

OX40/OX40L 与动脉粥样硬化

王燃燃 综述, 彭道泉, 赵水平 审校

(中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 内科学; 动脉粥样硬化; 冠心病; OX40; OX40L

[摘要] 动脉粥样硬化为一种慢性炎症疾病。T 细胞与动脉粥样斑块炎症反应关系密切。OX40/OX40L 是机体炎症反应中一对重要的信号通路, 参与 T 细胞的活化、增值、迁移, 在动脉粥样硬化的形成和发展中起到重要的作用。本文就 OX40/OX40L 的生物学特性以及与动脉粥样硬化相关性做一综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

冠心病被认为是目前世界上主要的致死性疾病, 动脉粥样硬化是导致冠心病的病理基础。这种疾病的病因是由多种易感基因、多种环境因素以及它们之间复杂的关系共同组成的。对于动脉粥样硬化的研究一直非常热门, 在这些研究中, OX40/OX40L 与动脉粥样硬化的关系开始受到重视, 这与 OX40/OX40L 的基因位点以及其生物学特性和功能, 还有它们在免疫应答以及炎症反应中的作用是分不开的。

1 OX40/OX40L 的生物学特征

人 OX40 又称为 CD134, 其基因位于染色体 1P36, 与肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) 超家族的其他协同刺激分子如 CD30、4-1BB 等位于同一个基因簇内。人的 OX40 是相对分子质量为 47~ 51 kDa 的 iv 型跨膜糖蛋白, 由 249 个氨基酸组成, 其膜外区、跨膜区、膜内区分别由 188、24、36 个氨基酸组成^[1]。OX40 定位于活化的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞表面, 主要是 CD4⁺ T 细胞。参与 T 细胞的活化、增殖和迁移。人的 OX40 cDNA 与大鼠、小鼠的同源性分别为 65% 和 68%^[2]。

人 OX40 配体(OX40L/CD134L/gp34) 基因于 1991 年由 Miura 等克隆, 编码 183 个氨基酸(胞外区 139 个氨基酸, 跨膜区 21 个氨基酸, 胞内区 23 个氨基酸), 相对分子质量约为 34~ 40 kDa, 属 TNF 家族成员, 为 I 型跨膜糖蛋白; OX40L 基因长约 1 kb, 位于 1q25。OX40L 蛋白胞外段与 TNF 有 15% 的同源性。OX40L 主要表达于活化的抗原呈递细胞表面, 如树突状细胞(dendritic cells, DC)、B 淋巴细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞以及某些组织细胞包括心、骨骼肌、睾丸和肺。人和大鼠、小鼠的 OX40L cDNA 的同源性为 69% 和 68%^[2]。OX40 与 OX40L 结合后, 通过抑制细胞凋亡, 对于促进活化后 CD4⁺ T 细胞的存活、增殖和记忆性 T 细胞的产生发挥极为重要的作用^[3]。

[收稿日期] 2005-07-11

[修回日期] 2006-05-09

[作者简介] 王燃燃, 硕士研究生, 研究方向为血脂和动脉粥样硬化, E-mail 为 caan77@Tom.com。彭道泉, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 从事血脂研究。赵水平, 博士, 教授, 博士研究生导师。

2 OX40/OX40L 的功能

抗原呈递细胞(antigen presenting cells, APC) 能提供协同信号, 从而使活化的 T 细胞上调性表达 OX40 和 OX40L。CD40L 与 APC 上的 CD40 相互作用使 APC 的 OX40L 呈上调性表达。在淋巴结的 T 细胞区, 共刺激信号 CD28 和 OX40 导致抗原致敏的 CD4⁺ T 细胞迅速扩增, 同时能上调多种细胞因子如白细胞介素 4(interleukin-4, IL-4) 等, 促使 T 细胞区活化的 CD4⁺ T 细胞移行到 B 细胞滤泡中及促进生发中心形成。CD40⁺ T 细胞一方面参与 B 细胞生发中心的合成及抗体分泌, 一方面在 CD28 和 IL-12 协同作用下, 上调表达趋化性细胞因子受体, 从淋巴管移行到血液循环中, 通过血管内皮细胞上的 OX40L 移行到组织中, 从而介导炎症反应^[4]。

OX40/OX40L 信号能促进 DC 的分化成熟, 增强 T 细胞的功能。研究还发现炎症期的 T 细胞能激活 OX40/OX40L 信号, 促进 T 细胞的产生, 并且分泌细胞因子, 如 IL-2、IL-12、TNF- α 等。另外 OX40/OX40L 还介导 T 细胞和内皮细胞间的粘附^[2]。OX40/OX40L 信号通路激活在抑制 T 细胞的凋亡、延长 T 细胞的存活中发挥重要的作用。其机制可能是: OX40 的表达促进细胞内重要的抗凋亡因子 bcl-2 和 bcl-x1 生成; ④促进细胞因子的转录; ⑤抑制 Fas 或 FasL 的表达或者其功能的发挥; ⑥下调 CIL-4 的负调控作用^[2]。

人 OX40L 只能刺激人的 T 细胞, 小鼠 OX40L 却能刺激人和小鼠 T 细胞。OX40L 可以由活化的 B 细胞表达, OX40L 与 T 细胞表面的 OX40 协同刺激 B 细胞增殖并分化为浆细胞, 产生高效价的抗体。可溶性的 CD40L 可以促进单核细胞来源的人 DC 表面表达 OX40L, OX40L 与 OX40 结合后刺激单核细胞来源的 DC, 可以使 DC 生成 IL-12、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 增加 5~ 35 倍不等, 进一步促进 DC 的成熟。OX40L 与活化的 T 细胞对内皮系统的粘附作用相关, 因为抗 OX40L 和/或抗 OX40 的抗体能阻断它们之间的粘附^[5]。

OX40/OX40L 的协同作用在免疫应答中起到极其重要的作用。OX40L 表达缺陷小鼠和用单克隆抗体封闭 OX40L 的小鼠均明显削弱 APC 的抗原呈递功能, T 细胞的激活受到明显抑制, T 细胞产生的细胞因子明显降低, 针对特异性抗原的 IgG 含量也低下^[6]。目前认为 OX40/OX40L 可能通过三个阶段参

与免疫应答: 在淋巴结, OX40/OX40L 相互作用而活化的 CD4⁺ T 细胞移行到 B 滤泡区, 促进生发中心形成和抗体分泌; ④OX40/OX40L 信号促使 CD4⁺ T 细胞等炎症细胞进入血液中, 再移行到炎症部位; ⑤组织来源的 OX40L 细胞在局部组织介导 CD4⁺ T 细胞的炎症反应。

3 OX40/OX40L 与动脉粥样硬化的关系

由于 OX40/OX40L 在免疫应答中的重要作用和其与疾病的密切关系, OX40/OX40L 一直以来都是免疫学研究的重点, 其在免疫性疾病、肿瘤、移植排斥反应研究中已经比较深入, 但其与动脉粥样硬化以及冠心病的关系研究目前刚开始。

免疫系统在动脉粥样硬化的形成中起到重要的作用, 天然免疫和获得性免疫均参与疾病的进程。各种已经确定或者已经显露的动脉粥样硬化危险因素调节着免疫反应的各个方面, 其中包括脂蛋白和它们的修饰产物、血管活性物质和感染等^[7]。T 细胞、细胞因子以及各种免疫调节因子, 均极大的影响动脉粥样硬化的进程。T 细胞的激活是动脉粥样硬化重要的炎症致病因素之一^[8]。而 OX40 与 OX40L 结合后, 通过抑制细胞凋亡, 对于促进活化后 T 细胞的存活、增殖起重要作用^[9]。因此 OX40/OX40L 与动脉粥样硬化的关系受到重视。

3.1 OX40/OX40L 的基因位点与动脉粥样硬化的关系

Paigen 的实验室早在 20 年前就致力于动脉粥样硬化的易感基因研究, 他们通过对十余种基因型的小鼠给予高脂饮食诱导动脉粥样硬化动物模型, 发现 C57BL/6(B6) 鼠具有易感性, 而 C3H/He(C3H) 和 BALB/c 的小鼠不易感染, 从而筛查出第一个动脉粥样硬化的易感基因区域, 定名为 Ath1 (atherosclerosis susceptibility 1)。其后的研究中他们进一步把 Ath1 限定在 1 号染色体上, 包括 OX40L 等^[10]。

随后研究者们进行动物模型的验证, OX40L 基因敲除小鼠在高脂饮食中表现出对动脉粥样硬化的抵抗, 与对照组比较差异有显著性。而 TNFSF4 基因过表达的小鼠则更容易患上动脉粥样硬化疾病^[11]。OX40L 成为目前动物实验证据最充分的动脉粥样硬化的易感基因。

3.2 OX40/OX40L 单核苷酸多态性与心肌梗死的关系

OX40L 基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP) 与心肌梗死的关系研究中也提示 OX40L 和急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI) 有关。在斯德哥尔摩冠状动脉粥样硬化风险因素(stockholm coronary atherosclerosis risk factor, SCARF) 研究中发现, 心肌梗死患者与正常对照相比较, 吸烟史、2 型糖尿病史、高体质指数、高甘油三酯和低高密度脂蛋白胆固醇血症均明显突出。研究者开始检测一个 TNFSF4(编码 OX40L 的基因) 的 SNP, 发现与正常对照组比, 心肌梗死患者组一个少见的等位基因(G) 出现的频率差异有显著性, 其后又检测其他四种 TNFSF4 的 SNP, 没有发现明显的差异性, 但也能够提示 TNFSF4 的不同等位基因导致个体对心肌梗死的不同易感性^[11]。在斯德哥尔摩心脏病流行病学调查(stockholm heart epidemiology program, SHEEP) 研

究的人群中, 也检测到 OX40L 基因序列中同一个的 SNP, 发现其在女性心肌梗死患者与对照组中差异有显著性(674 例患者中有 16.9% 携带此基因, 对照组 964 例中携带者只有 13.4%), 而在男性患者差异并不明显, 提示有一定的性别差异^[11]。

心肌梗死是因为动脉粥样硬化斑块的纤维帽发生破裂, 导致血栓形成所致, 其发生的位置与动脉最狭窄的地方并不一定吻合。动脉粥样硬化斑块的纤维帽是否发生破裂与斑块的稳定性相关, 有些因素促使斑块生长, 同时平滑肌细胞增殖使纤维帽变厚、趋于稳定; 也有些因素延缓甚至阻止斑块生长, 使纤维帽不稳定易于破裂而导致心血管事件的发生。这就是目前流行的易损斑块学说。事实上, 不稳定性斑块纤维帽边沿有大量的炎性细胞聚集, 包括大量激活的淋巴细胞, 提示他们可能使斑块不稳定破裂, 由此推断 OX40/OX40L 也可能参与斑块破裂。在实验中还发现, 有一部分心肌梗死患者的冠状动脉狭窄程度并不非常高, 他们的血浆高密度脂蛋白胆固醇浓度与对照组比较无明显降低, 这部分患者中携带 TNFSF4 的一个变异基因的机率与正常对照组相比差异有显著性^[11]。

Ria 等^[12]最近也报道了 OX40 在 AMI 人群中的基因证据, 虽然 OX40 基因序列比较保守, 而且基因变异相对少见, 但是在 AMI 人群中也发现 OX40 的一个变异基因出现的频率较正常人群显著增高。

以上的研究证明 OX40/OX40L 单核苷酸多态性与心肌梗死有密切关系。

3.3 OX40/OX40L 在动脉粥样硬化中的作用

大量临床研究证实, 炎症过程参与不同临床背景的动脉粥样硬化性疾病的所有阶段。患有冠状动脉、颈动脉或外周动脉的动脉粥样硬化患者, 炎症介质的血清水平常明显升高。炎症导致血管局部中性粒细胞和单核细胞浸润, 促进脂质沉积, 导致动脉粥样硬化脂纹等早期病变的发生。炎症亦是易损斑块的最显著特征之一, 可发生于易损斑块的纤维帽和外膜中, 有单核细胞、巨噬细胞和淋巴细胞参与。巨噬细胞产生组织降解酶、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP) 以应答激活 T 淋巴细胞。炎症导致局部中性粒细胞和单核细胞的聚集, 动脉粥样硬化斑块中激活的巨噬细胞有可能通过 MMP、细胞因子和其它参与炎症的介质导致斑块破裂, 引发急性冠状动脉综合征的发生与发展^[13,14]。

动脉粥样硬化的各个时期均有不同程度的淋巴细胞浸润, 且以 T 细胞为主, 主要是 CD4⁺ T 细胞。在正常的动脉内膜未见或者罕见 T 细胞, 在死于动脉粥样硬化相关疾病患者的病理解剖中, T 细胞的数量远远超过了单核巨噬细胞。抗原特异性 T 细胞的活化需要双信号刺激, 协同刺激分子是活化的第二信号, 激活 Th 细胞并且促进细胞因子的释放^[15]。

选择 OX40/OX40L 作为研究有两个原因: 它存在于内皮细胞、淋巴细胞和巨噬细胞上, 这些细胞被认为是和动脉粥样硬化形成密切相关的细胞。④它调控淋巴细胞的增殖, 如同 Fas/FasL 系统诱导淋巴细胞的凋亡一样, OX40/OX40L

使淋巴细胞增殖和存活。在小鼠实验中, 内皮细胞过表达 FasL 可以降低动脉粥样硬化的程度, 提示 FasL 具有抗动脉粥样硬化的作用^[16], 它的作用可能与动物的种属有关, 在兔子实验中被认为有致动脉粥样硬化的作用^[17]。同样, OX40L 在小鼠实验中被认为有致动脉粥样硬化的作用, TNFSF4 基因(编码 OX40L 的基因)敲除小鼠在高脂饮食中表现出对动脉粥样硬化的抵抗^[11]。

不同实验模型表明 OX40 主要表达在炎症浸润部位的 T 细胞上, 而在非炎症部位几乎不表达^[18]。Wang 等^[11]在检测载脂蛋白 E 基因缺乏小鼠的时候发现, 在动脉粥样硬化的脂质斑块病变部位的巨噬细胞、平滑肌细胞以及淋巴细胞中均可用免疫组织化学的方法检测到 OX40L, 但是在坏疽的脂质斑块核心几乎不能检测出 OX40L。这提示 OX40/OX40L 参与动脉粥样硬化形成的炎症过程。

4 结论

OX40/OX40L 途径很可能成为防治动脉粥样硬化的新思路。OX40L 几乎出现于所有参与动脉粥样硬化的细胞中(内皮细胞、淋巴细胞、巨噬细胞以及平滑肌细胞), 而且在炎症组织中有较多的表达, 提示其可能作为一种中心机制, 调节在动脉粥样硬化发生发展中不同细胞与炎症介质的相互关系。实际上, 干预 OX40/OX40L 途径已经作为治疗许多临床慢性炎症性疾病的目标之一, 这些疾病包括哮喘、风湿性关节炎、肿瘤、移植物抗宿主疾病、炎症性肠炎、糖尿病以及艾滋病等, 动脉粥样硬化可能就是下一个治疗目标。

[参考文献]

- [1] Croft M. Co-stimulatory members of the TNFR family: key to effective T-cell immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, **3** (8): 609-602
- [2] 孙建军. OX40/OX40L 的生物学特性和功能[J]. 上海免疫学杂志, 2003, **2** (23): 136-138
- [3] Sugamura K, Ishii N, Weinberg AD. Therapeutic targeting of the effector T-cell

- co-stimulatory molecule OX40 [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, **4** (6): 420-431
- [4] Lane P. Role of OX40 signals in coordinating CD4 T cell selection, migration, and cytokine differentiation in T helper Th1 and Th2 cells [J]. *J Exp Med*, 2000, **191** (2): 201-209
- [5] Chen AI, McAdam AJ, Buhlmann JE, Scott S, Lupher ML Jr, Greenfield EA, et al. OX40-ligand has a critical costimulatory role in dendritic cell: T cell interactions [J]. *Immunity*, 1999, **11** (6): 689-698
- [6] Murata K, Ishii N, Takano H, Miura S, Ndhlovu LC, Nose M, et al. Impairment of antigen presenting cell function in mice lacking expression of OX40 ligand [J]. *J Exp Med*, 2000, **191** (2): 365-374
- [7] Hansson GK, Libby P, Schonbeck U, Yan ZQ. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2002, **91** (4): 281-291
- [8] Boer OJ, Becker A. T lymphocytes in atherogenesis-functional aspects and antigenic repertoire [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, **60** (1): 78-86
- [9] Imura A, Hori T, Imada T, Ishikawa T, Tanaka Y, Maeda M, et al. The human OX40/gp34 system directly mediates adhesion of activated T cells to vascular endothelial cells [J]. *J Exp Med*, 1996, **183** (5): 2185-195
- [10] Smith J. Quantitative trait locus mapping for atherosclerosis susceptibility [J]. *Current Opinion in Lipidology*, 2003, **14** (5): 499-503
- [11] Wang X, Ria M, Kelmenson PM, Eriksson P, Higgins DC, Samnegard A, et al. Positional identification of TNFSF4, encoding OX40 ligand, as a gene that influences atherosclerosis susceptibility [J]. *Nat Genet*, 2005, **4** (37): 365-372
- [12] Ria M, Eriksson P, Boquist S, Ericsson CG, Hamsten A, Lagercrantz J. Human genetic evidence that OX40 is implicated in myocardial infarction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **339** (3): 1001-006
- [13] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature*, 2002, **420** (6917): 868-874
- [14] Ross R. Atherosclerosis: an inflammation disease [J]. *N Engl J Med*, 1999, **340**: 115-126
- [15] Zhou X, Paulson G, Stenne S. Hypercholesterolemia is associated with a T helper (Th) 1 switch of autoimmune response in atherosclerotic apoE knockout mice [J]. *J Clin Invest*, 1998, **101** (8): 171
- [16] 杜瑞雪, 范利, 王春喜. Fas-Fas 配体系统和动脉粥样硬化中的细胞凋亡[J]. 中国动脉硬化杂志, 2004, **12** (4): 490-492
- [17] Schneider DB. Expression of Fas ligand in arteries of hypercholesterolemic rabbits accelerates atherosclerotic lesion formation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (2): 298-308
- [18] 储以薇. OX40 和 OX40L 在免疫应答中的热点和其应用[J]. 上海免疫学杂志, 2002, **6** (22): 428-430

(此文编辑 许雪梅)