

CD40 配体与糖尿病并发动脉粥样硬化

王芳综述, 孙侃审核

(石河子大学医学院附属第一医院内分泌科, 新疆维吾尔自治区石河子市 8320001)

[关键词] 病理学与病理生理学; CD40 配体; 糖尿病; 动脉粥样硬化

[摘要] 新近研究认为, 炎症参与了糖尿病患者并发动脉粥样硬化的病理过程, CD40 配体作为一种新的炎症标志, 广泛存在于 T、B 淋巴细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、单核/巨噬细胞、血小板及上皮细胞表面, 与其受体相互作用可诱导上述细胞产生许多致炎因子, 参与动脉粥样硬化的发展变化。最新临床研究提示 CD40 配体可能参与糖尿病炎症血管并发症的发生。阻断 CD40-CD40 配体的相互作用可能为抑制糖尿病并发动脉粥样硬化的发生与发展提供新的治疗手段。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

动脉粥样硬化是糖尿病最常见和致死率最高的并发症。在糖尿病患者中, 动脉粥样硬化性疾病引起的死亡占糖尿病总死亡率的 80%。最近研究表明, 炎症反应是糖尿病并发动脉粥样硬化的发病机制之一^[1]。CD40/CD40 配体是一对互补跨膜糖蛋白, 它们作为一种新的炎症标志物^[2], 是免疫和炎症反应中重要的信号转导系统, 参与了动脉粥样硬化的形成和发展。临床研究发现, 糖尿病患者体内 CD40 配体水平明显增加, 提示 CD40 配体在糖尿病动脉粥样硬化病变过程中起着重要作用, 本文就 CD40 配体与糖尿病并发动脉粥样硬化的关系作一综述。

1 CD40 配体简介

CD40 配体也称 gp39 或 CD154, 是一种 C_{10} 型跨膜蛋白, 含 261 个氨基酸残基, 分子质量为 49 000, 其三维结构类似于肿瘤坏死因子 α , 属于肿瘤坏死因子超家族中的细胞因子。CD40L 主要存在于活化的 CD4⁺ T 细胞表面, 提供 B 淋巴细胞活化所必须的协同刺激信号, 在 CD8⁺ T 细胞、血小板、外周血嗜碱细胞、嗜酸细胞、柱状细胞、B 细胞、NK 细胞、树突状细胞和单核细胞的表面也有少量表达。其生物学功能多在与 CD40 相互作用后产生。CD40 配体分可溶性及膜结合性两型, 可溶性 CD40 配体(soluble CD40L, sCD40L)是由 CD40 配体水解而成, 循环血液中 95% 以上的 sCD40 配体来源于血小板。

体外实验证实 CD40 配体存在于与动脉硬化相关的多种细胞中。1997 年 Mach 等^[3]报道, 人类 AS 斑块内的内皮细胞、平滑肌细胞和单核/巨噬细胞均表达 CD40 配体, 其在斑块的肩部, 即斑块与正常动脉交界处最多。同时还发现斑块

内的 CD4⁺ T 淋巴细胞也表达 CD40 配体, 而正常组织及内皮细胞却没有表达。Henn 等^[4]发现未激活的血小板表面没有 CD40 配体存在, 在凝血酶、ADP 或胶原存在情况下血小板被激活, 它能立即表达 CD40 配体, 并在数秒内达到高峰。血小板表面的 CD40 配体随即脱落, 形成可溶性的片段(sCD40 配体)。由血小板释放或位于其表面的 CD40 配体通过与血管内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞表达的 CD40 相互作用, 进一步促进其炎症反应。动物实验发现, 阻断这一系统的相互作用可以防止动脉粥样硬化的发生与发展, 并使斑块内平滑肌和纤维胶原增加, 脂质和巨噬细胞积聚减少, 从而稳定斑块^[5]。提示过量表达 CD40 配体可能与动脉粥样硬化斑块的形成、发展和破裂有关。

2 糖尿病对 CD40 配体表达的上调作用

与健康人相比, 糖尿病患者 CD40 配体表达明显增高^[6,8], 近两年国外研究发现, 其原因与糖尿病可以促进血小板膜表面和血浆可溶性 CD40 配体表达有关, 具体机制可能有以下几个方面: (1) 糖尿病可以增加血小板表面胶原受体糖蛋白 IV(GPVI) 的表达, GPVI 与其配体结合触发酪氨酸磷酸化, 使血小板 Fc 受体的 Y 链活化, 通过 Syk 蛋白触发下游信号, 活化 T 细胞和蛋白激酶 C 等, 从而诱导血小板的活化, 使 CD40 配体的分泌增加。并可能通过激活内皮细胞使依赖 GPVI 分泌的 CD40 释放增加。使用 GPVI 的抑制剂可有效减少血小板释放 CD40 配体^[9]。(2) 高血糖症和晚期糖基化终末产物的堆积可促进血小板表达和释放 CD40 配体, 从而使糖尿病患者 CD40 配体水平增高。Varo 等^[10]通过体外实验发现, 高血糖可诱导血小板释放 sCD40 配体, 并诱导鼠巨核细胞上 CD40 配体的表达。(3) 糖尿病代谢紊乱激发了血栓素 A 依赖性血小板活性的增强, 活化血小板表达和释放 sCD40 配体增加。Santilli 等^[11]比较 114 例 2 型糖尿病、114 对照组体内脱氢血栓素 B2(TXB2) 和 sCD40 配体水平, TXB2 是体内血小板活性程度的标志。发现 2 型糖尿病患者 TXB2、sCD40 配体含量显著增加, TXB2 的分泌水平可以预示

[收稿日期] 2006-04-17 [修回日期] 2006-11-23

[作者简介] 王芳, 硕士研究生, 研究方向为糖尿病及其并发症, 联系电话 13565557711, E-mail 为 wangfang_shz@126.com。孙侃, 博士研究生, 教授, 硕士研究生导师, 内分泌科主任, 新疆医学会内分泌及糖尿病学会副主任委员, 享受国务院特殊津贴专家, 联系电话 0993-2394139。

sCD40 配体的水平。同时给予小剂量阿司匹林治疗过程中动态观察发现,在服药一周后,TXB₂、sCD40 配体的含量开始减少,且它们的变化呈正相关。并在停药 10 d 后渐渐恢复原水平。提示代谢的改善可减少 TXB₂ 的分泌,从而降低 sCD40 配体的水平。

3 CD40 配体与糖尿病并发动脉粥样硬化

糖尿病促进血小板膜和血浆 sCD40 配体的表达,增加的 CD40 配体与其受体相互作用加速了动脉粥样硬化的形成。Katakami 等^[12],通过检测 80 例 1 型糖尿病患者和 20 例健康人血浆 sCD40 配体水平和颈动脉颈动脉内膜-中膜厚度 (IMT) 值,发现血浆 sCD40 配体水平与颈动脉最大 IMT 和平均颈动脉 IMT 值均显著正相关,经多元逐步回归分析,结果发现 sCD40 配体是颈动脉 IMT 值的独立危险因素。而 IMT 标志了动脉粥样硬化的病变程度^[13]。Fatehr Moghadam 等^[14]通过比较 105 位 2 型糖尿病患者 1 年前后血小板膜表达的 CD40 配体水平和颈动脉内膜-中膜厚度 (IMT),发现糖尿病患者血小板膜上 CD40 配体的表达与 IMT 呈正相关。提示 CD40 配体可能作为糖尿病合并动脉粥样硬化发生、发展的标志物。

CD40 配体在糖尿病患者体内表达增高,它与其受体相互作用产生一系列生物学效应可能是糖尿病患者易并发动脉粥样硬化的重要机制之一。

3.1 促氧化应激增强

氧化应激在糖尿病并发动脉粥样硬化的过程中发挥重要作用,CD40 配体水平的升高可以促进 B 细胞和内皮细胞产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS)^[15,16],从而使氧化应激增强。ROS 导致动脉粥样硬化形成、发展和破裂的主要机制包括:通过激活细胞内应激敏感性信号途径,调节相关基因的表达,导致血管平滑肌细胞增殖、迁移、肥大和凋亡。④引起脂质过氧化,脂质过氧化过程中产生的代谢产物过氧化氢可直接损伤内皮细胞,导致内皮功能异常,NO 的产生减少,使内皮依赖性血管舒张功能受损,并抑制 NO 依赖的内皮迁移,影响损伤血管内皮的再生^[17]。过氧化氢同时能诱导内皮细胞的增殖、迁移,介导淋巴细胞激活的管腔发生^[18]。④增加血小板聚集的敏感性,使血小板聚集部位的内皮功能恶化,导致急性的血管闭塞。

3.2 促内皮细胞功能紊乱

CD40 与 CD40 配体结合可诱导内皮细胞、平滑肌细胞表达产生血管细胞间黏附分子 1 (VCAM-1)、细胞间黏附分子 1 (ICAM-1) 和 E 选择素,它们介导动脉粥样斑块形成早期免疫活性细胞和血管内皮细胞之间的黏附作用。Cipollone 等^[19]分别比较 40 例 2 型糖尿病、30 例 1 型糖尿病患者与对照组血浆 sICAM-1、sVCAM-1 和 E 选择素含量随 sCD40 配体水平的增高而增加。进一步体外试验证实糖尿病患者血浆 sCD40 配体水平升高可以促进黏附分子而它们均参与介导动脉粥样斑块形成早期免疫活性细胞和血管内皮细胞之间的黏附作用。此外,CD40 配体可能通过白细胞介素 15

(IL-15) 和环氧合酶 2 (COX2) 诱导血管内皮生长因子的表达,调节血管生成^[20,21],并增加纤维细胞生长因子,诱导内皮细胞合成与释放基质金属蛋白酶,使纤维在病变处沉积、管腔样结构的形成。此外,CD40-CD40 配体的相互作用可促进内皮细胞中组织因子的表达^[22],这是动脉粥样斑块破裂后导致局部血栓形成的关键因素。另外,还可直接调节内皮的促凝活性。

3.3 促进细胞因子的合成

CD40 和 CD40 配体相互作用是淋巴细胞激活的重要条件,它能显著促进 Th1 细胞因子 (IL-2、干扰素 γ) 和 Th2 细胞因子 (IL-4、IL-5 和 IL-10) 的产生。在动脉粥样硬化斑块内,CD40 配体通过 T 淋巴细胞刺激血管内皮细胞、巨噬细胞、B 淋巴细胞及血管平滑肌细胞,表达和产生与动脉粥样硬化有关的生物活性物质,如促进内皮细胞和血管平滑肌细胞释放 IL-6 和 IL-8^[23],在巨噬细胞上诱导细胞因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-12、P40 及 TNF- α 的产生。

3.4 诱导趋化因子的生成

CD40 配体和内皮细胞、平滑肌细胞、单核-巨噬细胞以及 T 淋巴细胞表面的 CD40 结合后能激发人类粥样硬化斑块内化学趋化因子,如 IL-8、巨噬细胞炎症蛋白 1 (MIP-1)、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 等的表达和释放^[24]。这些化学趋化因子能吸引 T 淋巴细胞和巨噬细胞在粥样斑块中积聚,并引发慢性炎症反应。MIP-1 β 可趋化单核细胞和淋巴细胞向内膜移动,使更多的单核细胞转化为巨噬细胞,形成泡沫细胞。MCP-1 可促使平滑肌细胞向内膜迁移,刺激血管平滑肌细胞分裂增殖。缺乏单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 或是化学趋化因子受体可以明显缓解鼠粥样斑块的进展。通过转染氨基端缺失变异的 MCP-1 基因而阻断 CD40 配体的作用也可抑制粥样斑块的发展,并能使斑块呈现稳定状态^[25]。研究发现,糖尿病患者血浆 MCP-1 含量随 sCD40 配体水平的增高而增加,并通过体外试验证实糖尿病患者血浆 sCD40 配体水平升高可以促进 MCP-1 的表达^[19]。

4 降低糖尿病患者体内 CD40 配体水平的研究

糖尿病患者 CD40 配体表达增高,可能是糖尿病患者易并发动脉粥样硬化的重要原因之一。动物试验^[5]已证实阻断 CD40-CD40 配体通路可能成为延缓糖尿病动脉粥样硬化性大血管并发症发生、发展的有效手段。近年来国外研究发现给予 PPAR γ 激动剂罗格列酮可以减少 2 型糖尿病合并冠心病患者血浆 sCD40 配体水平。Marx 等^[26]将 39 位经冠状动脉造影证实患有冠心病的 2 型糖尿病患者分为两组,一组给予罗格列酮 (4 mg/次,一日两次) 口服,另一组给予安慰剂,治疗两周后口服罗格列酮组血浆 sCD40 配体水平平均下降 8.1%,6 周后平均下降 18.4%,12 周后下降 27.5%,而安慰剂组血浆 sCD40 配体水平无明显改变。Varo 等^[10]等将 68 位 2 型糖尿病患者分为新发糖尿病组、合并大血管病变组,未合并大血管病变组,每组随机选取患者共 37 人给予口服罗格列酮,每日 600 mg 治疗,另外 31 人给予安慰剂治疗,结果口服罗格列酮的 3 组患者血浆 CD40 配体水平均显著减

少(降至原水平的 29%),而安慰剂组无变化。Chu^[27]等发现罗格列酮与阿伐他汀联合治疗 2 型糖尿病不仅可以改善脂质沉积而且减少 sCD40 配体水平。也有研究报道^[28,29],对于糖尿病合并明显的心血管疾病的患者通过对心血管病多危险因素干预措施,可以降低血浆 sCD40 配体的水平。

综上所述,CD40 配体-CD40 信号传导途径可能是高血糖、促炎症反应、促血栓形成状态与动脉粥样硬化加速形成之间的纽带,对它的深入研究有可能为糖尿病及其大血管并发症的发生和防治提供新思路。但是,目前关于 CD40 配体与 2 型糖尿病及糖尿病并发动脉粥样硬化之间关系的研究较少,且大多局限于临床实验,有待进一步的研究。

[参考文献]

- [1] Sigurdardottir V, Fagerberg B, Hulthe J. Preclinical atherosclerosis and inflammation in 61-year-old men with newly diagnosed diabetes and established diabetes [J]. *Diab Care*, 2004, **27** (4): 880-884.
- [2] 胡发明. 美国心脏学院 2004 年年会有关冠心病资料的报道 [J]. 现代诊断与治疗, 2004, Sept **15** (5).
- [3] Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Bourcier T, Bonnefoy JY, Pober JS, et al. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implications for CD40-CD40 ligand signaling in atherosclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94** (5): 1 931-936.
- [4] Henn V, Slupsky JR, Grafe M, Anagnostopoulos I, Forster R, Muller-Berghaus G, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells [J]. *Nature*, 1998, **391** (6667): 591-594.
- [5] Schonbeck U, Sukhova GK, Shimizu K, Mach F. Inhibition of CD40 signaling limits evolution of established atherosclerosis in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (13): 7 458-463.
- [6] Devaraj S, Glaser N, Griffen S, Wang-Polagruto J, Miguelino E, Jialal I. Increased monocytic activity and biomarkers of inflammation in patients with type 1 diabetes [J]. *Diabetes*, 2006, **55** (3): 774-779.
- [7] Jinchuan Y, Zongqun W, Jiming C, Li L, Xiantao K, et al. Upregulation of CD40-CD40 ligand system in patients with diabetes mellitus [J]. *Chin Aeta*, 2004, **339**: 85-90.
- [8] Harding SA, Sommerfield AJ, Sama J, Twomey PJ, Newby DE, Frier BM, et al. Increased CD40 ligand and platelet-monocyte aggregates in patients with type 1 diabetes mellitus [J]. *Atherosclerosis*, 2004, **176** (2): 321-325.
- [9] Cabeza N, Li Z, Schulz C, Krenmer E, Massberg S, Bultmann A, et al. Surface expression of collagen receptor Fc receptor-gamma/ glycoprotein VI is enhanced on platelets in type 2 diabetes and mediates release of CD40 ligand and activation of endothelial cells [J]. *Diabetes*, 2004, **53** (8): 2 117-121.
- [10] Varo N, Libby P, Nuzzo R, Italiano J, Doria A, Schonbeck U. Elevated release of sCD40L from platelets of diabetic patients by thrombin, glucose and advanced glycation end products [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2005, **2** (2): 81-87.
- [11] Santilli F, Davi G, Consoli A, Cipollone F, Mezzetti A, Falco A, et al. Thromboxane-dependent CD40 ligand release in type 2 diabetes mellitus [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, **47** (2): 391-397.
- [12] Katakami N, Kaneto H, Matsuhisa M, Miyatsuka T, Sakamoto K, Yoshiuchi K, et al. Association of soluble CD40 ligand with carotid atherosclerosis in Japanese type 1 diabetic patients [J]. *Diabetologia*, 2006, **49** (7): 1 670-676.
- [13] 罗俊, 燕纯伯. 颈动脉超声对动脉粥样硬化性疾病的研究进展 [J]. 心血管病学进展, 2005, **26** (1): 1-4.
- [14] Fateh Moghadam S, Li Z, Ersel S, Reuter T, Htun P, Plockinger U, et al. Platelet degranulation is associated with progression of intima-media thickness of the common carotid artery in patients with diabetes mellitus type 2 [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (6): 1 299-303.
- [15] Urbich C, Dembach E, Aicher A, Zeiher AM, Dimmeler S. CD40 ligand inhibits endothelial cell migration by increasing production of endothelial reactive oxygen species [J]. *Circulation*, 2002, **106** (8): 981-986.
- [16] Lee JR, Koretzky GA. Production of reactive oxygen intermediates following CD40 ligation correlates with c-Jun N-terminal kinase activation and IL-6 secretion in murine B lymphocytes [J]. *Eur J Immunol*, 2005, **28** (12): 4 188-197.
- [17] Maulik N, Das DK. Redox signaling in vascular angiogenesis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2002, **33** (8): 1 047-060.
- [18] SriVastava AK. High glucose induced activation of protein kinase signaling pathways in vascular smooth muscle cell: a potential role in the pathogenesis of vascular dysfunction in diabetes [J]. *Int J Mol Med*, 2002, **9** (1): 85-89.
- [19] Cipollone F, Chiarelli F, Davi G, Ferri C, Desideri G, Fazio M, et al. Enhanced soluble CD40 ligand contributes to endothelial cell dysfunction in vitro and monocyte activation in patients with diabetes mellitus: effect of improved metabolic control [J]. *Diabetologia*, 2005, **48** (6): 1 216-224.
- [20] Frassetto F, Pelosi G, Cafici A, Scollo P, Nuciforo P, Viale G. CDX2 immunoreactivity in primary and metastatic ovarian mucinous tumours [J]. *Virchows Arch*, 2003, **443** (6): 782-786.
- [21] Hernandez GL, Volpert OV, Iniguez MA, Lorenzo E, Martinez-Martinez S, Grau R, et al. Selective inhibition of vascular endothelial growth factor mediated angiogenesis by cyclosporin A: role of the nuclear factor of activated T cells and cyclooxygenase 2 [J]. *J Exp Med*, 2001, **193** (5): 607-620.
- [22] Babendiek U, Libby P, Kilbride M, Reynolds R, Mackman N, Schonbeck U. Induction of tissue factor expression in human endothelial cells by CD40 ligand is mediated via activator protein 1, nuclear factor kappa B, and Egr1 [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277** (28): 25 032-039.
- [23] Monaco C, Andreaskos E, Young S, Feldmann M, Paleolog E. T cell-mediated signaling to vascular endothelium: induction of cytokines, chemokines, and tissue factor [J]. *J Leukoc Biol*, 2002, **71** (4): 659-668.
- [24] Thienel U, Loike J, Yellin MJ. CD154 (CD40L) induces human endothelial cell chemokine production and migration of leukocyte subsets [J]. *Cell Immunol*, 1999, **198** (2): 87-95.
- [25] Inoue S, Egashira K, Ni W, Kitamoto S, Usui M, Otani K, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein 1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice [J]. *Circulation*, 2002, **106** (21): 2 700-706.
- [26] Marx N, Aminhof A, Froehlich J, Siam L, Itner J, Wierse G, et al. Effect of rosiglitazone treatment on soluble CD40L in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease [J]. *Circulation*, 2003, **107** (15): 1 954-957.
- [27] Chu CS, Lee MY, Su HM. Effects of rosiglitazone alone and in combination with atorvastatin on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Am J Cardiol*, 2006, **97** (5): 646-650.
- [28] Lim HS, Blann AD, Lip GY. Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin, interleukin-6, and tissue factor in diabetes mellitus: relationships to cardiovascular disease and risk factor intervention [J]. *Circulation*, 2004, **109** (21): 2 524-528.
- [29] Targher G, Zoppini G. Soluble CD40L in young type 1 diabetic individuals without clinical microvascular and macrovascular complications [J]. *Diabetes Care*, 2004, **27** (5): 1 236-237.

(此文编辑 胡必利)