim Biophys Acta, 1995, 1259 (3): 254-260.

[12] Nicolosi RJ, Wilson TA, Krause BR. The ACAT inhibitor, CI-1011 is effective in the prevention and regression of aortic fatty streak area in hamsters[J]. Atherosclerosis, 1998, 137 (1): 77-85.

[13] Sliskovic DR, White AD. Therapeutic potential of ACAT inhibitors as lipid lowering and anti-atherosclerotic agents[J]. Trends Pharmacol Sci, 1991, 12 (5): 194-199.

- [14] Warner GJ, Stoudt G, Bamberger M, et al. Cell toxicity induced by inhibition of acyl coenzyme a: Cholesterol acyltransferase and accumulation of unesterified cholesterol[J]. J Biol Chem, 1995, 270 (11): 5 772-778.
- [15] Panel AP. Reducing residual cardiovascular risk: The relevance of raising high-density lipoprotein cholesterol in patients on cholesterol-lowering treatment[J]. Diab Vasc Dis Res, 2006, 3 (2): S1-S12.
- [16] Perrey S, Legendre C, Matsuura A, et al. Preferential pharmacological inhibition of macrophage ACAT increases plaque formation in mouse and rabbit models of atherogenesis[J]. Atherosclerosis, 2001, 155 (2): 359-370.
- [17] Accad M, Smith SJ, Newland DL, et al. Massive xanthomatosis and altered composition of atherosclerotic lesions in hyperlipidemic mice lacking acyl CoA: Cholesterol acyltransferase 1[J]. J Clin Invest, 2000, 105 (6): 711-719.
- [18] Yagyu H, Kitamine T, Osuga J, et al. Absence of ACAT-I attenuates atherosclerosis but causes dry eye and cutaneous xanthomatosis in mice with congenital hyperlipidemia[J]. J Biol Chem, 2000, 275 (28): 21 324-330.
- [19] Fazio S, Major AS, Swift LL, et al. Increased atherosclerosis in LDL receptor-null mice lacking ACAT1 in macrophages [J]. J Clin Invest, 2001, 107 (2): 163-171.
- [20] Bocan TM, Krause BR, Rosebury WS, et al. The ACAT inhibitor avasimibe reduces macrophages and matrix metalloproteinase expression in atherosclerotic lesions of hypercholesterolemic rabbits [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20 (1): 70-79.
- [21] Ishii I, Oka M, Katto N, et al. Beta-VLDL-induced cholesterol ester deposition in macrophages may be regulated by neutral cholesterol esterase activity[J]. Arterioscler Thromb, 1992, 12 (10): 1 139-145.
- [22] Mathur SN, Field FJ, Megan MB, et al. A defect in mobilization of cholesteryl esters in rabbit macrophages [J]. Biochim Biophys Acta, 1985, 834 (1): 48-57.
- [23] Yancey PG, St Clair RW. Mechanism of the defect in cholesteryl ester clearance from macrophages of atherosclerosis-susceptible white carneau pigeons[J]. J Lipid Res, 1994, 35 (12): 2 114-129.
- [24] Hakamata H, Miyazaki A, Sakai M, et al. Species difference in cholesteryl ester cycle and HDL-induced cholesterol efflux from macrophage foam cells[J]. Arterioscler Thromb, 1994, 14 (11): 1 860-865.
- [25] Goldberg DI, Khoo JC. Stimulation of a neutral cholesteryl ester hydrolase by CAMP system in p388D1 macrophages[J]. Biochim Biophys Acta, 1990, 1042 (1): 132-137.
- [26] Small CA, Goodacre JA, Yeaman SJ. Hormone-sensitive lipase is responsible for the neutral cholesterol ester hydrolase activity in macrophages[J]. FEBS Lett, 1989, 247 (2): 205-208.
- [27] 张立杰, 王琦, 张利红, 等. 猪甘油三酯水解酶和激素敏感脂酶基因表达规律的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2008, 38 (8): 769-775.
- [28] Khoo JC, Reue K, Steinberg D, et al. Expression of hormone-sensitive lipase mRNA in macrophages[J]. J Lipid Res, 1993, 34 (11): 1 969-974.
- [29] Johnson WJ, Jang SY, Bernard DW. Hormone sensitive lipase mRNA in both monocyte and macrophage forms of the human THP-1 cell line [J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2000, 126 (4): 543-552.
- [30] Li F, Hui DY. Modified low density lipoprotein enhances the secretion of bile salt-stimulated cholesterol esterase by human monocyte-macrophages. Species-specific difference in macrophage cholesteryl ester hydrolase[J]. J Biol Chem, 1997, 272 (45): 28 666-671.
- [31] Reue K, Cohen RD, Schotz MC. Evidence for hormone-sensitive lipase mRNA expression in human monocyte/macrophages[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997, 17 (12): 3 428-432.
- [32] Osuga J, Ishibashi S, Oka T, et al. Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97 (2): 787-792.
- [33] Contreras JA. Hormone-sensitive lipase is not required for cholesteryl ester hydrolysis in macrophages[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 292 (4): 900-903.
- [34] Buchebner M, Pfeifer T, Rathke N, et al. Cholesteryl ester hydrolase activity is abolished in HSL^{-/-} macrophages but unchanged in macrophages lacking KIAA1363 [J]. J Lipid Res, 2010, 51 (10): 2 896-908.
- [35] Sekiya M, Osuga J, Yahagi N, et al. Hormone-sensitive lipase is involved in hepatic cholesteryl ester hydrolysis[J]. J Lipid Res, 2008, 49 (8): 1 829-838.
- [36] Fernandez C, Lindholm M, Krogh M, et al. Disturbed cholesterol homeostasis in hormone-sensitive lipase-null mice[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2008, 295 (4): E 820-831.
- [37] Gallo LL. Sterol ester hydrolase from rat pancreas[J]. Methods Enzymol, 1981, 71 Pt C: 664-674.
- [38] Kissel JA, Fontaine RN, Turck CW, et al. Molecular cloning and expression of cDNA for rat pancreatic cholesterol esterase [J]. Biochim Biophys Acta, 1989, 1006 (2): 227-236.
- [39] Hui DY, Kissel JA. Sequence identity between human pancreatic cholesterol esterase and bile salt-stimulated milk lipase[J]. FEBS Lett, 1990, 276 (1-2): 131-134.
- [40] Kodavala A, Ghering AB, Davidson WS, et al. Carboxyl ester lipase expression in macrophages increases cholesteryl ester accumulation and promotes atherosclerosis[J]. J Biol Chem, 2005, 280 (46): 38 592-598.
- [41] Brufau G, Groen AK, Kuipers F. Reverse cholesterol transport revisited: Contribution of biliary versus intestinal cholesterol excretion[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31 (8): 1 726-733.
- [42] Temel RE, Sawyer JK, Yu L, et al. Biliary sterol secretion is not required for macrophage reverse cholesterol transport [J]. Cell Metab, 2010, 12 (1): 96-102.
- [43] Temel RE, Brown JM. A new framework for reverse cholesterol transport: Non-biliary contributions to reverse cholesterol transport [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16 (47): 5 946-952.
- [44] Camarota LM, Woollett LA, Howles PN. Reverse cholesterol trans-

- port is elevated in carboxyl ester lipase-knockout mice [J]. *FASEB J*, 2011, 25 (4): 1 370-377.
- [45] Ghosh S, Grogan WM. Rapid three-step purification of a hepatic neutral cholesteryl ester hydrolase which is not the pancreatic enzyme[J]. *Lipids*, 1991, 26 (10): 793-798.
- [46] Ghosh S, Mallonee DH, Hylemon PB, et al. Molecular cloning and expression of rat hepatic neutral cholesteryl ester hydrolase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1259 (3): 305-312.
- [47] Zhao B, Fisher BJ, St Clair RW, et al. Redistribution of macrophage cholesteryl ester hydrolase from cytoplasm to lipid droplets upon lipid loading[J]. *J Lipid Res*, 2005, 46 (10): 2 114-121.
- [48] Ghosh S, St Clair RW, Rudel LL. Mobilization of cytoplasmic ce droplets by overexpression of human macrophage cholesteryl ester hydrolase[J]. *J Lipid Res*, 2003, 44 (10): 1 833-840.
- [49] Satoh T, Hosokawa M. The mammalian carboxylesterases: From molecules to functions[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1998, 38: 257-288.
- [50] Zhao B, Bie J, Wang J, et al. Identification of a novel intracellular cholesteryl ester hydrolase (carboxylesterase 3) in human macrophages: Compensatory increase in its expression after carboxylesterase 1 silencing [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2012, 303 (4): C427-435.
- [51] Pindel EV, Kedishvili NY, Abraham TL, et al. Purification and cloning of a broad substrate specificity human liver carboxylesterase that catalyzes the hydrolysis of cocaine and heroin[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272 (23): 14 769-775.
- [52] Zhao B, Natarajan R, Ghosh S. Human liver cholesteryl ester hydrolase: Cloning, molecular characterization, and role in cellular cholesterol homeostasis [J]. *Physiol Genomics*, 2005, 23 (3): 304-310.
- [53] Zhao B, Song J, Ghosh S. Hepatic overexpression of cholesteryl ester hydrolase enhances cholesterol elimination and in vivo reverse cholesterol transport [J]. *J Lipid Res*, 2008, 49 (10): 2 212-217.
- [54] Zhao B, Song J, St Clair RW, et al. Stable overexpression of human macrophage cholesteryl ester hydrolase results in enhanced free cholesterol efflux from human thp1 macrophages[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292 (1): C 405-412.
- [55] Bie J, Zhao B, Marquee KE, et al. Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase attenuates hepatic lipid accumulation and also improves glucose tolerance in ob/ob mice[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012, 302 (10): E1 283-291.
- [56] Bie J, Zhao B, Song J, et al. Improved insulin sensitivity in high fat- and high cholesterol-fed LDLR^{-/-} mice with macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase: Role of macrophage inflammation and infiltration into adipose tissue[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285 (18): 13 630-637.
- [57] 张兴海, 罗俊生, 霍晓川, 等. 人胆固醇酯水解酶重组腺病毒载体的构建[J]. *山东医药*, 2011, 51 (10): 17-18.
- [58] 冯旭, 罗俊生, 关宁, 等. 人胆固醇酯水解酶在 Raw264.7 巨噬细胞内瞬时表达对胆固醇代谢的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35 (11): 1 609-613.
- [59] Dolinsky VW, Sipione S, Lehner R, et al. The cloning and expression of a murine triacylglycerol hydrolase cDNA and the structure of its corresponding gene[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1532 (3): 162-172.
- [60] Quiroga AD, Lehner R. Role of endoplasmic reticulum neutral lipid hydrolases[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2011, 22 (6): 218-225.
- [61] Wei E, Ben Ali Y, Lyon J, et al. Loss of TGH/Ces3 in mice decreases blood lipids, improves glucose tolerance, and increases energy expenditure[J]. *Cell Metab*, 2010, 11 (3): 183-193.
- [62] Okazaki H, Igarashi M, Nishi M, et al. Identification of neutral cholesterol ester hydrolase, a key enzyme removing cholesterol from macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (48): 33 357-364.
- [63] Sekiya M, Osuga J, Nagashima S, et al. Ablation of neutral cholesterol ester hydrolase 1 accelerates atherosclerosis [J]. *Cell Metab*, 2009, 10 (3): 219-228.
- [64] Igarashi M, Osuga J, Uozaki H, et al. The critical role of neutral cholesterol ester hydrolase 1 in cholesterol removal from human macrophages[J]. *Circ Res*, 2010, 107 (11): 1 387-395.
- [65] Nomura DK, Durkin KA, Chiang KP, et al. Serine hydrolase kilaal363: Toxicological and structural features with emphasis on organophosphate interactions [J]. *Chem Res Toxicol*, 2006, 19 (9): 1 142-150.
- [66] Escary JL, Choy HA, Reue K, et al. Paradoxical effect on atherosclerosis of hormone-sensitive lipase overexpression in macrophages [J]. *J Lipid Res*, 1999, 40 (3): 397-404.
- [67] Choy HA, Wang XP, Schotz MC. Reduced atherosclerosis in hormone-sensitive lipase transgenic mice overexpressing cholesterol acceptors[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1634 (3): 76-85.
- [68] Zhao B, Song J, Chow WN, et al. Macrophage-specific transgenic expression of cholesteryl ester hydrolase significantly reduces atherosclerosis and lesion necrosis in LDLR mice[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117 (10): 2 983-992.

(此文编辑 文玉珊)