

• 综 述 •

巨噬细胞在动脉粥样硬化中的作用*

耿红莲 综述, 仲人前[△] 审校

(第二军医大学附属长征医院实验诊断科、全军临床免疫研究所, 上海 200003)

关键词: 巨噬细胞亚型; 动脉粥样硬化; 胞葬作用; 淋巴细胞抗原 6c**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.033**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2014)11-1451-03

心脑血管疾病的发病率、病死率日趋上升,动脉粥样硬化(AS)是其病理基础,对于 AS 的发病机制学说众多,目前认为 AS 是一种慢性免疫炎症性疾病,天然免疫和获得性免疫在 AS 的发生和发展中起重要作用。动脉粥样斑块的主要特征包括动脉壁脂质沉积和免疫细胞浸润,而巨噬细胞是首先侵入动脉粥样损伤的炎性细胞,并且是最终形成粥样斑块的主要成分。有关巨噬细胞在 AS 发生、发展各阶段的作用一直是学者们关注的焦点,现就在 AS 各个阶段巨噬细胞所发挥的核心作用,特别是在预测与巨噬细胞相关的心血管事件发生时炎性生物标志物的作用进行综述。

1 巨噬细胞亚型在 AS 各阶段发挥的作用

在 AS 发病初期,最显著的变化是血液循环中的单核细胞侵入动脉内膜和内膜下层,这一过程的活化和启动有研究认为是富含载脂蛋白 B 的脂蛋白在内皮下的聚集引起的^[1]。针对鼠的研究提示^[2],单核细胞有两种主要的亚型,主要是看淋巴细胞抗原 6c(Ly6c)的表达来鉴别, Ly6c 是主要表达于造血细胞的糖蛋白,是一种受 IFN- γ 调节的单核巨噬细胞分化抗原。这两种主要的单核细胞亚型一种是 Ly6c 高表达,一种是 Ly6c 低表达。Ly6c 高表达的单核细胞分化为 1 型巨噬细胞(M1),是典型途径活化的巨噬细胞,起到蛋白水解作用和细菌清除作用。Ly6c 低表达的单核细胞分化为 2 型巨噬细胞(M2),替代途径活化的巨噬细胞,主要是参与损伤修复和组织重建。这两种不同亚型的巨噬细胞分泌不同的细胞因子^[3-4]。M1 型巨噬细胞具有分泌大量促炎细胞因子的功能。M2 型细胞分泌包括 IL-10 和 TGF- β 在内的具有抑制炎症的细胞因子,提示替代激活型巨噬细胞能够削弱 M1 型细胞极化所带来的高炎症反应状态。与小鼠情况类似,人血中也存在不同亚型的单核巨噬细胞,但又不完全相同。人血中 CD14⁺CD16⁻CCR2⁺ 亚群与小鼠中 Ly6c 高表达细胞相近,健康个体血液中 85%~95% 是这一类型的巨噬细胞;而另一类相当于小鼠血中 Ly6c 低表达细胞——CD14^{low}CD16⁺CX3CR1⁺ 细胞水平相对较少。在人 AS 斑块组织中也存在 M1 和 M2 两种表型的巨噬细胞^[5],主要是在细胞胞葬和泡沫细胞形成过程中发挥作用。所谓胞葬指的是细胞生物学所描述的吞噬细胞将程序性死亡的凋亡细胞移除的过程,这一过程可以理解为埋葬凋亡的细胞,因而称“胞葬”。胞葬的用途是在死亡细胞的膜系统破裂并将其内容物释放到周围组织之前将其安全移除,这样可以保护周围组织免受凋亡细胞内部有毒的酶、氧化物等细胞内容物的损害。胞葬作用会触发细胞内下游的信号传导通路,产生抗炎、抗蛋白酶和促进生长等效果。而胞葬作用机制的受损则会带来疾病

和组织受损等问题。能够进行胞葬的细胞包括专职的巨噬细胞和树突状细胞,还包括上皮细胞、成纤维细胞等其他种类的细胞,它们会对凋亡细胞进行识别并执行胞葬作用。

最近研究的热点集中在巨噬细胞在动脉粥样斑块的异质性上,特别是 M1 和 M2 的比例变化^[6],有体外研究证实进展期的 AS 损伤存在经典激活的 M1 和替代激活的 M2 细胞比例失衡,但是对于现有研究并不能得出一个确切的结论。在早期动脉粥样损伤时含载脂蛋白 B 的脂蛋白在内皮下基质的聚集招引来单核细胞的聚集,这些单核细胞分化为巨噬细胞,吞噬脂质后形成泡沫细胞,最终导致凋亡。由于这一时期胞葬作用有效发挥功能,所以损伤不会发展为脂质粥样坏死核心,这一时期针对炎症的解决方案主要是减缓斑块的进展。有关巨噬细胞在 AS 早期损伤中的作用及其机制目前尚未完全阐述清楚。检测早期粥样损伤的巨噬细胞凋亡是非常困难的,主要是因为凋亡的细胞很快就被邻近的巨噬细胞吞噬清除掉,这一过程就是胞葬作用。在进展期 AS,巨噬细胞会导致斑块不稳定,纤维帽薄弱,脂质坏死核心形成,这些会导致进一步的促炎反应,并对斑块处的血管平滑肌细胞核内皮细胞以及白细胞发出凋亡信号^[7]。在进展期动脉粥样损伤处有很多细胞与巨噬细胞发生相互作用。在细胞因子的刺激诱导下,泡沫细胞在内膜下大量聚集并发生凋亡。胞葬作用不能正常发挥功能,凋亡细胞继而形成坏死细胞,最终导致坏死核心形成。巨噬细胞坏死和平滑肌细胞的凋亡导致胶原成分合成减少,使得纤维帽的胶原成分减少,最终触发斑块破裂和血栓形成。内质网应激会诱发巨噬细胞的大量凋亡和坏死核心形成。

值得注意的是,巨噬细胞凋亡本身并不会导致斑块坏死,斑块坏死和破裂只有在这些凋亡的细胞无法有效清除时才会发生。而在清除凋亡巨噬细胞中发挥重要功能的胞葬作用只有在早期动脉损伤处才能有效发挥作用,主要是通过 TGF- β 和 NF- κ B 的活化来启动机体的抗炎途径^[8],阻止细胞的坏死,清除凋亡细胞。然而胞葬作用在进展期 AS 时会失效,具体为什么会失效至今还未完全研究阐明。胞葬作用在进展期 AS 中无法发挥效应会直接导致无法发出抗炎信号^[9],加速粥样斑块的坏死和破裂。

2 巨噬细胞相关的炎症标志物

以上是单核巨噬细胞在 AS 各个阶段所发挥的功能以及巨噬细胞的最终命运,有些分子参与疾病发病的机制可能很明确,但是不一定能作为一个有效的诊断指标。与巨噬细胞相关的促炎和抗炎生物学标志物和 microRNAs 有很多种,这些炎症标志物和介质在 AS 发展的不同阶段释放,能够进入血液循

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30700762)。 作者简介:耿红莲,女,医师,主要从事临床免疫生化检验研究。 [△] 通讯作者, E-mail: hlgeng123@163.com。

环,影响 AS 患者的预后。下面分别阐述各个巨噬细胞相关的细胞因子作为生物标志物在 AS 中的作用。

首先是巨噬细胞分泌的细胞因子, TNF- α 被认为是促炎细胞因子产生的主要调节因子。巨噬细胞通过 TLR 介导产生 TNF- α , 并且通过 TNF 受体与 TNF- α 相互作用^[10]。IL-1 刺激白细胞黏附到内皮细胞引发巨噬细胞迁移, 最终导致 AS 炎症进程的缓慢进展^[11]。IL-12 是主要由斑块巨噬细胞产生的一个关键的 Th1 型细胞因子, 能够刺激 NK 细胞和 T 细胞的增殖分化。有研究表明 IL-18 通过增加 IFN- γ 的表达, 促进了 AS 的发展^[12]。冠心病患者血清中高浓度的 IL-18 可能引起心血管死亡。针对小鼠的研究证实, IL-10 在 AS 早期阶段具有保护作用, 并且 IL-10 促进进展期斑块的稳定性^[13]。但是 IL-10 并不是心血管疾病的预后标志物。引入 TGF- β 封闭抗体阻断或用可溶性 TGF- β 受体 II 处理会加速 AS 同时使斑块胶原水平显著下降^[14]。

在 AS 中还有一些由巨噬细胞产生的趋化因子及其受体在发挥作用。趋化因子受体 5 (CCR5) 虽然在正常的冠状动脉没有表达, 但是在动脉粥样损伤处可以检测到 CCR5 的免疫活性。相对于趋化因子受体来说, 其配体如 CCL3、CCL4、CCL5 等可能是 AS 生物学标志物更好的选择, 这是因为可以在外周血循环白细胞中检测到它们的 mRNA。特别是 CCL5 这一 CCR5 的配体在进展期动脉粥样斑块起着比较重要的作用^[15]。巨噬细胞游走抑制因子 (MIF) 通过调节脂质沉积、蛋白酶表达和内膜增厚来参与 AS。由于 MIF 能够在疾病的不同阶段较容易地在血浆或其他体液中检测到, 所以关于 MIF 作为一个生物学标志物在 AS 发生、发展各阶段中所发挥的不同作用是非常值得关注的研究领域。还有一类炎症调节酶类, 以基质金属蛋白酶 (MMP) 为代表, 参与粥样斑块纤维帽的薄弱化, 与对照组相比, 在急性冠脉综合征患者中 MMP-9 浓度可以增加 2~3 倍。

另外一大类在 AS 中与巨噬细胞相关的是炎症介质主要为 C 反应蛋白 (CRP) 和活性氧簇。CRP 是心血管事件的有效独立的风险预测因子, 但是其作用机制尚未阐明。有关 CRP 在心血管疾病中的作用, 各研究报道也不尽相同, 有些研究报道 CRP 有促炎效应, 如可调节内皮功能和白细胞活性, 可体外诱导人白细胞产生 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、CXCL1 和 CXCL8 等。但是也有研究报道 CRP 通过上调肝脏 X 受体- α 发挥抗炎效应, 并且 CRP 可与弱氧化修饰低密度脂蛋白结合阻止巨噬细胞形成泡沫细胞^[16]。另外一个关注度较高的炎性介质是超氧化物活性氧 (ROS), 即氧化还原反应产生的、在分子组成上含有氧的一类化学性质非常活泼的物质的总称, 包括超氧自由基、羟自由基和过氧化氢等。当活性氧的产生超过细胞抗氧化系统的清除能力, 导致氧化应激损伤脂质、细胞膜、蛋白质和 DNA。

除了上述细胞因子、趋化因子、炎性介质和酶类这些当下研究得较多的分子生物标志物外, 还有一类比较新的标志物, 就是 miRNA。miRNA 在心脏和血管疾病的发病机制中的作用, 提示 miRNA 作为潜在的心血管疾病的诊断标志物和/或治疗靶点的可能性。mir-125a-5p 介导脂质的吸收和减少一些炎性细胞因子的分泌。miR-33 可以调节肝细胞内高密度脂蛋白胆固醇的生物合成和细胞的胆固醇溢出^[17]。

3 小结与展望

巨噬细胞浸润和脂质沉积是粥样斑块形成的关键步骤, 针

对巨噬细胞及其亚型在 AS 中的作用机制研究对于 AS 的预测、诊断和治疗都非常重要。本文总结了巨噬细胞及其相关的一些生物学标志物在 AS 中的作用, 并提出将来的研究方向应着眼于巨噬细胞的异质性, 特别是特定分子生物标志物的差异表达以及 M1 和 M2 的比例变化, 巨噬细胞的异质性对 AS 形成有重要意义。另外值得关注的是一些细胞因子的作用, 这些细胞因子能够控制单核细胞分化成树突状细胞而不是巨噬细胞。

参考文献

- [1] Mestas J, Ley K. Monocyte-Endothelial cell interactions in the development of atherosclerosis[J]. Trends Cardiovasc Med, 2008, 18(6): 228-232.
- [2] Geissmann F, Jung S, Littman DR. Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties[J]. Immunity, 2003, 19(1): 71-82.
- [3] Paulson KE, Zhu SN, Chen M, et al. Resident intimal dendritic cells accumulate lipid and contribute to the initiation of atherosclerosis[J]. Circ Res, 2010, 106(2): 383-390.
- [4] Shaikh S, Brittenden J, Lahiri R, et al. Macrophage subtypes in symptomatic carotid artery and femoral artery plaques[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2012, 44(5): 491-497.
- [5] Johnson JL, Newby AC. Macrophage heterogeneity in atherosclerotic plaques[J]. Curr Opin Lipidol, 2009, 20(5): 370-378.
- [6] Mantovani A, Garlanda C, Locati M. Macrophage diversity and polarization in atherosclerosis a question of balance[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(10): 1419-1423.
- [7] Andrés V, Pello OM, Silvestre-Roig C. Macrophage proliferation and apoptosis in atherosclerosis[J]. Curr Opin Lipidol, 2012, 23(5): 429-438.
- [8] Korns D, Frasch SC, Fernandez-Boyanapalli R, et al. Modulation of macrophage efferocytosis in inflammation[J]. Front Immunol, 2011, 2: 57.
- [9] Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis[J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(1): 36-46.
- [10] Wesemann DR, Benveniste EN. STAT-1 α and IFN- γ as modulators of TNF- α signaling in macrophages: regulation and functional implications of the TNF receptor 1: STAT-1 α complex[J]. J Immunol, 2003, 171(10): 5313-5319.
- [11] Dinarello CA. A clinical perspective of IL-1 β as the gatekeeper of inflammation[J]. Eur J Immunol, 2011, 41(5): 1203-1217.
- [12] Pejnovic N, Vratimos A, Lee SH, et al. Increased atherosclerotic lesions and Th17 in interleukin-18 deficient apolipoprotein E-knockout mice fed high-fat diet[J]. Mol Immunol, 2009, 47(1): 37-45.
- [13] Caligiuri G, Rudling M, Ollivier V, et al. Interleukin-10 deficiency increases atherosclerosis, thrombosis, and low-density lipoproteins in apolipoprotein E knockout mice[J]. Mol Med, 2003, 9(1/2): 10-17.
- [14] Grainger DJ. TGF- β and atherosclerosis in man[J]. Cardiovasc Res, 2007, 74(2): 213-222.
- [15] Jones KL, Maguire JJ, Davenport AP. Chemokine receptor CCR5: from AIDS to atherosclerosis[J]. Br J Pharmacol, 2011, 162(7): 1453-1469.
- [16] Singh SK, Suresh MV, Prayther DC, et al. C-reactive protein-bound enzymatically modified low-density lipoprotein does not transform macrophages into foam cells[J]. J Immunol, 2008, 180

(6):4316-4322.

[J]. Science, 2010, 328(5985):1566-1569.

[17] Najafi-Shoushtari SH, Kristo F, Li Y, et al. MicroRNA-33 and the SREBP host genes cooperate to control cholesterol homeostasis

(收稿日期:2014-01-02)

• 综 述 •

IL-12 家族抗肿瘤作用的研究进展*

陈倩倩¹, 黎霏霏¹综述, 曾今诚^{2,3}, 徐军发^{2,3} 审校

(1. 广东医学院医学检验学院, 广东东莞 523808; 2. 广东医学院检验医学研究所, 广东东莞 523808;

3. 广东省医学分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808)

关键词: IL-12; IL-23; IL-27; IL-35; 肿瘤

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.034

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)11-1453-03

IL-12 家族是一类结构相似、共价结合的异二聚体细胞因子家族, 目前其主要成员包括 IL-12、IL-23、IL-27 和 IL-35。IL-12 由 p35 和 p40 两个亚基通过二硫键结合形成, 是细胞免疫应答过程中的关键调节因子, 在激活 NK 细胞、T 细胞, 并诱使其分泌大量 IFN- γ , 抑制肿瘤血管生成等方面具有重要的作用。IL-23 由 p40 和 p19 亚基以二硫键结合形成, 在抗肿瘤及抗自身免疫病中发挥着重要作用。IL-27 由 p28 和 EBI3 亚基通过二硫键结合形成, 在维持机体免疫系统的自身稳定、抗感染及抗肿瘤中起着重要的作用。IL-35 由 p35 和 EBI3 亚基通过二硫键结合形成, 在抑制效应 T 细胞增殖、Th17 细胞分化和 IL-17 的合成方面发挥重要作用。随着 IL-12 家族成员的丰富, IL-12 家族成员的功能研究也越来越深入, 近年来大量研究认为 IL-12 家族在肿瘤的发生、发展中具有至关重要的作用, 因此, 本文就 IL-12 家族与其抗肿瘤作用的研究作一综述。

1 IL-12 与肿瘤

IL-12 是由不同基因编码的 p35 与 p40 亚基的两条肽链以二硫键结合形成的异二聚体分子。两个亚基单独存在时没有生物学活性, 只有结合成异二聚体后才具有生物学活性。已证实 IL-12 主要参与细胞免疫, 能够与 NK 细胞、T 淋巴细胞等协同发挥抗肿瘤效应, 也能够通过自身或诱导其他细胞因子如 IFN- γ 发挥抗肿瘤作用。

IL-12 对肿瘤遗传高危个体及癌前病变有预防作用。Boggio 等^[1]用不同剂量 IL-12 治疗 HER2/neu 转基因鼠乳腺癌, 发现 IL-12 可抑制乳腺癌发生和防止癌前病变。国内学者成凤等^[2]发现人 IL-12 腺病毒载体感染肝癌细胞 Hep3B 后可抑制其增殖, 且下调 TGF- β 的表达。Minkis 等^[3]发现 IL-12 转染黑色素瘤患者树突状细胞后, 可抑制 IL-4 及 IL-5 的分泌, 从而增强 Th1 型淋巴细胞的分化, 实现对黑色素瘤细胞增殖的抑制作用。此外, IL-12 通过促进 Th1 细胞的分化、增加 IFN- γ 产生, 增强 NK 细胞杀伤活性, 参与细胞介导的免疫应答。IL-12 对多种肿瘤(结肠癌、黑色素瘤、卵巢癌等)的生长和转移具有明显的抑制作用。IL-12 可上调肿瘤组织内 NK 细胞活化性受体表达, 下调抑制性受体表达, 从而抑制肿瘤的生长^[4]。IL-12 能上调 NK 细胞 NKG2D 和穿孔素的表达以提高 NK 细胞的细胞毒作用^[5], 并诱导不成熟树突状细胞(DC)分化为成熟 DC, 后者可以与 NK 细胞一起协同发挥抗肿瘤效

应^[6]。IL-12 还可直接上调 NK 细胞表面 CD2、CD11a 和 CD56 等黏附分子表达, 从而增强 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤活性^[7]。

2 IL-23 与肿瘤

IL-23 是由 p40 和 p19 亚基以二硫键连接而成的异二聚体细胞因子。它在结构上与 IL-12 共用 p40 亚基, 在功能上与 IL-12 既有相似之处, 亦存在不同。IL-23 与 IL-12 均具有调节 DC 的功能^[8], 但 IL-12 在体外只选择性作用于 CD8⁻ DC, 而 IL-23 可作用于 CD8⁻ 和 CD8⁺ DC, 从而使 DC 递呈抗原的能力更强, 在激活和调节 T 细胞应答中起主要作用^[9]。

IL-23/Th17 细胞免疫轴是机体炎症免疫的重要组成部分。已经发现 IL-23/IL-23R 通路对维持 Th17 细胞表型稳定、促进其增殖以及细胞分泌等方面发挥重要作用^[10]。Th17 细胞在抗自身免疫病、抗感染、抗肿瘤免疫等方面具有重要作用, 而 IL-23 则可以诱导活化的 Th17 细胞分泌 IL-17, 并刺激 Th17 细胞增殖, 因此 IL-23 是维持 Th17 细胞增殖的必要细胞因子^[10]。有研究揭示 IL-23 可以阻止 CD8⁺ T 细胞浸润肿瘤组织, 从而导致肿瘤细胞逃避免疫监视^[11]。同时有研究证实^[12], Th17 细胞存活因子和 IL-23 在小鼠和人类乳腺癌肿瘤组织中高表达。另外, 研究发现, IL-27 在肝细胞癌^[13], 前列腺癌^[14] 和 HPV 相关肛门癌^[15] 组织中过度表达。

IL-23 具有抗肿瘤及抗肿瘤转移作用。用编码单链 IL-23 (scIL-23) 的重组逆转录病毒载体转染小鼠结肠腺癌 CT26 细胞, 发现 70% 的小鼠肿瘤消失, 进一步选择性缺失不同淋巴细胞亚群, 发现 CD8⁺ T 细胞在 IL-23 介导的抗肿瘤活性中起关键作用^[16]。此外, 已证实向小鼠体内转导 IL-23 还能显著减少结肠癌 CT26 细胞和黑色素瘤 B16F1 细胞的肺转移^[16]。

3 IL-27 与肿瘤

IL-27 是由螺旋亚基 p28 和 EB 病毒诱导基因 3 (Ebi3) 通过二硫键连接而成的异二聚体细胞因子。IL-27 主要来源于活化的单核细胞和 DC, 在星状细胞和小胶质神经细胞等巨噬细胞也表达^[17]。目前, 已有研究表明, 对于免疫原性高的肿瘤细胞(如 C26 细胞、TBJ 细胞等), IL-27 可通过促进 CTL、IFN- γ 活化来发挥抗肿瘤作用, 而对于免疫原性低的肿瘤细胞(如 B16F10 细胞)主要通过抑制血管形成作用和促进 NK 细胞增生、活化发挥抗肿瘤效应。IL-27 基因修饰的 DC 所分泌的 IL-

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81273237); 广东省科技计划项目(2012KJXC0059); 东莞市科技计划项目(20131051010006); 广东医学院大学生创新实验重点项目(ZZDC002)。 作者简介: 陈倩倩, 女, 在读本科生, 主要从事免疫学研究。