

炎症调控胆固醇逆向转运的机制研究

尹凯^{1,2}, 唐朝克¹

(1. 南华大学心血管疾病研究所 动脉粥样硬化化学湖南省重点实验室 医学研究实验中心;

2. 南华大学医学院转化医学研究室 诊断学教研室, 湖南省衡阳市 421001)

[栏目主持人简介] 唐朝克, 男, 1960 年 5 月出生, 湖南邵阳人。博士、二级教授、博士研究生导师、留学归国人员。现担任国际动脉粥样硬化学会中国分会常务理事、中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会委员、湖南省病理生理学会副理事长、湖南省生理学会常务理事兼副秘书长、湖南省病理生理学心血管专业委员会委员、中国生物化学与分子生物学会脂质与脂蛋白专业委员会委员。担任《中国动脉硬化杂志》和《中南医学科学杂志》常务编委,《Am J Physiol Heart Circ Physiol》、《Acta Pharmacol Sin》和《生物化学与生物物理进展》等杂志审稿专家; 国家自然科学基金项目评审专家、湖南省高等学校教师高级职务任职资格评审委员会学科评议组专家。在《Journal of Biological Chemistry》、《Int J Cardiol》、《Atherosclerosis》和《生物化学与生物物理进展》等刊物上共发表科研论文 370 余篇, 其中 SCI 收录 130 余篇, 论文总被引 4000 余次, H 指数为 28。先后主持国家自然科学基金项目 6 项、中国博士后科学基金项目 1 项、湖南省自然科学基金项目 1 项、湖南省科技厅项目 1 项和湖南省自然科学基金衡阳联合基金项目 1 项。获得湖南省自然科学二等奖 1 项、三等奖 2 项, 获湖南医学科技二等奖 2 项, 获衡阳市科技进步二等奖 2 项、三等奖 1 项。主编专著 3 部。培养博士研究生 19 名, 硕士研究生 49 名, 获湖南省优秀硕士学位论文 6 篇, 南华大学优秀博士论文 1 篇, 共有 5 名研究生获国家奖学金。近年主要从事动脉粥样硬化病因学及发病机理的研究, 尤其是对 ABCA1 在胆固醇逆向转运和动脉粥样硬化发生发展中的作用进行了系统深入的研究。



[关键词] 胆固醇逆向转运; 动脉粥样硬化; 炎症; 糖尿病; 三磷酸腺苷结合盒转运体 A1

[摘要] 胆固醇逆向转运(RCT)是促进细胞内胆固醇流出并转运至肝脏进行代谢的过程, 其功能异常在动脉粥样硬化(As)的发生发展中起着关键作用。糖尿病、肥胖等慢性代谢性炎症疾病促进 As 的进展, 而体内炎症、脂肪因子参与调控 RCT 是其重要的调控机制之一。本期专题收集的研究论文和综述探讨了糖基化终末产物 N^ε-羧甲基赖氨酸、核因子 κB(NF-κB)、脂肪因子 Visfatin 等对细胞内胆固醇流出及介导 RCT 中关键蛋白三磷酸腺苷结合盒转运体 A1/Sortilin、酯酰辅酶 A:胆固醇酰基转移酶(ACAT)等表达的影响, 从不同角度阐释慢性代谢性炎症疾病调控 RCT 和心血管疾病发生发展的分子机制。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Mechanism of inflammation in regulating reverse cholesterol transport

YIN Kai^{1,2}, TANG Chaok¹

(1. Institute of Cardiovascular Disease, Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, Medical Research Experiment Center, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Research Lab of Translational Medicine, Department of Diagnosis, Medical School, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] reverse cholesterol transport; atherosclerosis; inflammation; diabetes; ATP-binding cassette transporter A1

[ABSTRACT] Reverse cholesterol transport (RCT) is a process that promotes the efflux of cholesterol from the cells and transports it to the liver for metabolism. Its dysfunction plays a key role in the development of atherosclerosis (As).

[收稿日期] 2018-06-06

[修回日期] 2018-06-11

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81770461)

[作者简介] 尹凯, 博士, 教授, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治, E-mail 为 kaiyinby@qq.com。通信作者唐朝克, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治, E-mail 为 tangchaok@qq.com。

Chronic metabolic inflammatory diseases including diabetes, obesity promote the progress of As, in which pro-inflammatory cytokines and adipokines are important regulatory mechanisms for the regulation of RCT in vivo. The research papers and review collected in this issue studied the effect of nuclear factor κ B (NF- κ B), glycosylation end products N^ε-carboxymethyllysine, adipokines Visfatin, etc. on the cholesterol efflux and the expression of key proteins such as adenosine triphosphate binding cassette transporter A1, Sortilin, and acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase (ACAT) in RCT, which would clarify the molecular mechanism of chronic metabolic inflammatory diseases regulating RCT and cardiovascular disease development from different perspectives.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是引起心脑血管疾病的重要病理机制,向心性肥胖和糖尿病患者心脑血管疾病发病率明显升高,但其确切的机制尚不明确^[1]。近年来,越来越多的证据表明,脂肪组织(adipose tissue, AT)作为一种特殊的内分泌器官,其引起的慢性炎症反应,促进多种炎症和脂肪因子释放,调控血管功能,最终促进 As 的发生发展^[2]。胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport, RCT)是指将肝外组织细胞内的胆固醇通过血液循环转运到肝脏,在肝细胞中进行代谢转化的过程,因此对于减少血管壁胆固醇蓄积具有重要的意义^[3]。RCT 涉及到多个关键转运蛋白,主要有三磷酸腺苷结合盒转运体 A1(ATP-binding cassette transporter A1, ABCA1)、ABCG1、B 类 I 型清道夫受体(scavenger receptor class B type I, SR-BI)等^[4]。近来研究显示,炎症和糖脂代谢紊乱因素引起 RCT 功能失调,对其机制的探讨将为心血管疾病的防治提供新的思路^[5]。

本刊对 RCT 在 As 发生发展中的作用及其调控的分子机制一直十分关注,为进一步了解国内 RCT 领域的研究现状,特开辟“RCT 专栏”用于刊登 RCT 的调控机制及其在 As 发生发展中的作用及分子机制相关的研究成果^[4]。继首刊之后,本期邀请相关领域的专家撰写 5 篇论文,包括 4 篇研究性论文和 1 篇综述,主要探讨肥胖、糖尿病相关的炎症/脂肪因子调控 RCT 关键蛋白的分子机制,并对相关的技术手段进行研究。这些最新研究成果有望为同行们提供有用的文献资料,并为临床的转化研究提供新的依据。

血管病变是常见的糖尿病并发症之一,也是导致糖尿病患者死亡的主要原因。持续高血糖引起体内多种蛋白质非酶糖基化形成的晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGE)在糖尿病血管病变的发生过程中起着重要的作用。N^ε-羧甲基赖氨酸(N^ε-carboxymethyllysine, CML)是 AGE 的重要活性成分,前期研究证实,CML 通过促进巨噬细胞源性泡沫细胞形成和凋亡,抑制其迁移,进而加速 As 过程^[6]。包正阳等^[7]研究 CML 对平滑肌细胞泡沫化中脂质流出的影响,探讨其在促

进平滑肌细胞泡沫化中的作用和机制。结果发现,CML 明显升高平滑肌细胞内总胆固醇、胆固醇酯和游离胆固醇的含量,抑制细胞内胆固醇流出,下调胆固醇流出关键转运体 ABCA1 的表达。进一步的研究显示,CML 主要通过糖基化终末产物的主要受体 RAGE 对胆固醇流出和 ABCA1 的表达进行调控,同时研究发现降低 RAGE 的表达,可以抑制 CML 对 ABCA1 表达的下调作用。本研究为进一步了解泡沫细胞形成的机制及明确糖尿病大血管病变机制提供了新的实验依据。

分拣受体 Sortilin 是由 1 号染色体上的 SORT1 基因编码的蛋白质,其分子量约为 95 kDa。Kjolby 等^[8]发现过表达肝细胞 Sortilin 可促进新生 VLDL 的形成、血脂水平升高,加速巨噬细胞泡沫化进而明显促进 ApoE 敲除小鼠 As 的进展。他们还发现 Sortilin 明显促进巨噬细胞摄取 LDL,促进巨噬细胞脂质蓄积,加剧泡沫细胞形成,且这一过程不依赖于 LDLR 以及巨噬细胞自身的胞吞作用。钟丽园等^[9]发现巨噬细胞 Sortilin 明显抑制巨噬细胞内脂质流出、促进胞内脂质蓄积,加速巨噬细胞泡沫化的形成。这均说明 Sortilin 与脂质代谢及 As 进展密切相关,然而其表达调控的机制尚不十分清楚。高安博等^[10]以巨噬细胞 Sortilin 表达调控机制为切入点,探讨 NF- κ B 通过与 Sortilin 启动子序列结合,从而上调 Sortilin 的表达并进一步抑制巨噬细胞内脂质流出,加剧泡沫细胞形成。其研究采用 NF- κ B 激活剂或抑制剂处理后,巨噬细胞内 Sortilin mRNA 和蛋白水平均上调。随后干预 Sortilin 表达并同时加入 NF- κ B 激活剂共处理后,巨噬细胞内脂质流出明显增多,胞内脂质蓄积程度减轻,泡沫细胞形成受抑。本研究证实了抑制 NF- κ B 活性可下调 Sortilin 的表达,抑制泡沫细胞形成,揭示了炎症调控 Sortilin 表达及其相关机制,为 As 的防治提供新的干预途径和药物作用靶点。

Visfatin 是一种前 B 细胞集落增强因子(pre-B cell colony-enhancing factor, PBEF),在哺乳动物和人类的内脏脂肪中产生。流行病学研究表明,血浆 Visfatin 水平升高与急性 ST 段抬高型心肌梗死(ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI)风险

增加有关^[11]。胡恒境等^[12]筛选出 604 名 STEMI 患者,旨在评估血浆 Visfatin 水平与 STEMI 患者经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)术后新发心房颤动(atrial fibrillation, AF)的关系。研究随访 1 年,结果显示 PCI 术后新发 AF 伴有较高的主要不良心血管事件(major adverse cardiovascular events, MACE)发生率。高水平 Visfatin 是 PCI 术后 1 年新发 AF 和 MACE 的独立预测因子。前期研究显示 Visfatin 能够显著抑制 ABCA1 介导的胆固醇流出,而胆固醇流出障碍被认为与 MACE 和 AF 的发生密切相关^[11], Visfatin 是否通过调控 ABCA1 及其介导的胆固醇流出参与 MACE 和 AF 的发生有待进一步研究。

载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) 是血浆脂蛋白的重要组成成分,主要在肝脏和脑中合成,在脂质的调节代谢中发挥着主要作用。一直以来研究者主要通过小鼠模型来研究 ApoE 在脂质代谢和 As 中的分子调节机制。梁景岩教授课题组利用 CRISPR/Cas9 系统编辑新西兰兔的 ApoE 基因,通过显微注射方法制作 ApoE^{-/-}兔,这为 As 和 RCT 机制的研究提供了新的动物模型^[13]。酯酰辅酶 A:胆固醇酯基转移酶(ester acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase, ACAT)催化细胞内胆固醇的酯化,在细胞内胆固醇的稳态中发挥重要作用,是多种代谢性疾病治疗干预的药物靶点^[14]。王晓微等^[14]对 ACAT 在胆固醇代谢中的作用及其调控机制进行综述,指出特异性 CpG 低甲基化的启动子与单核细胞系 THP-1 中 ACAT2 基因的低表达相关。在特异性 CpG 低甲基化启动子区域的活化区域内鉴定了两个 C/EBP 元件,并且当敲低 C/EBP 转录因子后,THP-1 细胞中 ACAT2 的表达显著降低。C/EBP 元件与 NF- κ B 活性密切相关,文献报道炎症抑制 ACAT 的表达^[15],其是否通过 C/EBP 元件调控 ACAT 的表达尚有待进一步明确。

炎症与脂代谢紊乱被认为是 As 发生的主要因素。而炎症与 RCT 的相互调节被认为是炎症与脂代谢调控网络的关键节点。糖尿病、肥胖等慢性代谢性炎症疾病促进 As 的进展,而体内炎症、脂肪因子参与调控 RCT 是其重要的调控机制之一。本期 RCT 专栏探讨糖尿病、肥胖等慢性代谢性炎症疾病相关因子,如糖基化终末产物 CML、脂肪因子 Visfatin 等对心血管疾病及细胞内胆固醇流出的潜在效应。CML 主要通过糖基化终末产物的主要受体 RAGE 对胆固醇流出和 ABCA1 的表达进行调控,抑制 NF- κ B 活性可下调 Sortilin 的表达,降低巨噬细胞内胆固醇流出,抑制泡沫细胞形成,从而减缓 As 发生发展。Visfatin 能够显著抑制 ABCA1 介导的胆固醇流出,而胆固醇流出

障碍被认为与 MACE 和 AF 的发生密切相关。这些研究从不同角度阐释了慢性代谢性炎症疾病调控 RCT 和心血管疾病发生发展的分子机制,将为心血管疾病的防治提供新的思路。

[参考文献]

- [1] Joseph JJ, Echouffo-Tcheugui JB, Carnethon MR, et al. The association of ideal cardiovascular health with incident type 2 diabetes mellitus: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis [J]. *Diabetologia*, 2016, 59(9): 1893-1903.
- [2] Zhu X, Tu Y, Chen H, et al. Micro-environment and intracellular metabolism modulation of adipose tissue macrophage polarization in relation to chronic inflammatory diseases [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2018; e2993.
- [3] Zhang M, Zhao GJ, Yin K, et al. Apolipoprotein A-1 binding protein inhibits inflammatory signaling pathways by binding to apolipoprotein A-1 in THP-1 macrophages [J]. *Circ J*, 2018, 82(5): 1396-1404.
- [4] 莫中成, 唐朝克. 胆固醇逆向转运关键蛋白介导药物和小分子调控脂代谢的机制研究 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(4): 325-328.
- [5] Yin K, Liao DF, Tang CK. ATP-binding membrane cassette transporter A1 (ABCA1): a possible link between inflammation and reverse cholesterol transport [J]. *Mol Med*, 2010, 16(9-10): 438-449.
- [6] Wang Z, Yan J, Li L, et al. Effects of Nepsilon-carboxymethyl-Lysine on ERS-mediated apoptosis in diabetic atherosclerosis [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 172(3): e478-e483.
- [7] 包正阳, 孙振, 李丽华, 等. N^e-羧甲基赖氨酸通过 RAGE 促进平滑肌细胞源性泡沫细胞形成 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(7): 672-677.
- [8] Kjolby M, Nielsen MS, Petersen CM. Sortilin, encoded by the cardiovascular risk gene SORT1, and its suggested functions in cardiovascular disease [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2015, 17(4): 496.
- [9] 钟丽园, 彭田红, 高安博, 等. 分拣受体 Sortilin 促进巨噬细胞内脂质蓄积 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(2): 139-143.
- [10] 高安博, 彭田红, 钟丽园, 等. NF- κ B 调控 Sortilin 促进荷脂 THP-1 巨噬细胞泡沫化 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(7): 666-671.
- [11] Lin YT, Jian DY, Kwok CF, et al. Visfatin promotes foam cell formation by dysregulating CD36, SRA, ABCA1, and ABCG1 expression in Raw264.7 macrophages [J]. *Shock*, 2016, 45(4): 460-468.
- [12] 胡恒境, 刘启明, 谢忠, 等. 高水平内脂素将增加急性 ST 段抬高型心肌梗死患者的心房颤动和不良心血管事件发生率 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(7): 678-684.
- [13] 袁婷婷, 吴岱津, 周敏雅, 等. 利用 CRISPR/Cas9 技术制备 APOE^{-/-}兔的相关研究 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(7): 658-665.
- [14] 王晓微, 高明明. 酯酰辅酶 A:胆固醇酯基转移酶的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(7): 685-690.
- [15] Abarca S, Garcia R. Cholesterol metabolism in rat adrenal gland during reversible endotoxic shock [J]. *Eur J Biochem*, 1993, 211(3): 829-834.

(此文编辑 文玉珊)