

巨噬细胞极化及其在动脉粥样硬化发生发展中的作用*

周冰冰¹, 李玉洁², 李琦², 杨庆², 翁小刚², 陈颖², 王娅杰², 郭琰²,
刘栩岑², 巩仔鹏², 阚晓溪², 张瑞杰², 朱晓新^{1,2**}

(1. 安徽中医药大学中药学院 合肥 230031; 2. 中国中医科学院中药研究所 北京 100700)

摘要 动脉粥样硬化(As)是心脑血管疾病的重要病理基础,其发病机制一直是血管生物学研究领域的热点问题。炎症是As发生、发展过程中的主要因素,而与炎症发生关系最紧切的细胞是单核-巨噬细胞。近几年随着对As炎症机制研究的不断深入,巨噬细胞极化分型引起了研究者的关注。在不同环境影响下,巨噬细胞可分为M1型和M2型,一般认为M1型(经典活化型)为促炎亚型,分泌促炎因子,因此促进As的进展;而M2型(替代活化型)为抑炎亚型,可以抑制促炎因子的产生,其有可能延缓As发展进程。该文就巨噬细胞的极化分型,以及在As的形成和发展过程中的影响等予以综述,并展望中药在防治As中的机制。

关键词 动脉粥样硬化 单核-巨噬细胞 巨噬细胞极化 M1型巨噬细胞 M2型巨噬细胞

doi: 10.11842/wst.2014.05.039 中图分类号: R541.4 文献标识码: A

动脉粥样硬化(Atherosclerosis, As)一词最早见于20世纪初,其包括粥样瘤和硬化,前者指病灶内有脂质沉积及坏死组织形成的粥样物质,后者指病灶有胶原纤维增生。As病变主要累及大、中型动脉,临床表现主要以受累器官的病象为主。本病的发病机制有多种学说阐述,如脂质浸润学说、血栓形成学说、平滑肌细胞单克隆学说、损伤反应学说、炎症学说等^[1]。早期As被认为是动脉血管壁内脂类和基质纤维素的积累^[2],随着研究的不断深入,认为As属于一种慢性血管炎症性疾病,且炎症还是导致斑块破裂事件的基础^[3,4]。近年来,进一步的研究认为As可能是单核-巨噬细胞对进入动脉壁的脂质进行的炎症反应。人们发现巨噬细胞的表型具有可塑性,

其极化表型比例失衡与关节炎^[5]、脑脊髓炎、Con-A肝炎、MLD-STZ糖尿病、转移性黑素瘤等^[6]疾病相关。本文就巨噬细胞极化分型与动脉粥样硬化的发生发展做一综述,为研究As相关机制和药物研发提供帮助。

1 单核-巨噬细胞与As

1.1 单核-巨噬细胞来源与分类

根据细胞表面标志的不同,单核细胞可分为炎症型和静息型(定居型)。小鼠体内实验表明,根据Gr1/Ly6C、CX3CR1和CCR2的表达的表型不同可将单核细胞表型的异质性分为两种表型,即Gr1⁺/Ly6C^{high} CCR2⁺CX3CR1^{low}和Gr1⁻/Ly6C^{low} CCR2⁻CX3CR1^{high}两种分型。其中Gr1⁺/Ly6C^{high}单核细胞是炎症型单核细胞,其可迁移至病变血管进而分化为主动脉巨噬

收稿日期: 2014-02-19

修回日期: 2014-03-17

* 科学技术部重大新药创制项目(2009ZX09301-005-2-4): 中药新药研发综合性大平台——参莲胶囊的研究与开发,负责人 朱晓新,科学技术部科研院所技术开发研究专项(NCSTE-2007-JKZX-301) 治疗动脉粥样硬化新药研究模式及五类新药参莲片研究,负责人 朱晓新。

** 通讯作者 朱晓新,本刊编委,博士,研究员,主要研究方向: 中药药理学及药代动力学研究。

细胞,参与炎症反应;而 Gr1⁺/Ly6C^{low} 单核细胞是静息型单核细胞,其不同于炎症型单核细胞,具有促进组织修复的作用,并且抑制炎症的发生^[7]。

1.2 单核-巨噬细胞在 As 形成过程中的重要作用

单核细胞起源于骨髓,在骨髓中短暂逗留后进入血液,随后移行进入组织,受周围环境因素刺激后,在组织中分化成巨噬细胞。

在正常生理状态下,动脉血管组织中的巨噬细胞比例较低,As 发展过程中,血液中的单核细胞和动脉血管中的巨噬细胞增多,单核-巨噬细胞通过促进炎症反应、胆固醇脂质沉积和斑块破裂,在 As 发生与发展过程中发挥极其重要的作用。在 As 血液循环中单核细胞迁移到动脉易损部位并黏附到活化的内皮细胞和内皮细胞间隙中,黏附的单核细胞在局部产生的趋化因子作用下迁移到内膜下层,转变为巨噬细胞。之后,一些炎症介质如巨噬细胞集落刺激因子(Macrophage Colony Stimulating Factor, M-CSF)诱导巨噬细胞表面清道夫受体表达,使巨噬细胞大量吞噬氧化修饰的脂蛋白形成泡沫细胞。脂质负荷的泡沫细胞死亡,形成坏死脂质核心,其上覆盖平滑肌细胞分泌的基质蛋白质形成的纤维帽,形成 As 斑块。而最易发生破裂的“肩部”脂质和坏死残骸含量较高,纤维帽薄,有大量激活的巨噬细胞,此时,单核巨噬细胞将外源性抗原呈递给 T 淋巴细胞,启动血管炎症反应,炎症反应时大量分泌炎症细胞因子 C 反应蛋白(C-Reactive Protein, CRP)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白介素 1 β (IL-1 β)等,致使单核细胞的聚集,进而巨噬细胞增多,进一步加剧 As 的进展^[8]。最初报道巨噬细胞主要细胞类型存在 As 的血管中,并在鼠和人主动脉中均发现有 T 细胞、B 细胞、中性粒细胞、肥大细胞、树突状细胞和单核-巨噬细胞参与相关免疫反应^[9,10]。

2 巨噬细胞极化分型与 As

2.1 As 病变中巨噬细胞极化及其分型的意义

巨噬细胞在体内外不同的微环境信号作用下,形成不同的亚型,并且对微环境极其敏感^[11]。巨噬细胞通过细胞表面的受体和相关的细胞内信号级联传递信息而明确应对细胞外信号,从细菌结构到氧化改变的分子^[12]。相反,研究发现,巨噬细胞同样通过诱导高特异性的机制和反应,进而应对细胞内环境变化,如胆固醇加载或内质网膜系压力^[13]。

巨噬细胞是第一个被认为与 As 相关的炎症细胞,随着研究的不断深入,单核-巨噬细胞的可塑性和异质性成为研究者关注的焦点。在人体的损伤组织中有不同亚型的巨噬细胞存在,同样在 As 斑块中巨噬细胞有不同的亚型出现,在不同环境信号下诱导出不同形式的巨噬细胞,这些环境包括微生物产物和细胞因子等^[14,15]。巨噬细胞在体内外不同的局部微环境影响下,可分化为 M1、M2 型巨噬细胞。M1 型巨噬细胞又被称为经典激活的巨噬细胞,即体外经脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)及 γ 干扰素(IFN- γ)、粒巨噬细胞集落刺激因子(Granulocyte Macrophage Colony Factor, GM-CSF)等炎症因子刺激后生成的巨噬细胞;M2 型巨噬细胞又被称为替代激活的巨噬细胞,即体外经白介素 4(IL-4)、白介素 13(IL-13)、白介素 1(IL-1)或者 VitaminD3 诱导下等细胞因子刺激后生成 M2 型巨噬细胞。不同表型巨噬细胞分泌细胞因子、表达受体及其效应功能各不同,其中产生不同的细胞因子是极化巨噬细胞重要特征之一^[14,16]。

诱导后的 M1 型巨噬细胞分泌大量的白介素 12(IL-12)、白介素 23(IL-23)、白介素 6(IL-6)、白介素 1 β (IL-1 β)及 TNF- α 等炎症细胞因子,参与抗原递呈,表达诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和活性氧(ROS),促进 NO 等活性氧合成,参与炎症反应及病菌清除,促进 As 的发展。M2 型巨噬细胞高表达炎症抑制因子有白介素 10(IL-10)、IL-1 和甘露糖受体(MRR)、精氨酸酶(Arginase I, Arg I)、诱骗受体(Decoy Receptor, DcR)、转化生长因子(Transforming Growth Factor- β , TGF- β)、清道夫受体(Scavenger Receptor, SR)以及半乳糖受体,抑制炎症反应,促进组织损伤修复^[17,18]。M2 型巨噬细胞不仅分泌上述细胞因子,此外还分泌前列腺素 E2(Prostaglandin E2, PGE2),根据 PGE2 受体亚型的表达情况可以判断是发挥促炎还是抑炎功能^[19]。趋化因子及其受体在巨噬细胞极化过程中的表达也明显不同,IFN- γ 能够诱导 IFN- γ 诱导蛋白-10(Inducible Protein-10, IP-10)和 IFN- γ 诱导单核因子(MIG)表达,这一作用能被 IL-4 和 IL-10 所抑制;而 IL-4 选择性诱导细胞趋化因子 24(CCL24)、细胞趋化因子 18(CCL18)及细胞趋化因子 22(CCL22)的表达,同样这一效应可以被 IFN- γ 所抑制^[20]。不同的趋化因子招募不同 T 细胞亚群,与 M1、M2 巨噬细胞共同介

导局部免疫反应,人和鼠极化巨噬细胞有相似的功能特点。另有研究发现,CRP能够诱导人巨噬细胞极化为M1型巨噬细胞并抑制向M2型巨噬细胞转化^[21]。但事实上,巨噬细胞极化分型并不是这么明确,它们只是巨噬细胞功能状态的两个极端,也就是说有一些细胞是处在M1和M2型巨噬细胞之间的状态^[22]。

如图1所示,激活的STAT1和STAT6调节巨噬细胞极化和活性之间的平衡,NF- κ B和STAT1的激活促进M1巨噬细胞极化,增强细胞毒性及验证功能^[23,24];相反,STAT6的活化促进M2巨噬细胞的极化,导致免疫抑制及促进肿瘤的进展^[24],PPAR- γ 和PPAR- δ 从不同方面控制着M2巨噬细胞活性及氧化代谢^[25]。PPAR- δ 通过与STAT6配合和抑制NF-

κ B/STAT1依赖的转录,共同参与增强M2巨噬细胞的功能,同样STAT1的激活抑制STAT6依赖的转录,M2巨噬细胞通过STAT6信号通路产生的细胞因子信号传导抑制蛋白1(Suppressor of Cytokine Signaling1,SOCS1)也可抑制STAT1信号传导,阻止巨噬细胞向M1巨噬细胞方向极化。

最近研究发现,巨噬细胞表型不仅仅只有M1和M2型巨噬细胞两种,另外有混合型(MOX)表型和M4型巨噬细胞。各种各样的类脂物质也能诱导巨噬细胞分型,引起高度特异性转录程序和表型的变化^[26]。氧化磷脂是动脉粥样硬化过程中脂质氧化产物积聚的产物,也是动脉粥样硬化病变免疫环境的特征。氧化磷脂诱导一个核因子E2相关因子2(Nuclear Factor E2-related Factor 2,Nrf2)驱动的巨

噬细胞转录程序。细胞转录程序的启动伴随着一系列氧化还原调控基因的上调,如血红素加氧酶、谷胱甘肽还原酶和合成酶、以及硫氧还蛋白还原酶,从而导致MOX表型的形成。MOX型巨噬细胞大量存在动脉粥样硬化病灶早期^[27]。然而体外吞噬研究的分析数据表明,MOX型巨噬细胞只能微弱的吞噬氧化低密度脂蛋白(LDL-ox),并且表明其可能无法有效的清除体内凋亡细胞和解决体内炎症。Gleissner C A等^[28]研究发现通过使用趋化因子配体-4(CXCL-4)或者M-CFS诱导的巨噬细胞,表达的细胞因子和蛋白与M1和M2型巨噬细胞有很大的差异,并且其诱导生成的既不是M1型也不是M2型巨噬细胞,后期被命名为M4巨噬细胞。并发现M4型巨噬细胞对LDL-ox的吞噬作用很弱,不易产生泡沫细胞,极少存在As斑块中,其的功能现在并不是太明确。

2.2 药物(中药)对巨噬细胞极化的影响

在特定的条件下,接受不同

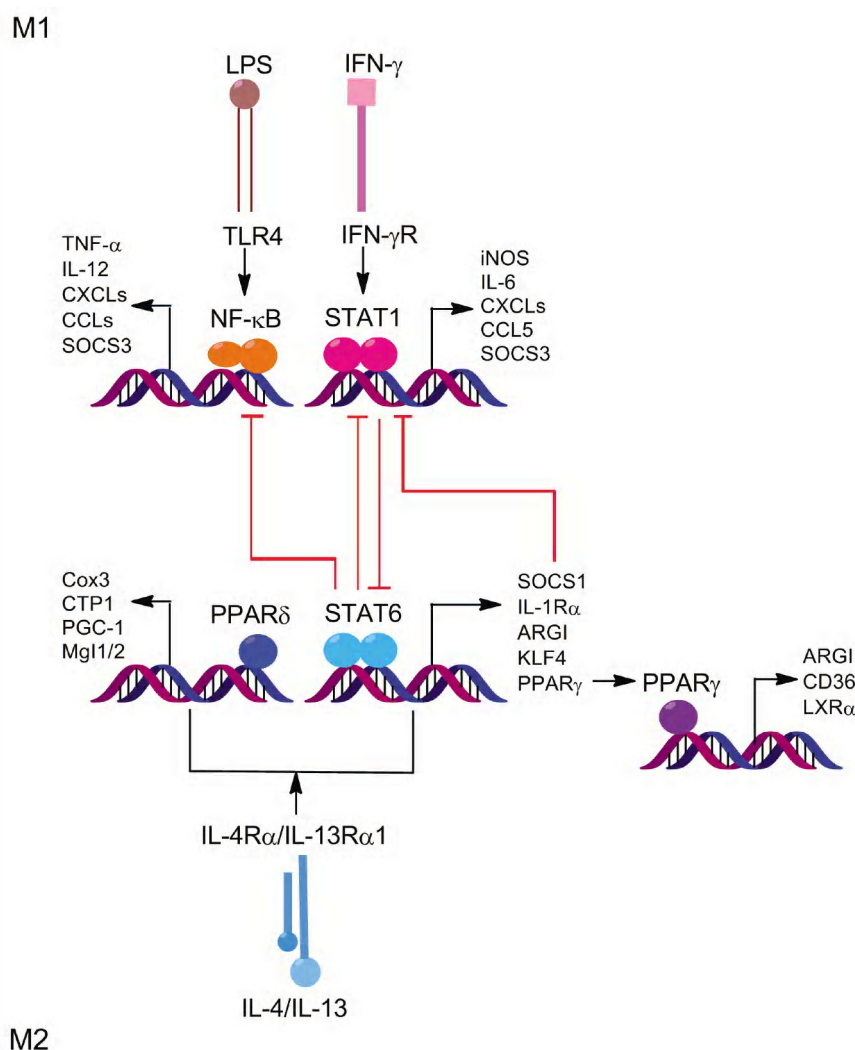


图1 巨噬细胞极化的主要途径

的刺激,已分化的巨噬细胞也可以相互转化,El Hadri K 等^[29]研究发现分别给动脉粥样硬化 ApoE 小鼠体内注射 LPS 及 IFN- γ 和 IL-4 后,在模型成功的基础上注射硫氧还蛋白-1,结果发现小鼠体内巨噬细胞 M2 型转为 M1 型巨噬细胞。

传统中药在 As 防治过程中效果显著,如四妙勇安汤可通过拮抗炎症反应,抑制基质降解和脂肪沉积,从而促进动脉粥样硬化斑块稳定^[30],但其成分复杂,具体机制多不清楚,往往涉及到多个不同的靶点。大多数有良效的中药没有得到现代科学正面、客观的评价。调节巨噬细胞的功能已有大量的中药研究报道,例如芥菜籽提取物能下调巨噬细胞清道夫受体 CD36 表达,南蛇藤素可能通过减少 ApoE-/- 小鼠粥样斑块内 CD40 配体的表达和巨噬细胞的聚集^[31-32]。但从巨噬细胞极化分型的角度,阐释和评价中药作用的研究尚不多见,如 Shin S 等^[33]通过研究虫草素和阿糖腺苷对人工诱导的巨噬细胞表型的影响,发现虫草素和阿糖腺苷均能降低 M1 巨噬细胞相关细胞因子的含量,并且能升高 M2 相关细胞因子的含量。螺旋胎 B 能够提高促红细胞生成素的含量来调节小鼠体内 M1 和 M2 细胞的比例,从而对动脉粥样硬化的治疗提供一定的帮助^[34]。Derlindati E 等^[35]研究发现槲皮素-3-O-桑布双糖苷(Q3GA)并不影响 M1 促进巨噬细胞的防御反应,但它能够通过减少基因的转录参与炎症,如促炎白细胞介素和酶参与氧化应激反应。Q3GA 是一个潜在的具有抗动脉粥样硬化代谢物的作用,能够增强 M2 巨噬细胞的抗炎作用,并能调节免疫反应影响的促炎刺激。M1 和 M2 细胞的平衡以及生理学意义和中医药调节阴阳的理论不谋而合,同时这也为抗 As 中药作用机制和评价研究带来了新的机遇。

3 结语及展望

巨噬细胞与 As 的炎症过程极其相关,巨噬细胞极化分型为 M1 型巨噬细胞和 M2 型巨噬细胞,对 As 的影响各不相同,M1 巨噬细胞在 As 病理过程中分泌一些促炎细胞因子,M1 型巨噬细胞参与炎症反应,在动脉粥样硬化早期,促进 As 的进行;而 M2 巨噬细胞在动脉粥样硬化后期发挥更为重要的作用,其表达的炎症抑制因子 IL-10、IL-1、Arg I 等增多,致使 M2 型巨噬细胞清除凋亡细胞能力增强,具有抑制炎症反应的作用,促进斑块的稳定,

在 As 发病过程中起到保护作用,具有抑制 As 发展的作用。巨噬细胞的不同分型(M1 和 M2 型),发挥着抗炎和抑炎的相反作用,影响着 As 的发生发展,为我们今后研究 As 机制提供新思路。

目前,动脉粥样硬化的发病机制尚还不完全明确,近年来随着对巨噬细胞的可塑性及异质性的认识,巨噬细胞极化分型与动脉粥样硬化的关系引起了研究者的极大关注。巨噬细胞在动脉粥样硬化病变中以多种形式存在,但其极化分型 M1 和 M2 型巨噬细胞两个表型功能较为明确。但对于治疗动脉粥样硬化并作用于巨噬细胞极化方面的药物特别是中药研究还较少,有待研究者们去研究和开发。由此,巨噬细胞由促炎的 M1 型转化为抗炎的 M2 型,有望成为 As 疾病预防和治疗药物开发的新靶点,也有望成为揭示和评价中药作用的新机遇。

参考文献

- 1 Ross R. Mechanisms of atherosclerosis—a review. *Adv Nephrol Necker Hosp*, 1990, 19:79~86.
- 2 Lusis A J. Atherosclerosis. *Nature*, 2000, 407(6801):233~241.
- 3 Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(9):2045~2051.
- 4 Wong B W, Meredith A, Lin D, et al. The biological role of inflammation in atherosclerosis. *Can J Cardiol*, 2012, 28(6):631~641.
- 5 Tsuneyoshi Y, Tanaka M, Nagai T, et al. Functional folate receptor beta-expressing macrophages in osteoarthritis synovium and their M1/M2 expression profiles. *Scand J Rheumatol*, 2012, 41(2):132~140.
- 6 Radosavljevic G, Volarevic V, Jovanovic I, et al. The roles of Galectin-3 in autoimmunity and tumor progression. *Immunol Res*, 2012, 52(1-2):100~110.
- 7 Auffray C, Fogg D, Garfa M, et al. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science*, 2007, 317(5838):666~670.
- 8 Ross R, Glomset J A. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl J Med*, 1976, 295(7):369~377.
- 9 Baumgarth N, Choi Y S, Rothausler K, et al. B cell lineage contributions to antiviral host responses. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2008, 319:41~61.
- 10 Weber C, Zernecke A, Libby P. The multifaceted contributions of leukocyte subsets to atherosclerosis: lessons from mouse models. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(10):802~815.
- 11 Williams H J, Fisher E A, Greaves D R. Macrophage differentiation and function in atherosclerosis: opportunities for therapeutic intervention. *J Innate Immun*, 2012, 4(5-6):498~508.
- 12 Adamson S, Leitinger N. Phenotypic modulation of macrophages in response to plaque lipids. *Curr Opin Lipidol*, 2011, 22(5):335~342.

- 13 Prieur X, Roszer T, Ricote M. Lipotoxicity in macrophages: evidence from diseases associated with the metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1801(3):327~337.
- 14 Mills C D, Kincaid K, Alt J M, *et al.* M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol*, 2000, 164(12):6166~6173.
- 15 Mantovani A, Sica A, Sozzani S, *et al.* The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol*, 2004, 25(12):677~686.
- 16 Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest*, 2012, 122(3):787~795.
- 17 Chinetti-Gbaguidi G, Staels B. Macrophage polarization in metabolic disorders: functions and regulation. *Curr Opin Lipidol*, 2011, 22(5):365~372.
- 18 Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest*, 2012, 122(3):787~795.
- 19 Han C Z, Ravichandran K S. Metabolic connections during apoptotic cell engulfment. *Cell*, 2011, 147(7):1442~1445.
- 20 Mantovani A. From phagocyte diversity and activation to probiotics: back to Metchnikoff. *Eur J Immunol*, 2008, 38(12):3269~3273.
- 21 Devaraj S, Jialal I. C-reactive protein polarizes human macrophages to an M1 phenotype and inhibits transformation to the M2 phenotype. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(6):1397~1402.
- 22 Mosser D M, Edwards J P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(12):958~969.
- 23 Chan G, Bivins-Smith E R, Smith M S, *et al.* NF- κ B and phosphatidylinositol 3-kinase activity mediates the HCMV-induced atypical M1/M2 polarization of monocytes. *Virus Res*, 2009, 144(1-2):329~333.
- 24 Kitoh Y, Saio M, Gotoh N, *et al.* Combined GM-CSF treatment and M-CSF inhibition of tumor-associated macrophages induces dendritic cell-like signaling *in vitro*. *Int J Oncol*, 2011, 38(5):1409~1419.
- 25 Chawla A. Control of macrophage activation and function by PPARs. *Circ Res*, 2010, 106(10):1559~1569.
- 26 Adamson S, Leitinger N. Phenotypic modulation of macrophages in response to plaque lipids. *Curr Opin Lipidol*, 2011, 22(5):335~342.
- 27 Kadl A, Meher A K, Sharma P R, *et al.* Identification of a Novel Macrophage Phenotype That Develops in Response to Atherogenic Phospholipids via Nrf2 Novelty and Significance. *Circ Res*, 2010, 107(6):737~746.
- 28 Gleissner C A, Shaked I, Little K M, *et al.* CXC chemokine ligand 4 induces a unique transcriptome in monocyte-derived macrophages. *J Immunol*, 2010, 184(9):4810~4818.
- 29 El Hadri K, Mahmood D F, Couchie D, *et al.* Thioredoxin-1 promotes anti-inflammatory macrophages of the M2 phenotype and antagonizes atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(6):1445~1452.
- 30 彭立, 许颖智, 张光银, 等. 四妙勇安汤稳定动脉粥样硬化斑块的机制研究. 世界科学技术—中医药现代化, 2011, 13(2):287~292.
- 31 程军, 李金平, 田卓, 等. 南蛇藤素对 ApoE 基因敲除小鼠主动脉粥样硬化斑块内 CD40 配体表达、巨噬细胞和平滑肌细胞数量的影响. 中国病理生理杂志, 2009, 25(3):601~603.
- 32 肖铭甲, 陈卫红, 郭景新, 等. 芥菜籽提取物抗氧化及下调巨噬细胞清道夫受体 CD36 表达和预防动脉粥样硬化的作用. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(2):109~114.
- 33 Shin S, Moon S, Park Y, *et al.* Role of Cordycepin and Adenosine on the Phenotypic Switch of Macrophages via Induced Anti-inflammatory Cytokines. *Immune Netw*, 2009, 9(6):255~264.
- 34 Ueba H, Shiomi M, Brines M, *et al.* Suppression of coronary atherosclerosis by helix B surface Peptide, a nonerythropoietic, tissue-protective compound derived from erythropoietin. *Mol Med*, 2013, 19(1):195~202.
- 35 Derlindati E, Dall'Asta M, Ardigo D, *et al.* Quercetin-3-O-glucuronide affects the gene expression profile of M1 and M2a human macrophages exhibiting anti-inflammatory effects. *Food Funct*, 2012, 3(11):1144~1152.

Macrophage Polarization and Its Role in Development of Atherosclerosis

Zhou Bingbing¹, Li Yujie², Li Qi², Yang Qing², Weng Xiaogang², Chen Ying², Wang Yajie², Guo Yan²,
Liu Xucen², Gong Zipeng², Kan Xiaoxi², Zhang Ruijie², Zhu Xiaoxin^{1, 2}

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract: Atherosclerosis (As) is an important pathological basis of cardiovascular and cerebrovascular diseases. The pathogenesis studies of As have been a hot topic in the field of vascular biology research. The inflammation is known as a major participant in the development process of As. And monocyte-macrophage plays a central role in inflammation. In recent years, with the deepening research on inflammatory mechanisms, the As macrophage polarization is attracting researchers' attention. Under different environmental inductions, macrophages develop into M1 and M2 phenotypes. M1 macrophages (classical type), which can stimulate the secretion of pro-inflammatory cytokines, is

generally considered as pro-inflammatory subtypes and can facilitate the progress of As. Whereas, M2 macrophages (alternative type), which can inhibit pro-inflammatory factor production, function as anti-inflammatory subtypes and likely to inhibit the progression of As. The mechanisms of As, macrophage polarization in As, and opportunities for herbal medicines will be summarized in this review.

Keywords: Atherosclerosis, monocyte-macrophage, macrophage polarization, M1 macrophages, M2 macrophages

(责任编辑 张丰丰 张志华, 责任译审 王 晶)