

# 趋化因子 CXC 配体 16 的生物学效应研究进展

曹春辉<sup>1</sup>综述, 全智华<sup>1,2</sup>审校

(1. 南华大学附属第一医院心血管内科; 2. 南华大学心血管病研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 动脉粥样硬化; 清道夫受体; 趋化因子; CXC 配体 16

[摘要] 能与磷脂酰丝氨酸和氧化型低密度脂蛋白结合的清道夫受体和趋化因子 CXC 配体 16 是同一种基因的不同命名。该蛋白质属于 CXC 家族, 主要在抗原呈递细胞、平滑肌细胞、内皮细胞和 T 细胞中表达。作为清道夫受体, 它以跨膜结合型存在, 能与氧化型低密度脂蛋白结合。可能参与了巨噬细胞源性泡沫细胞的形成, 导致动脉粥样硬化。作为趋化因子, 它以分泌型存在时, 主要在免疫系统、中枢神经系统和肿瘤等方面起重要作用。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

能与磷脂酰丝氨酸和氧化型低密度脂蛋白结合的清道夫受体(SR-PSOX)和趋化因子 CXC 配体 16(CXC chemokine ligand 16, CXCL16)是两个不同的实验室分别从不同的 DNA 文库中克隆得到的新蛋白, 经核酸测序和蛋白分析结果表明它们是同一种蛋白<sup>[1,2]</sup>。它属于 CXC 家族(目前已知的趋化因子可分为 CC、CXC、C 及 CX3C 四个家族和诱导型与组成型两类), 同时具有 CC 家族和 CX3C 家族(如 Fractalkine)趋化因子的特征, 它包含跨膜区和粘蛋白样结构。CXCL16 以跨膜结合型存在时, 属于清道夫受体家族成员, 能与  $\alpha$ -LDL 结合, 介导受体内吞, 参与了巨噬细胞源泡沫细胞的形成, 导致动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)。CXCL16 以分泌型存在时, 主要作为 CD8<sup>+</sup> T 细胞的趋化诱导剂。我们从 CXCL16 的基本特点, 表达分布与 As 等心血管疾病、免疫系统疾病、中枢神经系统和肿瘤等方面来综述 CXCL16 在临床疾病中作用的研究进展。

## 1 趋化因子 CXC 配体 16 基因结构和蛋白特点

人类 CXCL16 基因位于染色体 17p13 上, 包括 6 个外显子和 6 个内含子。虽然它转录的 mRNA 大小存在差异, 但其编码序列一致, 编码的蛋白属于 I 型膜蛋白, 有 254 个氨基酸, 包括四个结构域: 胞外的功能区 and 粘蛋白样结构域及跨膜区、胞浆区, 其结构与 CX3C 家族唯一成员 Fractalkine(CX3CL1)相似<sup>[3]</sup>。该蛋白不含 ELR 氨基酸序列, 依次由 N 端 21 个氨基酸的信号肽、90 个氨基酸残基的功能结构域、84 个氨基酸残基的粘蛋白样结构域、25 个氨基酸的疏水性跨膜区和 28 个氨基酸残基的短序列组成。CXCL16 功能结构域氨基端含 CXC 模体, 为  $\beta$  趋化因子家族的特征, 间隔区富含 Ser、Thr 和 Pro, 是典型的粘蛋白结构; 在胞浆区, 人和鼠约

24~27 位氨基酸具有 YXPV 模体, 为潜在的 Try 磷酸化和 SH2 蛋白结合点, 与 CX3CL1 的 YXPV 模体相似<sup>[5]</sup>。CXCL16 既可以膜结合型存在, 又可以分泌型存在。在这两种形式转换中 ADAM10(基质金属蛋白酶家族成员)起重要作用<sup>[6,7]</sup>。突变体研究表明 CXCL16 的趋化因子结构域和作为清道夫受体的结构具有高度重叠结合单元<sup>[8]</sup>, CXCL16 的整个结构与 CX3C 趋化因子相似, 其中粘蛋白样区还与 MCP-1 类似。CXCL16 高度糖基化, 尤其是粘蛋白结构域, 含高度糖基化位点。CXCL16 蛋白在鼠淋巴细胞中以两种形式存在的比例大致相等。

## 2 趋化因子 CXC 配体 16 的表达及分布特点

Shimaoka 等<sup>[1]</sup>通过对 cDNA 文库的筛选及 RT-PCR 获得了人、猪和鼠的全长 cDNA。他们发现 CXCL16 在除人脾、骨骼肌和小肠外的其他器官如肝脏、肺、外周血白细胞、前列腺、心脏、肾脏、胰脏、胸腺和睾丸等均有表达。在表达细胞类型方面, CXCL16 表达于树突状细胞(DC)、脾红髓细胞、脾脏白髓的 T 细胞区及淋巴结中, 而它在胸腺中的表达细胞仅限于髓质中。淋巴结和脾脏中的 B 细胞区均不表达 CXCL16。在抗原呈递细胞(APC)(巨噬细胞、树突状细胞和 CD19<sup>+</sup> B 淋巴细胞)中表达, 在人类和猪平滑肌细胞、内皮细胞<sup>[9]</sup>和人类 T 细胞中 CXCL16 mRNA 也有表达<sup>[10]</sup>。

## 3 趋化因子 CXC 配体 16 在临床疾病中的作用

### 3.1 趋化因子 CXC 配体 16 在心血管疾病的作用

在 As 的发病机制学说中, 除了已被人们接受的氧化学说和损伤学说外, 免疫反应在 As 中的作用已逐渐被人们认识到了。 $\alpha$ -LDL 及其代谢产物溶血磷脂酰胆碱都具有免疫原性, 它们共同激活内皮细胞释放黏附分子、趋化因子、粒细胞-单核细胞集落刺激因子(GM-CSF)和单核细胞集落刺激因子(M-CSF)等, 引发免疫炎症反应。这些细胞因子都会刺激循环中的单核细胞黏附于血管内皮细胞, 迁移入内皮下, 并增生和分化为巨噬细胞, 促进其泡沫化。CXCL16 作为清道夫受体对  $\alpha$ -LDL 有较强结合和内吞能力, CXCL16 作为趋

[收稿日期] 2006-11-13 [修回日期] 2007-02-26

[基金项目] 湖南省自然科学基金(05JJ30040)

[作者简介] 曹春辉, 硕士研究生, 医师, 主要研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治。联系电话 13107342160, E-mail 为 chunhuicao88@163.com。全智华, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 主要研究方向为动脉粥样硬化的发病机制与防治。

化因子可以强烈趋化激活 CD8<sup>+</sup> T 细胞,使激活的 CD8<sup>+</sup> T 细胞达整个 T 细胞的 40%,对激活的 CD4<sup>+</sup> T 细胞趋化作用较小(激活的 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群表达的 CXCL16 受体较激活的 CD8<sup>+</sup> T 细胞低)<sup>[5]</sup>。CD8<sup>+</sup> T 细胞具有细胞毒作用能杀伤平滑肌细胞,在载脂蛋白 E 敲除小鼠斑块部位,这一作用尤为明显,有学者推测 CD8<sup>+</sup> T 细胞的激活会导致 As 斑块部位细胞的凋亡<sup>[11]</sup>。这些均提示 CXCL16 在 As 的发生发展过程中起促进作用。CXCL16 对  $\alpha$ -LDL 有较强的结合内吞能力,但与乙酰基化 LDL 及 LDL 的亲和力较弱,它也识别磷脂酰丝氨酸、多聚肌苷酸和葡聚糖硫酸脂,但不能识别聚胞苷酸和硫酸软骨素。有人对动脉粥样病变和无病变动脉进行 CXCL16 mRNA 检测发现,在病变的动脉中 CXCL16 mRNA 高度表达,而在正常的动脉中检测不到。免疫组化也表明, CXCL16 在 As 斑块中的荷脂细胞中大量表达,但正常动脉壁中检测不到它的表达<sup>[12]</sup>。CXCL16 能增强细胞与细胞间黏附和动脉平滑肌的增殖<sup>[3]</sup>。研究发现  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 诱导 CXCL16 在人单核 THP-1 细胞的表达增加并导致单核细胞对  $\alpha$ -LDL 的吞噬摄取增加,表明上调表达的 CXCL16 在泡沫细胞形成中起重要作用<sup>[13]</sup>。因此它被认为是参与了巨噬细胞源性泡沫细胞的形成并导致 As。但人们发现在 RAW-264 细胞中过度表达 CXCL16 并不增加对  $\alpha$ -LDL 的内吞。对真皮成纤维细胞进行同样的实验也观察不到内源性清道夫受体活性和  $\alpha$ -LDL 摄取的显著性增加。因此, CXCL16 在 As 的确切生理功能是有争议的,最近有人对小鼠进行双基因敲除 (CXCL16<sup>-/-</sup>/LDLR<sup>-/-</sup>) 研究发现 CXCL16 是一种血管保护因子,具有抗 As 功能。研究者对 CXCL16<sup>+/+</sup>/LDLR<sup>-/-</sup> 和 CXCL16<sup>-/-</sup>/LDLR<sup>-/-</sup> 小鼠都予以高脂饮食喂养 6 周和 10 周后分别对其体重、血清总胆固醇含量和动脉粥样斑块面积大小进行统计学分析发现: CXCL16<sup>-/-</sup>/LDLR<sup>-/-</sup> 小鼠的以上三项指标均较 CXCL16<sup>+/+</sup>/LDLR<sup>-/-</sup> 小鼠显著性升高,差异有统计学意义。另外,在这项研究中将 LDLR<sup>-/-</sup> 小鼠分组分别用正常饮食和高脂饮食喂养 4 周和 8 周后,对其主动脉弓进行 CXCL16 mRNA 检测发现:与正常饮食组对比,在高脂饮食组中, As 斑块形成的区域 CXCL16 mRNA 高表达且与时间呈正相关<sup>[14]</sup>。其高表达是促进斑块的形成或是作为抗斑块形成而代偿性表达增高有待进一步研究。

趋化因子 CXC 配体 16(CXCL16) 基因多态性与冠状动脉狭窄的严重性相关。研究发现, CXCL16 第四外显子基因多态性位点(181 Ala> Val) 参与了冠状动脉疾病的进展。在冠心病组和正常对照组,基因多态性位点等位基因的出现频率无显著性差异,但 V 等位基因出现频率和冠脉狭窄的严重程度正相关。CXCL16 基因多态性定位在趋化因子区域和跨膜型区域的间隔区且潜在影响 Ala> Val 分裂位点,这个位点通常由肿瘤坏死因子  $\alpha$  转化酶所用,剪切 CXCL16 使其成为趋化因子<sup>[15]</sup>。

有人发现 CXCL16 在感染性心内膜炎患者的心脏瓣膜和新生毛细血管内皮细胞中高度表达,在风湿性心脏病和 As 心瓣膜病患者新生毛细血管内皮细胞也表达, CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞主要聚集分布在表达 CXCL16 的内皮细胞附近,心瓣

膜炎症期间, CXCL16 可能趋化 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的迁移和分泌生成 IFN- $\gamma$ , 从而导致瓣膜组织损害<sup>[16]</sup>。

### 3.2 趋化因子 CXC 配体 16 在免疫系统中的作用

趋化因子 CXC 配体 16(CXCL16) 促进树突状细胞(DC) 和 CXCR6<sup>+</sup> T 细胞的相互作用,尤其是 Th1 阳性 T 细胞,它表达高水平的 CXCR6,另外骨髓浆细胞也表达 CXCR6。CXCL16 则由骨髓基质细胞组成性表达。这些提示 CXCL16 在浆细胞发展和局灶化起作用<sup>[4]</sup>。

趋化因子 CXC 配体 16(CXCL16) 由 ADAM-10 分裂剪切产生具有趋化活性的可溶性形式<sup>[6,7]</sup>。可溶性 CXCL16 从巨噬细胞和 DCs 中释放,诱导能表达 CXCR6 的激活性 T 和 NKT 细胞的迁移。表达膜锚定 CXCL16 的细胞不仅可以摄取  $\alpha$ -LDL 和细菌,还可与 CXCR 表达细胞进行黏附。体外黏附分析表明 CXCL16 通过极晚期抗原 4(VLA-4) 的激活诱导 CD8<sup>+</sup> T 细胞向血管黏附分子(VLAM-1) 的黏附<sup>[16]</sup>。作为可溶型存在, CXCL16 是一种趋化诱导剂通过与其受体 CXCR6 结合激活 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞。CXCL16 的趋化因子结构域介导 CXCR6 表达细胞的粘附,百日咳毒素是一种 Gi 蛋白阻断剂,它不能损害该过程,但该阻断剂可抑制 CXCL16 诱导的 CXCR6 表达细胞的趋化性<sup>[17]</sup>。此外, CXCL16 通过趋化因子结构域调节抗原呈递细胞(APC) 对细菌的吞噬作用。CXCL16 调节革兰氏阳性和革兰氏阴性菌的黏附和吞噬作用。在这项研究中制备了抗 CXCL16 Ab,该抗体抑制 CXCL16 的趋化活性,显著地抑制人类 APC 包括树突状细胞的细菌吞噬作用。这种对细菌特异性识别的功能仅由 CXCL16 趋化因子结构域来决定。因此, CXCL16 通过它的趋化因子结构域在促进 APC 对各种病原体的摄取以及 T 细胞和 NKT 细胞的趋化方面起着重要作用。CXCL16 通过相同的趋化因子结构域行使清道夫受体和趋化因子两种功能,它在由先天性免疫和获得性免疫介导的机体防疫中起重要作用<sup>[18]</sup>。

在炎症性肝脏疾病中, CXCL16 作为趋化因子促进 Th1, CD8<sup>+</sup> T 细胞以及 NKT 细胞等 CXCR6 阳性细胞向内皮细胞粘附。Th1、CD8<sup>+</sup> T 细胞以及 NKT 细胞都是细胞毒性 T 细胞,它们对肝细胞和胆管细胞进行破坏。因此, CXCL16 作为趋化因子在急性肝炎中病毒的清除以及在慢性炎症性肝脏疾病发生发展过程中起重要作用<sup>[19,20]</sup>。

在小鼠肝损伤模型中,肝脏炎症和损伤组织中 CXCL16 表达水平明显提高,它分别介导了对淋巴细胞的趋化和内皮细胞的粘附, CXCL16 抗体在肝损伤模型中可显著改善肝脏组织的病理损伤,降低丙氨酸氨基转移酶水平,并且 CXCL16 中和性抗体可以明显抑制单核淋巴细胞浸润,这提示 CXCL16 可能在除了趋化功能外,还参与淋巴细胞的黏附、受体介导内吞及黏附分子表达的调节<sup>[21,22]</sup>。

### 3.3 趋化因子 CXC 配体 16 在其他疾病中的作用

急性自身免疫性脑膜炎中,研究者应用 CXCL16 的多克隆抗体后可能通过减少单核细胞进入中枢神经而减少了脑膜炎的发病率,分析 CXCL16 可能在产生 T 淋巴细胞特异性抗原及其趋化炎症单核细胞进入中枢神经中起重要作用<sup>[23]</sup>。有人发现 CXCL16 在人类神经胶质瘤高表达,而在正

常大脑是主要局限低表达在血管内皮细胞, 重组可溶性的 s-CXCL16 增强了鼠 CXCR6<sup>+</sup> 神经胶质和小胶质细胞的增殖<sup>[24]</sup>。在人结肠癌中, CXCL16 局限表达在肿瘤相关巨噬细胞中, 而且 83% 的结肠腺癌患者的 CXCL16 的表达被抑制, 其机理尚不清楚<sup>[25]</sup>。

#### 4 结束语

虽然在 RAW-264 细胞和真皮成纤维细胞中过度表达 SR-PSOX 并不增加细胞对 ox-LDL 的内化, 以及对小鼠进行双基因敲除 (CXCL16<sup>-/-</sup>/LDL<sup>-/-</sup>) 研究发现 CXCL16 具有抗 As 功能。但是, 也有许多实验表明 CXCL16 是磷脂酰丝氨酸和氧化型低密度脂蛋白受体, 参与巨噬细胞源性泡沫细胞的形成。因此, CXCL16 在 As 的确切生理功能还有待进一步研究。但毋庸置疑的是, 它在 As 的发生、发展中起着重要作用。另外, CXCL16 在其他心血管疾病和免疫系统以及中枢神经系统等疾病中也有重要作用, 因此, 努力探索 CXCL16 的功能和发病机制, 在动脉粥样硬化以及其他疾病防治中可能具有重要意义。

#### [参考文献]

- [1] Shimaoka T, Kume N, Minami M, Hayashida K, Kataoka H, Kita T, et al. Molecular Cloning of a Novel Scavenger Receptor for Oxidized Low Density Lipoprotein, SR-PSOX, on Macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275**: 40 663.
- [2] Wilbanks A, Zondlo SC, Murphy K, Mak S, Soler D, Langdon P, et al. Expression Cloning of the STRL33 /BONZO/TYMSTR Ligand Reveals Elements of CC, CXC, and CX3C Chemokines [J]. *J Immunol*, 2001, **166**: 5 145-154.
- [3] Chandrasekar B, Bysani S, and Mummidi S. CXCL16 signals via gi phosphatidylinositol 3-kinase, Akt, I $\kappa$ B kinase, and nuclear factor- $\kappa$ B and induces cell-cell adhesion and aortic smooth muscle cell proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (5): 3 188-196.
- [4] Charo IF, Taubman MB. Chemokines in the Pathogenesis of vascular disease [J]. *Circ Res*, 2004, **95**: 858-866.
- [5] 徐焕宾, 熊思东. 新发现的 CXCL16 趋化因子及其受体[J]. 生命的化学, 2003, **23** (1): 8-10.
- [6] Gough PJ, Garton KJ, Wille PT, Rychlewski M, Dempsey PJ, Raines EW. A disintegrin and metalloproteinase 10-mediated cleavage and shedding regulates the cell surface expression of CXC chemokine ligand 16 [J]. *J Immunol*, 2004, **172**: 3 678-685.
- [7] Abel S, Hundhausen C, Mentlein R, Schulte A, Berkhout TA, Broadway N, et al. The transmembrane CXC-chemokine ligand 16 is induced by IFN $\gamma$  and TNF $\gamma$  and shed by the activity of the disintegrin-like metalloproteinase ADAM10 [J]. *J Immunol*, 2004, **172**: 6 362-372.
- [8] Shimaoka T, Nakayama T, Hieshima K, Kume N, Fukumoto N, Minami M, et al. Chemokines generally exhibit scavenger receptor activity through their receptor-binding domain [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (26): 26 807-810.
- [9] Hofnagel O, Luechtenborg B, Plenz G, Robenek H. Expression of the novel scavenger receptor SR-PSOX in cultured aortic smooth muscle cells and umbilical endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22**: 710-711.
- [10] Shashkin P, Simpson D, Mishin V, Chesnutt B, Ley K. Expression of CXCL16 in human T cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23**: 148.
- [11] 杨永宗. 第四章 动脉粥样硬化的发病学说[M]. 见: 杨永宗(主编). 动脉粥样硬化性心血管疾病-基础与临床. 北京: 科学出版社, 2004; 48-97.
- [12] Minami M, Kume N, Shimaoka T, Kataoka H, Hayashida K, Akiyama Y, et al. Expression of SR-PSOX, a novel cell-surface scavenger receptor for phosphatidylserine and oxidized ldl in human atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, **21**: 1 796-800.
- [13] Wuttge DM, Zhou Xinghua, Sheikine Y, Wagsater D, Stemme V, Hedin U, et al. CXCL16/SR-PSOX is an interferon- $\gamma$ -regulated chemokine and scavenger receptor expressed in atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24**: 750-755.
- [14] Aslanian AM, Charo IF. Targeted disruption of the scavenger receptor and chemokine CXCL16 accelerates atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2006, **114**: 583-590.
- [15] Lundberg GA, Kellin A, Samnegard A, Lundman P, Tornvall P, Dimmeler S, et al. Severity of coronary artery stenosis is associated with a polymorphism in the CXCL16/SR-PSOX gene [J]. *J Intern Med*, 2005, **257** (5): 415-422.
- [16] Yamauchi R, Tanaka M, Kume N, Minami M, Kawamoto T. Upregulation of SR-PSOX/CXCL16 and recruitment of CD8<sup>+</sup> T cells in cardiac valves during inflammatory valvular heart disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24**: 282.
- [17] Shimaoka T, Nakayama T, Fukumoto N, Kume N, Takahashi S, Yamaguchi J, et al. Cell surface-anchored SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates firm adhesion of CXC chemokine receptor 6-expressing cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2004, **75**: 267.
- [18] Shimaoka T, Nakayama T, Kume N, Takahashi S, Yamaguchi J, Minami M, et al. Cutting edge: SR-PSOX/CXC chemokine ligand 16 mediates bacterial phagocytosis by APC through its chemokine domain [J]. *J Immunol*, 2003, **171**: 1 647-651.
- [19] Sato T, Thorlacius H, Johnston B, Staton TL, Xiang Wenkai, Littman DR, et al. Role for CXCR6 in recruitment of activated CD8<sup>+</sup> lymphocytes to inflamed liver [J]. *J Immunol*, 2005, **174**: 277-283.
- [20] Heydtmann M, Lalor PF, Eksteen JA, Hu bscher SC, Briskin M, Adams DH. CXC chemokine ligand 16 promotes integrin-mediated adhesion of liver-infiltrating lymphocytes to cholangiocytes and hepatocytes within the inflamed human liver [J]. *J Immunol*, 2005, **174**: 1 055-062.
- [21] 周珊珊, 郑 杨. CXCL16 与动脉粥样硬化[J]. 中华老年医学杂志, 2006, **25** (6): 466-469.
- [22] 徐焕宾, 龚燕萍, 储以微, 蒋正刚, 熊思东. CXCL16 抗体可阻断 BCG 和 LPS 诱导的小鼠免疫性肝损伤[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2005, **25**: 111-115.
- [23] Fukumoto N, Shimaoka T, Fujimura H, Sakoda S, Tanaka M, Kita T, et al. Critical roles of CXC chemokine ligand 16/scavenger receptor that binds phosphatidylserine and oxidized lipoprotein in the pathogenesis of both acute and adoptive transfer experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Immunol*, 2004, **173** (3): 1 620-627.
- [24] Ludwig A, Schulte A, Schnack C, Hundhausen C, Reiss K, Broadway N, et al. Enhanced expression and shedding of the transmembrane chemokine CXCL16 by reactive astrocytes and glioma cells [J]. *J Neurochem*, 2005, **93** (5): 1 293-303.
- [25] Wagsater D, Hugander A, Dimberg J. Expression of CXCL16 in human rectal cancer [J]. *Int J Mol Med*, 2004, **14** (1): 65-69.

(此文编辑 胡必利)