



心血管疾病中的巨噬细胞

张瀚文^{1,2,3}, 贵晶晶^{1,2,3}, 朱旭冬^{1,2,3}, 陈琪^{1,2,3*}

1. 南京医科大学基础医学院病理生理学系, 南京 211166;

2. 江苏省心血管病转化医学协同创新中心, 南京 211166;

3. 江苏省心血管病靶向干预研究重点实验室, 南京 211166

* 联系人, E-mail: qichen@njmu.edu.cn

收稿日期: 2021-09-03; 接受日期: 2021-10-21; 网络版发表日期: 2022-04-29

国家自然科学基金(批准号: 91339202, 81230070, 81670418, 91739304, 81830011, 82030012)资助

摘要 在心血管疾病中, 慢性低烈度的炎症反应贯穿始终, 参与疾病的发生发展, 影响疾病的转归. 精准调控炎症反应已成为干预心血管疾病的一个新型策略. 在参与心血管炎症反应的免疫细胞中, 巨噬细胞在机体发育中最早出现, 在炎症病灶中数量最多, 作用强大, 主导了炎症反应的趋向. 人类认识巨噬细胞已有一百多年的历史, 但其在心血管稳态维持和疾病中的作用仍未完全阐明, 这在很大程度上归因于巨噬细胞的异质性及其广泛的组织器官驻留性. 巨噬细胞不仅在功能上时常表现出截然不同的特性, 例如在疾病微环境中, 巨噬细胞既可发挥炎症促进作用, 也可扮演组织修复的角色, 而且在同一疾病的不同阶段特性不一, 复杂多元. 因此, 深入解析心血管炎症中巨噬细胞的多样性对理解心血管疾病的发病机制, 寻找新的疾病干预靶点具有重要意义. 本文在介绍巨噬细胞生物学特性的基础上, 针对心血管稳态和疾病进程中巨噬细胞的作用进行综述, 为深刻认识心血管疾病的炎症机制, 明确其未来发展方向提供帮助.

关键词 动脉粥样硬化, 心脏病理性重构, 巨噬细胞, 生物多样性

心血管疾病是世界范围内引起成人死亡的头号杀手, 对其发病机制的探索一直是现代医学研究中的前沿课题. 在心血管疾病特别是动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)和心脏病理性重构的发生发展过程中, 慢性炎症反应如影随行, 贯穿始终, 决定了疾病的进程和结局, 发挥关键的作用. 解析心血管炎症的演变规律, 对于深入洞察心血管疾病的发生机制, 建立新的干预策略具有重要的意义.

巨噬细胞是机体发育过程中最早出现的免疫细胞, 也是体内最多见、变化多样的一种白细胞, 其功能

广泛, 包括参与器官发育, 帮助维持内稳态以及调控炎症反应. 本文将综述心血管稳态和炎症中有关巨噬细胞作用研究的最新进展, 深入探讨心血管疾病的炎症学发病机制, 为解码心血管疾病的成因增添助力.

1 巨噬细胞生物学

1.1 巨噬细胞的来源

van Furth等人^[1]于1972年提出, 成年生物体中的巨噬细胞由单核细胞补充而来, 形成单核巨噬细胞系

引用格式: 张瀚文, 贵晶晶, 朱旭冬, 等. 心血管疾病中的巨噬细胞. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 709–731

Zhang H W, Ben J J, Zhu X D, et al. Macrophages in cardiovascular diseases (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 709–731, doi: [10.1360/SSV-2021-0245](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0245)

统。后来的人体研究发现, 在造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)发育完成之前, 巨噬细胞即存在于胚胎卵黄囊中, 说明成人造血干细胞虽然是单核巨噬细胞发育的主要来源, 但并非唯一途径。

目前认为, 巨噬细胞的发育存在由C-X3-C基序趋化因子受体(C-X3-C motif chemokine receptor 1, CX3CR1)介导的三波浪潮^[2]。“第一次发育浪潮”发生于小鼠胚胎期(embryonic stage, E)7.5天的卵黄囊中胚层, 由血岛中卵黄囊原始祖细胞CSF-1R⁺红髓前体细胞(erythro-myeloid progenitor, EMP)直接跳过单核细胞阶段, 形成第一种卵黄囊巨噬细胞, 并在E10.5形成小胶质细胞, 同时少量参与其他组织巨噬细胞的形成^[3]。“第二次发育浪潮”出现在E8.5, 由造血内皮细胞形成的晚期Myb⁺ EMP一方面直接形成第二种卵黄囊巨噬细胞, 并在E10.5定殖到各组织中形成巨噬细胞^[4], 另一方面则在E9.5~12.5通过血液循环定殖于胚胎肝脏, 形成第一种胚肝单核细胞, 并于E14.5参与形成除小胶质细胞以外的其他组织巨噬细胞^[5]。“第三次发育浪潮”主要发生于E10.5胚胎主动脉-性腺-中肾, 所形成的C-Kit⁺Sca-1⁺造血干细胞通过血液循环迁移至胚胎肝脏, 形成第二种胚肝单核细胞, 并在E18.5成为组织原位巨噬细胞的主要来源。同时其在E15向骨髓定殖, 帮助其建立造血能力, 形成的骨髓源性单核细胞在E17.5至成年后通过循环系统向各组织输送巨噬细胞^[6]。

根据发育学的不同, 组织巨噬细胞可分为卵黄囊、胚胎肝脏或骨髓三种来源类型的细胞, 它们在不同组织中的分布存在较大差异(图1)。例如, 小胶质细胞起源于早期CSF-1R⁺ EMP衍变的第一种卵黄囊巨噬细胞, 于E10.5受Sall1, Sall3和Meis3等转录因子调控, 通过自身增殖保持相对的独立性, 并因为血脑屏障的阻隔免遭胚肝或骨髓源性巨噬细胞的替换^[7]。在肺、表皮、肝脏、肾脏等组织不仅有卵黄囊巨噬细胞的后代, 胚肝单核细胞来源的巨噬细胞构成主要成分。胚肝单核细胞又由两部分组成, 一部分由第二种卵黄囊巨噬细胞在E12.5的胚胎肝脏形成, 并于E14.5向各组织定殖分化; 但是大部分的胚肝单核细胞来源于E10.5的主动脉-性腺-中肾中的C-Kit⁺Sca-1⁺造血干细胞, 它们在E12.5迁移至胚肝, 并在E18.5向各组织定殖。在不同转录因子的作用下, 肺泡巨噬细胞(Ppary)^[8]、朗格汉斯细胞(Arh, Runx3)^[9]、库佛氏细胞(Id1, Id3, Nr1h3,

Spic)^[10]、肾脏原位巨噬细胞(Irf9, Nfat)^[12]等组织原位巨噬细胞相继形成(表1)。这类源于胚肝的组织巨噬细胞即使在出生后和成年后, 在稳态情况下也不会被骨髓源性单核细胞完全取代, 从而有利于营造相对稳定的组织免疫微环境。在第三类如肠道和真皮组织中, 卵黄囊和胚肝来源的巨噬细胞在小鼠出生后的两个月内即被骨髓源性单核细胞迅速取代, 导致成年后的组织巨噬细胞全部来自于骨髓单核细胞。已知心脏和胰腺中组织巨噬细胞的来源最为复杂。虽然卵黄囊源性巨噬细胞在出生前即被胚肝单核细胞所替代, 但是骨髓源性单核细胞对胚肝单核细胞的替代过程却相对缓慢, 在小鼠出生2个月后仍未完成。而血管组织巨噬细胞则更加类似于真皮组织, 在出生后就被骨髓来源单核细胞迅速取代^[6,11,12]。尽管组织巨噬细胞的发育学来源已经得到广泛认可, 但是在心血管系统中相同来源的巨噬细胞依然存在异质性, 这是今后需要解决的重要问题。

成体内的组织巨噬细胞通过增殖维持自我更新^[13]。腹膜定居巨噬细胞和小胶质细胞是最早被确认为具有增殖能力的组织巨噬细胞。谱系示踪、异体共生以及骨髓移植是鉴定细胞来源的常用方法。已经发现除了肠道以外, 稳态的组织巨噬细胞均具有自我更新的能力, 它们不受成体状态的影响, 也不依赖于骨髓单核细胞的补充。即使在炎症微环境中, 虽然骨髓造血干细胞能够快速分化出大量巨噬细胞向病变组织聚集浸润, 但原位的巨噬细胞依然保持一定的增殖能力, 并在炎症过后恢复到自我增殖的状态^[14]。转录因子MafB和c-Maf在调控巨噬细胞增殖中发挥关键作用。当机体需要补充巨噬细胞数量时, 通过暂时下调MafB和c-Maf转录促进与细胞自我更新相关的基因如Klf, c-Myc, CCND等表达。有趣的是, 巨噬细胞表面的一些模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)在启动自我更新中也发挥重要作用, 如A1类清道夫受体(scavenger receptor A1, SR-A1)/c-Myc反应轴可介导心脏组织巨噬细胞增殖^[15]。巨噬细胞自我更新机制的阐明有助于深入理解相关疾病的发生机制, 它可能是改变疾病进程的重要力量。

组织巨噬细胞的维持还受单核细胞向巨噬细胞分化的影响, 但是这一过程非常缓慢。在肺纤维化模型中, 招募的单核细胞可转化为肺泡巨噬细胞, 从而使巨噬细胞跃过向促炎型分化的中间步骤, 直接转化为

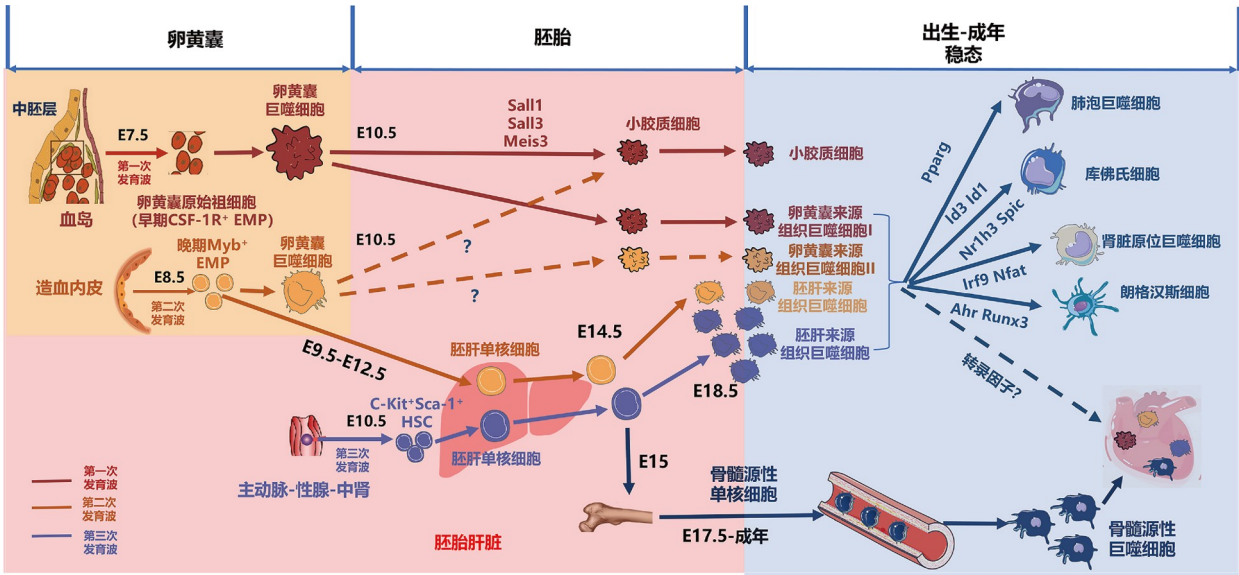


图 1 巨噬细胞的发育学来源。组织巨噬细胞有卵黄囊、胚胎肝脏和骨髓三种来源。“第一次发育浪潮”发生于胚胎期(E)7.5天的卵黄囊,由血岛中CSF-1R⁺ EMP形成第一种卵黄囊巨噬细胞,并定殖于全身组织。“第二次发育浪潮”出现在E8.5天,由Myb⁺ EMP直接形成第二种卵黄囊巨噬细胞,并定殖到各器官组织;同时Myb⁺ EMP通过血液循环定殖于胚胎肝脏,形成第一种胚胎肝单核细胞,参与形成除小胶质细胞以外的所有组织巨噬细胞。“第三次发育浪潮”主要发生于E10.5胚胎主动脉-性腺-中肾,所形成的C-Kit⁺Sca-1⁺造血干细胞迁移至胚胎肝脏,形成第二种胚胎肝单核细胞,是组织原位巨噬细胞的主要来源。它们还在E15向骨髓定殖,形成的骨髓源性单核细胞在E17.5至成年后通过循环系统向各组织输送巨噬细胞

Figure 1 Developmental origins of macrophages. Tissue-resident macrophages originate mainly from Yolk-sac (YS), fetal liver (FL), and bone marrow. The first developmental wave occurs at the posterior plate mesoderm in the extra-embryonic YS blood islands at E7.5. These CSF-1R⁺ EMP give rise to the original YS macrophages and colonize in all tissues. The second wave arises from the hemogenic endothelium between E8.0 and E8.5 in the YS. These Myb⁺ EMPs are directly differentiated to the second type of YS macrophages and colonize in various tissues at E10.5. At the same time, they also colonize the embryonic liver through blood circulation at E9.5–12.5 to form the first type of embryonic liver monocytes. They participate in the formation of all tissue macrophages except for microglia at E14.5. The third wave occurs mainly in the embryonic aorta-gonads-mesonephros at E10.5. They form C-Kit⁺Sca-1⁺ hematopoietic stem cells and then migrate to the embryonic liver to generate the subsequent embryonic liver monocytes as the primary source of tissue-resident macrophages at E18.5. Embryonic liver monocytes also colonize in the bone marrow at E15. These bone marrow-derived monocytes constitute the prominent macrophages of various tissues via circulation since E17.5 to adulthood

表 1 各组织巨噬细胞的关键诱导因子、标记分子及转录因子

Table 1 Characteristics of tissue-resident macrophages in healthy tissues

组织	细胞名称	诱导因子	标记分子	转录因子
脑	小胶质细胞	Csf1, IL-34	F4/80 ^{int} CD11b ⁺	Sall1
肝脏	库佛氏细胞	Csf1	F4/80 ⁺ Clec4E ⁺	LXRα
肺	肺泡巨噬细胞	Csf2	CD11c ⁺ SiglecF ⁺ CD11b ^{low}	Pparg
骨	破骨细胞	Csf1, RANKL	TRAP ⁺ CD61 ⁺ Cathepsin K ⁺	NFATc1
脾脏	红核巨噬细胞	Csf1	F4/80 ⁺ CD11b ^{low}	Spi-C
腹腔	腹腔巨噬细胞	Csf1	F4/80 ⁺ CD11b ⁺ ICA ⁺	GATA6

具有修复功能的组织巨噬细胞。然而这一过程如此缓慢,甚至都无法在急性炎症中被察觉到,也未见有明显的炎症缓解作用^[16]。这一结果提示,人为调控缩短单核细胞向促炎型分化可能减缓疾病中炎症反应的进程。例如,腹膜中CD11b⁺巨噬细胞在出生后被单核细

胞源性巨噬细胞置换,但由于置换速度缓慢,其依然具有原位巨噬细胞的部分生物学特性和独特的基因表达标识。值得深思的是,组织原位巨噬细胞替换缓慢的器官往往伴随较慢的血液循环速度,如腹腔、脑组织等,而心血管系统由于血液循环速率较快,其原位巨噬细

胞在出生后被迅速替换。组织原位巨噬细胞的异质性在器官之间表现尤为明显。人脑组织中小胶质细胞可依据基因表达差异被分为四个亚群, 脱髓鞘和神经退行性疾病诱发的环境依赖型小胶质细胞具有独特的分子标记和不同的细胞动力学特点^[17]。但是, 它们的替换速率差异以及在急性炎症微环境中的组织巨噬细胞的多样性及其调控机制尚未得到明确阐述, 有待进一步研究。

1.2 心脏巨噬细胞

稳态心脏中组织巨噬细胞约占间质细胞的7%, 分布于整个心脏, 与血管相邻, 富集于传导系统, 对心脏的发育及内稳态维持具有重要的作用^[18,19]。早期应用异体共生技术将两个成年动物微血管系统连接, 在实现共享循环后发现, 心脏组织中的巨噬细胞可分为内源性和血源性两种来源^[11,20]。在稳态心脏中, 血源性单核细胞对内源性巨噬细胞的数量维持几乎无明显作用。在疾病条件下, 内源性巨噬细胞可迅速被血源性巨噬细胞所替代, 其功能也发生明显变化。应用谱系示踪技术证明, 小鼠发生心肌梗死(myocardial infarction, MI)后心脏原位巨噬细胞的绝对数量在两天内下降60%, 随后被促炎型C-C基序趋化因子受体2(C-C motif chemokine receptor 2, CCR2⁺)单核细胞源性巨噬细胞替代, 并维持至梗死后28天, 从而限制了原位巨噬细胞的炎症修复和心脏保护功能^[21]。在扩张性心肌病中, 小鼠心脏原位巨噬细胞在疾病早期数量迅速减少, 被大量血源性促炎型巨噬细胞取代, 但在疾病后期则数量逐渐恢复, 发挥组织修复作用^[15]。心脏原位巨噬细胞有卵黄囊和胚肝两种来源, 并表现出迥异的功能特性。新生7天内小鼠的心脏组织巨噬细胞主要来源于胚胎卵黄囊, 介导心脏组织修复或再生^[22,23]。以后上述巨噬细胞被胚肝来源的巨噬细胞所替代, 导致心脏修复功能逐渐消失。在妊娠第9周胎儿心脏中已经观察到类似的卵黄囊巨噬细胞祖细胞群, 说明小鼠和人之间巨噬细胞的来源存在潜在的相似性^[24]。显然, 同样是胚胎来源的心脏原位巨噬细胞可能具有不同的功能特性, 精细区分其遗传谱系可能是今后的努力方向。

小鼠成年后胚源性组织巨噬细胞被骨髓来源的单核巨噬细胞(Mertk, F4/80, CD68等高表达)逐渐取代, 表现自我增殖、免疫监视、促血管新生等特性。单核细胞也可分为两种类型: 来自血液骨髓前体细胞的经

典单核细胞(Ly6c⁺)和非经典单核细胞(Ly6c⁻)^[25,26]。在人类循环血液中, 经典单核细胞(Ly6c⁺)是最主要的构成成分, 约占95%。在小鼠中, 经典单核细胞(Ly6c⁺)与非经典单核细胞(Ly6c⁻)的比例更加均衡, 前者约占正常血液单核细胞池的50%~60%。同位素标记示踪试验证明, 在循环中经典单核细胞的半衰期约为1天, 当其进入心脏组织后, 可分化成熟为非经典的单核细胞, 其半衰期延长至7天^[27]。在功能上, 经典的单核细胞通常与组织损伤和炎症相关, 表现出更多的炎症促进作用^[28]。而非经典的单核细胞则又被称为巡逻单核细胞, 主要分布在血管内皮细胞中间, 发挥监视血管健康和组织稳态的作用^[29-31]。

总之, “心脏组织巨噬细胞”并非单一发育学来源, 其驻留特性的获得与其在微环境中形成特异性基因表达谱以及独特的功能有关。在心脏组织中, 相同的刺激因素可能引起不同类型巨噬细胞的多样化反应。例如, 在心衰的心脏中, 成纤维细胞分泌的白细胞介素-17A(interleukin 17A, IL-17A)诱导Ly6C^{high}单核细胞上MerTK脱落, 加速其向促炎型巨噬细胞分化。相悖的是, IL-17A可以刺激Ly6C^{low}单核细胞分化为组织修复型巨噬细胞, 抑制心脏炎症^[32]。上述研究结果提示, 成年小鼠心脏巨噬细胞的调控仍有一些重要的问题尚需解决。例如, 巨噬细胞的极性分化究竟是依赖于不同类型单核细胞的分化, 即在发育时就被编码, 抑或是由局部微环境诱导分化之; 心脏中不同来源巨噬细胞的替代或融合过程极其复杂, 其功能差异有待阐明; 精准绘制不同来源心脏巨噬细胞代谢重编程的特性对于深刻理解心脏巨噬细胞发育和功能的异质性至关重要。

1.3 血管组织巨噬细胞

稳态时主动脉原位巨噬细胞主要分布于外膜。在小鼠出生时, 约60%的动脉巨噬细胞来源于胚胎卵黄囊的CX3CR1⁺ EMP。在出生后的2周内, 它们被Flt3依赖性HSC来源的循环单核细胞快速取代。到成年期, 卵黄囊来源的巨噬细胞仅保留20%左右。成年小鼠稳态血管壁中原位巨噬细胞主要依赖于巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)和C-X3-C基序趋化因子配体1(C-X3-C motif chemokine ligand 1, CX3CL1)介导增殖, 维持数量。循环单核细胞的补充仅占17%。有趣的是, 在血管壁中卵黄囊和骨髓来源的巨噬细胞都有相似自我更新能力, 标记物为

Lyve-1, 与炎性巨噬细胞相比吞噬能力较低^[33]. 在血管病变时, 大量循环单核细胞浸润至血管壁, 成为组织巨噬细胞的主要来源.

2 巨噬细胞功能特性

2.1 炎症

炎症是一个进化上保守的机体反应, 主要通过激活免疫细胞和非免疫细胞, 清除感染病原体, 保护宿主并促进组织损伤修复^[34]. 心血管组织中的炎症反应本质上也是一种代谢性炎症, 系营养和能量过剩等原因引起代谢紊乱, 导致形成一种慢性低烈度的炎症反应. 尽管急性与慢性低烈度炎症反应在诱发因素、持续时间、反应强度以及结局各有不同, 但两者之间拥有多种类似的免疫细胞、信号通路和效应分子^[35]. 众多研究结果发现, 单核巨噬细胞的招募和炎性活化是炎症相关疾病的重要环节. 巨噬细胞广泛存在于不同类型组织, 通过释放多种炎性细胞因子等机制参与炎症反应, 是维持机体免疫系统内稳态平衡的主要细胞^[36].

巨噬细胞具有高度可塑性, 在受到不同微环境的影响后可分化为多种表型, 包括促炎型(经典活化型)和组织修复型(替代活化型)巨噬细胞^[37]. 促炎型巨噬细胞可由脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)或干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)刺激分化, 释放肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α), IL-6, C-C趋化因子配体2 (C-C chemokine ligand 2, CCL2)等促炎细胞因子和趋化因子, 参与炎症的发生. 组织修复型巨噬细胞具有促进炎症消退和免疫调节作用, 由IL-4或IL-13刺激极化而来, 产生IL-10等抗炎细胞因子, 参与炎症消退和组织重塑过程^[37,38]. 巨噬细胞极化对多种疾病的发病进程具有重要影响. 其中促炎型巨噬细胞有强大的细胞毒性, 参与多种病原体的清除, 但过量的促炎型巨噬细胞聚集于局部, 又会造成机体损伤, 并加重炎症反应. 组织修复型巨噬细胞占主导地位时, 则促进组织重塑, 伤口愈合, 细胞增殖, 损伤修复, 从而消除炎症反应, 恢复机体内稳态平衡^[39]. 值得一提的是, 巨噬细胞极化概念的提出主要依据离体试验的结果, 巨噬细胞在机体内炎症中的作用十分复杂, 不能简单绝对地用促炎和抗炎作用予以定性, 需要用更加精细的方法从多维度深入研究.

2.2 吞噬

巨噬细胞是机体内重要的吞噬细胞, 能够识别和吞噬多种物质, 包括脂蛋白、凋亡细胞、血小板和红细胞等, 其中对脂蛋白和凋亡细胞的吞噬在心血管疾病的发病学中具有重要意义.

(1) 吞噬脂蛋白. 巨噬细胞摄取脂蛋白后形成泡沫细胞, 这被认为是AS斑块形成的早期标志性事件. 正常情况下巨噬细胞通过低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor, LDLR)摄取低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL). 然而在泡沫细胞形成过程中, 细胞内胆固醇水平升高可负反馈抑制LDLR表达^[40]. 因此, 泡沫细胞摄取天然LDL主要通过胞饮作用(pino-cytosis). 胞饮又称为液相内吞, 是细胞吞噬细胞外液及其溶质的一个过程, 主要通过肌动蛋白依赖性的方式实现^[41]. 与天然LDL不同, 修饰后的LDL主要通过受体介导的方式内吞进入巨噬细胞, 是泡沫细胞形成的主要原因. 清道夫受体作为一类模式识别受体主要表达于巨噬细胞表面, 能够识别和吞噬修饰脂蛋白, 与AS的发生发展关系密切^[42,43]. 清道夫受体家族成员主要包括SR-A1, 含胶原样结构的巨噬细胞受体(macrophage receptor with collagenous structure, MARCO), CD36, SR-B1, 凝集素样氧化LDL受体(lectin-like ox-LDL receptor-1, LOX1)和内皮清道夫受体1(scavenger receptor associated with endothelial cells I, SREC1)等^[44]. 研究证实, 70%的氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)是由CD36和LOX1识别内吞^[45,46], 而轻度氧化低密度脂蛋白(minimally modified LDL, mmLDL)主要由LDL受体而非清道夫受体识别^[47]. 与oxLDL不同, 大约80%的乙酰化低密度脂蛋白(acetylated LDL, acLDL)是通过SR-A1介导内吞^[48]. 本课题组^[49]研究结果证实, SR-A1通过网格蛋白依赖的内吞路径内吞acLDL. 聚合低密度脂蛋白(aggregated LDL, agLDL)则是通过诱导细胞膜内陷, 将agLDL传递到一个表面相互连接的凹陷中进入胞内, 这一过程称之为胞噬作用(phagocytosis)^[50]. 被摄取进入巨噬细胞的各种脂蛋白可被传递至溶酶体, 导致脂蛋白中的胆固醇酯被水解成为游离胆固醇和脂肪酸. 游离胆固醇再被转运到内质网重新酯化成为胆固醇脂肪酸酯, 最终形成脂滴, 使巨噬细胞转变成成为泡沫细胞^[51].

(2) 吞噬凋亡细胞. 巨噬细胞清除凋亡细胞的过程称之为胞葬(efferocytosis)^[51]. 在许多无法缓解的慢性炎症性疾病中, 巨噬细胞胞葬过程发生障碍, 导致大量死亡细胞积聚在局部. 积聚的大量死亡细胞又会导致局部组织坏死、自身免疫反应以及病理性炎症^[52,53]. 清除凋亡细胞的过程需要巨噬细胞表达识别“凋亡细胞相关配体”的受体, 经过细胞骨架重组, 结合凋亡细胞并诱导吞噬体-溶酶体融合, 从而降解凋亡细胞^[54]. 在摄取凋亡细胞的过程中, 巨噬细胞抑制促炎因子的产生(例如TNF α , IL-1和IL-6等), 促进抗炎因子和组织修复因子的生成(例如IL-10和转化生长因子(transforming growth factor, TGF- β)等). 当胞葬功能障碍时, 巨噬细胞无法实现抗炎及促损伤修复的功能^[55].

胞葬过程无论在形态上还是机制上都与经典的吞噬过程有所区别. 胞葬的过程包括发现凋亡细胞、结合凋亡细胞、凋亡细胞内化和凋亡细胞降解等步骤. 在第一阶段, 凋亡细胞通过释放趋化因子(例如CX3CL1, 1-磷酸鞘氨醇(sphingosine 1-phosphate, S1P)和溶血磷脂酰胆碱(lyso-phosphatidylcholine, LPC)等)快速诱导巨噬细胞动员^[56-58]. 随后, 巨噬细胞通过细胞表面受体直接结合凋亡细胞或者通过桥接分子间接与凋亡细胞表面结合. 能够直接结合凋亡细胞的受体有Stabilin 1, Stabilin 2, 低密度脂蛋白受体相关蛋白1(low-density lipoprotein receptor related protein 1, LRP1). 通过桥接分子与凋亡细胞结合的受体包括蛋白酪氨酸激酶TYRO3, MERTK, 整合素 $\alpha v \beta 3$ 和 $\alpha v \beta 5$, CD36. 已知最重要的桥接分子是生长阻滞特别蛋白6(growth arrest-specific protein 6, GAS6), 蛋白S和乳脂球表皮生长因子8(milk fat globule-EGF factor 8, MGF-E8)^[59]. 无论直接结合还是间接结合凋亡细胞, 巨噬细胞表面受体都可以触发下游RHO家族或者小GTP酶激活, 介导凋亡细胞的内化^[60]. 最后, 自噬相关蛋白微管相关蛋白轻链3-II(microtubule associated protein 1 light chain 3-II, LC3-II)与吞噬体表面脂质相结合, 启动“LC3相关吞噬”, LC3相关吞噬可以促进吞噬溶酶体组装和酸化, 最终促进凋亡细胞降解^[61].

2.3 心脏巨噬细胞功能

心脏巨噬细胞不仅共享许多典型的巨噬细胞功能, 包括通过微吞饮、吞噬和吐出采集局部微环境和吞噬碎片的能力, 还有一些与细胞来源有关的特殊

功能.

(1) 心脏CCR2⁻巨噬细胞功能. 心脏CCR2⁻巨噬细胞具备一些特殊的功能, 包括介导心肌细胞的电信号传导, 吞噬心肌细胞排出的代谢废物并维持代谢微稳态等. 在小鼠和人类心脏的房室结内, 心脏巨噬细胞通过连接蛋白43(Connexin 43)间隙连接与心肌细胞直接接触, 参与房室传导和电生理维持^[18]. 此外, 体外的巨噬细胞也能够与心肌细胞自发地形成缝隙连接, 并促进电传导. 在体内, 去除心脏巨噬细胞或条件性剔除巨噬细胞中Connexin 43会导致房室结电生理传导受损, 在某些情况下还会引起心脏传导阻滞. 最新的研究还表明, 心肌细胞可将废弃的代谢产物如线粒体、乳酸等物质通过细胞囊泡排出. 原位巨噬细胞通过吞噬囊泡, 可防止代谢废物在心脏中的积聚、炎症小体活化和自噬阻滞, 维持心脏内稳态平衡^[62].

卵黄细胞来源的巨噬细胞也是冠状动脉发育的重要媒介^[63], 它们与心脏发育期间的心外膜、心外膜衍生细胞(冠状间质细胞的前体: 周细胞和平滑肌细胞)以及冠状动脉内皮细胞的发育和成熟密切相关. 巨噬细胞通过释放胰岛素样生长因子(insulin like growth factor 1, IGF)-1和IGF2等细胞因子, 调节冠状动脉重塑. 靶向清除胚胎中巨噬细胞可引起冠状动脉脉管系统的异常重塑和不成熟. 在新生儿心脏和某些物种(如斑马鱼)中, 卵黄囊来源的巨噬细胞还是心脏组织修复的关键因素^[64]. 但是, 成年心脏中该巨噬细胞亚群的功能尚不清楚. 在成年心脏中, 与CCR2⁺MHC-II^{high}巨噬细胞相比, CCR2⁻MHC-II^{low}巨噬细胞和CCR2⁻MHC-II^{high}巨噬细胞的炎性介质、炎性趋化因子和细胞因子的表达能力较低, 可能保留修复表型^[65,66]. 同时, 成年小鼠CCR2⁺MHC-II^{low}和CCR2⁺MHC-II^{high}巨噬细胞也可表达IGF1, 具有促血管生成作用^[63]. 此外, 心脏巨噬细胞的吞噬能力增强可能有助于维持心脏组织内稳态. 迄今为止, 已经观察到来源于原始造血与确定性造血的CCR2⁻巨噬细胞的功能之间没有差异, 仅发现CCR2⁻MHC-II^{high}巨噬细胞具有抗原递呈和激活T细胞反应的能力^[65,66].

(2) 心脏CCR2⁺巨噬细胞的功能. 心脏中CCR2⁺巨噬细胞主要来源于骨髓源性单核细胞, 富集了以核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)途径介导IL-1 β 为代表的促炎基因^[67]. 虽然稳态心脏

CCR2⁺MHC-II^{high}巨噬细胞的确切功能尚未完全阐明,但在心肌缺血-再灌注损伤后观察到相关巨噬细胞可调节中性粒细胞浸润以及促进炎症进程这一现象,提示其激活可能是成人心脏炎症乃至衰竭的一种驱动机制.进一步研究发现,凋亡心肌细胞释放的线粒体DNA可通过Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)9依赖途径激活CCR2⁺MHC-II^{high}巨噬细胞,促进中性粒细胞趋化因子、趋化因子CXCL2和CXCL5的释放^[68].

目前对CCR2⁺MHC-II^{high}巨噬细胞调控单核细胞募集以及个体发育和成熟的共享分子途径尚不清楚.与CCR2⁺MHC-II^{high}巨噬细胞相类似,CCR2⁺MHC-II^{high}巨噬细胞在体外实验中也显示出抗原递呈和T淋巴细胞激活特性,但是它们在心脏组织中的作用尚不完全清楚,应用在体实时示踪技术有望解决这一问题.

3 巨噬细胞活性调控

3.1 巨噬细胞炎症信号通路

细胞内信号通路由受体、信号激酶和效应因子组成.巨噬细胞的炎症信号通路包括:转录因子核因子B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、激活剂蛋白1(activator protein1, AP-1)信号通路、干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF)、低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)、非受体型酪氨酸蛋白激酶/信号转导及转录激活因子(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)、炎症小体(inflammasome)及磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)等^[38].

转录因子NF- κ B/AP-1主要接受Toll样受体家族(TLRs)、肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)和IL-1受体(IL-1 receptor, IL-1R)的信号转入^[69,70].三个受体家族被相应的配体激活后,通过下游的酶联反应,活化转录因子NF- κ B, AP-1和干扰素调节因子(interferon regulatory factor, IRF),调控巨噬细胞活化和极化相关基因的表达^[71,72].TLR4信号通过髓样分化初级应答基因88(myeloid differentiation factor88, MyD88)依赖性和MyD88非依赖性途径激活激酶磷酸化核因子 κ B抑制物(inhibitor of nuclear factor κ -B, I κ -B),I κ -B磷酸化引发NF- κ B的激活,NF- κ B转移至细胞核并通过结合特定的DNA序列促进炎症相关基因的

表达^[73,74].在TLR样受体通路中,TNF受体相关因子(TNF receptor associated factor 6, TRAF6)是重要的信号节点,通过自身寡聚化及泛素化活性影响NF- κ B活性^[75].核转录因子AP-1是Jun和Fos构成的异二聚体.在炎症信号的刺激下,JNK的苏氨酸和酪氨酸双磷酸化位点可优先分别被MKK7和MKK4协同激活.活化的JNK与c-Jun的活性结构域氨基末端结合,引起c-Jun氨基端丝氨酸的磷酸化.c-Jun磷酸化后与c-Fos结合形成异源二聚体,启动炎症相关靶基因的转录^[76].此外,在LPS或dsDNA活化TLR4,TLR3等受体过程中,引起非MyD88依赖通路介导TBK1磷酸化,并进一步引起IRF3磷酸化、二聚化以及入核等活化过程,促进IFN以及炎症基因的表达^[72,77].

JAK/STAT信号通路通过调节STAT1和STAT3/STAT6之间的平衡影响巨噬细胞的极化和活性改变^[78].当细胞因子与细胞表面受体结合后引起JAKs磷酸化,活化的JAKs结合STATs的SH2结构域,促进STATs磷酸化,并以同源或异源二聚体形式入核,启动靶基因的转录^[79].干扰素 γ 与其受体结合后,可促进JAK1与JAK2形成异源二聚体和磷酸化,并进一步诱导STAT1磷酸化和二聚化,入核后启动下游促炎靶基因表达,驱使巨噬细胞向促炎型极化,引起炎症反应^[80].另一方面,IL-4与其受体IL4受体(interleukin 4 receptor, IL-4R)结合并引起STAT6形成同源二聚体,激活的STAT6促进巨噬细胞向组织修复型极化^[81].

HIF也是调控巨噬细胞极化的重要转录因子,包括HIF-1, HIF-2和HIF-3等成员,它们均含有 α 亚基和 β 亚基.正常情况下,HIF-1被脯氨酸羟化酶(photoreceptor dehydrogenase, PDH)快速降解;缺氧时,PDH活性受到抑制,未被降解的HIF-1 α 与HIF-1 β 结合形成异源二聚体,入核后与缺氧反应原件(hypoxic response element, HRE)结合,启动炎症相关基因表达^[82].在促炎型巨噬细胞中,无氧糖酵解增强,三羧酸循环中间产物琥珀酸堆积,琥珀酸可促进HIF-1 α 表达,使炎症细胞因子分泌增加^[83].

炎症小体是调控巨噬细胞炎症反应和协调宿主防御的重要信号平台,其中NLRP3是研究最为广泛的炎症小体^[84,85].NLRP3炎症小体主要由感受器蛋白NLRP3、衔接蛋白ASC(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD)以及效应器蛋白pro-caspase-1三部分组装而成.NLRP3由多种损伤或病原相

关分子启动活化, 主要过程为: (i) 启动阶段. 各种危险信号激活NF- κ B通路后, 促进前体蛋白如NLRP3, pro-IL-1 β 和pro-IL-18等表达. (ii) 组装阶段. NLRP3与ASC, pro-caspase-1结合, 完成NLRP3炎症小体的组装和pro-caspase-1自我剪接和活化, pro-caspase-1的完全活化可剪切pro-IL-1 β 和pro-IL-18, 使之成为成熟的IL-1 β 和IL-18, 参与巨噬细胞炎症反应^[86,87]. 另外, 活化的caspase-1可剪切消皮素D(gasdermin D, GSDMD), GSDMD 释放出有打孔特性的N端结构域, 在质膜上形成微孔可改变细胞内外渗透压平衡, 导致细胞破裂, 触发细胞焦亡. 细胞焦亡时有大量的细胞炎症介质等内容物释放, 激活并放大巨噬细胞炎症反应, 加重细胞和组织损伤^[88,89].

巨噬细胞炎症反应不仅受细胞表面受体偶联的信号通路的调控, 还受核受体超家族的介导, 如糖皮质激素受体、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ)和肝X受体(liver X receptors, LXR), 它们均可直接或间接调控NF- κ B等转录因子的活性, 影响巨噬细胞炎症反应^[54]. PI3K/Akt信号通路促进巨噬细胞生存、增殖和迁移, 也与巨噬细胞极化相关联^[90,91]. TLR4和其他病原体识别受体、细胞因子和趋化因子以及Fc受体均能激活PI3K/Akt途径. 激活的PI3K I 型磷酸化磷脂酰肌醇4,5-二磷酸(phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP2)在质膜上生成磷脂酰肌醇3,4,5-三磷酸(phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate, PIP3), PIP3进一步激活Akt和雷帕霉素复合物(mechanistic target of rapamycin complex, mTORC2)的机制靶点, 促进mTORC2激活Akt^[92]. PI3K/Akt通路的激活具有抗炎作用, 是巨噬细胞中TLR和NF- κ B信号通路的负性调节器. PI3K或Akt激酶的激活或过表达能够钝化巨噬细胞对LPS的反应性, 抑制TLR激活细胞中的PI3K信号可增强NF- κ B的活性, 促进诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达, 促进炎症反应^[90]. 因此, 抑制巨噬细胞中Akt活性能够增强炎症反应, PI3K和/或Akt活化则有利于拮抗炎症反应.

3.2 巨噬细胞的信号感知

巨噬细胞主要通过损伤相关分子模式(danger-associated molecular patterns, DAMPs)和病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)来

感知外界信号的刺激^[93]. DAMPs也称为警报蛋白, 来源于受到应激或者损伤的细胞释放的内源性分子, 在感染或者无菌性炎症的情况下大量释放, 包括ATP、腺苷和胆固醇晶体等, 激活固有免疫细胞. PAMPs则是指可以激活固有免疫的保守微生物结构, 如病毒、细菌、真菌和寄生虫等^[94]. 这些DAMPs和PAMPs能够激活巨噬细胞的PRRs. 目前已经鉴定出至少5个不同的PRR家族, 即TLR, C型凝集素受体(如Dectin 1-2), NOD样受体, RIG-I样受体和AIM2样受体. PAMPs和DAMPs结合巨噬细胞上的PRRs后, 激活受体偶联的信号通路, 产生并分泌细胞因子和趋化因子, 激活固有免疫反应.

在AS斑块部位, 巨噬细胞直接摄取胆固醇晶体, 诱导溶酶体不稳定并释放蛋白酶或者活性氧(reactive oxidative stress, ROS), 促发NLRP3炎症小体的激活, 导致IL-1 β 表达和分泌^[95]. CD36能够摄取oxLDL, 在巨噬细胞内部合成胆固醇晶体, 同样能够激活NLRP3炎症小体^[96]. oxLDL还可激活清道夫受体和Toll样受体家族, 其受体识别性的差异源于自身不同的氧化程度. 例如, mmLDL可被CD14-TLR4-MD2识别, 引起骨架蛋白重分布和炎症因子产生^[97]. oxLDL可被CD36识别, 借助TLR4和TLR6异源二聚体激活NF- κ B信号途径, 释放趋化因子^[95]. 氧化磷脂和饱和脂肪酸可激活CD36和TLR2, 促进巨噬细胞凋亡^[98].

肥胖的脂肪组织释放大量肥胖相关损伤信号(obesity-related danger signals), 斑块ROS、溶酶体、游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)等, 同样可以经由巨噬细胞PRRs介导, 促进NLRP3炎症小体的激活^[99]. 研究结果发现, 肥胖时脂肪组织中LPC含量增加, 它被SR-A1识别, 促进巨噬细胞向修复型转换, 减缓炎症反应, 拮抗胰岛素抵抗的发生^[100]. 缺氧同样是肥胖时激活脂肪组织巨噬细胞的重要因素, HIF1 α 依赖和非依赖的机制驱使巨噬细胞向促炎型转化^[101]. 在伴有高浓度FFA的情况下, 缺氧能够显著增强巨噬细胞炎症反应, 促进炎症因子TNF α , IL-1 β 和IL-6的释放, 形成胰岛素抵抗^[102].

3.3 巨噬细胞效应物

激活的巨噬细胞产生多种活性分子作用于靶向组织, 包括心脏、血管和脂肪组织等, 影响疾病的进程. 在炎症反应早期, 循环中Ly6c^{hi}单核细胞分化为促炎型

巨噬细胞, 分泌大量蛋白酶、活性氧、趋化因子(CCL2, CCL7和CXCL12等)和炎症因子(TNF α , IL-1 β 和IL-6等), 促进局部和全身炎症反应, 造成组织损伤和胰岛素抵抗^[35,103]. 在炎症反应晚期, Ly6c^{low}单核细胞分化为修复型巨噬细胞, 大量分泌TGF β 、血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor, VEGF-A)和IL-10等因子, 抑制炎症反应, 促进组织修复. TGF β 和IL-10还能诱导胶原产生, VEGF-A可以促进血管新生, 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP)则可共同调控细胞外基质含量^[104,105].

除了经典的趋化因子和炎症因子以外, 脂肪组织巨噬细胞还能分泌一系列脂肪因子参与调控机体代谢, 包括脂联素和VEGF-B等. 脂联素在增强胰岛素敏感性的同时还有抗炎作用^[106], VEGF-B则促进血管内皮细胞摄取FFA, 损伤内皮依赖性舒张功能, 参与肥胖性高血压的形成^[107]. 肥胖时, 脂肪组织巨噬细胞还可分泌富含MiR155的外泌体, 参与胰岛素抵抗^[108].

3.4 巨噬细胞的免疫代谢调节

细胞免疫代谢重编程是引起巨噬细胞活性改变的代谢基础^[109]. 巨噬细胞代谢重编程涉及糖酵解、三羧酸(tricarboxylic acid, TCA)循环、脂肪酸和氨基酸代谢, 它们的调控失衡与炎症反应密切相关, 彼此间存在复杂的相互作用.

促炎型巨噬细胞的代谢以糖酵解代谢增强和线粒体氧化磷酸化的破碎为主要特征^[110]. 缺氧等因素可抑制脯氨酰羟化酶(prolyl hydroxylase, PHD)和蛋白酶体降解, 进而激活HIF-1 α , 在葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter 1, GLUT1)的介导下, 促进糖酵解^[111]. 乳酸脱氢酶2(pyruvate kinase M2, PKM2)具有促进缺氧细胞高度依赖糖酵解的效应(Warburg效应), 产生大量ROS; 同时PKM2能进入细胞核, 与HIF-1 α 共同作用促进IL-1 β , IL-6等炎症因子的表达^[112]. 增强的糖酵解不仅生成ATP, 维持巨噬细胞高强度的分泌和吞噬功能, 还可促进磷酸戊糖途径, 产生更多的氨基酸供应蛋白质合成、核糖生成以及NADPH介导的ROS合成^[113]. 与此同时, TCA循环受损, 在柠檬酸后和琥珀酸后形成两处断裂^[114]. 柠檬酸堆积导致乙酰辅酶A增加, 满足了促炎型巨噬细胞下游脂肪酸、脂质以及前列腺素等

生物合成的需求. 而这种生物合成又可改变细胞膜成分和胆固醇蓄积, 成为巨噬细胞炎症信号的重要组成部分^[115]. 琥珀酸堆积则可促进HIF-1 α 转录和介导线粒体源性ROS(mROS)产生, 进一步驱动巨噬细胞向促炎状态发展^[116].

与促炎型巨噬细胞的代谢特征截然不同, 修复型巨噬细胞拥有完整的TCA循环和增强的线粒体氧化磷酸化能力, 从而产生高水平的ADP^[117,118]、辅助凝集素甘露糖受体(mannose receptor, MR)等关键受体的糖基化, 使其精确感知病原体. 抑制糖基化能够显著降低修复型巨噬细胞分子印记CD206和CD301的表达^[119,120]. 此外, TCA重要代谢产物 α 酮戊二酸(α -ketoglutaric acid, α -KG)还可抑制HIF-1 α 和IL-1 β 的产生, 激活PHD抑制IKK β 活化^[121]. 脂肪酸合成是支持线粒体氧化磷酸化供能的最主要来源. 然而近期研究结果表明, 葡萄糖也可能是修复型巨噬细胞氧化磷酸化的能量来源.

氨基酸尤其是精氨酸、谷氨酰胺和色氨酸代谢能够影响免疫系统. 在巨噬细胞中, 精氨酸通过一氧化氮(NO)合成途径和精氨酸酶-1(arginase 1, ARG-1)途径对巨噬细胞的极化产生迥然不同的影响^[122]. 一方面, 精氨酸作为iNOS的底物进入NO合成途径, 参与促炎型巨噬细胞极化; 更为重要的是, iNOS本身就是促炎型巨噬细胞的重要产物. 另一方面, 在组织修复型巨噬细胞中, ARG-1催化L-精氨酸转化为尿素和L-鸟氨酸, 限制了精氨酸用于NO的合成. 鸟氨酸可进一步进入下游多胺和脯氨酸合成途径, 有益于细胞增殖及组织修复.

4 巨噬细胞与心血管疾病

4.1 巨噬细胞与动脉粥样硬化

(1) 巨噬细胞脂代谢紊乱形成泡沫细胞. 泡沫细胞是AS斑块形成的标志物, 系巨噬细胞对胆固醇摄入、储存以及流出的稳态失调的结果. 由于内皮屏障功能受损, LDL可沉积在动脉壁中, 并被细胞外基质大分子滞留在内膜层内. 动脉壁的氧化应激促进LDL的氧化修饰, 激活巨噬细胞表面模式识别受体. 清道夫受体作为一种重要的模式识别受体, 能够识别和处理修饰LDL, 在AS中发挥重要作用^[123].

巨噬细胞胞浆内胆固醇酯和游离胆固醇处于动态

平衡. 正常情况下只有未酯化的游离胆固醇可以被运输到细胞外, 过多的胆固醇酯则以脂滴的形式储存在细胞内. 当细胞内游离胆固醇含量过多, 细胞排除能力受限时, 在内质网内ACAT1可酯化游离胆固醇, 从而减少其堆积, 减轻其细胞毒性^[51]. 如果摄入的胆固醇远超巨噬细胞的储存容量, 细胞会发生病理性改变. 随着游离胆固醇在细胞中不断积聚, ACAT1将其酯化的能力开始下降, 因而又进一步加重其积聚. 聚积在细胞膜上的游离胆固醇能激活TLR和NF- κ B炎症信号^[124~127], 细胞内过多的胆固醇积聚还能促进胆固醇和脂质外流. 在泡沫细胞中, ABCA1, ABCG1和SR-B1参与调节脂质的外流^[128]. ABCA1促进胆固醇外流至ApoA1, ABCG1促进胆固醇外流至HDL. 当巨噬细胞内胆固醇水平增加时, LXRs激活^[129], 促进胆固醇通过ABCA1和ABCG1外流并有抗炎的作用^[130].

(2) AS过程中巨噬细胞极化及异质性. AS斑块中至少存在两种不同的巨噬细胞亚型, 即促炎型和组织修复型^[131]. 在早期斑块中, 浸润的巨噬细胞以组织修复型为主, 分泌抗炎介质并具有良好的胞葬能力, 从而维持粥样斑块的稳定性. 在动脉硬化进展期, 巨噬细胞发生了表型转换, 促炎型巨噬细胞在病灶处占据主导地位并分泌促炎介质, 因此加快了AS的进程^[132]. 巨噬细胞产生的MMPs还可降解细胞外基质, 破坏粥样斑块的稳定性, 增加血栓形成的风险. 巨噬细胞的炎症属性对AS的发展趋向产生重要影响^[133]. 有研究结果显示, 组织修复型巨噬细胞可能促进斑块中新生血管的形成, 增加粥样斑块的不稳定性. 尽管如此, 一般认为促炎型巨噬细胞分泌的细胞因子具有促进AS的属性, 而组织修复型巨噬细胞分泌的细胞因子能够拮抗AS发展, 促进斑块纤维组织形成.

异常血流剪切力及修饰脂蛋白积聚会引起慢性炎症反应, 同时激活血管内皮细胞. 活化的内皮细胞高表达血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)和细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1), 招募循环中Ly6C^{high}单核细胞进入动脉内膜, 在多种信号因子的调节下分化为巨噬细胞. 此外, 组织原位巨噬细胞增殖和内膜平滑肌细胞向巨噬细胞样细胞的分化是斑块中巨噬细胞的另外两个来源. 在AS进展期, 巨噬细胞主要来源于内膜下巨噬细胞的原位增殖. 早期斑块中约有70%的巨噬细胞来源于循环单核细胞. 当斑块成形后, 巨噬细

胞更少依赖招募血液单核细胞, 约有87%的巨噬细胞源自原位增殖. 然而即使在已成形的斑块中, 所有的巨噬细胞其实也是募集单核细胞的后代, 这表明稳态下的血管壁组织原位巨噬细胞可能已经被全部替换(图2).

应用LDL受体敲除小鼠^[134]和ApoE敲除小鼠^[135]进行AS造模并对主动脉细胞进行单细胞RNA测序分析, 发现了两种巨噬细胞的新亚群: 表达高水平炎症因子的炎性非泡沫细胞和表达高水平Tre组织修复、Cd9, Ctsd, Spp1和低风险炎症因子的泡沫细胞. 有意思的是, 泡沫细胞表达较少的炎性细胞因子, 这与人们普遍接受的泡沫巨噬细胞加重炎症负荷的看法相悖. 进一步结合谱系示踪技术对进展斑块和消退斑块中的CX3CR1⁺细胞进行分析, 发现组织巨噬细胞、炎症巨噬细胞以及Tre组织修复巨噬细胞高度富集于进展斑块而非消退斑块中. CX3CR1高表达巨噬细胞亚群可维持增殖状态, 提示随着病变的进展, 斑块微环境可以驱动细胞活化和分化. 然而上述观察结果主要基于动物实验, 目前仍缺少相应的人类研究结果.

(3) AS斑块中的巨噬细胞凋亡. 人为促进小鼠早期粥样斑块的细胞凋亡, 可见斑块面积减小, 病变程度减轻, 说明凋亡细胞可能被周围的巨噬细胞有效清除, 使病变中炎性细胞或凋亡后坏死的细胞减少. 晚期斑块中巨噬细胞的死亡方式比较复杂, 各种形式的细胞死亡所产生的炎症反应也不相同^[136]. 焦亡和坏死性凋亡是最为促进炎症反应和斑块进展的死亡形式. 焦亡是一种与炎症小体激活相关且高度促炎的细胞死亡形式, 依赖于半胱天冬酶的活性, 导致细胞内细胞因子IL-1 β 和IL-18等多种内容物释放到细胞外. 坏死性凋亡是一种程序性坏死, 它不涉及半胱天冬酶的活性, 因此不同于凋亡. 坏死性凋亡导致浆膜的破裂以及各种细胞内容物的释放, 包括多种DAMPs^[137]. 坏死性凋亡在人类不稳定斑块中极其常见^[138]. 此外, 自噬通过溶酶体降解维持细胞自身稳态. 巨噬细胞自噬可在一定程度上减少细胞凋亡和活性氧的产生, 增强吞噬细胞的清除功能. 在晚期斑块内, 细胞自噬受到抑制, 最终导致坏死细胞的积聚, 斑块不稳定性增加.

(4) AS斑块中的巨噬细胞胞葬. 在AS病灶中, 泡沫细胞摄入胆固醇分子形成液滴胆固醇酯. 其持续水解和再酯化消耗了大量的无效ATP, 导致泡沫细胞的过早死亡. 死亡细胞的碎片需要巨噬细胞通过胞葬作

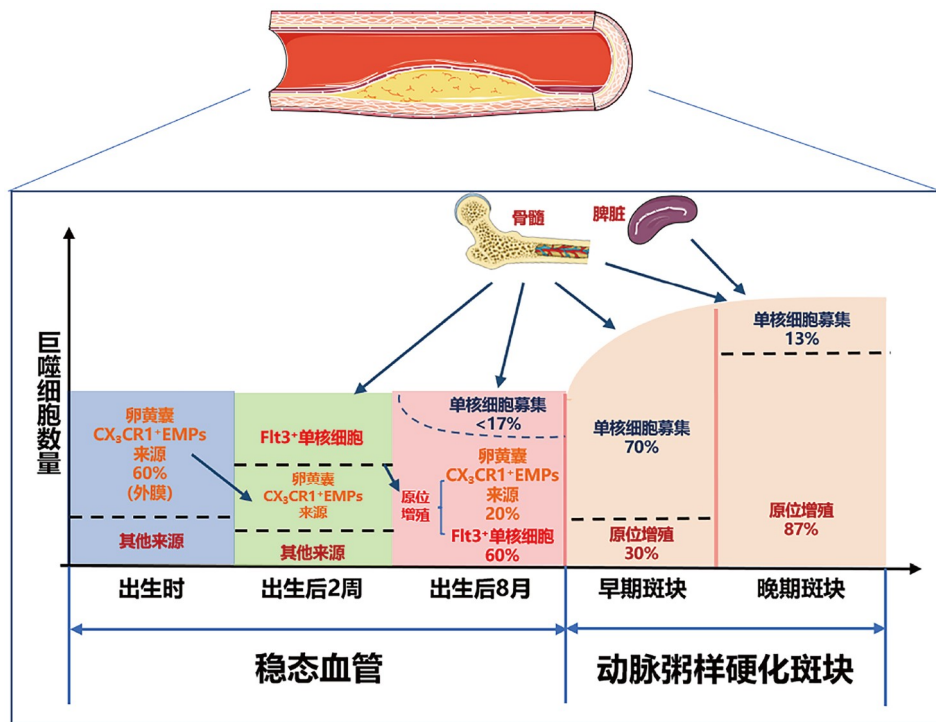


图 2 血管壁中的巨噬细胞. 小鼠出生时血管壁中的巨噬细胞主要来源于卵黄囊, 出生后两周内2/3组织巨噬细胞被骨髓源性巨噬细胞所替代. AS早期斑块中的巨噬细胞主要为募集来的单核巨噬细胞(70%), 晚期斑块中的巨噬细胞主要由原位增殖产生(87%)

Figure 2 Macrophages in the vessel wall. At birth, most arterial macrophages originate from yolk sac. In the first 2 weeks after birth, 2/3 of yolk sac-derived macrophages are replaced by bone marrow-derived monocytes in the steady-state. Most macrophages (~70%) in early atherosclerotic lesions are directly derived from monocytes. In advanced plaques, macrophages depend less on monocyte recruitment and ~87% of them are derived from local macrophage proliferation

用以清除^[139]. 然而在AS病变的进展期, 巨噬细胞胞葬功能存在缺陷. 例如, oxLDL通过与凋亡细胞竞争吞噬受体(如SR-BI)和桥接分子(如MFGE8), 降低巨噬细胞胞葬功能. oxLDL还可增加TLR4的表达并增强其信号转导, 促进促炎因子分泌. 同时TLR4可进一步下调LRP1的表达, 损害胞葬功能. 胞葬逃逸会引起更严重的坏死和炎症反应, 因此在胞葬功能受损和AS病变持续进展之间形成恶性循环, 导致斑块坏死核心不断增大, 稳定性下降, 最终斑块破裂并引起血栓形成^[140].

4.2 高血压中的巨噬细胞

巨噬细胞是重要的固有免疫细胞, 众多研究表明它参与高血压的发病过程. 流行病学研究发现, 高血压患者的血单核细胞表现出明显的促炎表型, 血清中炎症因子的含量也明显增加^[141,142]. 在慢性血管紧张素(angiotensin, Ang)II灌注模型中, 清除巨噬细胞可以明显阻止血压升高, 改善血管内皮和平滑肌细胞功

能障碍, 并减少血管ROS形成^[143]. 巨噬细胞主要通过促使NOS3解偶联, 激活ROS大量生成, 最终导致血管壁氧化应激和高血压^[144]. 阻止单核巨噬细胞的募集可以减轻Ang II或者醋酸脱氧皮质酮(deoxycorticosterone acetate, DOCA)盐诱导的内皮功能障碍、血管重塑和氧化应激^[145,146]. 因此, 巨噬细胞在肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)诱发的高血压中起关键的致病作用. 机体RAS系统的激活能刺激巨噬细胞分泌多种炎症因子, 如TNF α 和IL-1 β 等. TNF α 可以激活内皮细胞NF κ B信号通路和NADPH氧化酶活性, 增加ROS的生成, 抑制内皮细胞合成NO, 造成内皮功能障碍^[147,148]. 大部分的原发性高血压病人伴有RAS系统的异常激活, 巨噬细胞同样表达Ang II的1型(angiotensin II type 1, AT1)受体^[149]. 然而直接激活巨噬细胞上AT1受体却可以抑制其向促炎型转化, 减少炎症因子生成, 减轻高血压造成的肾小管和间质的损害, 但是对于血压却没有明显的影响^[150].

肥胖时, 管周脂肪组织功能异常, 脂肪因子分泌失衡, 产生大量的炎症因子(TNF α 和IL-6等), 增强血管壁氧化应激水平. 瘦素(leptin)、内脂素(visfatin)和抵抗素(resistin)均可引起血管壁炎症反应和功能障碍^[151,152]. 在这过程中巨噬细胞不仅能够分泌炎症因子等活性物质作用于血管壁, 还可以通过调控脂肪细胞活性因子的分泌(如瘦素和脂联素等)间接影响血管壁的功能^[153]. 本团队^[107]发现肥胖时管周脂肪组织中巨噬细胞产生分泌VEGF-B明显增多, 促进脂质积聚在血管内皮细胞, 引起内皮功能障碍和血压升高. 激活巨噬细胞SR-A1途径可以抑制VEGF-B表达, 阻止肥胖诱导的血压升高.

4.3 心脏疾病中的巨噬细胞

(1) 巨噬细胞与缺血性心脏病及其心脏再生. 在哺乳动物伤口愈合过程中, 免疫细胞是决定最终修复质量的主要因素. 多项研究揭示, 先天免疫系统在心脏组织损伤反应中发挥核心作用, 心脏组织的成功再生依赖于局部炎症反应的细胞构成和信号成分. 有趣的是, 一些近缘动物表现出强大的心脏再生能力, 而其他物种则表现出再生能力的衰竭. 某些成年两栖动物和多骨鱼类均具有强大的再生潜力. 尽管上述物种中的免疫微环境仍有待充分认识, 但对于此过程中巨噬细胞的特性研究表明, 改变巨噬细胞与受损组织之间的相互作用可能是提升再生潜能的关键因素. 对于再生治疗而言, 适度的免疫应答必不可少, 尤其是心脏原位巨噬细胞的独特作用值得深入探讨. 已知卵黄囊来源的巨噬细胞产生适度的炎症反应, 分泌如CCL24、抑癌蛋白M(oncostatin M, OSM)等多种细胞因子, 促进MI后的心脏恢复, 增强新生血管的形成^[22,23]. 在缺血缺氧5 min内, 心脏原位巨噬细胞即可在损伤部位积聚, 随后招募大量免疫细胞. 损伤1天后中性粒细胞浸润达到峰值, 同时释放活性氧; 损伤后第2~5天, 单核巨噬细胞是微环境中主要的白细胞, 随后数量逐渐降低, 表型也随之转换^[154](图3).

在应答心脏损伤的反应中, 募集的巨噬细胞产生一系列细胞因子、趋化因子、基质金属蛋白酶和生长因子, 同时发挥促炎和抗炎作用. Sager等人^[155]发现, 缺血心肌细胞释放的IL-1 β 是导致骨髓Ly6c^{high}单核细胞激活并被招募至受损心脏的主要途径. 虽然大部分组织原位巨噬细胞可能涉及非炎症吞噬, 但梗死心脏

中凋亡和坏死的心肌细胞所产生的内源性信号依然引起原位巨噬细胞和浸润单核细胞的促炎症反应. 例如, MI后来自死亡细胞的双链DNA可激活巨噬细胞转录因子IRF3并产生I型干扰素, 促进心脏炎症, 进一步损伤存活心肌细胞和心功能^[156].

发生MI后, 无论新生儿还是成人心中巨噬细胞的减少都将使组织重塑受损, 心脏纤维化和收缩功能减退. 巨噬细胞在缺血性心脏病中的主要功能包括: (i) 清除组织碎片, 尤其是吞噬死亡细胞. 多个心脏损伤模型实验结果均证明, 巨噬细胞缺失引起组织碎片和死亡细胞的清除障碍. 靶向敲除巨噬细胞吞噬功能的关键基因如MerTK和MFGE8可损害心肌损伤后的组织愈合, 说明心脏巨噬细胞清除组织碎片的功能对于心肌损伤后的愈合至关重要^[157]. (ii) 维持MI后的组织结构稳定和重塑, 防止心脏破裂. 与巨噬细胞组织清除活性有关的基因SR-A1的丢失会加重MI病情, 其部分机制与MMP9有关. MI后TNF α 升高, 引起巨噬细胞释放MMP9增加, 而SR-A1则可抑制上述反应^[158]. MMP9减少不仅降低了心脏破裂的风险, 还增强了CD36依赖的巨噬细胞吞噬功能. 同时, 巨噬细胞释放TGF- β 活性增强, 促进肌纤维母细胞分化和心肌纤维化, 帮助维持心脏内稳态. (iii) MI后血管再生. 巨噬细胞通过旁分泌方式促进血管吻合或血管生成. 心脏损伤后如果缺失巨噬细胞或者其关键基因MERTK和MFGE8, 均可引起VEGFA减少, 心脏毛细血管密度降低^[157]. 巨噬细胞还能够限制VEGFA的基因消融. 此外, VEGFA具有一种特殊的正反馈机制, 在心脏受损时它能增强循环单核细胞向损伤部位的募集, 并促使其向促血管生成的表型分化. (iv) 介导心肌细胞再生. 巨噬细胞所产生的瞬时细胞外信号及其与局部间充质细胞的相互作用对于再生物种(如蝾螈和斑马鱼)的心肌细胞增殖非常重要. 在蝾螈心脏冷冻损伤模型中, 巨噬细胞耗竭会破坏心脏再生, 阻止持续性的心肌细胞增殖^[62]. 尽管心肌细胞增殖正常, 巨噬细胞缺失的新生小鼠心脏仍无法再生. 成年小鼠发生MI后, 巨噬细胞形成的急性炎症微环境对于干细胞介导的心脏组织再生或愈合极其重要. 因此, MI后巨噬细胞依赖性微环境的改变对于有效的无瘢痕心脏修复具有重要的影响, 可能是心脏再生研究中值得关注的课题.

(2) 单核巨噬细胞与心肌病. 在所有的心肌炎模型中均可见心脏巨噬细胞数量的增加. 谱系示踪研究

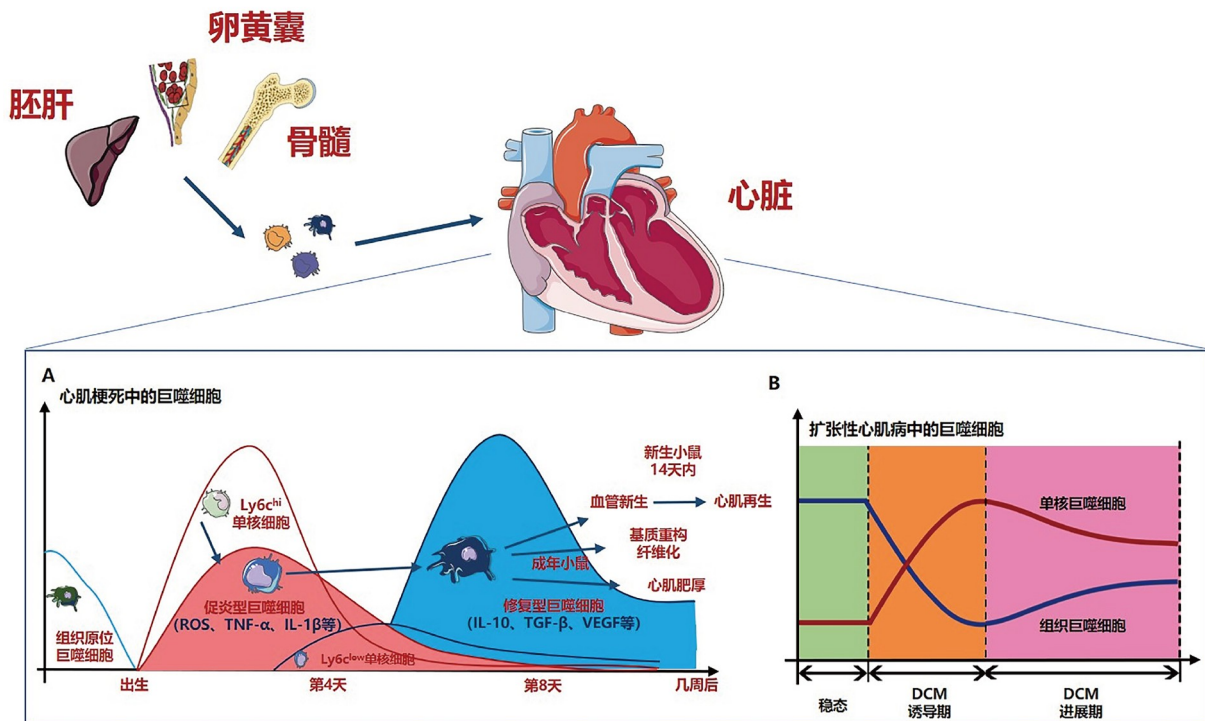


图 3 心脏疾病中的巨噬细胞. A: 心肌梗死中巨噬细胞的来源及动力学^[105]. B: 扩张性心脏病中巨噬细胞的来源及动力学^[15]
Figure 3 Macrophages in heart diseases. A: Macrophage origins and dynamics in myocardial infarction^[105]; B: macrophage origins and dynamics in dilated cardiomyopathy^[15]

证实, 小鼠病毒性心肌炎的心脏中CCR2⁻原位巨噬细胞丢失, 循环单核细胞大量浸润^[159]. 但是在病毒性心肌炎中的胚胎来源的心脏巨噬细胞的确切功能仍然无法确定. 病毒感染导致巨噬细胞分泌多种细胞因子如TNF α , IL-1 β 等, 形成炎症因子风暴, 直接损伤心肌细胞. 巨噬细胞产生的炎症因子风暴在心脏损伤中的作用及其致病机制对于防治传染性心肌炎具有极大的临床意义. 与成年心脏巨噬细胞相比, 缺乏MHC-II表达的新生心脏巨噬细胞的炎症反应较轻, 产生的TNF α 和IL-1 β 较少, 具有更强的促进修复功能, 包括心肌和内皮细胞增殖活性^[67]. 一些抗肿瘤药物如盐酸阿霉素具有心脏毒性, 但是TLR2和TLR4缺乏可减轻阿霉素对小鼠的心脏毒性作用, 提示固有免疫的发病作用. 用中和抗体阻断TLR2可减轻炎症反应和随后的心脏病理性重构. NLRP3诱导巨噬细胞产生IL-10是抵抗阿霉素心脏毒性的天然机制^[160]. 近期的研究发现, 在阿霉素诱导的扩张性心肌病中, SR-A1及其下游TAK1/p38/c-Myc/SIRT1信号通路能够促进原位巨噬细胞增殖并向组织修复型分化, 延缓疾病进程,

提示SR-A1代谢途径介导的心脏原位巨噬细胞增殖可能是拮抗扩张性心肌病, 保护心脏功能的潜在干预靶点^[15](图3).

一些自身免疫综合征, 如系统性红斑狼疮或炎症性肠病极易引起心脏病变. 在实验性自身免疫性心肌炎(experimental autoimmune myocarditis, EAM)中, 包括巨噬细胞、树突状细胞(dendritic cells, DCs)以及T细胞在内的多种免疫细胞被大量激活. 然而上述研究往往集中于负载心脏抗原的DCs和自身反应性T细胞, 对于巨噬细胞的作用尚不明确. 特别在临床研究中, 由于无法精准控制炎症或者某一类型的免疫细胞, 很难明确免疫细胞或过度炎症反应的作用. 最近的一项心肌炎临床试验结果显示, 皮质类固醇在预防心力衰竭和扩张型心肌病方面几乎没有益处^[161].

总之, 在心血管疾病中巨噬细胞功能多样, 发病学意义各不相同, 这可能与应激源类型、微环境属性、先天免疫反应特征以及疾病进程有关. 例如, 病毒性心肌炎的心脏原位巨噬细胞数量明显减少, 但在高血压发作期其数量又有增加. MI和高血压应激都能诱导

中性粒细胞浸润, 而病毒性心肌炎却意外地未见中性粒细胞浸润。显然, 深入解析心血管疾病中巨噬细胞的功能尚有待建立更加合适的动物模型和更加强大的研究工具。

(3) 应用单细胞测序等新技术对心脏巨噬细胞异质性的新探索。单细胞RNA测序(single cell RNA-sequencing, scRNA-seq)技术是研究细胞异质性的强大工具, 其高分辨率和高通量的特性可以实现对单个细胞转录组的解析^[162,163], 包括对新型或稀有细胞类型和功能的鉴定、单细胞发育学轨迹构建以及健康和疾病组织中单细胞层面的差异性分析。scRNA-seq技术的应用促进了心脏和血管细胞图谱的生成、细胞亚群的新功能解析和相关发育、干细胞或祖细胞分化机制的阐明。

基于单细胞测序技术, 我国科学家首次绘制了人胚胎(孕8周内)造血细胞发育图谱, 从转录组、免疫表型和功能3个层面定义了人胚胎第一个具有多系分化潜能的造血祖细胞群体, 即非造血干细胞来源的早期髓系祖细胞YSMP, 精准解析了巨噬细胞尤其是小胶质细胞的起源和分化过程, 包括明确了人胚胎期巨噬细胞的多重起源, 以及组织驻留型巨噬细胞分化过程中的关键分子特征^[164]。这一重要的发现不仅解决了组织驻留型巨噬细胞“从哪里来到哪里去”的核心问题, 更从单细胞层面说明了其逐渐蜕变转化的分子进程。此外, 针对稳态成年人心脏细胞的单细胞测序研究发现, 在免疫分区中存在具有炎症和保护性转录信号的“心脏原位巨噬细胞”, 在心脏节律传导节点如房室结中还有特殊的心脏原位巨噬细胞, 通过特异性表达CX43连接到心肌细胞, 对心肌细胞的电信号产生推动作用, 帮助心肌细胞完成收缩和泵血^[18,165]。

早期的针对心肌梗死区白细胞的单细胞测序分析结果显示, 特定巨噬细胞亚群干扰素诱导细胞(interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats, IFNICS)可识别死亡的心肌细胞碎片, 通过激活IRF3和产生I型IFN, 加速心肌梗死进程。这一结果进一步明确了巨噬细胞在驱动心肌梗死局部炎症中的主导作用。特异性敲除小鼠巨噬细胞中依据单细胞测序所获得的心肌梗死巨噬细胞IRF3-IFN轴关键调控基因后, 小鼠发生MI后生存率显著提高。同样, 心肌梗死后用干扰素受体(interferon- α/β receptor, IFNAR)中和抗体进行治疗可消除干扰素反应, 改善左心室功能

障碍并增加存活率。这些结果提示, IRF3和I型IFN的反应可能是心肌梗死后保护心脏的潜在治疗靶点^[156]。联合应用谱系示踪和单细胞转录组测序技术发现, 稳态心脏中TIMD4⁺LYVE1⁺MHC-II^{lo}CCR2⁻心脏原位巨噬细胞在不依赖血液单核细胞替代的情况下可通过增殖维持自身数量。在梗死的心脏中, 单核细胞部分取代原位的TIMD4⁻LYVE1⁻MHC-II^{hi}CCR2⁻巨噬细胞, 完全取代TIMD4⁻LYVE1⁻MHC-II^{hi}CCR2⁺巨噬细胞, 表明单核细胞对不同的巨噬细胞亚群具有不同程度的替换。研究发现, 募集的巨噬细胞不表达TIMD4。因此, TIMD4是在稳态及缺血性损伤情况下跟踪监测心脏原位巨噬细胞亚群的重要标记分子^[11]。

在心肌肥大过程中, 单细胞测序可用于重建病理性心肌肥大进程中的细胞轨迹, 并通过分析压力超负荷诱导的心肌肥厚过程中不同时间点的单细胞(包括心肌细胞和非心肌细胞)的转录组, 鉴定出了心肌肥大疾病微环境中的主要细胞类型, 包括心肌细胞、内皮细胞、成纤维细胞和巨噬细胞, 描绘不同细胞亚型的动力学。细胞间相互作用分析结果显示, 在心肌肥厚的不同阶段, 不同类型的非心肌细胞亚群(成纤维细胞、巨噬细胞和内皮细胞)的交互作用在驱动疾病进展中发挥关键作用, 而巨噬细胞则是其中的重要调控节点。不仅如此, 在不同时间窗口应用钠葡萄糖共转运蛋白2抑制剂达格列净(Dapagliflozin)和两种抗炎药(TD139和阿格拉宾(Arglabin)), 可通过精确干预巨噬细胞治疗心肌肥厚, 保留心脏功能并减轻纤维化。在人类肥厚型心肌病和心力衰竭患者样本中, 也观察到了类似的巨噬细胞亚群及其交互作用的模式^[166]。此外, 在小鼠心肌肥厚模型中, 联合应用流式细胞术结合单细胞测序技术解析心衰小鼠CD45⁺免疫细胞的异质性, 发现了骨髓来源、并由Rel介导的CD72高表达巨噬细胞亚群在介导心脏炎症损伤中具有重要作用^[167]。然而在心脏免疫细胞的单细胞测序中, 目前的研究仍聚焦于非缺血性心脏病, 这可能与非缺血性心脏组织中巨噬细胞含量远少于心肌梗死组织中的含量, 利用多标记物分选存在效率较低等问题。缺少多种标记物的共同标记, 则可能导致大量白细胞在检测中混杂, 影响分析结果的精确性。未来通过多种标记物同时定义心血管巨噬细胞并进行单细胞测序有望更加精细地解析其异质性。

5 基于巨噬细胞的心血管病防治策略

5.1 动脉粥样硬化抗炎临床研究

AS是脂质驱动的慢性炎症性血管病,炎症介质在AS发生发展、斑块破裂或侵蚀以及MI和缺血性中风的并发症血栓中发挥关键作用。把炎症作为干预靶点是防治心脑血管疾病的一个重要策略。在一些临床试验中尝试对AS采取直接的抗炎治疗,但是多数研究均以失败告终,包括使用广谱炎症抑制剂甲氨蝶呤的CIRT(cardiovascular inflammation reduction trial)^[168]以及p38抑制剂Losmapimod的LATITUDE-TIMI60^[169]等。Canakinumab抗炎血栓形成转归临床研究(canakinumab anti-inflammatory thrombosis outcomes study, CANTOS)和秋水仙素心血管转归临床试验(colchicine cardiovascular outcomes trial, COLCOT)临床研究取得了较好的结果,极大振兴了抗炎治疗的希望。目前,针对炎症小体、IL6通路等其他炎症靶点的临床研究正在进行中。

Canakinumab抗炎性血栓形成研究采用一项双盲随机对照试验^[170],应用针对炎症因子IL-1 β 的单克隆抗体canakinumab治疗冠心病患者。在CANTOS试验中,10061名冠心病稳定且高敏C反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)水平高于2 mg/L的患者在有效降低血胆固醇水平情况下被随机分为安慰剂组和IL-1 β 单克隆抗体治疗组。Canakinumab每3个月皮下注射一次,剂量为50, 150或300 mg,分为三组,三组患者平均随访3.7年。与安慰剂相比,最低剂量没有显著疗效,但两组接受较高剂量canakinumab的病人都成功地完成临床试验,主要观察终点包括心血管死亡、心脏骤停复苏、心肌梗塞、中风或因心绞痛需要冠状动脉血运重建术而紧急住院。治疗后hs-CRP<2 mg/L的患者是canakinumab治疗组中的最大获益者,从而进一步证实炎症是心血管疾病独立的危险因素。然而随访显示,注射canakinumab的患者中性粒细胞减少症的发生率较高,由感染或败血症引起的死亡人数有所增加。

秋水仙碱是用于治疗心包炎和急性痛风发作的强效抗炎药物,COLCOT探索了其在心血管疾病中的治疗作用^[171]。COLCOT将4745例30天内发生MI的患者随机分组,一组使用低剂量秋水仙碱(每日0.5 mg),另一组使用安慰剂,中位随访时间为1.8年。与安慰剂组

相比,秋水仙碱组的主要观察终点的发生率降低了23%。两组不良事件或严重不良事件发生率相似,但治疗组中产生的秋水仙碱胃肠道副反应如恶心和腹部不适等更频繁。此外,秋水仙碱的长期应用导致相关肺炎的发生率从0.4%增加到0.9%。然而该研究未报告感染死亡,治疗中感染性休克的发生率也很低。

上述临床试验均在大量的临床前证据明确炎症在AS斑块中作用的基础上进行,通过使用canakinumab和秋水仙碱,进一步验证了人类AS的炎症理论,并首次证明残余炎症风险是二级心血管预防的有效目标。上述试验将抑制NLRP3炎症小体通路作为心脏病学抗炎干预的新策略,强调需要仔细监测此类干预措施对宿主防御的不利影响,提示尚需寻找具有更低感染风险的干预靶标。虽然CANTOS和COLCOT研究可能不会立即影响日常的心血管疾病治疗,但它们为免疫调节药物降低心血管疾病风险的治疗新策略打开了大门。

5.2 基于巨噬细胞的高血压治疗

巨噬细胞在高血压的发病进程中起重要的作用,调节巨噬细胞活性的干预措施可能为高血压治疗提供新的思路。然而,全面清除巨噬细胞或者抑制其功能存在一定的风险,因为这种免疫抑制会增加机体感染的概率^[172]。靶向巨噬细胞的代谢通路(如用岩藻多糖激活SR-A1)或细胞因子(如下调VEGF-B)可能更加具有可行性^[107]。在一项针对高血压和类风湿性关节炎病人的小型临床研究中,使用英夫利昔单抗(infliximab)选择性地抑制TNF,可降低动态血压^[173]。

5.3 基于巨噬细胞的心脏疾病治疗

大量的实验研究表明,调节单核细胞有利于心脏恢复。例如,阻断CCR2或靶向抑制单核细胞募集的关键炎症介质,可获得较理想的结果^[174]。相反,小鼠循环单核细胞的增加会损害MI后的心脏恢复。在人群试验中,经典单核细胞(CD14⁺CD16⁻单核细胞)水平升高与急性MI的不良结局呈正相关^[62]。尽管目前尚无靶向单核细胞治疗MI的专项临床试验,但是一些MI后的常规治疗,如血管紧张素转换酶抑制剂和 β 受体阻滞剂均能部分损害单核细胞功能及其动员活性,显示其潜在的应用前景。

但是,单核细胞的耗竭会影响组织碎片的清除,加

剧心脏炎症延长的风险。这一推测在脾脏切除引起缺血性心脏病死亡率增加的临床观察中得到部分支持^[175]。此外,单核细胞耗竭也会减少损伤后期从单核细胞分化而来的巨噬细胞数量和活性,与MI后的愈合呈负相关。

MI术后在不影响循环单核细胞的情况下扩大抗炎性心脏巨噬细胞群体可能是困难的,因为MI后巨噬细胞数目的增加取决于Ly6c^{high}单核细胞前体的浸润。理论上可利用原位巨噬细胞增殖的固有能力,或者调控Nr4a1或IRF5等关键因子促进浸润单核细胞向抗炎表型转变等方法增加修复型巨噬细胞。最近小鼠嗜中性粒细胞耗竭研究支持了上述理论的有效性。当阻断了小鼠MI后心脏修复型巨噬细胞的功能后,可导致纤维化增加,心脏功能恶化和心力衰竭^[176]。特异性增加小鼠心脏修复型巨噬细胞,可提高心肌细胞存活率,增加血管新生,改善心脏重塑。基于单细胞测序和巨噬细胞及其祖细胞的特异性基因编辑来促进对心脏损伤的再生反应,深入了解支持心脏巨噬细胞表型改变及其动力学的分子网络将有助于发展新的治疗策略。

5.4 巨噬细胞与心肌炎的关联研究

在基于巨噬细胞的心肌炎治疗研究中,使用氯膦酸盐脂质体不同程度地耗竭心脏巨噬细胞,病毒性心肌炎的死亡率显著增加。在柯萨奇病毒B3(Coxsackie virus B3, CVB3)感染的心肌炎模型中,减少产生促纤维化细胞因子半乳糖凝集素-3的心脏巨噬细胞引起存活动物的晚期心肌纤维化^[177]。与病毒性心肌炎不同,EAM的免疫反应主要针对的是自身抗原。在EAM病的慢性期而非急性期给予碳酸氢钠脂质体减少巨噬细胞,可改善心脏功能,减少不良重塑^[178]。综上所述,在病毒性心肌炎中,虽然单核细胞和巨噬细胞可能促进

心肌纤维化,但它们的净效应则是保护性的;但是在自身免疫病模型中,单核细胞和巨噬细胞的激活会促进慢性心力衰竭。因此,持续感染或无效的、延迟的以及有害的炎症反应都会导致巨噬细胞介导的心肌损伤。未来需要通过靶向研究充分理解在不同环境中募集的单核细胞和原位巨噬细胞的具体作用。

针对单核巨噬细胞的关键调控分子的研究发现,靶向某些关键分子也可影响心肌炎进程。例如,CX3CR1的缺失引起急性CVB3诱导的心肌炎恶化。CX3CR1可能在巨噬细胞的分化存活以及Ly6c^{low}单核细胞的血管稳态监视中起关键作用^[29]。干扰CCR5或其配体CCL5也会增加心脏组织损伤,而干扰CCL2或CCL3介导的巨噬细胞募集可拮抗CB3诱导的病毒性心肌炎^[179]。在自身免疫性心肌炎中,靶向抑制单核细胞CCR2对EAM结局具有明显的保护作用。上述研究结果表明,尽管CCL2, CCL3和CCL5具有靶向单核细胞的能力,但其作用并不重叠,如何选择某种靶向特异性配体或者其受体将是未来治疗心肌炎的关键。

6 总结与展望

深刻认识巨噬细胞的异质性是探究巨噬细胞在心血管疾病中作用的前提。从胚胎发育到成年后心血管系统的环境、代谢、表观修饰、信号通路等视角,多重调控巨噬细胞功能的关键节点已经浮出水面,尽管仍需深入解析在疾病状态下巨噬细胞异质性及其完整调控网络。抗炎疗法作为一种新型心血管疾病干预新策略开始崭露头角,显示出广阔的前景。避免潜在的抑制免疫系统、引起感染等副作用,发展基于巨噬细胞异质性的精准治疗新方法是未来建立新一代抗炎疗法时应予考虑的重点。

参考文献

- 1 van Furth R, Cohn Z A, Hirsch J G, et al. The mononuclear phagocyte system: a new classification of macrophages, monocytes, and their precursor cells. *Bull World Health Organ*, 1972, 46: 845-852
- 2 Mass E, Ballesteros I, Farlik M, et al. Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis. *Science*, 2016, 353
- 3 Sheng J, Ruedl C, Karjalainen K. Most tissue-resident macrophages except microglia are derived from fetal hematopoietic stem cells. *Immunity*, 2015, 43: 382-393
- 4 Gomez Perdiguero E, Klapproth K, Schulz C, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature*, 2015, 518: 547-551
- 5 Hoeffel G, Chen J, Lavin Y, et al. C-Myb⁺ erythro-myeloid progenitor-derived fetal monocytes give rise to adult tissue-resident macrophages.

- [Immunity](#), 2015, 42: 665–678
- 6 Ginhoux F, Williams M. Tissue-resident macrophage ontogeny and homeostasis. [Immunity](#), 2016, 44: 439–449
 - 7 Lavin Y, Winter D, Blecher-Gonen R, et al. Tissue-resident macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment. [Cell](#), 2014, 159: 1312–1326
 - 8 Schneider C, Nobs S P, Kurrer M, et al. Induction of the nuclear receptor PPAR- γ by the cytokine GM-CSF is critical for the differentiation of fetal monocytes into alveolar macrophages. [Nat Immunol](#), 2014, 15: 1026–1037
 - 9 Jux B, Kadow S, Esser C. Langerhans cell maturation and contact hypersensitivity are impaired in aryl hydrocarbon receptor-null mice. [J Immunol](#), 2009, 182: 6709–6717
 - 10 Hoekstra M, Kruijt J K, Van Eck M, et al. Specific gene expression of ATP-binding cassette transporters and nuclear hormone receptors in rat liver parenchymal, endothelial, and Kupffer cells. [J Biol Chem](#), 2003, 278: 25448–25453
 - 11 Dick S A, Macklin J A, Nejat S, et al. Self-renewing resident cardiac macrophages limit adverse remodeling following myocardial infarction. [Nat Immunol](#), 2019, 20: 29–39
 - 12 Williams J W, Giannarelli C, Rahman A, et al. Macrophage biology, classification, and phenotype in Cardiovascular disease: JACC Macrophage in CVD Series (Part 1). [J Am Coll Cardiol](#), 2018, 72: 2166–2180
 - 13 Röszer T. Understanding the biology of self-renewing macrophages. [Cells](#), 2018, 7: 103
 - 14 Shaw T N, Houston S A, Wemyss K, et al. Tissue-resident macrophages in the intestine are long lived and defined by Tim-4 and CD4 expression. [J Exp Med](#), 2018, 215: 1507–1518
 - 15 Zhang H, Xu A, Sun X, et al. Self-maintenance of cardiac resident reparative macrophages attenuates doxorubicin-induced cardiomyopathy through the SR-A1-c-Myc axis. [Circ Res](#), 2020, 127: 610–627
 - 16 Misharin A V, Morales-Nebreda L, Reyfman P A, et al. Monocyte-derived alveolar macrophages drive lung fibrosis and persist in the lung over the life span. [J Exp Med](#), 2017, 214: 2387–2404
 - 17 Hammond T R, Dufort C, Dissing-Olesen L, et al. Single-cell RNA sequencing of microglia throughout the mouse lifespan and in the injured brain reveals complex cell-state changes. [Immunity](#), 2019, 50: 253–271.e6
 - 18 Hulsmans M, Clauss S, Xiao L, et al. Macrophages facilitate electrical conduction in the heart. [Cell](#), 2017, 169: 510–522.e20
 - 19 Pinto A R, Paolicelli R, Salimova E, et al. An abundant tissue macrophage population in the adult murine heart with a distinct alternatively-activated macrophage profile. [PLoS ONE](#), 2012, 7: e36814
 - 20 Scudellari M. Ageing research: blood to blood. [Nature](#), 2015, 517: 426–429
 - 21 Bajpai G, Bredemeyer A, Li W, et al. Tissue resident CCR2[−] and CCR2⁺ cardiac macrophages differentially orchestrate monocyte recruitment and fate specification following myocardial injury. [Circ Res](#), 2019, 124: 263–278
 - 22 Abe H, Takeda N, Isagawa T, et al. Macrophage hypoxia signaling regulates cardiac fibrosis via Oncostatin M. [Nat Commun](#), 2019, 10: 2824
 - 23 Wang Z, Cui M, Shah A M, et al. Mechanistic basis of neonatal heart regeneration revealed by transcriptome and histone modification profiling. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2019, 116: 18455–18465
 - 24 Stremmel C, Schuchert R, Wagner F, et al. Yolk sac macrophage progenitors traffic to the embryo during defined stages of development. [Nat Commun](#), 2018, 9: 75
 - 25 Yona S, Kim K W, Wolf Y, et al. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. [Immunity](#), 2013, 38: 79–91
 - 26 Gautier E L, Jakubzick C, Randolph G J. Regulation of the migration and survival of monocyte subsets by chemokine receptors and its relevance to atherosclerosis. [Arterioscler Thromb Vasc Biol](#), 2009, 29: 1412–1418
 - 27 Patel A A, Zhang Y, Fullerton J N, et al. The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation. [J Exp Med](#), 2017, 214: 1913–1923
 - 28 Jakubzick C, Gautier E L, Gibbings S L, et al. Minimal differentiation of classical monocytes as they survey steady-state tissues and transport antigen to lymph nodes. [Immunity](#), 2013, 39: 599–610
 - 29 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: 666–670
 - 30 Carlin L M, Stamatides E G, Auffray C, et al. Nr4a1-dependent Ly6Clow monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal. [Cell](#), 2013, 153: 362–375

- 31 Williams J W, Randolph G J, Zinselmeyer B H. A polecat's view of patrolling monocytes. *Circ Res*, 2017, 120: 1699–1701
- 32 Hou X, Chen G, Bracamonte-Baran W, et al. The cardiac microenvironment instructs divergent monocyte fates and functions in myocarditis. *Cell Rep*, 2019, 28: 172–189.e7
- 33 Ensan S, Li A, Besla R, et al. Self-renewing resident arterial macrophages arise from embryonic CX3CR1⁺ precursors and circulating monocytes immediately after birth. *Nat Immunol*, 2016, 17: 159–168
- 34 Tabas I, Glass C K. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science*, 2013, 339: 166–172
- 35 Hotamisligil G S. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*, 2017, 542: 177–185
- 36 Ginhoux F, Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 392–404
- 37 Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas. *J Clin Invest*, 2012, 122: 787–795
- 38 Murray P J. Macrophage polarization. *Annu Rev Physiol*, 2017, 79: 541–566
- 39 Watanabe S, Alexander M, Misharin A V, et al. The role of macrophages in the resolution of inflammation. *J Clin Invest*, 2019, 129: 2619–2628
- 40 Yokoyama C, Wang X, Briggs M R, et al. SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell*, 1993, 75: 187–197
- 41 Moore K J, Sheedy F J, Fisher E A. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13: 709–721
- 42 Brown M S, Goldstein J L. Receptor-mediated endocytosis: insights from the lipoprotein receptor system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 3330–3337
- 43 Canton J, Neculai D, Grinstein S. Scavenger receptors in homeostasis and immunity. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13: 621–634
- 44 Kzhyshkowska J, Neyen C, Gordon S. Role of macrophage scavenger receptors in atherosclerosis. *Immunobiology*, 2012, 217: 492–502
- 45 Podrez E A, Febbraio M, Sheibani N, et al. Macrophage scavenger receptor CD36 is the major receptor for LDL modified by monocyte-generated reactive nitrogen species. *J Clin Invest*, 2000, 105: 1095–1108
- 46 Kume N, Murase T, Moriwaki H, et al. Inducible expression of lectin-like oxidized LDL receptor-I in vascular endothelial cells. *Circ Res*, 1998, 83: 322–327
- 47 Berliner J A, Territo M C, Sevanian A, et al. Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J Clin Invest*, 1990, 85: 1260–1266
- 48 Kodama T, Reddy P, Kishimoto C, et al. Purification and characterization of a bovine acetyl low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85: 9238–9242
- 49 Zhu X D, Zhuang Y, Ben J J, et al. Caveolae-dependent endocytosis is required for class A macrophage scavenger receptor-mediated apoptosis in macrophages. *J Biol Chem*, 2011, 286: 8231–8239
- 50 Kruth H S. Sequestration of aggregated low-density lipoproteins by macrophages. *Curr Opin Lipidol*, 2002, 13: 483–488
- 51 Maxfield F R, Tabas I. Role of cholesterol and lipid organization in disease. *Nature*, 2005, 438: 612–621
- 52 Wang Y, Subramanian M, Yurdagul Jr. A, et al. Mitochondrial fission promotes the continued clearance of apoptotic cells by macrophages. *Cell*, 2017, 171: 331–345.e22
- 53 Bäck M, Yurdagul Jr A, Tabas I, et al. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: mediators and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16: 389–406
- 54 Lemke G. How macrophages deal with death. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19: 539–549
- 55 Kasikara C, Doran A C, Cai B, et al. The role of non-resolving inflammation in atherosclerosis. *J Clin Invest*, 2018, 128: 2713–2723
- 56 Truman L A, Ford C A, Pasikowska M, et al. CX3CL1/fractalkine is released from apoptotic lymphocytes to stimulate macrophage chemotaxis. *Blood*, 2008, 112: 5026–5036
- 57 Gude D R, Alvarez S E, Paugh S W, et al. Apoptosis induces expression of sphingosine kinase 1 to release sphingosine-1-phosphate as a “come-and-get-me” signal. *FASEB J*, 2008, 22: 2629–2638
- 58 Mueller R B, Sheriff A, Gaip U S, et al. Attraction of phagocytes by apoptotic cells is mediated by lysophosphatidylcholine. *Autoimmunity*, 2007, 40: 342–344
- 59 Elliott M R, Ravichandran K S. The dynamics of apoptotic cell clearance. *Dev Cell*, 2016, 38: 147–160
- 60 Park D, Tosello-Tramont A C, Elliott M R, et al. BAI1 is an engulfment receptor for apoptotic cells upstream of the ELMO/Dock180/Rac module. *Nature*, 2007, 450: 430–434
- 61 Martinez J, Almendinger J, Oberst A, et al. Microtubule-associated protein 1 light chain 3 alpha (LC3)-associated phagocytosis is required for

- the efficient clearance of dead cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 17396–17401
- 62 Nicolás-Ávila J A, Lechuga-Vieco A V, Esteban-Martínez L, et al. A network of macrophages supports mitochondrial homeostasis in the heart. *Cell*, 2020, 183: 94–109.e23
- 63 Leid J, Carrelha J, Boukarabila H, et al. Primitive embryonic macrophages are required for coronary development and maturation. *Circ Res*, 2016, 118: 1498–1511
- 64 Godwin J W, Pinto A R, Rosenthal N A. Chasing the recipe for a pro-regenerative immune system. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 61: 71–79
- 65 Epelman S, Lavine K J, Beaudin A E, et al. Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation. *Immunity*, 2014, 40: 91–104
- 66 Epelman S, Lavine K J, Randolph G J. Origin and functions of tissue macrophages. *Immunity*, 2014, 41: 21–35
- 67 Lavine K J, Epelman S, Uchida K, et al. Distinct macrophage lineages contribute to disparate patterns of cardiac recovery and remodeling in the neonatal and adult heart. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 16029–16034
- 68 Li W, Hsiao H M, Higashikubo R, et al. Heart-resident CCR2⁺ macrophages promote neutrophil extravasation through TLR9/MyD88/CXCL5 signaling. *JCI Insight*, 2016, 1
- 69 Arthur J S C, Ley S C. Mitogen-activated protein kinases in innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13: 679–692
- 70 Taniguchi K, Karin M. NF- κ B, inflammation, immunity and cancer: coming of age. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18: 309–324
- 71 Glass C K, Natoli G. Molecular control of activation and priming in macrophages. *Nat Immunol*, 2016, 17: 26–33
- 72 Gong T, Liu L, Jiang W, et al. DAMP-sensing receptors in sterile inflammation and inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20: 95–112
- 73 Baker R G, Hayden M S, Ghosh S. NF- κ B, inflammation, and metabolic disease. *Cell Metab*, 2011, 13: 11–22
- 74 Tornatore L, Thotakura A K, Bennett J, et al. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation. *Trends Cell Biol*, 2012, 22: 557–566
- 75 Dainichi T, Matsumoto R, Mostafa A, et al. Immune control by TRAF6-mediated pathways of epithelial cells in the EIME (epithelial immune microenvironment). *Front Immunol*, 2019, 10: 1107
- 76 Weston C R, Davis R J. The JNK signal transduction pathway. *Curr Opin Cell Biol*, 2007, 19: 142–149
- 77 Ivashkiv L B, Donlin L T. Regulation of type I interferon responses. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 36–49
- 78 Yan Z, Gibson S A, Buckley J A, et al. Role of the JAK/STAT signaling pathway in regulation of innate immunity in neuroinflammatory diseases. *Clin Immunol*, 2018, 189: 4–13
- 79 Benveniste E N, Liu Y, McFarland B C, et al. Involvement of the janus kinase/signal transducer and activator of transcription signaling pathway in multiple sclerosis and the animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Interferon Cytokine Res*, 2014, 34: 577–588
- 80 Hu X, Herrero C, Li W P, et al. Sensitization of IFN- γ Jak-STAT signaling during macrophage activation. *Nat Immunol*, 2002, 3: 859–866
- 81 Czimmerer Z, Daniel B, Horvath A, et al. The transcription factor STAT6 mediates direct repression of inflammatory enhancers and limits activation of alternatively polarized macrophages. *Immunity*, 2018, 48: 75–90.e6
- 82 Corcoran S E, O'Neill L A J. HIF1 α and metabolic reprogramming in inflammation. *J Clin Invest*, 2016, 126: 3699–3707
- 83 Tannahill G M, Curtis A M, Adamik J, et al. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α . *Nature*, 2013, 496: 238–242
- 84 Haneklaus M, O'Neill L A J. NLRP3 at the interface of metabolism and inflammation. *Immunol Rev*, 2015, 265: 53–62
- 85 Baroja-Mazo A, Martín-Sánchez F, Gomez A I, et al. The NLRP3 inflammasome is released as a particulate danger signal that amplifies the inflammatory response. *Nat Immunol*, 2014, 15: 738–748
- 86 Broz P, Dixit V M. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16: 407–420
- 87 Guo H, Callaway J B, Ting J P Y. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med*, 2015, 21: 677–687
- 88 Kayagaki N, Stowe I B, Lee B L, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*, 2015, 526: 666–671
- 89 Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, 526: 660–665
- 90 Vergadi E, Ieronymaki E, Lyroni K, et al. Akt signaling pathway in macrophage activation and M1/M2 polarization. *Ji*, 2017, 198: 1006–1014
- 91 Linton M R F, Moslehi J J, Babaev V R. Akt signaling in macrophage polarization, survival, and atherosclerosis. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 2703
- 92 Fruman D A, Chiu H, Hopkins B D, et al. The PI3K pathway in human disease. *Cell*, 2017, 170: 605–635
- 93 Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*, 2010, 140: 805–820

- 94 El-Naccache D W, Haskó G, Gause W C. Early events triggering the initiation of a type 2 immune response. [Trends Immunol](#), 2021, 42: 151–164
- 95 Duewell P, Kono H, Rayner K J, et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. [Nature](#), 2010, 464: 1357–1361
- 96 Sheedy F J, Grebe A, Rayner K J, et al. CD36 coordinates NLRP3 inflammasome activation by facilitating intracellular nucleation of soluble ligands into particulate ligands in sterile inflammation. [Nat Immunol](#), 2013, 14: 812–820
- 97 Bae Y S, Lee J H, Choi S H, et al. Macrophages generate reactive oxygen species in response to minimally oxidized low-density lipoprotein: toll-like receptor 4-and spleen tyrosine kinase-dependent activation of NADPH oxidase 2. [Circ Res](#), 2009, 104: 210–218
- 98 Seimon T A, Nadolski M J, Liao X, et al. Atherogenic lipids and lipoproteins trigger CD36-TLR2-dependent apoptosis in macrophages undergoing endoplasmic reticulum stress. [Cell Metab](#), 2010, 12: 467–482
- 99 Gurung P, Lukens J R, Kanneganti T D. Mitochondria: diversity in the regulation of the NLRP3 inflammasome. [Trends Mol Med](#), 2015, 21: 193–201
- 100 Zhu X, Zong G, Zhu L, et al. Deletion of class A scavenger receptor deteriorates obesity-induced insulin resistance in adipose tissue. [Diabetes](#), 2014, 63: 562–577
- 101 Fujisaka S, Usui I, Ikutani M, et al. Adipose tissue hypoxia induces inflammatory M1 polarity of macrophages in an HIF-1 α -dependent and HIF-1 α -independent manner in obese mice. [Diabetologia](#), 2013, 56: 1403–1412
- 102 Snodgrass R G, Boß M, Zezina E, et al. Hypoxia potentiates palmitate-induced pro-inflammatory activation of primary human macrophages. [J Biol Chem](#), 2016, 291: 413–424
- 103 Mosser D M, Edwards J P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. [Nat Rev Immunol](#), 2008, 8: 958–969
- 104 Moore K J, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. [Cell](#), 2011, 145: 341–355
- 105 Frodermann V, Nahrendorf M. Macrophages and cardiovascular health. [Physiol Rev](#), 2018, 98: 2523–2569
- 106 Lee Y S, Wollam J, Olefsky J M. An integrated view of immunometabolism. [Cell](#), 2018, 172: 22–40
- 107 Zhu X, Wang Y, Zhu L, et al. Class A1 scavenger receptor prevents obesity-associated blood pressure elevation through suppressing overproduction of vascular endothelial growth factor B in macrophages. [Cardiovasc Res](#), 2021, 117: 547–560
- 108 Ying W, Riopel M, Bandyopadhyay G, et al. Adipose tissue macrophage-derived exosomal miRNAs can modulate *in vivo* and *in vitro* insulin sensitivity. [Cell](#), 2017, 171: 372–384.e12
- 109 O'Neill L A J, Kishton R J, Rathmell J. A guide to immunometabolism for immunologists. [Nat Rev Immunol](#), 2016, 16: 553–565
- 110 Pearce E L, Poffenberger M C, Chang C H, et al. Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function. [Science](#), 2013, 342: 1242454
- 111 Cramer T, Yamanishi Y, Clausen B E, et al. HIF-1 α is essential for myeloid cell-mediated inflammation. [Cell](#), 2003, 112: 645–657
- 112 Xie M, Yu Y, Kang R, et al. PKM2-dependent glycolysis promotes NLRP3 and AIM2 inflammasome activation. [Nat Commun](#), 2016, 7: 13280
- 113 Nagy C, Haschemi A. Time and demand are two critical dimensions of immunometabolism: the process of macrophage activation and the pentose phosphate pathway. [Front Immunol](#), 2015, 6: 164
- 114 O'Neill L A J. A broken krebs cycle in macrophages. [Immunity](#), 2015, 42: 393–394
- 115 Jha A K, Huang S C C, Sergushichev A, et al. Network integration of parallel metabolic and transcriptional data reveals metabolic modules that regulate macrophage polarization. [Immunity](#), 2015, 42: 419–430
- 116 Van den Bossche J, O'Neill L A, Menon D. Macrophage immunometabolism: where are we (going)? [Trends Immunol](#), 2017, 38: 395–406
- 117 Jin Z, Wei W, Yang M, et al. Mitochondrial complex I activity suppresses inflammation and enhances bone resorption by shifting macrophage-osteoclast polarization. [Cell Metab](#), 2014, 20: 483–498
- 118 Huang S C C, Smith A M, Everts B, et al. Metabolic reprogramming mediated by the mTORC2-IRF4 signaling axis is essential for macrophage alternative activation. [Immunity](#), 2016, 45: 817–830
- 119 Mehta M M, Weinberg S E, Chandel N S. Mitochondrial control of immunity: beyond ATP. [Nat Rev Immunol](#), 2017, 17: 608–620
- 120 Eming S A, Wynn T A, Martin P. Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. [Science](#), 2017, 356: 1026–1030
- 121 Selak M A, Armour S M, MacKenzie E D, et al. Succinate links TCA cycle dysfunction to oncogenesis by inhibiting HIF- α prolyl hydroxylase. [Cancer Cell](#), 2005, 7: 77–85
- 122 Lu G, Zhang R, Geng S, et al. Myeloid cell-derived inducible nitric oxide synthase suppresses M1 macrophage polarization. [Nat Commun](#),

2015, 6: 6676

- 123 Moore K J, Freeman M W. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26: 1702–1711
- 124 Zhu X, Owen J S, Wilson M D, et al. Macrophage ABCA1 reduces MyD88-dependent Toll-like receptor trafficking to lipid rafts by reduction of lipid raft cholesterol. *J Lipid Res*, 2010, 51: 3196–3206
- 125 Mogilenko D A, Orlov S V, Trulioff A S, et al. Endogenous apolipoprotein A-I stabilizes ATP-binding cassette transporter A1 and modulates Toll-like receptor 4 signaling in human macrophages. *FASEB J*, 2012, 26: 2019–2030
- 126 Yvan-Charvet L, Welch C, Pagler T A, et al. Increased inflammatory gene expression in ABC transporter-deficient macrophages: free cholesterol accumulation, increased signaling via toll-like receptors, and neutrophil infiltration of atherosclerotic lesions. *Circulation*, 2008, 118: 1837–1847
- 127 Jerome W G. Advanced atherosclerotic foam cell formation has features of an acquired lysosomal storage disorder. *Rejuvenat Res*, 2006, 9: 245–255
- 128 Yvan-Charvet L, Wang N, Tall A R. Role of HDL, ABCA1, and ABCG1 transporters in cholesterol efflux and immune responses. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30: 139–143
- 129 Spann N J, Garmire L X, McDonald J G, et al. Regulated accumulation of desmosterol integrates macrophage lipid metabolism and inflammatory responses. *Cell*, 2012, 151: 138–152
- 130 Calkin A C, Tontonoz P. Transcriptional integration of metabolism by the nuclear sterol-activated receptors LXR and FXR. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 213–224
- 131 Gordon S, Taylor P R. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5: 953–964
- 132 Khallou-Laschet J, Varthaman A, Fornasa G, et al. Macrophage plasticity in experimental atherosclerosis. *PLoS ONE*, 2010, 5: e8852
- 133 Shaikh S, Britten J, Lahiri R, et al. Macrophage subtypes in symptomatic carotid artery and femoral artery plaques. *Eur J Vascular Endovascular Surg*, 2012, 44: 491–497
- 134 Jenkins S J, Ruckerl D, Thomas G D, et al. IL-4 directly signals tissue-resident macrophages to proliferate beyond homeostatic levels controlled by CSF-1. *J Exp Med*, 2013, 210: 2477–2491
- 135 Kim K, Shim D, Lee J S, et al. Transcriptome analysis reveals nonfoamy rather than foamy plaque macrophages are proinflammatory in atherosclerotic murine models. *Circ Res*, 2018, 123: 1127–1142
- 136 Kavurma M M, Rayner K J, Karunakaran D. The walking dead: macrophage inflammation and death in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28: 91–98
- 137 Tait S W G, Ichim G, Green D R. Die another way—non-apoptotic mechanisms of cell death. *J Cell Sci*, 2014, 127: 2135–2144
- 138 Karunakaran D, Geoffrion M, Wei L, et al. Targeting macrophage necroptosis for therapeutic and diagnostic interventions in atherosclerosis. *Sci Adv*, 2016, 2: e1600224
- 139 Penalzoa C, Lin L, Lockshin R A, et al. Cell death in development: shaping the embryo. *Histochem Cell Biol*, 2006, 126: 149–158
- 140 Yurdagul Jr. A, Doran A C, Cai B, et al. Mechanisms and consequences of defective efferocytosis in atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med*, 2017, 4: 86
- 141 Ishibashi M, Hiasa K, Zhao Q, et al. Critical role of monocyte chemoattractant protein-1 receptor CCR2 on monocytes in hypertension-induced vascular inflammation and remodeling. *Circ Res*, 2004, 94: 1203–1210
- 142 Bautista L E, Vera L M, Arenas I A, et al. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- α) and essential hypertension. *J Hum Hypertens*, 2005, 19: 149–154
- 143 Wenzel P, Knorr M, Kossmann S, et al. Lysozyme M-positive monocytes mediate angiotensin II-induced arterial hypertension and vascular dysfunction. *Circulation*, 2011, 124: 1370–1381
- 144 Kossmann S, Hu H, Steven S, et al. Inflammatory monocytes determine endothelial nitric-oxide synthase uncoupling and nitro-oxidative stress induced by angiotensin II. *J Biol Chem*, 2014, 289: 27540–27550
- 145 Liao T D, Yang X P, Liu Y H, et al. Role of inflammation in the development of renal damage and dysfunction in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension*, 2008, 52: 256–263
- 146 De Ciuceis C, Amiri F, Brassard P, et al. Reduced vascular remodeling, endothelial dysfunction, and oxidative stress in resistance arteries of angiotensin II-infused macrophage colony-stimulating factor-deficient mice: evidence for a role in inflammation in angiotensin-induced vascular injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 2106–2113

- 147 Neumann P, Gertzberg N, Johnson A. TNF- α induces a decrease in eNOS promoter activity. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 286: L452–L459
- 148 Sriramula S, Haque M, Majid D S A, et al. Involvement of tumor necrosis factor- α in angiotensin II-mediated effects on salt appetite, hypertension, and cardiac hypertrophy. *Hypertension*, 2008, 51: 1345–1351
- 149 Nishida M, Fujinaka H, Matsusaka T, et al. Absence of angiotensin II type 1 receptor in bone marrow-derived cells is detrimental in the evolution of renal fibrosis. *J Clin Invest*, 2002, 110: 1859–1868
- 150 Zhang J, Patel M B, Griffiths R, et al. Type 1 angiotensin receptors on macrophages ameliorate IL-1 receptor-mediated kidney fibrosis. *J Clin Invest*, 2014, 124: 2198–2203
- 151 Omar A, Chatterjee T K, Tang Y, et al. Proinflammatory phenotype of perivascular adipocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34: 1631–1636
- 152 Graupera M, Claret M. Endothelial cells: new players in obesity and related metabolic disorders. *Trends Endocrinol Metab*, 2018, 29: 781–794
- 153 Molica F, Morel S, Kwak B, et al. Adipokines at the crossroad between obesity and cardiovascular disease. *Thromb Haemost*, 2015, 113: 553–566
- 154 Nahrendorf M, Swirski F K, Aikawa E, et al. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J Exp Med*, 2007, 204: 3037–3047
- 155 Sager H B, Heidt T, Hulsmans M, et al. Targeting interleukin-1 β reduces leukocyte production after acute myocardial infarction. *Circulation*, 2015, 132: 1880–1890
- 156 King K R, Aguirre A D, Ye Y X, et al. IRF3 and type I interferons fuel a fatal response to myocardial infarction. *Nat Med*, 2017, 23: 1481–1487
- 157 Howangyin K Y, Zlatanova I, Pinto C, et al. Myeloid-epithelial-reproductive receptor tyrosine kinase and milk fat globule epidermal growth factor 8 coordinately improve remodeling after myocardial infarction via local delivery of vascular endothelial growth factor. *Circulation*, 2016, 133: 826–839
- 158 Tsujita K, Kaikita K, Hayasaki T, et al. Targeted deletion of class A macrophage scavenger receptor increases the risk of cardiac rupture after experimental myocardial infarction. *Circulation*, 2007, 115: 1904–1911
- 159 Clemente-Casares X, Hosseinzadeh S, Barbu I, et al. A CD103⁺ conventional dendritic cell surveillance system prevents development of overt heart failure during subclinical viral myocarditis. *Immunity*, 2017, 47: 974–989.e8
- 160 Kobayashi M, Usui F, Karasawa T, et al. NLRP3 deficiency reduces macrophage interleukin-10 production and enhances the susceptibility to doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Sci Rep*, 2016, 6: 26489
- 161 Chen H S, Wang W, Wu S N, et al. Corticosteroids for viral myocarditis. *Cochrane Database Systatic Rev*, 2013, 2013: CD004471
- 162 Lu S, Zong C, Fan W, et al. Probing meiotic recombination and aneuploidy of single sperm cells by whole-genome sequencing. *Science*, 2012, 338: 1627–1630
- 163 Zong C, Lu S, Chapman A R, et al. Genome-wide detection of single-nucleotide and copy-number variations of a single human cell. *Science*, 2012, 338: 1622–1626
- 164 Zeng Y, He J, Bai Z, et al. Tracing the first hematopoietic stem cell generation in human embryo by single-cell RNA sequencing. *Cell Res*, 2019, 29: 881–894
- 165 Litviňuková M, Talavera-López C, Maatz H, et al. Cells of the adult human heart. *Nature*, 2020, 588: 466–472
- 166 Ren Z, Yu P, Li D, et al. Single-cell reconstruction of progression trajectory reveals intervention principles in pathological cardiac hypertrophy. *Circulation*, 2020, 141: 1704–1719
- 167 Ni S H, Xu J D, Sun S N, et al. Single-cell transcriptomic analyses of cardiac immune cells reveal that Rel-driven CD72-positive macrophages induce cardiomyocyte injury. *Cardiovasc Res*, 2021, doi: 10.1093/cvr/cvab193
- 168 Ridker P M, Everett B M, Pradhan A, et al. Low-dose methotrexate for the prevention of atherosclerotic events. *N Engl J Med*, 2019, 380: 752–762
- 169 O'Donoghue M L, Glaser R, Cavender M A, et al. Effect of losmapimod on cardiovascular outcomes in patients hospitalized with acute myocardial infarction. *JAMA*, 2016, 315: 1591–1599
- 170 Ridker P M, Everett B M, Thuren T, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *N Engl J Med*, 2017, 377: 1119–1131
- 171 Tardif J C, Kouz S, Waters D D, et al. Efficacy and safety of low-dose colchicine after myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2019, 381: 2497–

2505

- 172 Gardam M A, Keystone E C, Menzies R, et al. Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. *Lancet Infect Dis*, 2003, 3: 148–155
- 173 Yoshida S, Takeuchi T, Kotani T, et al. Infliximab, a TNF- α inhibitor, reduces 24-h ambulatory blood pressure in rheumatoid arthritis patients. *J Hum Hypertens*, 2014, 28: 165–169
- 174 Heidt T, Courties G, Dutta P, et al. Differential contribution of monocytes to heart macrophages in steady-state and after myocardial infarction. *Circ Res*, 2014, 115: 284–295
- 175 Dutta P, Hoyer F F, Grigoryeva L S, et al. Macrophages retain hematopoietic stem cells in the spleen via VCAM-1. *J Exp Med*, 2015, 212: 497–512
- 176 Horckmans M, Ring L, Duchene J, et al. Neutrophils orchestrate post-myocardial infarction healing by polarizing macrophages towards a reparative phenotype. *Eur Heart J*, 2017, 38: 187–197
- 177 Corsten M F, Schroen B, Heymans S. Inflammation in viral myocarditis: friend or foe? *Trends Mol Med*, 2012, 18: 426–437
- 178 Wu L, Ong S F, Talor M V, et al. Cardiac fibroblasts mediate IL-17A-driven inflammatory dilated cardiomyopathy. *J Exp Med*, 2014, 211: 1449–1464
- 179 Shen Y, Xu W, Chu Y W, et al. Coxsackievirus group B type 3 infection upregulates expression of monocyte chemoattractant protein 1 in cardiac myocytes, which leads to enhanced migration of mononuclear cells in viral myocarditis. *J Virol*, 2004, 78: 12548–12556

Macrophages in cardiovascular diseases

ZHANG HanWen^{1,2,3}, BEN JingJing^{1,2,3}, ZHU XuDong^{1,2,3} & CHEN Qi^{1,2,3}

1 Department of Pathophysiology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China;

2 Collaborative Innovation Center for Cardiovascular Disease Translational Medicine in Jiangsu Province, Nanjing 211166, China;

3 Key Laboratory of Targeted Intervention of Cardiovascular Diseases in Jiangsu Province, Nanjing 211166, China

Chronic low-grade inflammation plays a critical role in the progression of cardiovascular diseases. Precise regulation of inflammatory response has become a new therapeutic strategy for cardiovascular diseases. Among the immune cells involved in cardiovascular inflammation, macrophages appear firstly in organ development and dominate the trend of inflammation with the largest number. Despite a hundred years of intensive research on macrophages, their roles in cardiovascular homeostasis and diseases have not been fully elucidated due to their heterogeneity and extensive tissue residence. Macrophages exhibit diverse functions. For example, they show a pro-inflammatory or reparative characteristic in the disparate microenvironments or at different stages of the same disease. Therefore, further dissecting the heterogeneity of macrophages in cardiovascular inflammation is of great significance for understanding the pathogenesis and identification of new intervention targets in cardiovascular diseases. Based on the introduction of macrophages' biological characteristics, we review current achievements concerning their roles in healthy and diseased cardiovascular microenvironment to gain insight into the inflammatory mechanism of cardiovascular diseases.

atherosclerosis, pathological cardiac remodeling, macrophage, heterogeneity

doi: [10.1360/SSV-2021-0245](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0245)