

核因子 κ B 在心血管疾病中的作用的研究现状

胡 榕 综述; 吴可贵 审校

(福建省高血压研究所, 福建省福州市 350005)

[关键词] 病理学与病理生理学; 核因子 κ B 的作用; 综述; 心血管疾病; 基因调控

[摘要] 核因子 κ B 是一种广泛存在于真核细胞内的基因多向性转录因子, 调控着一系列有关免疫应答、炎症反应和细胞生长、发育等细胞基因的表达, 参与了动脉粥样硬化、冠心病、高血压、缺血再灌注损伤、心功能衰竭等多种心血管疾病的病理生理过程。调节和控制核因子 κ B 的活性是一个理想治疗靶向, 将通过多重环节起效, 为心血管疾病的防治开辟一条新的途径。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 是一种具有基因转录多向调控作用的转录因子。于 1986 年首次在小鼠 B 淋巴细胞中发现, 因其作为免疫球蛋白 κ 轻链基因表达的转录因子而得名。核因子 κ B (多指 p65、p50 形成的异源二聚体) 通常与其抑制蛋白 (NF- κ B inhibitor, I κ B) 形成三聚体以失活状态存在于细胞质中。在刺激剂作用下, I κ B 被 I κ B 激酶 (I κ B kinase, IKK) 磷酸化后再被蛋白酶降解, 核因子 κ B 遂从三聚体上释放出来, 迅速移位入细胞核 (核易位), 与靶基因上启动子区 κ B 位点发生特异性结合, 从而启动和调控相应基因 (如各种细胞因子、粘附因子及极早蛋白等) 的转录^[1]。这些因子在机体的免疫应答、炎症反应和细胞的生长发育等方面发挥着重要作用^[2,3]。新近研究发现, 核因子 κ B 亦存在于血管内皮细胞 (endothelial cell, EC), 血管平滑肌细胞 (smooth muscle cell, SMC) 及心肌细胞中, 参与多种心血管疾病的发生和发展过程^[4-6]。

1 核因子 κ B 与心血管疾病

1.1 核因子 κ B 与冠心病

1.1.1 核因子 κ B 与动脉粥样硬化 Brand 等^[7]用电泳迁移率变动分析方法 (EMSA) 在人动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 灶的 SMC、巨噬细胞、EC 中检测到激活的核因子 κ B; 利用新型的鼠单克隆抗体 α p65mAb 首次证实了人 As 病变组织中有活化形式的核因子 κ B 存在, 其水平明显高于无病变组织, 并且认为以慢性炎症和增殖过程为特征的 As 可能是核因子 κ B 介导的慢性炎症病例的一个范例。

动脉粥样硬化 (As) 被描述为一种炎症性疾病, 在其形成与发展过程中有大量炎症因子的参与^[8]。编码炎症因子的基因是核因子 κ B 反应性基因。业已证实的核因子 κ B 靶基因包括: 促炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 (IL) 1、IL-6 等; 细胞粘附分子如血管细胞粘附分子

(VCAM-1)、细胞间粘附分子 (ICAM-1) 等; 趋化因子如单核细胞趋化蛋白 (MCP-1)、IL-8 等; 生长因子如血小板源性生长因子 (PDGF) 等; 以及组织因子 (TF)、一氧化氮合酶 (NOS)、血管紧张素原 (Fas) 等。因此涉及 As 机制的细胞因子成为研究核因子 κ B 调控机制的突破口。As 的发病机制与血管 EC 损伤、SMC 迁移和增殖、血小板聚集及血栓形成等因素有关; 单核细胞与 EC 粘附和向内皮下迁移及泡沫化, 在 As 的发生与发展中至关重要^[8]。研究显示, 剪切应力、缺氧-复氧、活性氧生成增多, 以及 TNF- α 等可激活 EC 的核因子 κ B, 使 VCAM-1 和 ICAM-1 等表达增强; 干预核因子 κ B 的活化可以抑制 VCAM-1 的表达^[9]。核因子 κ 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 κ B 的激活可能是 As 发生的始动机制之一。EC 释放 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 κ B 的调控。EC 产生的一氧化氮 (NO) 可控制炎症基因产物的上调, 生理浓度 NO 抑制 MCP-1 的表达和减弱核因子 κ B 的活性, 可能是 NO 抗 As 的重要机制之一。

在 As 中 SMC 是斑块中最主要成分, SMC 中存在着核因子 κ B 激活通路^[10], 是 SMC 增殖时必经的激活通路。有关核因子 κ B 激活后诱导 SMC 增殖的机制尚不十分清楚。As 病变过程中, SMC 可从收缩表型向合成表型转变, 具备成纤维细胞样特性, 表达多种潜在的核因子 κ B 靶基因, 当核因子 κ B 激活后可启动多种生长因子与细胞因子的表达, 进而诱导 SMC 增殖; 使用纯化的 I κ B 蛋白或变异型核因子 κ 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 κ B 可能是未来 PTCA 术后再狭窄的新的干预目标^[11]。

此外, 已知多种微生物如巨细胞病毒、肺炎衣原体、疱疹病毒与 As 的关系也十分密切, 推测与微生物感染激活核因子 κ B, 诱导一系列与炎症和免疫相关的细胞基因进一步激活或突变有关^[6,12]。确切机理有待进一步探讨。

1.1.2 核因子 κ B 与急性冠状动脉综合征 多数急性冠状动脉综合征 (ACS) 系狭窄并不严重的 As 斑块破裂、继发血栓形成所致。人类 As 病灶中可见大量巨噬细胞和 T 淋巴细胞聚集, 这是导致斑块破裂的原因之一。炎症反应涉及多种因子的表达, 后者均通过核因子 κ B 通路调控, 核因子 κ B 可

[收稿日期] 2003-10-13

[修回日期] 2004-05-23

[作者简介] 胡榕, 在职博士研究生, 主治医师, 在福建医科大学附属协和医院内科工作。吴可贵, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 福建省高血压研究所所长, 主要从事心血管疾病的临床及科研工作, 本文通讯作者。

启动多种免疫和炎症反应的基因表达如 IL-1、IL-6、IL-8、TNF、干扰素 (IFN)、化学趋化因子和粘附分子等。在斑块中, 基质胶原纤维的形成有利于斑块的稳定, 而其分解增加或形成减少均会导致斑块不稳定型增加。核因子 κ B 参与 ACS 发生的可能机制^[11]: 参与促进基质胶原纤维降解。基质金属蛋白酶(MMP)属蛋白酶超家族, 主要来源于巨噬细胞, 在生理状态下可特异性地降解细胞外基质, 这一作用对 As 斑块的破裂至关重要。人 As 斑块中 SMC、巨噬细胞、T 淋巴细胞均能分泌 MMP。多种细胞因子(如 IL-6、TNF- α 等)能促进单核-巨噬细胞、活性 T 淋巴细胞及 SMC 表达 MMP。核因子 κ B 能在转录水平上激活各种炎症细胞因子, 而某些细胞因子(如 TNF- α)又可再进一步激活核因子 κ B, 如此循环, 产生级联放大作用, 从而间接诱导 MMP 的表达; 同时, 核因子 κ B 还可以直接激活 MMP 基因。MMP 释放增加可降解斑块中的细胞外基质, 促进斑块破裂。④参与抑制基质胶原基因表达。As 斑块中, 某些细胞因子如 PDGF 可能刺激 SMC 合成胶原增多, 而某些细胞因子如 TNF- α 及 IFN- γ 则会抑制 SMC 表达基质胶原基因。IFN- γ 不仅抑制 SMC 对胶原基因的表达与合成, 而且还能抑制 SMC 增殖, 促进其死亡或凋亡, 减少斑块中 SMC 数量, 进一步削弱斑块纤维帽的稳定型。临床研究发现, 不稳定型心绞痛的发生可能与核因子 κ B 介导机体免疫和炎症反应, 进而导致冠状 As 斑块破裂有关^[13]。

1.2 核因子 κ B 与高血压和心肌肥厚

肾素-血管紧张素系统(RAS)激活是高血压的重要发病机制之一。血管紧张素 Ang II 是 RAS 的重要产物, 它通过引起氧化应激和激活核因子 κ B 而导致 EC 与 SMC 的炎症反应。Ruiz Ortega 等^[14]的实验表明, Ang II 型以及 Ang II 2 型受体均与 Ang II 对血管细胞核因子 κ B 的活化有关。在培养的血管细胞中, Ang II 通过还原型辅酶 iv 氧化酶产生过氧化物, 或通过刺激线粒体生成活性氧而造成氧化应激。 Ang II 诱导的氧化应激与 EC 中核因子 κ B 活化, VCAM-1 的诱导表达以及 SMC 中依赖核因子 κ B 的 IL-6 转录有关。近来研究还证实, 核因子 κ B 的过度表达可以诱导胚胎基因-心房钠尿肽的表达, 导致心肌细胞肥大, 反之, $\text{I}\kappa\text{B}$ 抑制剂可以阻止上述效应^[15]。因此, 核因子 κ B 在心肌细胞的肥大中起重要作用, 可以作为心脏疾病的一个重要干预目标。

1.3 核因子 κ B 与缺血再灌注损伤

心肌缺血再灌注可导致心肌炎症反应、心肌细胞坏死、凋亡及心功能下降, 这些病理改变与多种含 κ B 位点的基因过度表达有关, 提示核因子 κ B 参与缺血再灌注损伤的病理生理过程。Li 等^[16]报道, 心肌缺血再灌注大鼠缺血 4 min 后 $\text{I}\kappa\text{B}$ 蛋白即显著下降, 缺血 10 min 后才开始逐渐恢复, 而核因子 κ B 活性相应从第 5 min 开始持续增高; 心肌再灌注则进一步放大缺血所致的核因子 κ B 激活效应。由于缺血再灌注伴有大量活性氧, 特别是过氧化物的形成, 而抗氧化剂二巯基甲酸酯(DTC)可抑制缺血再灌注引起的 $\text{I}\kappa\text{B}$ 降解和核因子 κ B 活化, 下调心肌 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 及 NOS 等基因的表达。

1.4 核因子 κ B 与心功能衰竭

核因子 κ B 存在于心肌细胞中, 心功能衰竭时心脏可表

达多种炎症因子, 而后者均利用核因子 κ B 通路作为其激活、产生、和持续释放机制之一^[17]。心肌缺血、缺氧可诱发心肌炎症反应, 其中已被确知的主要细胞因子为 TNF- α 。TNF- α 可激活核因子 κ B, 导致依赖核因子 κ B 激活的基因转录并与核 DNA 结合增加以诱导心肌细胞凋亡, 从而引起或加重心功能衰竭^[18]。近年来强调心室重构是心功能衰竭的基础, 研究发现在心肌梗死大鼠模型和晚期充血性心功能衰竭病人的人心肌细胞内核因子 κ B 持续激活, 提示核因子 κ B 的活化与心室重构进程密切相关^[19]。

2 核因子 κ B 作为心血管疾病治疗靶向的研究

综上所述, 核因子 κ B 与多种心血管疾病的发生或致病过程明显有关, 是这些疾病中对各种相关因子的表达调控的中间环节。因此, 许多学者认为调节和控制核因子 κ B 的活化是一个理想治疗靶向, 将通过多重环节起效, 达到治疗核因子 κ B 相关疾病的目的。

2.1 药物治疗

2.1.1 抗氧化剂 雌激素是一种内源性抗氧化剂, 生理浓度即具有心血管保护作用。Pelzer 等^[20]研究表明, 17- β 雌二醇抑制心肌细胞凋亡的作用与其抑制核因子 κ B 活性有关。Rodriguez Porcel 等^[21]使用维生素 E 和维生素 C 治疗高胆固醇食物喂养的杂交仔猪, 可下调冠状动脉内膜核因子 κ B 的活性, 使内皮功能恢复正常。一氧化氮(NO)通过稳定 $\text{I}\kappa\text{B}$ 和/或增加 $\text{I}\kappa\text{B}$ 的合成抑制核因子 κ B, 此外, 它作为 H_2O_2 捕捉剂和抗氧化剂, 能抑制其它自由基激活核因子 κ B, 因此, 硝酸酯类等产生 NO 的药物除舒张血管外, 还能降低核因子 κ B 调控的炎症因子、生长因子和粘附分子表达, 从而降低 As 的危险度^[22]。

2.1.2 抗凝剂和抗血小板药 肝素可抑制血管 EC 和心肌细胞核因子 κ B 的活性, 应用肝素治疗缺血再灌注犬可明显减少冠状动脉的白细胞粘附、浸润, 缩小梗死面积, 改善内皮依赖性冠状动脉舒张功能^[23]。阿斯匹林能抑制培养细胞核因子 κ B 的激活, 下调粘附分子及细胞因子的表达, 抑制与 As 损伤形成有关的炎症反应^[12]。

2.1.3 血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)和血管紧张素 Ang II 型受体(AT1)拮抗剂 Napoleon 等^[24]报道, 卡托普利以剂量依赖方式抑制内毒素处理的人单核细胞核因子 κ B 活化和 TF 表达。另有研究显示^[25], 应用 AT1 拮抗剂厄贝沙坦可抑制人脐静脉内皮细胞核因子 κ B 的激活与 TNF- α 、IL-6 表达, 有可能减轻或阻止 As 等疾病的进展。

2.1.4 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A(HMG-CoA)还原酶抑制剂 已证明 HMG-CoA 还原酶抑制剂可降低不稳定 As 斑块破裂所致的患者病死率, 而且由趋化因子吸引至血管斑块处的炎症细胞参与了斑块破裂过程。文献[26]报道, 阿托伐他汀通过加强 $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ 稳定型来抑制 SMC 中核因子 κ B 的活化和趋化因子的表达, 减轻 As 斑块的炎症, 有利于斑块稳定。

2.2 基因治疗

有报道将 $\text{I}\kappa\text{B}$ 功能区的丝氨酸残基(Ser32/36)或赖氨酸残基(Lys21/22)突变, 可抑制核因子 κ B 的活化, 但这种方法的治疗作用尚有待进一步确定。

更合理和更有希望的策略是通过应用寡核苷酸干预的方法阻断核因子 κ B在疾病发生过程中过度活化。从治疗的角度,此法可能阻断核因子 κ B活化信号传导途径中的一个特定部位,而不影响其它的细胞生物功能,有良好的应用前景。目前,有两种类型的寡核苷酸^[27]:一种是单链的反义寡核苷酸(AS-ODN),能与选择的mRNA结合,从而阻断相应基因的转译;另一种是双链的寡核苷酸诱导物(decoy),能竞争阻断核因子 κ B结合到靶基因的启动子上,从而抑制核因子 κ B介导的基因转录。实验研究表明^[28],核因子 κ B的寡核苷酸诱导物在细胞水平可通过抑制核因子 κ B活化,降低缺氧/复氧和TNF- α 处理的人血管EC VCAM-1和ICAM-1表达;在器官水平可明显减少心脏缺血再灌注引起的白细胞粘附,改善心功能,缩小梗塞面积。基因治疗相对于传统药物靶向性更明显,这是未来治疗的发展方向。但寡核苷酸药物不同于传统药物,如何进一步提高寡核苷酸药物的稳定型、有效性、可能性,还须进一步的基础和临床研究。

值得注意的是,核因子 κ B在维持机体的防御功能和细胞生死平衡方面,起着极其重要的作用。完全地、持续性阻断核因子 κ B的激活将会导致免疫缺陷和正常细胞的凋亡。

3 结束语

综上所述,核因子 κ B调控着多种生长因子、炎症细胞因子、粘附分子等基因的表达,参与了多种心血管疾病的病理生理过程,单纯抑制某种特定的因子并不能完全抑制病灶形成。因此,阻断调节细胞活化、增殖、迁移等最终共同通路的关键基因成为有效防止疾病的研究方向,适当的抑制核因子 κ B的活化可产生有益的治疗作用。有关核因子 κ B的药物开发及其基因本身的抑制及单个剔除的研究将对AS、PTCA术后再狭窄等心血管疾病的临床治疗起到重要的补充作用。进一步的研究应放在开发核因子 κ B家族成分特异和细胞特异的抑制剂,把握“适度抑制”的原则,有效地抑制靶细胞中核因子 κ B的过度表达,为今后的临床应用打下基础。

[参考文献]

- [1] Collins T, Cybulsky MI. NF- κ B: pivotal mediator or innocent bystander in atherogenesis? *J Clin Invest*, 2001, **107** (3): 255-264
- [2] Tak PP, Firestein GS. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest*, 2001, **107** (1): 7-11
- [3] Baldwin AS Jr. Series introduction: the transcription factor NF- κ B and human disease. *J Clin Invest*, 2001, **107** (1): 3-6
- [4] Muller DN, Mervaala EM, Dechend R, Fiebeler A, Park JK, Schmidt F. Angiotensin II (AT1) receptor blockade reduces vascular tissue factor in angiotensin II-induced cardiac vasculopathy. *Am J Pathol*, 2000, **157** (1): 111-122
- [5] Cominacini L, Garbin V, Pasini AF, Davoli A, Campagnola M, Rigoni A. The expression of adhesion molecules on endothelial cells is inhibited by troglitazone through its antioxidant activity. *Cell Adhes Commun*, 1999, **7** (3): 223-231
- [6] Speir E. Cytomegalovirus gene regulation by reactive oxygen species. Agents in Atherosclerosis. *Ann NY Acad Sci*, 2000, **899** (3): 363-374
- [7] Brand K, Paze S, Rogler G, Bartsch A, Brandl R, Kneuechel R. Activated transcription factor nuclear factor- κ B is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest*, 1996, **97** (7): 1715-722
- [8] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999, **340**: 115-126
- [9] Pueyo ME, Gonzalez W, Nicoletti A, Savoie F, Amal JF, Michel JB. An-

giotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor- κ B activation induced by intracellular oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (3): 645-651

- [10] 李建军, 李庚山, 黄从新, 江洪, 许家俐, 唐其柱, 等. 球囊损伤兔主动脉后核因子 κ B活性的动态变化. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (1): 34-36
- [11] 孙璐, 韦立新. 核因子 κ B活化机制及其对动脉粥样斑块细胞的作用. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (2): 182-184
- [12] Tiran A, Gruber HJ, Graier WF, Wagner AH, Van Leeuwen EB, Tiran B. Aspirin inhibits Chlamydia pneumoniae-induced nuclear factor- κ B activation, cytokine expression, and bacterial development in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (7): 1075-080
- [13] Wilson SH, Best PJ, Edwards WD, Holmes DR Jr, Carlson PJ, Celestine DS, et al. Nuclear factor- κ B immunoreactivity is present in human coronary plaque and enhanced in patients with unstable angina pectoris. *Atherosclerosis*, 2002, **160** (1): 147-153
- [14] Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Suzuki Y, Egido J. Angiotensin II activates nuclear transcription factor- κ B in aorta of normal rats and in vascular smooth muscle cells of AT1 knock out mice. *Nephrol Dial Transplant*, 2001, **16** (suppl 1): 27-33
- [15] Purcell NH, Tang G-L, Yu G-F, Frank Mercurio, Joseph A. Activation of NF- κ B is required for hypertrophic growth of primary rat neonatal ventricular cardiomyocytes. *PNAS*, 2001, **98** (12): 6668-673
- [16] Li C, Browder W, Kao RL. Early activation of transcription factor NF- κ B during ischemia in perfused rat heart. *Am J Physiol*, 1999, **276** (2Pt2): H543-552
- [17] Kalra D, Baumgarten G, Dibbs Z, Seta Y, Sivasubramanian N, Mann DL. Nitric oxide provokes tumor necrosis factor alpha expression in adult feline myocardium through a cGMP-dependent pathway. *Circulation*, 2000, **102** (11): 1302-307
- [18] Steenbergen C, Afshari CA, Petranks JG, Collins J, Martin K, Bennett L, et al. Alterations in apoptotic signaling in human idiopathic cardiomyopathic hearts in failure. *Am J Physiol*, 2003, **284** (1): H268-276
- [19] Frantz S, Fraccarollo D, Wagner H, Behr TM, Jung P, Angermann CE, et al. Sustained activation of nuclear factor- κ B and activator protein 1 in chronic heart failure. *Cardiovasc Res*, 2003, **57** (3): 749-756
- [20] Pelzer T, Schumann M, Neumann M, de Jager T, Stimpel M, Serfling E. 17 β -estradiol prevents programmed cell death in cardiac myocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **268** (1): 192-200
- [21] Rodriguez-Portel M, Leman LO, Holmes DR Jr, Richardson D, Napoli C, Lerman A. Chronic antioxidant supplementation attenuates nuclear factor- κ B activation and preserves endothelial function in hypercholesterolemic pigs. *Cardiovasc Res*, 2002, **53**: 1010-018
- [22] Chen F, Castranova V, Shi X, Demers LM. New insights into the role of nuclear factor- κ B, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases. *Clin Chem*, 1999, **45** (1): 7-17
- [23] Thourani VH, Brar SS, Kennedy TP, Thornton LR, Watts JA, Ronson RS. Nonanticoagulant heparin inhibits NF- κ B activation and attenuates myocardial reperfusion injury. *Am J Physiol*, 2000, **278** (6): H2084-093
- [24] Napoleone E, Di Santo A, Camera M, Tremoli E, Lorenzet R. Angiotensin converting enzyme inhibitors downregulate tissue factor synthesis in monocytes. *Circ Res*, 2000, **86** (2): 139-143
- [25] 王海蓉, 李建军, 蒋锡嘉, 许家俐, 王晶. 血管紧张素 II 对血管内皮细胞核因子 κ B激活及厄贝沙坦干预研究. *中华心血管病杂志*, 2004, **32** (1): 64-67
- [26] Ortego M, Bustos C, Hernandez-Presa MA, Tunon J, Diaz C, Hernandez G, et al. Atorvastatin reduces NF- κ B activation and chemokine expression in vascular smooth muscle and mononuclear cells. *Atherosclerosis*, 1999, **147** (2): 253-261
- [27] 周俊, 陆国平, 戚文航, 吴春芳. 转录因子核因子 κ B对粘附分子及血管新生内膜形成的影响. *上海第二医科大学学报*, 2003, **4**: 308-311
- [28] Hess DC, Howard E, Cheng C, Carroll J, Hill WD, Hsu CY. Hypertonic mannitol loading of NF- κ B transcription factor decoys in human brain microvascular endothelial cells blocks upregulation of ICAM-1. *Stroke*, 2000, **31** (5): 1179-186

(此文编辑 胡必利)