

肺炎衣原体感染致动脉粥样硬化的发病机制

刘漪沦 综述, 王树人 审校

(四川大学华西基础医学与法医学院病理生理学教研室, 四川省成都市 610041)

[关键词] 病理学与病理生理学: 肺炎衣原体的致动脉粥样硬化作用: 综述: 动脉粥样硬化/发病机制

[摘要] 肺炎衣原体具有感染动脉的能力和途径; 体外细胞培养和动物实验证实: 在动脉粥样硬化形成的各阶段, 肺炎衣原体与靶细胞相互作用, 促进动脉粥样硬化的发生与发展, 加速其进程; 肺炎衣原体感染的兔模型能够发生动脉粥样硬化的病理变化; 抗生素的干预具有抑制动脉粥样硬化形成的作用; 基因多态性与基因突变影响个体对肺炎衣原体的易感性。

[中图分类号] R374.3

[文献标识码] A

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)引起冠心病、脑卒中、腹主动脉瘤和外周血管疾病等, 其中冠心病、脑卒中居全球各类死亡原因之首位。遗憾的是, As 的发病机制至今尚未明确, 因而其预防和控制缺乏直接有效的手段。近十年来, 感染性因素作为 As 危险因子被提出, 给人们提供了一条新的思路。其中, 有关肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*, Cpn)的研究受到人们广泛的关注, 并推测 Cpn 可能作为一种损伤因素促发人类心血管系统的炎症反应。近年来, 大量的血清流行病学^[1,2]、组织病理学^[3,5]、体外细胞培养的证据和动物模型的研究提示 Cpn 感染与 As 和冠心病^[6,7]密切相关, Cpn 致 As 作用机制的研究取得了一些进展^[8], 以下主要从发病机制的角度, 对 Cpn 感染与 As 的关系作一综述。

1 肺炎衣原体的病原学特点及感染心血管组织的途径

肺炎衣原体(Cpn)是一种细胞内寄生的革兰氏染色阴性的微生物, 目前仅发现一种血清型即 TWAR 株。经过 DNA 分子指纹分析, 它与鹦鹉热衣原体、沙眼衣原体的 DNA 同源性不足 10%, 而不同来源的 TWAR 株则有 90% 以上的 DNA 同源性。Cpn 在人群中感染较为普遍, 临床上 6%~10% 的肺炎是由其感染所致, 大多数感染者呈亚临床经过。有人曾经在 234 名健康者中的 11 人咽部培养出 Cpn^[9]。首次感染以 IgM 抗体升高为主, IgG 抗体出现较迟, IgA 抗体呈低水平表达。继发感染则很难检出 IgM 抗体。在 20 岁以上年龄组的人群中, Cpn 特异抗体的检出率达到 50%, 这种检出率随着年龄的增加而上升, 并且, 男性的抗体检出率高于女性。

肺炎衣原体(Cpn)经呼吸道感染后, 被巨噬细胞吞噬并在其中生长和增殖。由于肺部的解剖生理特点, Cpn 可以被

巨噬细胞所携带进入血流。体外研究表明: Cpn 能够感染人内皮细胞、血管平滑肌细胞和单核细胞^[10,11]。Gaydos 等^[12]用人 U-937 巨噬细胞作为 Cpn 的载体, 能够在体外感染以下这些人类细胞: 支气管肺泡灌洗巨噬细胞, 外周血单核细胞衍生的巨噬细胞、主动脉内皮细胞、肺动脉内皮细胞、主动脉平滑肌细胞和冠状动脉内皮细胞等。在冠心病患者血清中, 有研究者发现了 Cpn DNA, 并且其检出率高于正常对照组^[13]; Maass 等^[14]在冠心病患者外周血单核细胞中证实了 Cpn 的存在, 进一步印证了体外研究的成果。这些研究表明: 由巨噬细胞携带的 Cpn 可以经血流到达其心血管靶部位, 感染靶细胞并增殖。

2 肺炎衣原体的致动脉粥样硬化作用

体外研究证实: Cpn 能够通过多种机制促进单核细胞、血管平滑肌细胞等迁入动脉内膜、增殖分化, 并促进泡沫细胞的形成^[15-17], 而后者是 As 的特征性病理改变。Cpn 的产物衣原体脂多糖(*Chlamydia lipopolysaccharide*, cLPS)及衣原体热休克蛋白 60 (*Chlamydia heat shock protein 60*, cHSP60)能够引起动脉内膜的免疫损伤^[18], 促进低密度脂蛋白的氧化, 协同促进 As 的形成。同时, 动脉粥样斑块的不稳定性与 Cpn 感染也密切相关, 研究显示 Cpn 能降低斑块的稳定性^[19], 诱发冠脉急性事件的发生。可见, Cpn 感染在 As 的起始和发展过程均发挥作用。动物模型的研究发现: 兔呼吸系统感染 Cpn 能够导致其心血管系统发生 As 的早期变化; 另外, 早期给予阿齐霉素治疗能够抑制 As 的形成^[20]。Muhlestein 等^[21]将新西兰白兔分为 Cpn 接种组(感染组), Cpn 感染加阿齐霉素治疗组(治疗组)和盐水接种组(对照组), 以胸主动脉最大内膜厚度(maximum intimal thickness, MIT)、受累管腔周径百分数、斑块面积指数来评价 As 程度。结果表明 Cpn 感染后能加速 As 的进程, 而阿齐霉素可有效地防止这种加速过程。

3 致病机制

血液中的单核细胞向血管内膜的迁移和分化, 是 Cpn 影响 As 形成的第一步, 也是关键的一步。Kalayoglu 等^[22]的研

[收稿日期] 2003-01-13

[修回日期] 2003-11-13

[作者简介] 刘漪沦, 病理生理学硕士研究生, 研究方向为心血管病理生理学, 联系方式有三: 手机号码为 13882157420; 实验室电话号码为 028-85501271; E-mail 为 liliang0717@sina.com。王树人, 病理生理学教授, 博士研究生导师, 教研室主任, 主要从事心血管病理生理学研究。

究证实: Cpn 的感染能够提高单核细胞对人主动脉内皮细胞的黏附能力, 从而提高单核细胞在血管壁低切应力部位的滞留时间, 促进其迁入血管内膜; 感染后的单核细胞对主动脉内皮细胞的黏附性, 随着时间和衣原体数量的增加而增强。这种黏附性的提高可能是由 cLPS 等热稳定抗原所介导, 因为对 Cpn 施以加热的预处理, 未能影响它提高单核细胞黏附性的能力; 而单独以 cLPS 处理的单核细胞有效地提高了黏附性; 同时, cLPS 拮抗剂脂质体 X 能够抑制 cLPS 或衣原体的这种提高单核细胞黏附性的能力; 用人 B2 整合素特异性单克隆抗体孵育单核细胞, 也能起到相同的作用。

单核细胞迁入内膜的过程受到多因素的影响, 其中单核细胞趋化蛋白对单核细胞有很强的趋化活性, 而 Cpn 能够诱导内皮细胞分泌这种蛋白。单核细胞进入动脉内膜后, 暴露于 Cpn 及其诱导产生的与 As 密切相关的细胞因子、化学趋化因子和生长因子的环境中^[11]。在这些物质的作用下, 单核细胞受到激活并且能够分化成为巨噬细胞。Yamaguchi 等^[15]用 Cpn 感染单核细胞, 然后通过细胞形态学、吞噬活性和细胞表面黏附分子的表达等指标判断其分化程度, 发现 Cpn 的感染能直接诱导单核细胞分化为巨噬细胞。

研究证实, 在具备低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 的条件下, Cpn 能够导致巨噬细胞泡沫化, cLPS 在上述过程中起到决定性作用^[16]; Cpn 的另一个成分 cHSP60, 在巨噬细胞存在的条件下, 促进 LDL 的氧化成为氧化型 LDL。有人认为, Cpn 触发 As 是通过其特异的毒性决定簇而引起, 毒性决定簇通过信号传导, 将信息传递给吞噬细胞, 使之调整脂蛋白的摄取与修饰^[23]。

血管平滑肌细胞的增殖和内膜增厚是 As 病理学的特点, 而 Cpn 可通过对平滑肌细胞的生物学作用促进 As 的发生发展。Coombe 等^[24]在体外内皮细胞培养和正常胆固醇水平的兔模型研究中发现, 感染 Cpn 的内皮细胞能够诱导血小板源生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)-B mRNA 的表达。在该实验中, 感染 Cpn 兔的 MIT 显著高于对照组, MIT 与主动脉组织中 Cpn 抗原和 PDGF-B 的水平呈正相关, 而 Cpn 抗原与 PDGF-B 存在呈独立相关关系。已知 PDGF 可趋化血管中膜平滑肌细胞, 使之迁入内膜, 并由收缩表型转变为合成表型, 大量增殖并分泌胶原、弹力纤维、蛋白多糖等基质成分。因此可以推测, Cpn 诱导平滑肌迁移、增殖、分化与动脉内膜增厚的作用, 可能是由 PDGF-B 所介导。Miller 等^[22]的研究表明, 在感染 Cpn 后的血管平滑肌细胞内, 增殖信号被激活, 刺激细胞生长; 同时核因子 (nuclear factor, NF)- κ B 和激活蛋白 1 的结合活性显著升高。

血管内皮细胞感染 Cpn 后, 核因子 κ B p50/p60 异二聚体表达增强, 并降解抑制蛋白 I κ B。核因子 κ B 通过信号转导, 引发一系列级联反应, 促进多种组织因子、趋化因子、生长因子、促凝因子和黏附分子等的表达^[11]。这些物质的大量表达会造成局部血管 EC 损伤、内皮细胞间隙增宽, 促进单核细胞的迁移和分化、促进血管平滑肌细胞的增殖和泡沫细胞的形成, 从而促进 As 的发生发展。Molestina 等^[26]等的研究证实了核因子 κ B 的上述作用, 并且发现: 单核细胞趋化蛋白

的基因表达需要核因子 κ B 的激活。

肺炎衣原体 (Cpn) 在感染细胞时能大量表达 cHSP60, 引起机体免疫反应, 产生抗 cHSP60 抗体; 同时 cLPS 又可诱导内皮细胞表达人热休克蛋白 60 (hHSP60), 而 cHSP60 与 hHSP60 具有高度的同源性, 从而引发自身免疫反应, 通过补体途径及抗体依赖细胞毒性作用损伤内皮细胞^[18]。Prasad 等^[27]发现, 抗病原体抗体是内皮细胞功能障碍和 As 疾病独立的危险因素; 内皮细胞功能障碍为病原体促进粥样硬化的发生提供了联系。

4 争议与展望

目前, 尽管有大量的证据表明 Cpn 感染是 As 形成的重要因素, 但同时也存在不支持此观点的研究结果。一些研究显示: As 患者粥样斑块中 Cpn 的检出率并不高于正常对照, 甚至未能检出 Cpn^[28-30]。这些研究结果与前述引用的证据就发生了冲突。值得欣喜的是, 近期一篇关于 CD14 基因多态性的报道^[31], 或许能够帮助人们理解这种相矛盾的现象, 并进一步了解 Cpn 的致病作用。CD14 是 Cpn 感染的主要识别受体之一, 主要表达于单核细胞、巨噬细胞等细胞膜上, 也存在可溶性的 CD14; 它与 cLPS 结合后激发宿主的免疫防御机制, 释放炎症因子, 上调共刺激分子的表达; CD14 启动子基因位点-260 处的碱基存在 C \rightarrow T 的多态性, 即存在 CC、CT、TT 三种基因型, 随着该位点 T 的增多, CD14 的表达增强。该研究发现: 在 315 例中国台湾地区健康人中, 三种基因型携带者 Cpn 的血清阳性率分别为 59.5%、64.9% 和 78.3%。此结果表明: 不同基因型的机体对 Cpn 感染的敏感性也不同, C \rightarrow T 的改变增加了机体对 Cpn 易感性。在此之前的调查显示, 中国台湾地区和日本人 T 等位基因的分布频数要高于白种人群^[32-35]。另外, Agnese 等^[36]的研究提示: 革兰氏阴性微生物感染的风险不仅与 CD14 多态性有关, 还与其他基因变化有关, 例如 Toll 样受体的突变等等。籍此可以推测: 这种基因的多态性与突变, 有可能导致不同遗传背景的人群 Cpn 感染率的不同, 从而导致上述引起争议的研究结果。循着这个方向, 将有可能帮助我们找到 Cpn 致病的确切答案。

总之, Cpn 感染与 As 密切相关。Cpn 有感染动脉的能力和途径; 在 As 形成的各阶段, 能够与靶细胞相互作用, 促进 As 的发生发展, 加速 As 的进程。然而, Cpn 影响 As 的详细致病机制仍未完善, 体外实验和动物模型不能完全反映人体内的情况, Cpn 与 As 之间是否存在因果关系还难以确定。所幸的是, 已经有几项大规模的流行病学干预实验正在进行当中, 有关遗传易感性的研究也有可能带来新的突破, 相信离揭开 Cpn 与 As 之谜为时不远。

[参考文献]

- [1] O' Neill C, Murray LJ, Ong GM, O' Reilly DP, Evans AE, Bamford KB. Epidemiology of Chlamydia pneumoniae infection in a randomly selected population in a developed country. *Epidemiol Infect*, 1999, **122**: 111-116
- [2] Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet*, 1997, **350**: 430-436
- [3] Davidson M, Kuo CC, Middaugh JP, Campbell LA, Wang SP, Newman WP 3rd, et al. Confirmed previous infection with Chlamydia pneumoniae (TWAR) and its

- presence in early coronary atherosclerosis. *Circulation*, 1998, **98**: 628-633
- [4] Walski M, Lazowski T, Szostek M, Opolski G, Celary-Walska R, Ardruszkiewicz P, et al. Electron microscope investigation of the role of Chlamydia sp. in the process of rebuilding the arterial wall. Neovascularization in atherosclerotic plaques in human cervical artery walls. *Med Sci Monit*, 2002, **8**: 30-38
 - [5] Subramanian AK, Quinn TC, Kickler TS, Kasper EK, Tucker PC. Correlation of chlamydia pneumoniae infection and severity of accelerated graft arteriosclerosis after cardiac transplantation. *Transplantation*, 2002, **73**: 761-764
 - [6] 张大庆. 肺炎衣原体与冠心病的关系. 中国动脉硬化杂志, 2002, **10**: 274-276
 - [7] 金俊飞. 肺炎衣原体与动脉粥样硬化. 中国动脉硬化杂志, 1998, **6**: 275-278
 - [8] 罗显荣, 宁波, 王琳, 叶小群, 伍伟玲, 程治增. 冠心病患者血清肺炎衣原体特异性抗体的测定. 中国动脉硬化杂志, 2000, **8**: 260-262
 - [9] Kuvn JT, Kimmelsiel CD. Infectious causes of atherosclerosis. *Am Heart J*, 1999, **137**: 216-226
 - [10] Godzik KL, O'Brien ER, Wang SK, Kuo CC. In vitro susceptibility of human vascular wall cells to infection with Chlamydia pneumoniae. *J Clin Microbiol*, 1995, **33**: 2 411-414
 - [11] Dechend R, Maass M, Gieffers J, Dietz R, Scheidereit C, Leutz A, et al. Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-kappa B and induces tissue factor and PAF-1 expression: a potential link to accelerated arteriosclerosis. *Circulation*, 1999, **100**: 1 369-373
 - [11] Gaydos CA, Summersgill JT, Sahney NN, Ramirez JA, Quinn TC. Replication of Chlamydia pneumoniae in vitro in human macrophages, endothelial cells, and aortic artery smooth muscle cells. *Infect Immunol*, 1996, **64**: 1 614-620
 - [12] 刘桂琴, 刘伟秀, 薛成岩, 马家骥, 郭靖涛. 应用聚合酶链反应对心血管疾病患者血清肺炎衣原体 DNA 的检测及意义. 中国误诊学杂志, 2001, **1**: 331-333
 - [13] Maass M, Bartels C, Engel PM, Mamat U, Sievers HH. Endovascular presence of viable Chlamydia pneumoniae is a common phenomenon in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 1998, **131**: 827-832
 - [14] Yamaguchi H, Haranaga S, Widen R, Friedman H, Yamamoto Y. Chlamydia pneumoniae infection induces differentiation of monocytes into macrophages. *Infect Immunol*, 2002, **70**: 2 392-398
 - [15] Byrne GI, Kalayoglu MV. Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: links to the disease process. *Am Heart J*, 1999, **138**: 488-490
 - [16] 金俊飞, 杨永宗. 肺炎衣原体对 C57BL/6J 小鼠腹膜巨噬细胞泡沫化的影响. 中国病理生理杂志, 2000, **16**: 730-733
 - [17] Metzler B, Schett G, Kleindienst R, van der Zee R, Ottenhoff T, Hajeer A, et al. Epitope specificity of anti-heat shock protein 65/60 serum antibodies in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17**: 536-541
 - [18] Ezzahiri R, Stassen FR, Kurvers HA, van Pul MM, Kitslaar PJ, Bruggeman CA. Chlamydia pneumoniae infection induces an unstable atherosclerotic plaque phenotype in LDLr-receptor, Apo E double knockout mice. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2003, **26**: 88-95
 - [19] Fong IW. Value of animal models for Chlamydia pneumoniae-related atherosclerosis. *Am Heart J*, 1999, **138**: 512-513
 - [20] Muhlestein JB, Anderson JL, Hammond EH, Zhao L, Trehan S, Schwabe EP, et al. Infection with Chlamydia pneumoniae accelerates the development of atherosclerosis and treatment with azithromycin prevents it in a rabbit model. *Circulation*, 1998, **97**: 633-636
 - [21] Kalayoglu MV, Perkins BN, Byrne GI. Chlamydia pneumoniae-infected monocytes exhibit increased adherence to human aortic endothelial cells. *Microbes Infect*, 2001, **3**: 963-969
 - [22] Kalayoglu MV, Indrawati, Morrison RP, Morrison SG, Yuan Y, Byrne GI. Chlamydia virulence determinants in atherogenesis: the role of chlamydial lipopolysaccharide and heat shock protein 60 in macrophage-lipoprotein interactions. *J Infect Dis*, 2000, **181**: 483-489
 - [23] Coombes BK, Chiu B, Fong IW, Mahony JB. Chlamydia pneumoniae infection of endothelial cells induces transcriptional activation of platelet-derived growth factor-B: a potential link to intimal thickening in a rabbit model of atherosclerosis. *J Infect Dis*, 2002, **185**: 1 621-630
 - [24] Miller SA, Selzman CH, Shames BD. Chlamydia pneumoniae activates nuclear factor kappaB and activator protein 1 in human vascular smooth muscle and induces cellular proliferation. *J Surg Res*, 2000, **90**: 76-81
 - [25] Molestina RE, Miller RD, Lentsch AB, Ramirez JA, Summersgill JT. Requirement for NF-kappa B in transcriptional activation of monocyte chemotactic protein 1 by Chlamydia pneumoniae in human endothelial cells. *Infect Immun*, 2000, **68**: 4 282-288
 - [26] Prasad A, Zhu J, Halcox JP, Wacław MA, Epstein SE, Quyyumi AA. Predisposition to atherosclerosis by infections: role of endothelial dysfunction. *Circulation*, 2002, **106**: 184-190
 - [27] Paterson DL, Hall J, Rasmussen SJ, Timms P. Failure to detect Chlamydia pneumoniae in atherosclerotic plaques of Australian patients. *Pathology*, 1998, **30**: 169-172
 - [28] Thomas M, Wong Y, Thomas D, Ajaz M, Tsang V, Gallagher PJ, et al. Relation between direct detection of Chlamydia pneumoniae DNA in human coronary arteries at postmortem examination and histological severity (Stary grading) of associated atherosclerotic plaque. *Circulation*, 1999, **99**: 2 733-736
 - [29] Zhang L, Ishikawa Y, Akasaka Y, Ito K, Gregory S, Ishii T. Limited association of Chlamydia pneumoniae detection with coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 2003, **167**: 81-88
 - [30] Eng HL, Chen CH, Kuo CC, Wu JS, Wang CH, Lin TM. Association of CD14 promoter gene polymorphism and Chlamydia pneumoniae infection. *J Infect Dis*, 2003, **188**: 90-97
 - [31] Hubacek JA, Rothe G, Pit'ha J, Skodova Z, Stanek V, Poledne R, et al. C(-260)T polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation*, 1999, **99**: 3 218-220
 - [32] Karhukorpi J, Yan Y, Niemela S, Valtonen J, Koistinen P, Joensuu T, et al. Effect of CD14 promoter polymorphism and H. pylori infection and its clinical outcomes on circulating CD14. *Clin Exp Immunol*, 2002, **128**: 326-332
 - [33] Zee RY, Bates D, Ridker PM. A prospective evaluation of the CD14 and CD18 gene polymorphisms and risk of stroke. *Stroke*, 2002, **33**: 892-895
 - [34] Koenig W, Khuseynova N, Hoffmann MM, Marz W, Frohlich M, Hoffmeister A, et al. CD14 C(-260)->T polymorphism, plasma levels of the soluble endotoxin receptor CD14, their association with chronic infections and risk of stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 2002, **40**: 34-42
 - [35] Agnese DM, Calvano JE, Hahn SJ, Coyle SM, Corbett SA, Calvano SE, et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections. *J Infect Dis*, 2002, **186**: 1 522-525

(此文编辑 胡必利)