

B 细胞在动脉粥样硬化中的作用

杨晨曦 徐迎佳

【摘要】 动脉粥样硬化是发生在大中动脉血管壁的慢性炎症反应。不同的 B 细胞亚群,通过分泌不同的抗体或细胞因子,在动脉粥样硬化的发展过程中发挥着不同作用。该文介绍了关于 B 细胞在动脉粥样硬化中的作用。

【关键词】 动脉粥样硬化;B 淋巴细胞;体液免疫

doi:10. 3969/j. issn. 1673-6583. 2016. 06. 011

动脉粥样硬化是由脂质沉积引起的大中动脉血管壁的慢性炎症反应,涉及免疫系统的多种成分。已有大量研究证实巨噬细胞与 T 细胞在粥样斑块形成和发展中的地位^[1]。氧化修饰的低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL)及其携带的氧化特异性抗原表位(oxidation-specific epitopes, OSE)可募集并激活巨噬细胞和辅助性 T 细胞 1(Th1 细胞),使局部炎症扩大化,导致粥样斑块进展^[2]。粥样斑块中 B 细胞数量很少,但在动脉粥样硬化血管外膜聚集了大量排列有序的 B 细胞,形成局部的三级淋巴组织,通过分泌抗体和细胞因子、抗原呈递等方式调节炎症反应,影响粥样斑块的发展。

1 B 细胞的分类

根据表面标志,B 细胞可主要分为 B1、B2 和边缘区 B 细胞(marginal zone B cell, MZB)三个亚群。B1 细胞又可分为 B1a(Mac1⁺ CD5⁺)、B1b(Mac1⁺ CD5⁻)和 B1c(Mac1⁻ CD5⁺)细胞,其中 B1c 细胞被认为是 B1a 和 B1b 细胞分化的早期阶段,B1a 细胞可进一步分化为先天反应活化(innate response activator, IRA)B 细胞^[2]。B1 和 B2 细胞的主要区别见表 1。

2 具有促粥样硬化效应的 B 细胞亚群

2.1 B2 细胞

Caligiuri 等^[3]和 Major 等^[4]的研究结果显示,B 细胞具有抗粥样硬化效应,但随后 Kyaw 等^[5]和 Ait-Oufella 等^[6]分别给予动脉粥样硬化动物模型 ApoE^{-/-}和 Ldlr^{-/-}小鼠抗 CD20 抗体,以去除小鼠

的 B 细胞,小鼠的粥样斑块面积明显减少,提示 B 细胞对粥样硬化有两种不同的效应。由于抗 CD20 抗体主要去除 B2 细胞而保留了大部分 B1a 细胞,有研究者推测促粥样硬化效应主要由 B2 细胞引起。Kyaw 等^[5]随后将 B2 细胞移植到淋巴细胞缺陷的 Rag2^{-/-} ApoE^{-/-}小鼠中,小鼠的粥样斑块面积增加了 72%。通过敲除 B 细胞活化因子受体(B-cell activating factor receptor, BAFFR)基因和使用抗 BAFFR 抗体选择性去除 ApoE^{-/-}小鼠的 B2 细胞,小鼠粥样斑块面积也出现减少^[7-8]。但 Doran 等^[9]将从 ApoE^{-/-}小鼠脾脏中分离的 B2 细胞移植到辐射后的 ApoE^{-/-}小鼠中时,却使小鼠粥样斑块面积明显减少,推测可能是不同实验移植的 B2 细胞数量和小鼠遗传背景差异造成的结论不同。

表 1 B1 和 B2 细胞的主要区别

	B1 细胞	B2 细胞
来源	胎肝造血干细胞	骨髓
表面标志	IgM ^{high} IgD ^{low} B220 ^{low} CD5 ⁺ CD1d ⁺	IgM ^{low} IgD ^{high} B220 ^{high} CD5 ⁻
主要分布	黏膜腔(胸腔、腹腔)	外周免疫器官
分泌 Ig 类型	IgM	各类 Ig
更新方式	自我更新	骨髓

B2 细胞是否通过分泌 IgG 抗体来影响动脉粥样硬化过程尚不明确。在实验动物和人类的粥样硬化区域都可发现抗 ox-LDL IgG 抗体。研究表明,患者血清抗 ox-LDL IgG 抗体滴度与心血管疾病的发生率呈正相关^[10]。然而向 ApoE^{-/-}小鼠注射重组抗 MDA-LDL(ox-LDL 的一种醛基修饰体) IgG 抗体可抑制粥样斑块的形成,提示抗 ox-LDL

作者单位:200030 上海交通大学附属胸科医院心内科
通信作者:徐迎佳,Email:lucy. yingjia@gmail. com

IgG 抗体没有促粥样硬化作用^[11]。

IgG 通过 Fc 段与特定免疫细胞的 Fc γ 受体 (Fc γ R) 结合起到免疫调控作用。其中 Fc γ R I、Fc γ R IIa 和 Fc γ R III 属于激活性受体,而 Fc γ R IIb 则属于抑制性受体。缺乏 Fc γ 链的 ApoE^{-/-} 小鼠不表达激活性 Fc γ R,其粥样硬化斑块面积、粥样硬化区域的 T 细胞和巨噬细胞的数量明显减少^[12]。CD16 敲除的 Ldlr^{-/-} 小鼠不表达 Fc γ R III,其粥样斑块面积也明显减少^[13];而敲除 Fc γ R IIb 的 ApoE^{-/-} 小鼠粥样硬化面积增加^[14]。这些研究提示不同类型的 Fc γ R 能够对粥样硬化产生不同影响,尚需明确 Fc γ R 效应是否是由 IgG 介导。

B2 细胞分泌的 IgE 抗体被认为具有促粥样硬化效应。研究发现心肌梗死和不稳定型心绞痛患者血清 IgE 水平明显升高^[15]。关于 IgE 在动脉粥样硬化中作用机制的研究主要来自于对其 Fc ϵ 受体 (Fc ϵ R) 的研究。Wang 等^[15]发现 Fc ϵ R1 α 敲除的 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化面积和斑块内巨噬细胞、T 细胞、凋亡细胞残骸、促炎症因子白介素 (IL)-6 等成分明显下降;体外实验显示,IgE 可通过结合 Fc ϵ R I 和 Toll-样受体 4 使巨噬细胞、平滑肌细胞和血管内皮细胞分泌细胞因子、趋化因子和蛋白酶等物质,并可通过增强 Na⁺/H⁺ 交换,降低细胞外 pH 值而诱导细胞凋亡。IgE 与肥大细胞的 Fc ϵ R I 结合时可使其脱颗粒,释放大促炎症因子如 IL-6 和 γ -干扰素 (IFN- γ),促进巨噬细胞摄取 ox-LDL。去除肥大细胞的 ApoE^{-/-} 小鼠粥样斑块面积明显减少^[16]。

Kyaw 等^[5]发现,去除 B2 细胞的 ApoE^{-/-} 小鼠粥样斑块区域的 T 细胞数量明显减少,提示 B2 细胞的促粥样硬化作用与 T 细胞的激活也有关系。

2.2 IRA B 细胞

IRA B 细胞是近期发现的一种 B 细胞亚群,表面标志为 B220⁺ MHC II⁺ CD19⁺ IgM⁺,能够大量分泌粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)。IRA B 细胞缺陷的 Ldlr^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化斑块面积明显减少,斑块内产生 IFN- γ 的 CD4⁺ T 细胞和抗 ox-LDL IgG2c 抗体也随之减少^[17]。在动脉粥样硬化发病过程中,IRA B 细胞在二级淋巴器官内由 B1a 细胞分化而来,分泌 GM-CSF 促进树突状细胞 (DC) 增殖,而 DC 可作为抗原提呈细胞激活 Th1 细胞^[18]。在动物实验中,GM-CSF 敲除的 Ldlr^{-/-} Csfl^{-/-} 小鼠斑块面积相对减少^[19]。而向

动脉粥样硬化小鼠体内注射 GM-CSF,斑块面积会扩大,同时刺激血管外膜增生^[20]。因此,IRA B 细胞通过分泌 GM-CSF 在固有免疫和适应性免疫之间起到桥梁作用,发挥促粥样硬化作用。

3 具有抗粥样硬化效应的 B 细胞亚群

B1 细胞尤其是 B1a 细胞通过分泌天然 IgM 抗体实现抗粥样硬化作用^[21]。Kyaw 等^[22]向脾切除的 ApoE^{-/-} 小鼠体内移植少量 B1a 细胞 (30 000 个细胞/只),其动脉粥样硬化面积显著减少,血清抗 ox-LDL IgM 抗体和斑块内 IgM 沉积随之增加;但当移植从分泌型 IgM (sIgM) 敲除小鼠中分离的 B1a 细胞时,却无上述的抗粥样硬化效应。在 B 细胞和 T 细胞缺陷的 ApoE^{-/-} 小鼠上证明了 B1b 细胞也存在类似效应^[23]。关于 IgM 的保护作用,Lewis 等^[24]发现,sIgM 敲除 Ldlr^{-/-} 小鼠在正常饮食或高脂饮食条件下都会较快产生粥样斑块,斑块内凋亡细胞的数量也明显增多。

在正常机体中,B1 细胞无需抗原刺激可分泌天然 IgM 抗体,以协助清除微生物或死亡细胞残骸。在动脉粥样硬化时,天然 IgM 抗体可特异性识别 OSE。ox-LDL、斑块内凋亡和坏死细胞大量携带 OSE (如磷脂酰胆碱)。OSE 刺激 B1 细胞的 Toll 样受体 4,经趋化因子受体 (CXCR) 5-趋化因子配体 (CXCL) 13 途径和 1-磷酸鞘氨醇 (S1P) 及其受体途径,使 B1a 细胞由胸腔和腹腔等部位转移并定植到粥样硬化血管外膜,分泌天然 IgM 抗体^[25]。其中,T15/E06 是研究较多的一种 IgM 抗体。E06 是由研究人员从 ApoE^{-/-} 小鼠中克隆出的可与小鼠 ox-LDL 结合的 IgM 抗体,通过对其轻链/重链的氨基酸序列分析发现,E06 与之前发现的小鼠抗肺炎链球菌天然 IgM 抗体——T15 有 100% 同源性^[26]。给 ApoE^{-/-} 小鼠注射 T15/E06 抗体,可使小鼠粥样斑块面积减少^[27]。T15/E06 可特异性识别 ox-LDL 上的磷脂酰胆碱,与其结合后,巨噬细胞的 CD36 和 SR-B1 受体将无法识别 ox-LDL,从而阻止了泡沫细胞的形成^[28]。T15/E06 还可识别凋亡细胞表面的磷脂酰胆碱,通过补体 C1q 依赖的巨噬细胞吞噬作用清除斑块内细胞残骸,避免局部炎症的持续^[29]。此外,T15/E06 与 OSE 的结合能有效阻断 OSE 对某些炎症细胞的刺激,减少促炎症因子分泌^[21]。

B1a 细胞还能分泌免疫调节因子 IL-10,抑制巨噬细胞分泌促炎症因子及抗原呈递功能。但研究

发现,IL-10 对 Ldlr^{-/-} 小鼠的动脉粥样硬化没有显著影响^[30]。

4 以 B 细胞为靶点的抗粥样硬化治疗

B 细胞及其分泌的抗体在许多自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮(SLE)和类风湿关节炎(RA)的发病过程中起到了重要作用。临床研究发现,这些患者出现动脉粥样硬化和缺血性心脏病的风险大大增加,而与患者的年龄、血脂和血压等因素无关^[31]。利妥昔单抗(抗 CD20 单抗)和贝利单抗通过去除患者体内异常 B 细胞,降低患者体内自身抗体的滴度,被用于治疗 SLE 和 RA。临床回顾性研究表明,SLE 患者使用利妥昔单抗 1 年后,其总胆固醇、三酰甘油和低密度脂蛋白胆固醇等指标有所改善^[32]。在动脉粥样硬化动物模型中,抗 CD20 抗体或抗 BAFFR 抗体都可使小鼠的粥样斑块面积明显缩小^[5,8],提示 B 细胞去除疗法有望成为动脉粥样硬化的治疗手段。其它药物如抗 CD19 单抗和抗 CD22 单抗等也在 SLE 和 RA 患者中进行了临床试验,但这些药物在动脉粥样硬化中的作用还有待研究。

5 结语

不同的 B 细胞亚群通过分泌不同类型的抗体及细胞因子,在动脉粥样硬化发病过程中发挥着不同作用。在 SLE 和 RA 等自身免疫性疾病患者中运用的 B 细胞去除疗法,对研究 B 细胞的抗粥样硬化治疗策略有借鉴意义。随着基础和临床研究的深入,B 细胞有望成为动脉粥样硬化的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Lichtman AH, Binder CJ, Tsimikas S, et al. Adaptive immunity in atherogenesis: new insights and therapeutic approaches[J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 27-36.
- [2] Melchers F. Checkpoints that control B cell development[J]. J Clin Invest. 2015, 125(6):2203-2210.
- [3] Caligiuri G, Nicoletti A, Poirier B, et al. Protective immunity against atherosclerosis carried by B cells of hypercholesterolemic mice[J]. J Clin Invest, 2002, 109(6): 745-753.
- [4] Major AS, Fazio S, Linton MF. B-lymphocyte deficiency increases atherosclerosis in LDL receptor-null mice [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002, 22(11):1892-1898.
- [5] Kyaw T, Tay C, Khan A, et al. Conventional B2 B cell depletion ameliorates whereas its adoptive transfer aggravates atherosclerosis[J]. J Immunol, 2010, 185(7):4410-4419.
- [6] Ait-Oufella H, Herbin O, Bouaziz JD, et al. B cell depletion reduces the development of atherosclerosis in mice[J]. J Exp Med, 2010, 207(8):1579-1587.
- [7] Kyaw T, Tay C, Hosseini H, et al. Depletion of B2 but not B1a B cells in BAFF receptor-deficient ApoE mice attenuates atherosclerosis by potentially ameliorating arterial inflammation [J]. PLoS One, 2012, 7(1):e29371.
- [8] Sage AP, Tsiantoulas D, Baker L, et al. BAFF receptor deficiency reduces the development of atherosclerosis in mice—brief report [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(7):1573-1576.
- [9] Doran AC, Lipinski MJ, Oldham SN, et al. B-cell aortic homing and atheroprotection depend on Id3 [J]. Circ Res, 2012, 110(1):e1-12.
- [10] Ravandi A, Boekholdt SM, Mallat Z, et al. Relationship of IgG and IgM autoantibodies and immune complexes to oxidized LDL with markers of oxidation and inflammation and cardiovascular events: results from the EPIC-Norfolk Study [J]. J Lipid Res, 2011, 52(10):1829-1836.
- [11] Hansson GK, Nilsson J. Vaccination against atherosclerosis? Induction of atheroprotective immunity [J]. Semin Immunopathol, 2009, 31(1):95-101.
- [12] Hernández-Vargas P, Ortiz-Muñoz G, López-Franco O, et al. Fcγ receptor deficiency confers protection against atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice [J]. Circ Res, 2006, 99(11):1188-1196.
- [13] Kelly JA, Griffin ME, Fava RA, et al. Inhibition of arterial lesion progression in CD16-deficient mice: evidence for altered immunity and the role of IL-10 [J]. Cardiovasc Res, 2010, 85(1):224-231.
- [14] Mendez-Fernandez YV, Stevenson BG, Diehl CJ, et al. The inhibitory FcγR II b modulates the inflammatory response and influences atherosclerosis in male apoE (-/-) mice [J]. Atherosclerosis, 2011, 214(1):73-80.
- [15] Wang J, Cheng X, Xiang MX, et al. IgE stimulates human and mouse arterial cell apoptosis and cytokine expression and promotes atherogenesis in Apoe^{-/-} mice [J]. J Clin Invest, 2011, 121(9):3564-3577.
- [16] Smith DD, Tan X, Raveendran VV, et al. Mast cell deficiency attenuates progression of atherosclerosis and hepatic steatosis in apolipoprotein E-null mice [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2012, 302(12):H2612-2621.
- [17] Hilgendorf I, Theurl I, Gerhardt LM, et al. Innate response activator B cells aggravate atherosclerosis by stimulating TH1 adaptive immunity [J]. Circulation, 2014, 129(16): 1677-1687.
- [18] Teichmann LL, Schenten D, Medzhitov R, et al. Signals via the adaptor MyD88 in B cells and DCs make distinct and synergistic contributions to immune activation and tissue damage in lupus [J]. Immunity, 2013, 38(3):528-540.
- [19] Shaposhnik Z, Wang X, Weinstein M, et al. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor regulates dendritic cell content of atherosclerotic lesions [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007, 27(3):621-627.
- [20] Haghighat A, Weiss D, Whalin MK, et al. Granulocyte

- colony-stimulating factor and granulocyte macrophage colony-stimulating factor exacerbate atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Circulation*, 2007, 115(15):2049-2054.
- [21] Kyaw T, Tipping P, Bobik A, et al. Protective role of natural IgM-producing B1a cells in atherosclerosis [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2012, 22(2):48-53.
- [22] Kyaw T, Tay C, Krishnamurthi S, et al. B1a B lymphocytes are atheroprotective by secreting natural IgM that increases IgM deposits and reduces necrotic cores in atherosclerotic lesions[J]. *Circ Res*, 2011, 109(8):830-840.
- [23] Rosenfeld SM, Perry HM, Gonen A, et al. B-1b cells secrete atheroprotective IgM and attenuate atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2015, 117(3):e28-39.
- [24] Lewis MJ, Malik TH, Ehrenstein MR, et al. Immunoglobulin M is required for protection against atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice[J]. *Circulation*, 2009, 120(5):417-426.
- [25] Lampropoulou V, Hoehlig K, Roch T, et al. TLR-activated B cells suppress T cell-mediated autoimmunity [J]. *J Immunol*, 2008, 180(7):4763-4773.
- [26] Chou MY, Hartvigsen K, Hansen LF, et al. Oxidation-specific epitopes are important targets of innate immunity[J]. *J Intern Med*, 2008, 263(5):479-488.
- [27] Faria-Neto JR, Chyu KY, Li X, et al. Passive immunization with monoclonal IgM antibodies against phosphorylcholine reduces accelerated vein graft atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice[J]. *Atherosclerosis*, 2006, 189(1): 83-90.
- [28] Boullier A, Gillotte KL, Hörmkö S, et al. The binding of oxidized low density lipoprotein to mouse CD36 is mediated in part by oxidized phospholipids that are associated with both the lipid and protein moieties of the lipoprotein[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(13): 9163-9169.
- [29] Ogden CA, Kowalewski R, Peng Y, et al. IgM is required for efficient complement mediated phagocytosis of apoptotic cells in vivo[J]. *Autoimmunity*, 2005, 38(4):259-264.
- [30] Sage AP, Nus M, Baker LL, et al. Regulatory B cell-specific interleukin-10 is dispensable for atherosclerosis development in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(8): 1770-1773.
- [31] Fernández-Nebro A, Rúa-Figueroa Í, López-Longo FJ, et al. Cardiovascular events in systemic lupus erythematosus: A Nationwide Study in Spain From the RELESSER Registry [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(29):e1183.
- [32] Pego-Reigosa JM, Lu TY, Fontanillo MF, et al. Long-term improvement of lipid profile in patients with refractory systemic lupus erythematosus treated with B-cell depletion therapy: a retrospective observational study [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2010, 49(4):691-696.

(收稿:2016-04-25 修回:2016-08-12)

(本文编辑:胡晓静)

《国际心血管病杂志》2017 年征订启事

《国际心血管病杂志》(原名:国外医学·心血管疾病分册)是中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、卫生系列高级职称评审核心期刊和华东地区优秀期刊。《国际心血管病杂志》设综述、基础研究、临床研究、经验交流、短篇论著、病例报告等栏目。办刊宗旨为:执行党和国家的卫生工作政策,贯彻理论与实践、普及与提高相结合的方针,及时反映国内外心血管领域临床、科研、防治工作的重大进展,促进国内外心血管领域学术交流,服务于心血管专业的中高级临床、教学和科研工作者。

《国际心血管病杂志》为双月刊,逢单月 25 日出版,大 16 开本,全国各地邮局订购,邮发代号 4-188。

定价 12.0 元/期,全年 72.0 元。编辑部常年接受个人邮购,免收邮费。

地址:200031,上海市建国西路 602 号《国际心血管病杂志》编辑部

电话:021-33262055

Email: xin_xg@aliyun.com