

## $\beta_2$ 整合素 CD11/CD18 与动脉粥样硬化

李玉洁 综述, 朱晓新 审校

(中国中医科学院中药研究所, 北京市 100700)

[关键词] 病理学和病理生理学; 动脉粥样硬化; CD11/CD18; 综述;  $\beta_2$  整合素

[摘要] 动脉粥样硬化是有免疫系统参与的慢性炎症反应性疾病, CD11/CD18 在其炎症反应中发挥重要作用。CD11/CD18 缺失或阻断可通过减少白细胞粘附、脂纹形成, 干预经皮冠状动脉腔内成形术后狭窄、再狭窄过程等多个环节影响动脉粥样硬化的形成过程。这些研究深化了对动脉粥样硬化分子机制的认识, 以 CD18 为新靶点的药物, 可能会给临床动脉粥样硬化性疾病的预防、诊断和治疗带来新的突破。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

单核细胞粘附于血管内皮, 并迁移、摄脂、转化为泡沫细胞, 是动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)形成的早期关键事件。随着分子免疫学等相关基础学科的快速发展, 细胞活化和粘附机制在 As 形成发展过程中发挥的作用引起广泛关注。现已证实人 As 病变斑块中多种粘附分子家族成员均存在高表达现象, 而整合素家族  $\beta_2$  亚族(CD11/CD18)在 As 炎症反应中发挥重要作用。 $\beta_2$  整合素所共有的 CD18 亚单位缺失, 可影响整个  $\beta_2$  整合素分子的结构与功能, 导致白细胞粘附、迁移和吞噬能力减弱, 从而影响 As 的形成过程。本文就近十年来对白细胞表面 CD11/CD18 分子与 As 形成及发展方面的研究予以综述, 这些研究深化了对 As 分子机制的认识, 并为其防治提供了新的思路。

### 1 CD11/CD18 的生物学特性

$\beta_2$  整合素是由 4 种不同的  $\alpha$  亚基(CD11a、CD11b、CD11c、CD11d)分别和一共同的  $\beta_2$  亚基(CD18)组成异二聚体 CD11a/CD18 即淋巴细胞功能相关抗原(lymphocyte function associated antigen 1, LFA-1)、CD11b/CD18 即巨噬细胞分化抗原 1(CR3)、CD11c/CD18 即糖蛋白(P150/95, CR4)、CD11d/CD18( $\alpha_2\beta_2$ )组成。CD18 是分子量为 95 kDa、含 747 个氨基酸的跨膜蛋白。其胞外区 678 个氨基酸, 跨膜区 23 个氨基酸, 胞内区 46 个氨基酸, 有 6 个潜在的 N-糖基化位点。胞外近膜区大约 40 个氨基酸区域中, 有 4 个富含半胱氨酸的重复序列。CD18 的 iv 区是配体和二价阳离子结合位点所在。人 CD18 基因定位于 21q22.3, 基因长约 40 kb, 含 16 个外显子。CD18 的启动子缺少 TATA、CAAT 盒, 在 45 bp 区域内簇集了多个转录起始位点, 其中有 SPI/PU.1 结合位点及 10 个 T(G/C)AC(C/A)盒, 可能是视黄酸受体结合位点。

CD11/CD18 主要表达于淋巴细胞、单核巨噬细胞、粒细胞、自然杀伤细胞等, 以细胞毒 T 细胞最丰富。其表达属于

非组成性表达, 即通常情况下基因在细胞表面表达很少或不表达, 但在某些因素刺激下可诱导表达。其诱导表达的方式可通过从胞内储池脱落并转位到细胞表面, 或诱导粘附分子重新合成。视黄酸、豆蔻酸-佛波醇-乙酸酯(phorbol myristate acetate, PMA)、白细胞介素 1、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、C5a 等可诱导 CD11/CD18 表达, 但其在细胞膜表达增多的确切机制未完全明了。选择素分子结合到相应配体启动细胞内信号途径可引起  $\beta_2$  整合素活化<sup>[1]</sup>。CD18 高表达可能通过激活蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)/核因子  $\kappa$ B 途径、p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)途径、CD14-Toll 样受体 2(Toll like receptor 2, TLR2)-磷脂酰肌醇 3-激酶信号途径<sup>[2-4]</sup>。新近 Schymeinsky 等<sup>[5]</sup>用共聚焦显微镜检测到趋化寡肽或单核细胞趋化因子 1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)刺激 HL-60 所诱导的  $\beta_2$  整合素与纤维蛋白原粘附和固定的过程中, 在扁平状伪足形成部位非受体酪氨酸激酶 Syk 富集, 抗 CD18 抗体或 Syk 抑制剂治疗可阻断此作用, 提示  $\beta_2$  整合素介导的粘附和 Syk 活化是白细胞定向迁移的一个必要条件。

### 2 CD11/CD18 与动脉粥样硬化相关性的临床资料

#### 2.1 CD11/CD18 与动脉粥样硬化患者

许多临床研究发现, 在 As 患者白细胞表面普遍存在 CD11/CD18 高表达现象, 导致与其配体的相互作用增强, 成为 As 发生、发展的关键因素之一。在人类 As 斑块“肩部”炎症细胞浸润区多个基因表达上调, 其中包括 CD11a/CD18、集落刺激因子受体、白细胞介素受体等, 同样的结果在体外实验中也得到证实<sup>[6]</sup>; 在血管动脉粥样硬化性疾病(vascular atherosclerotic disease, VAD)患者体内多形核白细胞表面 CD11a、CD18 增量表达; 冠状动脉疾病(coronary artery disease, CAD)患者巨噬细胞表面存在 CD11b/CD18 高表达现象<sup>[7-9]</sup>; 而外周血管闭塞性疾病患者 CD11b/CD18 表达高于 CAD 患者, 故 Mazzone 等<sup>[10]</sup>认为 CD11b/CD18 可作为缺血性疾病中吞噬细胞慢性活化的标志。在经皮腔内冠状动脉成形术

[收稿日期] 2006-01-15

[修回日期] 2006-09-02

[作者简介] 李玉洁, 博士研究生, 主要研究方向为心血管药理, E-mail 为 yjgsyg@hotmail.com。朱晓新, 博士, 研究员, 博士研究生导师, 主要从事心血管药理和中药药代动力学研究。

(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA) 后也存在 CD18、CD11b、CD14、GP Ⅱb/Ⅲa 增量表达现象<sup>[11]</sup>。由此可见 CD18 可能成为 As 疾病中潜在的治疗靶点。

## 2.2 CD11/CD18 与动脉粥样硬化的危险因子

高血压、高血糖、血脂代谢障碍及吸烟等是 As 的危险因子。Berliner 等<sup>[12]</sup>发现伴有上述两个或两个以上 As 危险因子的缺血性心脑血管疾病患者,多形核细胞、单核细胞表面 CD11b/CD18 阳性率与不伴或只有一个危险因子的患者阳性率差异有显著性( $P < 0.00001$ ),提示多种危险因子通过上调白细胞表面 CD11b/CD18 表达的共同通路引发 As 病变。

氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)涉及 As 伴随的白细胞募集和微血管机能障碍,1993 年 Couffignal 等用抗 CD18 抗体预孵育,解除了低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)诱导的单核-内皮细胞粘附,认为 LDL 诱导单核细胞迅速活化粘附与整合素系统有关。Liao 等<sup>[13]</sup>的研究也表明,CD11/CD18 单克隆抗体预处置可减弱 ox-LDL 诱导的白细胞粘附、迁移,而血管细胞粘附分子 1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、P-选择素、L-选择素抗体无此作用,再次证实此过程主要由 CD11/CD18 介导。实验证实血脂升高可导致体内整合素系统活化<sup>[14,15]</sup>,但家族性高血脂中整合素家族成员 LFA-1 和白细胞的受体极迟抗原 4(very late antigen 4, VLA-4)介导的 T 细胞和单核细胞粘附没有改变<sup>[16]</sup>。Spijkers 等<sup>[17]</sup>认为,LDL 受体相关蛋白(LDL receptor related protein, LRP)调节  $\beta_2$  整合素介导的白细胞粘附,LRP 表达不足致使在灌流系统  $\beta_2$  依赖的粘附反应减弱或消失。

高血糖能显著增加单核细胞和内皮细胞粘附,此粘附效应可通过细胞间粘附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、VCAM-1 和 CD18 单克隆抗体所阻断<sup>[18]</sup>。进一步研究证实 12-脂氧化酶途径在增加糖尿病患者 As 易感性方面发挥重要作用<sup>[19]</sup>。

As 患者 As 斑块中肺炎衣原体检出率明显增高,已成为一个独立的 As 危险因子。肺炎衣原体能直接活化 CD11a、CD11b、CD18 使单核细胞粘附到 As 好发部位<sup>[20]</sup>,其增强粘附效应主要体现在增加单核细胞在粘附部位的停留时间,减少血管壁切应力,从而促进受感染细胞进入到损伤部位<sup>[21]</sup>。

## 3 CD11/CD18 与动脉粥样硬化相关性的实验研究

### 3.1 CD11/CD18 与动脉粥样硬化的炎症反应

CD11/CD18 在 As 初期和进展期的炎症反应过程中起重要作用。 $\beta_2$  整合素活化是 As 炎症反应中白细胞粘附到内皮组织的关键事件。在体内,细胞因子诱导的白细胞粘附到大动脉和股动脉通过 CD11a/CD18 介导<sup>[22]</sup>。玻璃体粘连蛋白是粘附促进因子,在 As 等血管疾病中大量出现在基质分子中。多数研究认为,在 CD11b/CD18 和玻璃体粘连蛋白间由尿激酶受体间接相互作用。但有研究认为 CD11b/CD18 和玻璃体粘连蛋白间存在直接相互作用,整合素亲和力调控系统参与了白细胞粘附和渗出<sup>[23]</sup>。类脂类化学诱导物白细胞三烯 B<sub>4</sub>(leukotriene B<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub>)是与 MCP-1 等强的单核细胞趋化

剂,可以将单核细胞趋化到炎症反应区域。LTB<sub>4</sub> 触发的单核-内皮细胞粘附反应可使整合素亲和力发生变化,但不改变膜分子的表达。与 MCP-1 不同,LTB<sub>4</sub> 并不能活化磷酸肌醇 3 途径<sup>[24]</sup>,在其活化过程中哪条信号通路是机能上的关键步骤,有待进一步研究。

### 3.2 CD11/CD18 与血小板活化

在包括 As 在内的心血管疾病患者血液中存在较多的白细胞-血小板聚集物,主要因血小板活化而产生。血小板与白细胞相互作用是通过血小板反受体糖蛋白 Ib $\alpha$  上 CD11b/CD18 绑定座位识别<sup>[25]</sup>。高胆固醇可使白细胞和血小板粘附增多,微血管系统血栓形成。在高胆固醇血症小鼠尾细血管后微静脉 50% 的粘附发生在血小板-中性粒细胞,抗粒细胞抗体和 CD18-/- 可阻断此作用,提示高胆固醇血症主要导致白细胞依赖的血小板粘附,而 CD18 在此过程中发挥关键作用<sup>[26]</sup>。一般认为,在血管造影术、血管成形术后普遍存在的白细胞活化是再狭窄发生的原因之一。但有实验证实,在主动脉、髂动脉的血管造影术和血管成形术中主要以血小板活化为主,而不是白细胞活化<sup>[27]</sup>。

此外,单核细胞、巨噬细胞在纤维蛋白溶解过程中起重要作用。单核-巨噬细胞通过其表面的 CD11b/CD18 绑定在纤维蛋白上,随后两者的复合物内化进入溶酶体,在天冬氨酸蛋白酶、组织蛋白酶 D 作用下降解纤维蛋白,导致纤维蛋白溶解从而参与包括 As、细胞粘附迁移、创面愈合等在内的多个生理病理进程。

## 4 阻断 CD11/CD18 可抑制粥样斑块的形成和发展

### 4.1 减少白细胞粘附

白细胞聚集是动脉损伤和 As 斑块形成的早期特征, Schramm 等<sup>[22]</sup>用活体荧光显微镜观察在肿瘤坏死因子和白细胞介素局部刺激小鼠大动脉和股动脉所诱发的白细胞粘附反应,结果表明在细胞因子作用下 LFA-1 受体表达不足小鼠白细胞粘附到主动脉和股动脉的粘附率减少 54%、92%,用 LFA-1 单克隆抗体直接对抗 LFA-1 的作用可减少白细胞在主动脉和股动脉粘附反应的 60%、80%。

### 4.2 减少脂纹形成

将 C57BL/6 纯合型小鼠 ICAM-1、P-选择素和 CD18 基因突变或 ICAM-1 和 CD18,或 ICAM-1 和 P-选择素基因突变,可使 As 脂纹减少 50%~75%,表明这些部位基因变异能影响 As 易感性,提示药物可通过减少粘附分子表达和功能来防御、对抗 As 发生<sup>[28]</sup>。另有证据表明,早期充满脂质的单核细胞可重新返回到循环中,这个逆转的单核细胞运输可终止 As 损害的进展,而单核巨噬细胞退出损伤区域重返循环与 CD11/CD18 表达减少有关。

### 4.3 防止狭窄和再狭窄

有报道使用 CD18 单克隆抗体 R15.7 可抑制超过 50% 的白细胞聚合在气囊血管成形术后损伤处,但对管腔狭窄百分率无影响。故认为在 As 中用单克隆抗体封闭白细胞粘附分子 CD11/CD18 途径不能对抗血管成形术后病变。Kawamura 等<sup>[29]</sup>的研究成果支持上述观点,他发现在 CAD 患者单核

细胞表面 CD11a/CD18 和 ICAM-1 表达明显高于对照组,但在 15 名再狭窄患者体内 CD11a/CD18、ICAM-1 表达水平与对照组差异无显著性,故认为 CD11a/CD18、ICAM-1 在单核细胞表面增量表达可影响冠状动脉狭窄,而不是再狭窄过程。但相反的研究结果表明,CD11b/CD18 选择性缺失,可减少白细胞向血管壁迁移和蓄积,并减少血管损伤后白细胞聚集所伴随的内膜异常增厚,认为 PTCA 术后,CD11b/CD18 在白细胞牢固粘附在血小板和裸露血管壁的纤维蛋白原中起重要作用,以此为靶点可有效防止再狭窄发生<sup>[30]</sup>。在肥厚形成期,单核细胞侵入动脉内皮是在 CD18 和 VLA-4 介导下,并伴随平滑肌细胞迁移。CD18 抗体可完全阻断单核、淋巴和所有类型粒细胞侵入内膜,并使内膜平滑肌细胞蓄积减少 70%,故认为 CD18 为一个完全的白细胞侵入阻断剂。

近年来,抗粘附治疗是治疗复杂性血管炎性疾病的新途径之一,CD11/CD18 在 As 疾病中的作用也逐渐为人们接受和认可。通过大量临床观察和实验研究发现,用单克隆抗体直接阻断 CD11/CD18 作用,或在转录水平减少其表达,均可减轻 As 病变。CD11/CD18 阻断剂可通过减少白细胞粘附、脂纹形成和干预 PTCA 术后狭窄、再狭窄过程等多个环节而发挥整体抗炎和抗 As 作用。随着对 CD11/CD18 在 As 发病机制中作用研究的不断深入,以 CD11/CD18 为新靶点的药物,可能会给临床 As 预防、诊断和治疗带来新的突破。

#### [参考文献]

- [1] Blanks JE, Moll T, Eytner R, Vestweber D. Stimulation of P-selectin glycoprotein ligand-1 on mouse neutrophils activates beta 2-integrin mediated cell attachment to ICAM-1 [J]. *Eur J Immunol*, 1998, **28** (2): 433-443
- [2] 何晓文, 刘宇健, 钟纪根, 卢建. PMA 促进 CD18 表达的信号转导通路及机制[J]. *中国病理生理杂志*, 2000 (10): 1 093
- [3] Tandon R, Sha'afi RI, Thrall RS. Neutrophil beta2-integrin upregulation is blocked by a p38 MAP kinase inhibitor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **270** (3): 858-862
- [4] Harokopakis E, Hajishengallis G. Integrin activation by bacterial fimbriae through a pathway involving CD14, Toll-like receptor 2, and phosphatidylinositol-3-kinase [J]. *Eur J Immunol*, 2005, **35** (4): 1 201-210
- [5] Schymeinsky J, Then C, Walzog B. The nonreceptor tyrosine kinase Syk regulates lamellipodium formation and site directed migration of human leukocytes [J]. *J Cell Physiol*, 2005, **204** (2): 614-622
- [6] Tuomisto TT, Korkeala A, Rutanen J, Viita H, Brasen JH, Riekkinen MS, et al. Gene expression in macrophage-rich inflammatory cell infiltrates in human atherosclerotic lesions as studied by laser microdissection and DNA array: overexpression of HMG-CoA reductase, colony stimulating factor receptors, CD11A/CD18 integrins, and interleukin receptors [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (12): 2 235-240
- [7] Kassirer M, Zeltser D, Prochorov V, Schoenman G, Frimeman A, Keren G, et al. Increased expression of the CD11b/CD18 antigen on the surface of peripheral white blood cells in patients with ischemic heart disease: further evidence for smoldering inflammation in patients with atherosclerosis [J]. *Am Heart J*, 1999, **138** (3 Pt 1): 555-559
- [8] 尹克春, 罗翌, 曾星. 冠心病血瘀证病人血白细胞 CD11b/CD18 表达的研究[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2003, **7** (1): 381-383
- [9] 钟萍, 黄德嘉. 冠心病患者外周血白细胞粘附分子的表达及 Ca<sup>2+</sup> 变化的研究[J]. *中国药物与临床*, 2003, **3** (5): 383-386
- [10] Mazzone A, De Servi S, Mazzucchielli I. Increased expression of CD11b/CD18 on phagocytes in ischaemic disease: a bridge between inflammation and coagulation [J]. *Eur J Clin Invest*, 1997, **27** (8): 648-652
- [11] Serrano CV Jr, Rocha Giraldez R, de Lara Fernandes J, Nicolau JC, Zweier JL, Ramires JA. Platelet and leukocyte adhesion and activation in unstable angina and post-PTCA [J]. *Int J Cardiol*, 2005, **99** (3): 423-428
- [12] Berliner S, Rogowski O, Rotstein R, Fusman R, Shapira I, Bornstein NM, et al. Activated polymorphonuclear leukocytes and monocytes in the peripheral blood of patients with ischemic heart and brain conditions correspond to the presence of multiple risk factors for atherothrombosis [J]. *Cardiology*, 2000, **94** (1): 19-25
- [13] Liao L, Starzyk RM, Granger DN. Molecular determinants of oxidized low-density lipoprotein induced leukocyte adhesion and microvascular dysfunction [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (3): 437-444
- [14] 金永娟, 李宏妹, 朱文云, 马丽, 邢海燕. 高血脂对血细胞和血管内皮细胞的损伤[J]. *中国微循环*, 2002, **6** (1): 22-24
- [15] 张红霞, 刘剑刚, 马鲁波, 史大卓. 高脂血症瘀模型白细胞粘附活化和细胞素 2、6 和 8 的变化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (2): 99-102
- [16] de Bont N, Geijtenbeek TB, Netea MG, Smilde TJ, Demacker PN, Figdor CG, et al. Integrin mediated adhesion of mononuclear cells from patients with familial hypercholesterolemia [J]. *Eur J Clin Invest*, 1999, **29** (9): 749-757
- [17] Spijkers PP, da Costa Martins P, Westein E, Gahmberg CG, Zwaginga JJ, Lenting PJ. LDL-receptor-related protein regulates beta2-integrin mediated leukocyte adhesion [J]. *Blood*, 2005, **105** (1): 170-177
- [18] Manduteanu I, Voinea M, Serban G, Simionescu M. High glucose induces enhanced monocyte adhesion to valvular endothelial cells via a mechanism involving ICAM-1, VCAM-1 and CD18 [J]. *Endothelium*, 1999, **6** (4): 315-324
- [19] Patricia MK, Kim JA, Harper CM. Lipoxigenase products increase monocyte adhesion to human aortic endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19** (11): 2 615-622
- [20] May AE, Redecke V, Gruner S. Recruitment of Chlamydia pneumoniae infected macrophages to the carotid artery wall in noninfected, nonatherosclerotic mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (5): 789-794
- [21] Kalayoglu MV, Perkins BN, Byrne GI. Chlamydia pneumoniae infected monocytes exhibit increased adherence to human aortic endothelial cells [J]. *Microbes Infect*, 2001, **3** (12): 963-969
- [22] Schramm R, Menger MD, Schaefer HJ, Thorlacius H. Leukocyte adhesion in aorta and femoral artery in vivo is mediated by LFA-1 [J]. *Inflamm Res*, 2004, **53** (10): 523-527
- [23] Yasuda T, Takeshita H, Nakajima T, Hosomi O, Nakashima Y, Kishi K. Promotion of leukocyte adhesion by a novel interaction between vitronectin and the beta2 integrin Mac-1 (alphaMbeta2, CD11b/CD18) [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (12): 2 251-256
- [24] Friedrich EB, Tager AM, Liu E. Mechanisms of leukotriene B4: triggered monocyte adhesion [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (10): 1 761-767
- [25] Ehlers R, Ustinov V, Chen Z, Zhang X, Rao R, Lusinskas FW, et al. Targeting platelet-leukocyte interactions: identification of the integrin Mac-1 binding site for the platelet counter receptor glycoprotein Ibalpha [J]. *J Exp Med*, 2003, **198** (7): 1 077-088
- [26] Tailor A, Granger DN. Hypercholesterolemia promotes leukocyte-dependent platelet adhesion in murine postcapillary venules [J]. *Microcirculation*, 2004, **11** (7): 597-603
- [27] Barani J, Gottsater A, Mattiasson I, Lindblad B. Platelet and leukocyte activation during aortoiliac angiography and angioplasty [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2002, **23** (3): 220-225
- [28] Nageh MF, Sandberg ET, Marotti KR, Lin AH, Melchior EP, Bullard DC, et al. Deficiency of inflammatory cell adhesion molecules protects against atherosclerosis in mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (8): 1 517-520
- [29] Kawamura A, Miura S, Murayama T, Iwata A, Zhang B, Nishikawa H, et al. Increased expression of monocyte CD11a and intracellular adhesion molecule-1 in patients with initial atherosclerotic coronary stenosis [J]. *Circ J*, 2004, **68** (1): 6-10
- [30] Simon DI, Dhen Z, Seifert P, Edelman ER, Ballantyne CM, Rogers C. Decreased neointimal formation in Mac-1(-/-) mice reveals a role for inflammation in vascular repair after angioplasty [J]. *J Clin Invest*, 2000, **105** (3): 293-300

(此文编辑 许雪梅)