

免疫细胞在动脉粥样硬化炎症进展中的双刃剑作用

董正 吴润达 姚康 葛均波

(上海市心血管病研究所 复旦大学附属中山医院心内科, 上海 200032)

【摘要】炎症在动脉粥样硬化发展过程中起到十分重要的作用。动脉粥样硬化病理过程由动脉内皮损伤和血浆胆固醇水平异常引起,随后通过炎症反应招募各种免疫细胞进入动脉内膜参与斑块的形成与进展,这些细胞包括巨噬细胞、树突状细胞、平滑肌细胞、T 细胞、B 细胞和肥大细胞等。其中每一种免疫细胞又由促炎亚群和抗炎亚群共同组成,并产生相应的促炎因子与抗炎因子相互制衡。现从参与动脉粥样硬化发生过程的炎症细胞出发,简要综述斑块发展过程中炎症的机制与双刃剑作用,并为未来的动脉粥样硬化抗炎治疗策略提出可能的靶点。

【关键词】动脉粥样硬化;炎症反应;炎症细胞;抗炎治疗

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2021.01.007

Double-edged Sword Role of Immune Cells in Advance of Atherosclerotic Inflammation

DONG Zheng, WU Runda, YAO Kang, GE Junbo

(Department of Cardiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai Institute of Cardiovascular Diseases, Shanghai 200032, China)

【Abstract】Inflammation plays an important role in the advance of atherosclerosis. The pathological process of atherosclerosis is caused by the injury of arterial endothelium and abnormal plasma cholesterol level. Subsequently, various immune cells are recruited to the arterial intima through inflammatory response, and participate in the formation and progression of plaque. These cells include macrophages, dendritic cells, smooth muscle cells, T cells, B cells, mast cells, etc. Each of the immune cells is composed of proinflammatory subtype and anti-inflammatory subtype, and produces corresponding pro-inflammatory factors and anti-inflammatory factors to coordinate innate homeostasis. Starting from the inflammatory cells involved in the development of atherosclerosis, this paper briefly reviews the mechanism of inflammation and its double-edged sword effect in the development of plaques, and proposed possible targets for the future anti-inflammatory treatment strategies of atherosclerosis.

【Key words】Atherosclerosis; Inflammation response; Inflammatory cells; Anti-inflammatory therapy

一直以来,动脉粥样硬化是心脑血管疾病的首要病因^[1-2],该病是脂质和免疫细胞在动脉内膜(动脉内皮和内弹力层之间的部位)长期积聚的病理过程,可形成斑块并最终导致斑块破裂^[3]。固有免疫细胞存在于健康的动脉壁上,在发生动脉粥样硬化斑块时,其数量越来越多,促炎作用也越来越强。T 细胞虽然在数量上不如固有免疫细胞丰富,但也可进入动脉内膜,并调节固有免疫细胞、内皮细胞和平滑肌细胞的功能。中膜内的平滑肌细胞在白细胞不断形成的介质作用下,可迁移到内膜,促进炎症部位膨隆,形成动脉粥样硬化斑块^[4]。

降脂治疗至今仍是抗动脉粥样硬化治疗的基石,但即使是他汀类药物优化治疗后的患者,其心血管疾病事件仍时有发生,存在较高的残余风险^[5-6]。当抗白介素(IL)-1 β 治疗动脉粥样硬化的临床研究 CANTOS (Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcome Study) 获得显著的临床获益后^[7],动脉粥样硬化相关炎症通路再次成为研究和临床转化的热点。目前,单细胞测序技术的蓬勃发展也为该领域的研究打开了一扇新的大门^[8-9]。现对目前炎症参与动脉粥样硬化发生和发展的机制做简要综述,尤其关注炎症的双刃剑作用——促炎细胞和抗炎细胞的共存与抗衡

基金项目:国家自然科学基金(81521001,81570224)

通信作者:葛均波, E-mail: jbg@zs-hospital.sh.cn

的状态,以期动脉粥样硬化的抗炎治疗提出可能的靶点和研究方向。

1 动脉粥样硬化过程中的炎症细胞及因子

1.1 巨噬细胞

巨噬细胞是动脉粥样硬化发生和进展中最主要的免疫炎症细胞,通常认为斑块内的巨噬细胞有两种来源。第一种是血管原位巨噬细胞,连同血管原位树突状细胞(dendritic cell, DC)都被称作吞噬细胞,组成了抵抗病原体入侵和吞噬非我物质的第一血管层防线。第二种则是内皮损伤和炎症起始后,由一系列被释放的细胞因子招募的 $Ly6c^{hi}$ 单核细胞分化而来的巨噬细胞^[10-12]。

虽然两种细胞(血管原位和单核分化)都可吞噬低密度脂蛋白胆固醇,形成富含胞内脂滴的泡沫细胞,但后者中还存在一部分非泡沫化的 $CCR2^{+}$ 巨噬细胞,这群细胞可表达促炎因子如 $IL-1\beta$ 参与炎症反应^[13]。除了氧化低密度脂蛋白,巨噬细胞还能清除细胞碎片。通过识别凋亡细胞表面的“eat me”信号,巨噬细胞可吞噬凋亡细胞,也叫胞葬作用。清除凋亡细胞本身会使巨噬细胞表现出抗炎表型^[14]。许多研究也证实,当缺乏识别凋亡细胞的受体(如 $MerTK$ 、 $ClqA$ 和 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白-3)时,机体血管更易发生斑块^[15-16],而输注凋亡细胞或含有磷脂酰丝氨酸的脂质体则会延缓疾病的进展^[17-18]。

巨噬细胞除了参与脂质代谢和清除动脉壁上的细胞碎片外,还参与调节局部免疫反应。巨噬细胞表达许多模式识别受体,并藉由此识别斑块处病原体相关分子模式和损伤相关识别分子。识别后,巨噬细胞被激活并产生促炎细胞因子,例如斑块处的巨噬细胞表达 Toll 样受体 4,通过识别氧化低密度脂蛋白诱导促炎细胞因子的产生^[19]。

在同一斑块区域,巨噬细胞的表型有明显的区别。促炎巨噬细胞主要分布在斑块易于破裂的区域和坏死脂核内^[20],而抗炎巨噬细胞则主要分布于动脉外膜处^[21]。最近,单细胞 RNA 测序或流式细胞术可更为充分地了解巨噬细胞在动脉粥样硬化斑块中的异质性。Cochain 等^[8]和 Winkels 等^[22]最近的两项研究发现,动脉粥样硬化斑块中有 11 ~ 13 个不同的白细胞群。Winkels 等^[22]发现动脉粥样硬化病变区域存在两群不同的巨噬细胞,通过是否表达 $Lyve-1$ 而相互区别。Cochain 等的研究还发现了不同于原位巨噬细胞和炎性巨噬细胞的第三群巨噬细胞,它们高表达髓样细胞激动受体 2 (TREM2),TREM2 与清除有害组织碎片和识别脂蛋白有关,TREM2^{hi} 巨噬细胞同时高表达

与脂质代谢相关的基因,并推测 TREM2 功能丧失可能会加重动脉粥样硬化进展。

1.2 DC

DC 也是动脉粥样硬化早期斑块形成时泡沫细胞的来源之一^[23],和巨噬细胞相似,参与动脉粥样硬化进展的 DC 也分为两种,第一种是经典的依赖 $Flt3$ 通路的 $CD103^{+}CD11b^{-}$ 的 DC,研究发现这类细胞具有限制炎症和动脉粥样硬化进展的能力^[24],这类细胞可能属于血管原位 DC,并参与了泡沫细胞的形成。第二种是单核细胞分化而来依赖 M-CSF 的 $CD14^{+}CD11b^{+}DC-SIGN^{+}$ DC,这类 DC 在动脉粥样硬化过程中数目更多^[25],可能与促进动脉粥样硬化有关。未来通过更多的特异性标志(如经典的 DC 特异性转录因子 $Zbtb46$)和新的技术^[26]会帮助研究者在动脉粥样硬化斑块中发现更多 DC 和巨噬细胞亚群。

1.3 平滑肌细胞

平滑肌细胞作为动脉壁中层和外膜的主要结构,生理状态下不可能通过内弹力层进入内膜。但当动脉粥样硬化病变开始时,内膜的病变波及中层,使得平滑肌细胞可迁移进入斑块,并可分布在斑块接近内膜的表面部位,分泌细胞外基质形成纤维帽以稳定斑块结构,而动脉粥样硬化炎症中的 $IL-17A$ 可使细胞外基质的分泌过多^[27],继而导致载脂蛋白的滞留和血管硬度增加^[3]。虽然平滑肌细胞并非通常意义的炎症免疫细胞,但最近的实验数据表明,平滑肌细胞也可分化为类似巨噬细胞的泡沫细胞^[28]。虽然其不会表达促炎细胞因子基因^[15],但和其他泡沫细胞的功能是否有差异尚未可知。

1.4 T 细胞

DC、巨噬细胞和平滑肌细胞都是动脉粥样硬化发生过程中形成泡沫细胞的来源,但只有表达主要组织相容性复合体 II 分子及共刺激分子的非泡沫化 DC 和巨噬细胞才具有抗原提呈功能,而所提呈的抗原只有激活 T 细胞才可引发炎症级联反应。斑块内浸润的 T 细胞中, $TCR\gamma\delta^{+}$ T 细胞作用相对较弱,而 $TCR\alpha\beta^{+}$ T 细胞则与疾病发展明显相关,后者中 $CD4^{+}$ T 细胞是动脉粥样硬化斑块中最主要的效应细胞^[29],具体来说 T 细胞可分为 4 个亚群^[30],其中 Th1 是主要的 T 细胞类型,而 Th2、Th17 和调节性 T 细胞 (Treg) 数量均较少,但 Treg 可见于斑块发展的全部阶段。这些 T 细胞类型分泌不同类型的细胞因子,并产生相异的生物效应,最终形成斑块发生和发展的复杂调控机制(见表 1),但激活不同类型的 T 细胞所需的细胞类型以及微环境因素尚待进一步研究。

表 1 参与动脉粥样硬化发生和发展的 CD4⁺T 细胞类型

细胞类型	细胞因子类型	生物效应	是否促进斑块进展
Th1	γ 干扰素、肿瘤坏死因子	促进单核细胞浸润,增强巨噬细胞激活,调节泡沫细胞形成。	促进
Th2	IL-4、IL-5、IL-13、IL-33	诱导 B1 细胞和 M2 巨噬细胞形成。	IL-4 促进;IL-5、IL-13 和 IL-33 抑制
Th17	IL-17A	促进胶原合成。	尚不明确
Treg	IL-10、转化生长因子- β	促进胶原合成,调节免疫细胞分化、耐受和增殖。	抑制

1.5 其他免疫细胞

B 细胞也可见于动脉粥样硬化斑块,早期研究发现完全敲除 B 细胞可导致斑块的进展,但后来发现 B 细胞各个亚群对斑块形成的作用各有不同。斑块内的 B 细胞主要分为三个亚型,其中 B1a 细胞通过分泌 IgM 阻碍血管壁形成脂核,调节性 B 细胞(Breg)分泌 IL-10 和转化生长因子- β ,抑制动脉粥样硬化进展,而 B2 细胞则通过介导对氧化低密度脂蛋白胆固醇的抗体反应及激活 T 细胞来发挥促进病变进展的作用^[31]。

其他固有免疫细胞如中性粒细胞、肥大细胞、自然杀伤细胞和自然杀伤 T 细胞是动脉粥样硬化更为少见的细胞类型^[2],作用也各有差异,如中性粒细胞通常仅可见于病变初期^[32],肥大细胞与纤维帽变薄有关^[33],自然杀伤细胞可加重动脉粥样硬化^[34],而自然杀伤 T 细胞表现为双向作用,可能在病变早期发挥促进动脉粥样硬化作用^[35],病变后期则可通过分泌 IL-10 来限制动脉粥样硬化的发展^[36]。

2 动脉粥样硬化的抗炎治疗策略与机制

随着对免疫细胞亚群、来源和功能的不断了解,越来越多的临床试验将免疫细胞作为临床治疗靶点。正如前文所述,CANTOS 研究证实,IL-1 β 是有效的治疗 C 反应蛋白水平较高的陈旧性心肌梗死患者的动脉粥样硬化的靶点,可显著地改善患者的预后^[7]。此外,一项研究发现,每周给予患者低剂量的甲氨蝶呤并不能减少心血管事件的发生。在这一研究中,受试者的炎性生物指标如 C 反应蛋白、IL-1 β 或 IL-6 并未降低^[37],受试者的 C 反应蛋白基线值也并未升高。

在使用纳米材料特异性递送药物治疗动脉粥样硬化方面,近年也取得了很大进展。带有特定 siRNAs 的纳米颗粒可降低黏附分子、趋化因子受体或转录因子的表达,可用于抑制动脉粥样硬化中的炎症反应^[38]。而含有磷脂酰丝氨酸的脂质体通过模仿凋亡细胞,引发巨噬细胞的抗炎反应,这种方式在临床治疗中也可减少斑块的形成和进展^[18]。

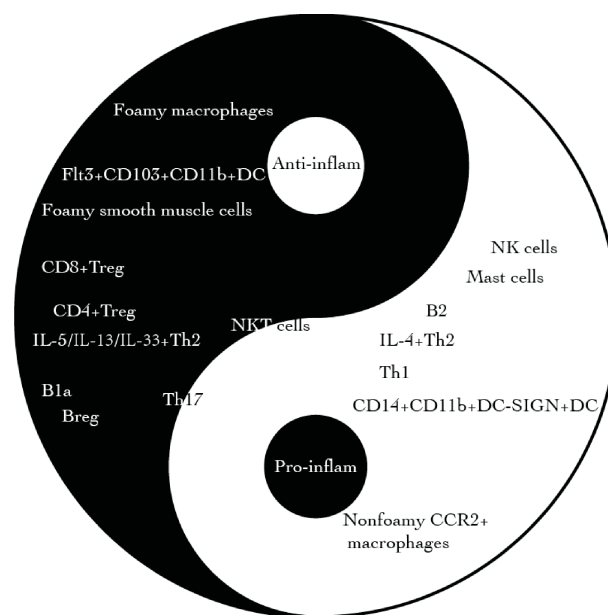
在更严重的动脉粥样硬化病变中应用以高密度脂蛋白为基础的纳米颗粒向巨噬细胞递送辛伐他汀^[39],该方法在不影响单核细胞募集的同时,降低了巨噬细胞的局部增殖和炎性细胞因子的产生。该研究还发现,将辛伐他汀纳米颗粒与口服辛伐他汀联合治疗显

示出比单独使用纳米颗粒更好的治疗效果。

虽然这些研究表明了针对免疫细胞靶向治疗的潜在疗效,但在临床实践中想要获得更大的收益,减少因影响其他炎症细胞或炎症因子带来的不良影响,必须对参与动脉粥样硬化形成的细胞异质性和细胞来源有更进一步的研究,更大地发挥其血管保护作用。

3 总结

动脉粥样硬化的发病过程中,炎症的作用举足轻重。不难发现,在动脉粥样硬化中,每种免疫细胞几乎都是一把双刃剑,各种细胞都可细分为促炎表型和抗炎表型的细胞亚群,且分别分泌促炎和抗炎的因子或介质相互抗衡(见图 1)。免疫细胞的促炎因子上调或抗炎因子的下调都会导致斑块的进一步进展,但值得注意的是,动脉粥样硬化病变是阶段性进展的疾病,炎症的发展也是阶段性的,不同阶段的策略不能一概而论,需未来的研究更多地关注促炎和抗炎反应的时间窗、炎症部位以及促炎细胞和抗炎细胞如何平衡,使之形成稳定的免疫状态,可能会对动脉粥样硬化的免疫治疗提供更多的启示。



注:Anti-inflam:抗炎;Pro-inflam:促炎;Foamy macrophages:泡沫样巨噬细胞;Foamy smooth muscle cells:泡沫样平滑肌细胞;NK cells:自然杀伤性 T 细胞;NK cell:自然杀伤细胞;Mast cell:肥大细胞。

图 1 动脉粥样硬化斑块炎症的双刃剑作用——促炎细胞和抗炎细胞种类

参考文献

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [2] Libby P, Hansson GK. From focal lipid storage to systemic inflammation: JACC review topic of the week[J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 74(12):1594-1607.
- [3] Williams JW, Huang LH, Randolph GJ, et al. Cytokine circuits in cardiovascular disease[J]. Immunity, 2019, 50(4):941-954.
- [4] Libby P, Buring JE, Badimon L, et al. Atherosclerosis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1):56.
- [5] Mora S, Wenger NK, Demicco DA, et al. Determinants of residual risk in secondary prevention patients treated with high- versus low-dose statin therapy: the Treating to New Targets (TNT) study[J]. Circulation, 2012, 125(16):1979-1987.
- [6] LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, et al. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease[J]. N Engl J Med, 2005, 352(14):1425-1435.
- [7] Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease[J]. N Engl J Med, 2017, 377(12):1119-1131.
- [8] Cochain C, Vafadarnejad E, Arampatzis P, et al. Single-cell RNA-Seq reveals the transcriptional landscape and heterogeneity of aortic macrophages in murine atherosclerosis[J]. Circ Res, 2018, 122(12):1661-1674.
- [9] Fernandez DM, Rahman AH, Fernandez NF, et al. Single-cell immune landscape of human atherosclerotic plaques[J]. Nat Med, 2019, 25(10):1576-1588.
- [10] Tabas I, Lichtman AH. Monocyte-macrophages and T cells in atherosclerosis[J]. Immunity, 2017, 47(4):621-634.
- [11] Robbins CS, Hilgendorf I, Weber GF, et al. Local proliferation dominates lesional macrophage accumulation in atherosclerosis[J]. Nat Med, 2013, 19(9):1166-1172.
- [12] Stoneman V, Braganza D, Figg N, et al. Monocyte/macrophage suppression in CD11b diphtheria toxin receptor transgenic mice differentially affects atherogenesis and established plaques[J]. Circ Res, 2007, 100(6):884-893.
- [13] Kim K, Shim D, Lee JS, et al. Transcriptome analysis reveals nonfoamy rather than foamy plaque macrophages are proinflammatory in atherosclerotic murine models[J]. Circ Res, 2018, 123(10):1127-1142.
- [14] Voll RE, Herrmann M, Roth EA, et al. Immunosuppressive effects of apoptotic cells[J]. Nature, 1997, 390(6658):350-351.
- [15] Foks AC, Ran IA, Wasserman L, et al. T-cell immunoglobulin and mucin domain 3 acts as a negative regulator of atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(11):2558-2565.
- [16] Xu H, Jiang J, Chen W, et al. Vascular macrophages in atherosclerosis[J]. J Immunol Res, 2019, 2019:4354786.
- [17] Frodermann V, van Puijvelde GH, Wiers L, et al. Oxidized low-density lipoprotein-induced apoptotic dendritic cells as a novel therapy for atherosclerosis[J]. J Immunol, 2015, 194(5):2208-2218.
- [18] Hosseini H, Li Y, Kanellakis P, et al. Phosphatidylserine liposomes mimic apoptotic cells to attenuate atherosclerosis by expanding polyreactive IgM producing B1a lymphocytes[J]. Cardiovasc Res, 2015, 106(3):443-452.
- [19] Stewart CR, Stuart LM, Wilkinson K, et al. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer[J]. Nat Immunol, 2010, 11(2):155-161.
- [20] Stöger JL, Gijbels MJ, van der Velden S, et al. Distribution of macrophage polarization markers in human atherosclerosis[J]. Atherosclerosis, 2012, 225(2):461-468.
- [21] Chinetti-Gbaguidi G, Colin S, Staels B. Macrophage subsets in atherosclerosis[J]. Nat Rev Cardiol, 2015, 12(1):10-17.
- [22] Winkels H, Ehinger E, Vassallo M, et al. Atlas of the immune cell repertoire in mouse atherosclerosis defined by single-cell RNA-sequencing and mass cytometry[J]. Circ Res, 2015, 122(12):1675-1688.
- [23] Zernecke A. Dendritic cells in atherosclerosis: evidence in mice and humans[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015, 35(4):763-770.
- [24] Weber C, Meiler S, Döring Y, et al. CCL17-expressing dendritic cells drive atherosclerosis by restraining regulatory T cell homeostasis in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(7):2898-2910.
- [25] Choi JH, Cheong C, Dandamudi DB, et al. Flt3 signaling-dependent dendritic cells protect against atherosclerosis[J]. Immunity, 2011, 35(5):819-831.
- [26] Misharin AV, Morales-Nebreda L, Reyfman PA, et al. Monocyte-derived alveolar macrophages drive lung fibrosis and persist in the lung over the life span[J]. J Exp Med, 2017, 214(8):2387-2404.
- [27] Huang LH, Zinselmeyer BH, Chang CH, et al. Interleukin-17 drives interstitial entrapment of tissue lipoproteins in experimental psoriasis[J]. Cell Metab, 2019, 29(2):475-487.
- [28] Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis[J]. Circ Res, 2016, 118(4):692-702.
- [29] Nus M, Mallat Z. Immune-mediated mechanisms of atherosclerosis and implications for the clinic[J]. Expert Rev Clin Immunol, 2016, 12(11):1217-1237.
- [30] Libby P, Hansson GK. Inflammation and immunity in diseases of the arterial tree: players and layers[J]. Circ Res, 2015, 116(2):307-311.
- [31] Ketelhuth DF, Hansson GK. Adaptive response of T and B cells in atherosclerosis[J]. Circ Res, 2016, 118(4):668-678.
- [32] Schloss MJ, Swirski FK, Nahrendorf M. Modifiable cardiovascular risk, hematopoiesis, and innate immunity[J]. Circ Res, 2020, 126(9):1242-1259.
- [33] Kovanen PT. Mast cells as potential accelerators of human atherosclerosis—from early to late lesions[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18):4479.
- [34] Winkels H, Ley K. Natural killer cells at ease: atherosclerosis is not affected by genetic depletion or hyperactivation of natural killer cells[J]. Circ Res, 2018, 122(1):6-7.
- [35] VanderLaan PA, Reardon CA, Cabana VG, et al. Invariant natural killer T-cells and total CD1d restricted cells differentially influence lipid metabolism and atherosclerosis in low density receptor deficient mice[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(18):4566.
- [36] Getz GS, Reardon CA. Natural killer T cells in atherosclerosis[J]. Nat Rev Cardiol, 2017, 14(5):304-314.
- [37] Ridker PM, Everett BM, Pradhan A, et al. Low-dose methotrexate for the prevention of atherosclerotic events[J]. N Engl J Med, 2019, 380(8):752-762.
- [38] Leuschner F, Dutta P, Gorbakov R, et al. Therapeutic siRNA silencing in inflammatory monocytes in mice[J]. Nat Biotechnol, 2011, 29(11):1005-1010.
- [39] Tang J, Lobatto ME, Hassing L, et al. Inhibiting macrophage proliferation suppresses atherosclerotic plaque inflammation[J]. Sci Adv, 2015, 1(3):e1400223.

收稿日期:2020-04-23