

•文献综述•

[文章编号] 1007-3949(2004)12-02-0238-03

巨噬细胞移动抑制因子在动脉粥样硬化中的作用研究进展

徐斌综述, 尹彤, 赵玉生 审校

(中国人民解放军总医院老年心血管病研究所, 北京市 100853)

[关键词] 细胞生物学; 巨噬细胞移动抑制因子对动脉粥样硬化的作用; 综述; 动脉粥样硬化; 细胞因子

[摘要] 动脉粥样硬化是动脉血管壁对损伤和刺激的慢性炎症和免疫反应, 其发病机理尚未完全清楚。系列细胞因子对动脉粥样硬化的形成和发展等方面具有不同程度的作用, 特别是巨噬细胞移动抑制因子和肿瘤坏死因子 α 在单核细胞聚集、粘附、迁移和巨噬细胞吞噬脂质等形成动脉粥样硬化过程中起着重要的作用。本文主要就巨噬细胞移动抑制因子在动脉粥样硬化进展中的变化和作用作一综述。

[中图分类号] Q2

[文献标识码] A

细胞因子在许多心血管疾病的发生发展中起着重要作用, 并与许多细胞(如淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞、平滑肌细胞和心肌细胞等)的功能活化有关。这些细胞表达分泌一系列细胞因子如白细胞介素 1(interleukin 1, IL-1)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)、细胞粘附分子 1(intercellular adhesion molecule 1, ICAM-1)、血管细胞粘附分子 1(vascular adhesion molecule 1, VCAM-1)、P 选择素等, 而这些因子在调节心脏功能、心血管重塑和功能恢复、血栓和动脉粥样硬化的形成和发展等方面具有重要作用^[1-3]。动脉粥样硬化是动脉血管壁对损伤和刺激的慢性炎症和免疫反应。血液中的单核细胞在损伤部位进行聚集、粘附、迁移和穿过血管内皮, 进而活化、分化成为巨噬细胞。而巨噬细胞吞噬脂质成为巨噬-泡沫细胞, 形成脂纹。动脉粥样硬化的形成受到许多细胞因子及粘附分子的作用和影响, 本文主要综述 MIF 在动脉粥样硬化过程中所起的作用^[4,5]。

1 巨噬细胞移动抑制因子研究发展史、分子性质、来源和功能

1.1 发展史

在 60 年代, Bloom 和 Bennett 等在活化的 T 淋巴细胞中发现一种可溶性的细胞因子, 该细胞因子与免疫细胞活化有关, 并具有抑制巨噬细胞移动的功能。而在随后的二十多年中发现, MIF 主要是与巨噬细胞活化功能相关, 包括巨噬细胞的粘附作用、扩散迁移、吞噬和促进杀死癌细胞的作用。早期的研究主要靠体外细胞培养作为 MIF 的来源, 由于其他介质, 如 IL-4、干扰素 λ (interferon λ , IFN- λ) 等对巨噬细胞同样有抑制作用, 因此不能获得准确的结果^[6,7]。近年来, 由于基因重组技术的应用, MIF 的研究取得了很大进展。

1.2 分子特征

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是一种含有 115 个氨基酸残基的蛋白质, 分子质量为 12.5 kDa, 具有 α 链和 β 链组成的三维晶体结构, 与任何其他已知蛋白质之间无明显的同源性。人类和鼠类 MIF 氨基酸有 90% 的同源性, 通过放射晶体学的方法发现它们几乎拥有同样的三维晶体结构。MIF 蛋白晶体结构是一个同源三聚体, 每个单体由两个反向平行的 α 螺旋和六个 β 链组成。三个 β 片层由六个 α 螺旋围绕成一端开放的中空桶样隧道形状, 隧道直径的变化范围是 4~15, 主要由亲水性原子排列构成, 可溶性物质可进入此隧道。隧道中央是带阳性电荷, 可同带阴性电荷的部位相互作用^[8,10]。

1.3 基因组成

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)基因较小, 由三个外显子和两个内含子组成。1995 年 Mitchell 等^[11]克隆了小鼠 MIF(mMIF)基因, 长 2 119 bp, 三个外显子依次长为 193 nt、176 nt、191 nt, 5' UTR 为 1 080 nt, 3' UTR 为 123 nt。人 MIF 基因长 2 043 bp, 三个外显子依次长为 206 nt、176 nt、184 nt, 5' UTR 为 1 076 nt, 3' UTR 为 116 nt。小鼠 MIF 基因具有十个以上假基因的多拷贝基因, 定位于第十号染色体上; 人 MIF 基因为单拷贝基因, 定位于 21 q。

1.4 分子来源和调节

正常人血清 MIF 浓度为 2~4 μ g/L, 除了活化的 T 淋巴细胞可以产生外, 还有许多组织细胞也可以产生和表达 MIF。研究发现, 垂体促肾上腺皮质细胞、单核细胞/巨噬细胞和 T 淋巴细胞是体内 MIF 的基本来源^[10]。在未受到刺激的单核细胞和静息巨噬细胞里存在大量 MIF 蛋白前体, 当受到内毒素、外毒素及一些细胞因子的刺激, 它们能分泌大量的 MIF。MIF 蛋白在嗜红细胞、内皮细胞和各种各样的上皮细胞、纤维母细胞和肌细胞以及内分泌系统内的特异性细胞中也有不同程度的表达。最近的研究表明, 在心血管系统的各组成细胞中, MIF 也有不同程度的表达, 其中包括淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞、平滑肌细胞和心肌细胞^[4,12]。

1.5 主要功能

[收稿日期] 2003-08-30 [修回日期] 2004-01-05

[作者简介] 徐斌, 学士, 技师, 研究方向为心脏病理技术研究, 联系电话为 010-66936787。尹彤, 博士研究生, 主治医师, 研究方向为心脏病理机制研究。赵玉升, 主任医师, 博士研究生导师, 主要研究方向为心血管瓣膜钙化及冠心病的研究。

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)通过刺激一系列细胞因子表达、一氧化氮释放和纤维母细胞基质金属蛋白酶的表达起到促进炎症的作用。另外,MIF可拮抗垂体糖皮质激素的抗炎和免疫抑制功能,并起到调节炎症程度的作用,对巨噬细胞、单核细胞随机游走移动产生抑制作用,并使它们在炎症部位集聚、增殖以及分泌一些细胞因子。MIF在炎症过程中与各种细胞和炎症因子、致炎物质产生相互作用,使炎症反应加剧。

1.6 主要影响因素

在炎症反应中,内毒素、外毒素以及一些细胞因子如TNF- α 、IFN- γ 等,导致许多细胞释放预先储备的MIF,并重新合成MIF。而在动脉粥样硬化致病机制中,氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)、高胆固醇血症、巨噬细胞分泌的TNF- α 、细胞粘附分子、P选择素等都是影响MIF分泌和表达的重要因素^[2,10,11]。

2 巨噬细胞移动抑制因子在动脉粥样硬化组织细胞中的表达

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是具有潜在致炎功能的细胞因子,是许多人类疾病中炎症反应的介质。不仅仅免疫细胞、垂体促肾上腺皮质细胞能产生MIF,而且在动脉粥样硬化中起关键性作用的血管内皮细胞、血管平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)在炎症和损伤的刺激下,也能产生MIF mRNA和蛋白,并且在不同阶段、不同时期MIF mRNA和MIF蛋白均有不同程度的表达,从而产生不同程度的MIF免疫反应(MIF-IR)^[4,7]。

2.1 在正常动脉血管组织细胞中的表达

Shu等认为正常动脉(主动脉、颈动脉、股动脉)血管内皮细胞MIF mRNA表达弱阳性,不能观察到MIF蛋白表达和巨噬细胞堆积;在平滑肌细胞中检测不到MIF mRNA和蛋白的表达。

2.2 在动脉粥样硬化斑块中的表达

肉眼可见的脂肪斑块损伤中、血管内皮细胞中,MIF mRNA和蛋白的表达明显上调。Shu等认为,MIF的表达与CD⁺巨噬细胞粘附到MIF⁺的血管内皮细胞相联系,而在没有损伤的部位,血管内皮细胞几乎不表达MIF,也没有巨噬细胞粘附;内皮下组织中,MIF mRNA和蛋白的表达也显著上调,这也许与CD68⁺巨噬细胞转运穿过内皮、并在内皮下组织积聚相关,最后导致巨噬细胞早期脂肪条纹斑块形成。在早期脂肪条纹斑块期,有明显的MIF mRNA和蛋白表达上调,并与巨噬细胞积聚相关。在富含巨噬细胞的早期脂肪条纹中,首先发现SMC表达MIF mRNA和蛋白^[7]。

2.3 在动脉粥样硬化巨噬细胞和泡沫细胞中的表达

Lin等认为,CD68⁺单核细胞和巨噬细胞在MIF⁺的血管内皮细胞上粘附、堆积,并表达强阳性的MIF。早期脂质条纹中巨噬细胞比脂质条纹中的泡沫细胞和晚期斑块中的泡沫细胞有更强的MIF mRNA和蛋白表达。所有的巨噬细胞在脂肪条纹早期均强表达MIF,表明它们可能被活化,并在动脉粥样硬化进展中起到重要的作用。而晚期斑块中的巨

噬细胞减弱MIF的表达。这也许在动脉粥样硬化损伤的退化阶段中体现出巨噬细胞相当低的功能活性^[7]。

3 巨噬细胞移动抑制因子促进动脉粥样硬化形成的机制

动脉粥样硬化是动脉血管壁对损伤和刺激的慢性炎症和免疫反应。血液中的单核细胞在损伤部位聚集、粘附、迁移和穿过血管内皮,进而活化和分化为巨噬细胞。而巨噬细胞吞噬脂质成为巨噬-泡沫细胞,形成脂纹。该过程受到许多细胞因子及粘附分子的调节。其中,MIF作为细胞因子在此病变过程中起关键作用,促进巨噬细胞和其他炎性细胞向血管内皮迁移。单核细胞粘附到被活化的内皮细胞上是该过程的第一步。

3.1 动脉粥样硬化的巨噬细胞移动抑制因子来源

单核细胞/巨噬细胞是MIF的重要来源,这在调节动脉粥样硬化形成中可能起关键的调节作用。Calaandra等^[13,14]认为在内毒素、外毒素和细胞因子的刺激下,巨噬细胞是MIF的一个丰富来源。动脉粥样硬化早期阶段的一个特点是血管壁上oxLDL的形成。oxLDL形成诱导了血管内皮细胞、巨噬细胞表达细胞因子,其中包括MIF、TNF- α 等炎性因子。Burger-Kentischer等^[7]发现,oxLDL作用于体外的血管内皮细胞,MIF表达升高,而且在体外用oxLDL刺激巨噬细胞同样也提高了MIF的表达水平;体内也是如此,在慢性炎症的区域中,含有VSMC和巨噬细胞来源的泡沫细胞普遍表达MIF。这表明oxLDL在体内诱导巨噬细胞分泌MIF过程中起重要作用。研究发现,当巨噬细胞暴露于单一因素的oxLDL时,MIF mRNA表达明显升高;相反,暴露于天然的LDL时几乎没有影响^[15]。同时胆固醇过多和oxLDL可能使血管内皮细胞和单核细胞释放MIF^[4]。

3.2 巨噬细胞移动抑制因子在动脉粥样硬化中的致炎途径

活化蛋白1(active protein 1, AP-1)是一个在基因调控、细胞增殖、炎症信号介导中起重要作用的转录因子。MIF通过蛋白激酶与活化剂Jab 1相互作用调控AP-1活性,而并入AP-1调节炎症的途径。Kleemann等^[16]研究表明,Jab 1与MIF特别相关,是MIF作用的一个分子靶。MIF与Jab 1能够在细胞内相互反应,这在体外的实验中得到证实,同时在体内的动脉组织和动脉粥样硬化组织中也发现MIF和Jab 1能够相互反应。通过免疫组织化学研究表明,人动脉组织在内皮细胞、VSMC、T淋巴细胞和巨噬细胞的细胞核中表达丰富的Jab 1;而且表达MIF的细胞同时伴随Jab 1的表达^[7]。在斑块组织中,通过免疫共沉淀法提供了体内MIF和Jab 1复合物形成的特异性证据。因此表明,MIF-Jab 1复合物在动脉粥样硬化损伤发生发展和在一般炎症疾病中可能是一个关键的调控系统。因此,在人动脉粥样硬化组织中,MIF信号影响可能通过Jab 1而并入AP-1途径中。

3.3 巨噬细胞移动抑制因子与其他致动脉粥样硬化介质的相互作用

动脉粥样硬化早期阶段显著表达了MIF,并且MIF激活一系列致炎分子,这在单核细胞粘附到血管内皮细胞中起到了

重要作用。动脉粥样硬化早期阶段, TNF- α 能诱导巨噬细胞分泌 MIF; 同时 MIF 也能直接或间接地刺激巨噬细胞、血管内皮细胞分泌有生物活性的炎症因子, 如 TNF- α 、IL-1 α 、IL-8、IL-1 β 、ICAM-1 和 VCAM-1 等。Lan 等^[17] 的研究表明, 中和 MIF 的免疫反应能够明显抑制 IL-1 β 、ICAM-1 和 VCAM-1 等的表达和巨噬细胞的堆积。MIF 还能激活血管内皮细胞、平滑肌细胞等表达丰富的致炎因子和细胞介质。这些致炎因子和细胞介质的丰富表达, 在动脉粥样硬化早期阶段的单核细胞/巨噬细胞吞噬脂质、趋向运动中起重要作用。另外, MIF 升高巨噬细胞中的一氧化氮水平和上调纤维母细胞基质金属蛋白酶的表达, 而这两者在动脉粥样硬化的损伤进展中起关键作用。近来也有报道 MIF 也具有刺激纤维母细胞生长发育的潜能。MIF 的分泌同时又促进了巨噬细胞对 oxLDL 吞噬和降解, 加速胆固醇泡沫细胞的形成。

3.4 巨噬细胞移动抑制因子促进单核巨噬细胞迁移的作用

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)可能诱导单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1) 的表达, 并经由依赖 MCP-1 的作用机制聚集巨噬细胞。在动脉粥样硬化最初阶段的内膜中, MIF mRNA 和 MIF 的表达明显升高, 这也许通过 MCP-1 的表达造成单核细胞和巨噬细胞穿过内膜进行定向迁移, 继而堆积形成富含巨噬细胞的脂肪条纹。MCP-1 是一个潜在的单核细胞化学活化因子, 在人和动物模型中, 富含巨噬细胞的动脉粥样硬化有 MCP-1 的高表达, 提示 MCP-1 在单核细胞募集到动脉血管壁上也许起到中心作用。MCP-1 或其受体缺失, 对巨噬细胞募集和动脉粥样硬化损伤形成起到明显的保护作用^[18-20]。该结果与 MIF 已知的功能一致, 在内膜中, MIF 表达的上调也许抑制脂肪条纹中的巨噬细胞移动, 最终造成富含脂质的巨噬细胞形成。MIF 通过诱导 MCP-1 的表达, 抑制单核细胞和巨噬细胞化学趋化性和随机迁移, 使聚集于损伤部位, 这表明在早期脂肪条纹阶段 MIF 在诱导巨噬细胞定位上起到重要作用。

4 前景与展望

认识到 MIF 在系统炎症反应和免疫应答中起重要作用, 为我们深入理解动脉粥样硬化的致病机制提供了新思路, 使我们在动脉粥样硬化致病机制中, 能更全面地考虑各细胞炎症因子间的相互作用, 以及与内毒素、外毒素、oxLDL 等致病因子的相互作用。在动脉粥样硬化初期, 内源性的血管细胞和巨噬细胞产生局域性的 MIF, 可能引起单核巨噬细胞定向迁移、巨噬细胞堆积、活化、泡沫细胞形成; 并分泌系列炎症介质, 刺激血管内皮细胞、SMC 等瞬间表达 MIF, 这也许是血管内皮细胞、SMC 等针对巨噬细胞进入动脉血管壁聚集的瞬时反应, 并导致富含巨噬细胞的动脉粥样硬化损伤进行性发展。这仅是一些实验表层结果, 但具体机制尚未清楚。

今后还需进一步深入研究 MIF 的结构特点, 鉴定 MIF 膜受体以及 MIF 介质的异构反应的原始底物, 进一步了解 MIF

的信号转导机制, 以便能解决临床上的诸多问题, 如: 为什么在动脉粥样硬化早期阶段 MIF 引起随机的单核巨噬细胞作定向迁移, 而巨噬细胞在穿过内皮渗入到损伤后停止迁移并长时间存活? 什么因素调控着这些渗入的巨噬细胞转变成活化状态、并吞噬脂质后转变成含有脂质的巨噬细胞?

[参考文献]

- Alexander RW. Inflammation and coronary artery disease. *N Engl J Med*, 1994, **331**: 468-469
- Takahashi M, Nishihira J, Shimpo M. Macrophage migration inhibitory factor as a redox-sensitive cytokine in cardiac myocytes. *N American J Cardiovascular Research*, 2001, **52**: 438-445
- 徐也鲁. 动脉粥样硬化——一种慢性炎症的过程. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (2): 93-95
- Lin SG, Yu XY, Chen YX. De novo expression of macrophage migration inhibitory factor in atherosclerosis in rabbits. *Circulation Research*, 2000, **87**: 1 202-208
- 张新超, 徐成斌. 细胞粘附分子在动脉粥样硬化发生发展中的作用. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (2): 179-184
- Gando S, Nishihira J, Kobayashi S. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of systemic inflammatory response syndrome. *Intensive Care Med*, 2001, **27**: 1 187-193
- Burger-Kentischer A, Goebel H, Seiler Rudiger. Expression of macrophage migration inhibitory factor in different stages of human atherosclerosis. *Circulation*, 2002, **105**: 1 561-566
- Jung H, Kin T, Chac HZ. Regulation of and thiol-specific antioxidant protein PAG by direct interaction. *J Biol Chem*, 2001, **276**: 15 504-510
- Sun HW, Bernhaagen J, Bucala R. Crystal structure at 2.6 Å resolution of human macrophage migration inhibitory factor. *PNAS*, 1996, **93**: 5 191-196
- Baugh J A, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor. *J Crit Care Med*, 2002, **30**: 27-35
- Mitchell R A, Bacher M, Bernhaagen J. Cloning and characterization of the gene for mouse MIF. *J Immunol*, 1995, **154**: 3 863-870
- Nishihira J, Koyama Y, Mizue Y. Identification of MIF in human vascular endothelial cells and its induction by lipopolysaccharide. *Cytokine*, 1998, **10**: 199-205
- Calaandra T, Bernhaagen J, Mitchell RA, Bucala R. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J Exp Med*, 1994, **179**: 1 895-902
- Calaandra T, Spiegel LA, Metz CN, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of gram positive bacteria. *J Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**: 11 383-388
- Atsumi T, Nishihira J, Makita Z. Enhancement of oxidised low-density lipoprotein uptake by macrophages in response to macrophage migration inhibitory factor. *J Cytokine*, 2000, **12**: 1 553-556
- Kleemann R, Hausser A, Geiger G. Intracellular action of the cytokine MIF to modulate AP-1 activity and the cell cycle through Jab 1. *J Nature*, 2000, **408**: 211-216
- Lan HY, Bacher M, Yang N, Mu W. The pathogenic role of macrophage migration inhibitory factor in immunologically induced kidney disease in the rat. *J Exp Med*, 1997, **185**: 1 455-465
- Gu L, Okada Y, Clinton SK, Gerard C, Sukhova GK, Libby P, Rollins BJ. Absence of monocyte chemoattractant protein 1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor deficient mice. *J Mol Cell*, 1998, **2**: 275-281
- Boring L, Gosling J, Cleary M, Charo IF. Decreased lesion formation in CCR (-/-) mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature*, 1998, **394**: 894-897
- Gosling J, Slaymaker S, Gu L, Tseng S. MCP-1 deficiency reduces susceptibility to atherosclerosis in mice that overexpress human apolipoprotein B. *J Clin Invest*, 1999, **103**: 773-778

(此文编辑 文玉珊)