

# 核因子- $\kappa$ B 活化机制及其对粥样斑块细胞的作用

孙璐 综述, 韦立新 审校

(中国人民解放军总医院病理科, 北京 100853)

[主题词] 核因子- $\kappa$ B; 转录因子; 动脉粥样硬化

[摘要] 核因子- $\kappa$ B 是调节细胞基因转录的关键因子之一, 它参与了许多与炎症反应有关的基因的表达调控。动脉粥样硬化是一种炎症性疾病, 核因子- $\kappa$ B 存在于参与病变发展的多种细胞内, 与病变的发生和发展有关。本文就核因子- $\kappa$ B 的概况及其在动脉粥样硬化病变发生和发展中的作用做一综述。

[中图分类号] R543.5

[文献标识码] A

核因子- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B) 是调节细胞基因转录的关键因子之一, 它参与了许多与炎症反应有关的基因的表达调控。近年研究发现, 在动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 这种炎症-增殖性疾病的病变部位, 参与病变发生发展的平滑肌细胞 (smooth muscle cell, SMC)、内皮细胞 (endothelial cell, EC) 及巨噬细胞内有核因子- $\kappa$ B 的表达, 并且与细胞粘附、炎症趋化、细胞分化和细胞外基质降解等病变过程相关的基因的转录需要核因子- $\kappa$ B 的参与。由此, 核因子- $\kappa$ B 在 As 病变发生发展过程中发挥着重要作用。

## 1 核因子- $\kappa$ B 蛋白及其活化机制

### 1.1 核因子- $\kappa$ B 蛋白

核因子- $\kappa$ B 蛋白最初发现于 B 淋巴细胞, 它与免疫球蛋白的 kappa 轻链基因增强子的 B 位点结合, 调控免疫球蛋白 kappa 轻链的转录, 故命名为核因子- $\kappa$ B<sup>[1]</sup>。核因子- $\kappa$ B 的不同亚单位 [p65 (Rel A)、Rel ( $\epsilon$ -rel)、Rel B、p50、p52] 聚合形成同源或异源二聚体。这些不同的亚单位在结构和功能上具有共性, 它们的氨基末端均有大约 300 个氨基酸组成的结构域, 被认为是 Rel 的同源结构域 (rel homology domain)。该结构域包括三个区: 1) 富含特定氨基酸的核定位序列 (nuclear locator sequence), 该位点的暴露是核因子- $\kappa$ B 激活的必需条件; 2) DNA 结合区, 其作用是形成序列特异的口袋样结构与靶基因  $\kappa$ B 位点特异性结合; 3) 位于 Rel 同源结构域羧基末端大约 100 个碱基的二聚体化区, 其作用是聚合 2 个亚单位<sup>[2-4]</sup>。同时, 每个亚单位也有各自的特征性结构域, 使之能与不同序列的 DNA 结合, 进而调控不同基因的转录。许多情况下, 核因子- $\kappa$ B 以 p50/p65 的异源二聚体形式存在, 其中 p65 与 DNA 的 5'-GGGPaNNPyPyCC-3' 序列具有高亲和性, 使 p50/p65 能够调控相应基因的表达<sup>[2]</sup>。本综述中, 核因子- $\kappa$ B 指 p50/p65 的异源二聚体。

### 1.2 $\kappa$ B 抑制蛋白

[作者简介] 孙璐, 女, 1974 年出生, 中国人民解放军军医进修学院硕士研究生, 研究方向为心血管病理学。韦立新, 男, 1958 年出生, 中国人民解放军总医院病理科主任医师、教授、硕士研究生导师。

$\kappa$ B 抑制蛋白 (inhibitory  $\kappa$ B, I $\kappa$ B) 是核因子- $\kappa$ B 的抑制蛋白, 现有 6 种, 分别是 I $\kappa$ B $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\epsilon$ 、 $\delta$  和 bc1-3。I $\kappa$ Bs 的 ARD 区 (ankyrin repeat domain) 形成一轻度弯曲的圆柱状结构, 它能特异性地识别核因子- $\kappa$ B 的氨基酸残基, 从而与聚合的 p50/p65 结合。当 I $\kappa$ Bs 与 p65 亚单位结合时使 p65 的空间构象改变, 从而使与 DNA 结合的关键的氨基酸残基被隐蔽, 这样就抑制了核因子- $\kappa$ B 与靶 DNA 调节区的特异性结合<sup>[2,3]</sup>。

### 1.3 核因子- $\kappa$ B 的活化

近年, 核因子- $\kappa$ B 的活化机制正逐步明确。多种细胞内含有核因子- $\kappa$ B, 它们通常与 I $\kappa$ Bs 形成复合物, 以非活化形式存在于细胞浆中。只有在受到各种活化因素作用时, 才被激活并发挥作用。能激活核因子- $\kappa$ B 的因素很多, 包括应激性刺激、细菌粘多糖、病毒、氧自由基和多种细胞因子等, 它们激活核因子- $\kappa$ B 的机理各不相同<sup>[5,6]</sup>。不同的活化因素均可使 I $\kappa$ B 被 I $\kappa$ B 蛋白激酶磷酸化, 磷酸化的 I $\kappa$ B 被泛素化, 进一步被蛋白酶降解, 使核因子- $\kappa$ B 从核因子- $\kappa$ B-I $\kappa$ Bs 复合物中解离出来并转位于细胞核, 与相应的靶基因结合并诱导基因转录。但 I $\kappa$ Bs 在被降解后又迅速再合成, 并进入细胞核与核因子- $\kappa$ B 结合, 而核因子- $\kappa$ B-I $\kappa$ Bs 复合物的形成使核因子- $\kappa$ B 从其结合的 DNA $\kappa$ B 位点上脱离, 并重新转位于细胞浆, 由此实现核因子- $\kappa$ B 活化与失活的循环, 完成核因子- $\kappa$ B 作为一种核因子来调控基因转录的功能<sup>[3,7]</sup>。

## 2 核因子- $\kappa$ B 对动脉粥样硬化的作用

动脉粥样硬化 (As) 是一种炎症-增生性疾病。核因子- $\kappa$ B 通过调控与细胞粘附、炎症趋化、细胞增殖和细胞外基质降解等病变过程相关的多种基因的转录, 参与并促进了病变的发生发展。Brand 等<sup>[8]</sup>用电泳迁移率变动分析方法 (electrophoretic mobility shift assays, EMSA) 证实核因子- $\kappa$ B 以活化的形式存在于 As 病变处, 并且活化的核因子- $\kappa$ B 水平在病变组织明显高于无病变组织。该研究使用了一种名为  $\alpha$ -p65MAb 鼠单克隆抗体, 它拮抗 p65 的 I $\kappa$ B 结合位点。当 I $\kappa$ B 从核因子- $\kappa$ B 二聚体分离后  $\alpha$ -p65MAb 的识别表位才暴露。因此, 只有活化的核因子- $\kappa$ B 才能被  $\alpha$ -p65MAb 识别。对发生

As 的人体冠状动脉标本的组织学观察发现,纤维性增厚的内膜-中膜和粥样斑块内均可见活化的核因子- $\kappa$ B,而正常或无 As 发生的动脉未见活化的核因子- $\kappa$ B。这些活化的核因子- $\kappa$ B 存在于参与 As 病变发生发展的 SMC、EC、单核-巨噬细胞和 T 淋巴细胞。

### 2.1 核因子- $\kappa$ B 与内皮细胞

血管内皮细胞(EC)是 As 发病过程中最先被激活的细胞,并且 EC 的效应是通过包括核因子- $\kappa$ B 在内的转录因子的活化这一共同的细胞内机制来完成的<sup>[7]</sup>。组织学观察发现,As 早期和中晚期病变,在内皮层完整或部分损伤的情况下均可见活化的核因子- $\kappa$ B<sup>[8]</sup>。在培养的内皮细胞中,多种细胞粘附分子的表达受到核因子- $\kappa$ B 的调控,它们是内皮细胞粘附分子-1 (endothelial cell adhesion molecule-1, ELAM-1)、细胞间粘附分子-1 (intracellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和血管细胞粘附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)<sup>[9]</sup>。近期的研究表明:血管内皮受损后,VCAM-1、ELAM-1 的表达增强是继核因子- $\kappa$ B 活化后才出现的,干预核因子- $\kappa$ B 的活化可以抑制 VCAM-1 的表达<sup>[10,11]</sup>。由此,核因子- $\kappa$ B 通过调控细胞粘附分子的表达,参与了单核细胞浸润与迁移的全过程。核因子- $\kappa$ B 可能是 As 发生的始动机制之一。内皮细胞还可释放单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein, MCP-1),导致巨噬细胞向病变部位趋化。而编码 MCP-1 基因的表达同样受到核因子- $\kappa$ B 的调控<sup>[4]</sup>。最近发现,EC 产生的一氧化氮(nitric oxide, NO)可控制炎症基因产物的上调。生理浓度的 NO 抑制 MCP-1 的表达和减弱核因子- $\kappa$ B 的活性,可能是 NO 抗 As 发生的重要机制之一<sup>[12]</sup>。近年来,人们注意到:与急性冠状动脉综合征呈正相关的不稳定斑块内富含新生血管,这些新生血管通过上调细胞粘附分子表达,促使更多的炎细胞聚集于病变的内膜,炎细胞可以产生细胞因子,激活巨噬细胞和 SMC 并使其生成基质金属蛋白酶,从而降解基质、削弱纤维帽,导致斑块去稳定,从而引发一系列严重的临床后果<sup>[13,14]</sup>。上述过程中,活化的核因子- $\kappa$ B 可能通过上调新生血管 EC 的粘附分子表达,参与了斑块的去稳定过程。

### 2.2 核因子- $\kappa$ B 与平滑肌细胞

As 病变形成过程中,SMC 可从收缩表型向合成表型转变,促进 As 的发生发展<sup>[14]</sup>。合成表型的 SMC 具备成纤维细胞样特性,表达多种潜在的核因子- $\kappa$ B 靶基因,如编码巨噬细胞、粒细胞和粒细胞巨噬细胞集落刺激因子的基因<sup>[15]</sup>,从而促进病变内炎细胞的增殖。Bourcier 等<sup>[16]</sup>的研究指出,有血清培养的 SMC 具备核因子- $\kappa$ B 的基本活性,并且血小板源性生长因子可以使核因子- $\kappa$ B 保持低水平的持续活化状态,从而使 SMC 保持增殖活性;但无血清培养的 SMC 仍保留部分残存的核因子- $\kappa$ B 活性,后者可能是生长因子或白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)自分泌的结果;此外,暴露于炎性细胞因子或促有丝分裂因子的刺激可以增加 SMC 中核因子- $\kappa$ B 的活性,这是因为抑制性亚单位 I $\kappa$ B $\beta$  的持续减少所致。近期研究证实,核因子- $\kappa$ B 的激活是 SMC 的必经和始动环节。使用纯化的 I $\kappa$ B 蛋白或变异型核因子- $\kappa$ B 双链寡核苷酸技术干

预培养的 SMC,可明显抑制其增殖,提示核因子- $\kappa$ B 可能是未来 PTCA 术后再狭窄的新的干预目标<sup>[17]</sup>。

### 2.3 核因子- $\kappa$ B 与巨噬细胞

巨噬细胞参与 As 发生发展的全过程,具有识别 T 细胞抗原的功能,可清除血管壁积聚的有害物质<sup>[14]</sup>。巨噬细胞内活化的核因子- $\kappa$ B 可调控编码生长调节分子和细胞因子的基因表达,如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-1, 6, 8、组织因子(tissue factor, TF)和 ICAM-1。TNF- $\alpha$ 、IL-1 能够维持核因子- $\kappa$ B 的活化,是一种正反馈机制;TF 增加了血栓形成的机率<sup>[9,15]</sup>。研究发现:氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)短期培养的单核细胞激活核因子- $\kappa$ B,诱导靶基因 IL-8 表达。这是因为 ox-LDL 诱导核因子- $\kappa$ B 活化后,I $\kappa$ B $\alpha$  的水平在短暂的轻度升高后出现的完全消耗所致。与此相反,ox-LDL 长期培养的细胞可以防止脂多糖诱导的 I $\kappa$ B $\alpha$  的消耗,出现核因子- $\kappa$ B 活化、TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  基因表达的抑制。这些发现提示:核因子- $\kappa$ B 是 ox-LDL 促进 As 发生发展的重要机制之一<sup>[18]</sup>。巨噬细胞和淋巴细胞中,由于核因子- $\kappa$ B 抑制蛋白 I $\kappa$ B $\alpha$  的持续合成,核因子- $\kappa$ B 系统的活化是自限性的。这一自调节机制确保了核因子- $\kappa$ B 的短暂活化并抑制了受炎症(TNF- $\alpha$ 、IL-1)刺激的细胞中由靶基因表达的核因子- $\kappa$ B 介导的正反馈环<sup>[16]</sup>。

### 2.4 核因子- $\kappa$ B 与 T 细胞

核因子- $\kappa$ B 活化是 T 细胞对外源性刺激物的正常反应,As 病变处的部分 T 细胞可见其表达,但信号远弱于 SMC 和巨噬细胞的表达<sup>[8]</sup>。有研究指出,T 细胞内相对低水平的核因子- $\kappa$ B 多见于炎症区<sup>[19]</sup>。

## 3 结束语

核因子- $\kappa$ B 家族的转录因子在以慢性炎症和增殖性病变为特征的 As 中发挥着重要作用。深入研究这一复杂的调控系统在 As 病变发生发展中的作用特性及其相关机制有利于更好地认识和治疗 As。

## 参考文献

- [1] Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences [J]. *Cell*, 1986, **46**: 705-716
- [2] Gimr Pease ME, Whisler RL. Redox signals and NF- $\kappa$ B activation in T cells [J]. *Free Radical Biol & Med*, 1998, **25**: 346-361
- [3] 郭双平,王文亮,翟宇强. 核因子- $\kappa$ B 的研究进展 [J]. *中华病理学杂志*, 2000, **29**: 379-380
- [4] 李建军,李庚山. 核因子- $\kappa$ B 与冠心病的关系 [J]. *现代诊断与治疗*, 2000, **4**: 212-214
- [5] Miller SA, Selzman CH, Shames BD, et al. Chlamydia pneumoniae activates nuclear factor kappaB and activator protein 1 in human vascular smooth muscle and induces cellular proliferation [J]. *J Surg Res*, 2000, **90**: 76-81
- [6] Wilson SH, Caplice NM, Simari RD, et al. Activated nuclear factor-kappa B is present in the coronary vasculature in experimental hypercholesterolemia [J]. *Atherosclerosis*, 2000, **148**: 23-30
- [7] Baeuerle PA. I $\kappa$ B-NF- $\kappa$ B structures: at the interface of inflammation

- tion control [J]. *Cell*, 1998, **95**: 729-731
- [ 8 ] Brand K, Page S, Rogler G, et al. Activated transcription factor NF-kappa B is present in the atherosclerotic lesion [J]. *J Clin Invest*, 1996, **97**: 1 715- 722
- [ 9 ] Collins T. Endothelial nuclear factor-kB and the initiation of the atherosclerotic lesions [J]. *Lab Invest*, 1993, **68**: 499- 508
- [ 10 ] Lindner V, Collins T. Expression of NF-kB and IKB- $\alpha$  by aortic endothelium in a arterial injury model [J]. *Am J Pathol*, 1996, **148**: 472
- [ 11 ] Pueyo ME, Gonzalez W, Nicoletti A, et al. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappa B activation induced by intracellular oxidative stress [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20**: 645- 651
- [ 12 ] de Cataerina R, Libby P, Peng HB, et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial cell activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial cell activation expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines [J]. *J Clin Invest*, 1995, **96**: 60- 68
- [ 13 ] de Boer OJ, van der Wal AC, Teeling P, et al. Leucocyte recruitment in rupture prone regions of lipid-rich plaques: a prominent role for neovascularization [J]. *Cardiovas Res*, 1999, **41**: 443- 449
- [ 14 ] Ross R. Atherosclerosis —an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, **340**: 115- 126
- [ 15 ] Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kB in the immune system [J]. *Ann Rev Immunol*, 1994, **12**: 141- 179
- [ 16 ] Bourcier T, Sukhona G, Libby P. The nuclear factor-kB signaling pathway participates in dysregulation of vascular smooth muscle cells in vitro and in human atherosclerosis [J]. *J Biol Chem*, 1997, **272**: 15 817- 824
- [ 17 ] Morishita R, Sugimoto T, Aoki M, et al. In vivo transfection of cis element "decoy" against nuclear factor-kB binding site prevents myocardial infarction [J]. *Nat Med*, 1997, **3**: 894- 899
- [ 18 ] Brand K, Eisele T, Kreusel U, et al. Dysregulation of monocytic nuclear factor-kB by oxidized low-density lipoprotein [J]. *Arterioscler, Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 1 901- 909
- [ 19 ] Kalschmidt C, Kalsmidt B, Lannes-Vieira J, et al. Transcription factor NF-kB is activated in microglia during experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neuroimmunol*, 1994, **55**: 99- 106
- (此文 2001- 02- 10 收到, 2001- 05- 28 修回)
- (此文编辑 胡必利)