

趋化因子 Fractalkine 受体 CX3CR1 基因多态性与动脉粥样硬化

彭旭¹ 综述, 张智博² 审校

(1. 南华大学, 湖南省衡阳市 421001; 2. 长沙市第一医院神经内科, 湖南省长沙市 410005)

[关键词] 内科学; 趋化因子; 基因多态性; 动脉粥样硬化

[摘要] 动脉粥样硬化是一种多因素共同作用的疾病, 炎症被认为是动脉粥样硬化疾病的独立危险因素, CX3C 是一类独特的趋化因子, 其受体 CX3CR1 的基因多态性与动脉粥样硬化的关系也见报道, 然而两者是否有必然联系, 目前尚未知晓。本文就趋化因子受体 CX3CR1 的结构、生物学特性及与动脉粥样硬化之间关系做一综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

动脉粥样硬化是一种多因素共同作用的疾病。其病理机制的研究一直是心脑血管疾病研究领域的热点。既往经典的危险因素如高血压、高血脂、糖尿病及吸烟等只能解释动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的部分原因。自从19世纪中叶 Virchow 学者提出慢性炎症和纤维细胞增殖作为 As 损伤病理机制的概念以来, 越来越多的临床和动物实验证明, 炎症和免疫反应可引起血小板和白细胞粘附、聚集及迁移进而导致血管内皮损伤, 在 As 的形成中发挥重要作用, 被认为是心脑血管疾病的独立危险因素。趋化因子是具有趋化功能的细胞因子, 在多种急性或慢性炎症反应的病理发生中均起作用, 参与炎症反应的各个阶段, 包括粘附、迁移、清除致炎症物质、修复等。其分成四个家族: CXC、CC、C 和 CX3C。而第四家族趋化因子起源于非血液细胞, 不规则趋化因子(Fractalkine, Fkn)是人类第四家族 CX3C 趋化因子唯一已知的超家族成员。CX3C 趋化因子的结构、组织分布、生化特性、染色体定位表明它是一类独特的趋化因子。

1 Fractalkine 结构、来源和分布

不规则趋化因子是1997年发现的 CX3C 家族趋化因子中唯一成员, 鼠的同系物称为神经趋化因子。Fkn 定位于人染色体 16q13, 由 397 个氨基酸残基构成, 其 N 端 24 个氨基酸是信号肽序列, 第 25~397 氨基酸构成胞膜外区、跨膜区、胞浆区, 其中胞膜外区第 25~100 氨基酸是趋化因子结构域。在此结构域后还有 241 个氨基酸残基, 这 241 个残基中富含苏氨酸、甘氨酸、丝氨酸和脯氨酸。跨膜区由 19 个疏水残基组成, 最后 37 个残基组成胞浆区。通常情况下趋化结构域通过柄样结构的粘蛋白连于细胞膜表面, 特定情况下, Fkn 可以被蛋白水解酶从细胞表面水解下来, 形成分子量为

95 kDa 的可溶性 Fkn (sFkn)。因此 Fkn 有两种存在形式, 即膜结合型和可溶性分泌型, 前者能诱导内皮细胞的活化, 促使白细胞与这些活化的内皮细胞粘附; 后者则对单核细胞和 T 淋巴细胞表现出强烈的趋化作用。Fkn 分布广泛, 有学者在多种组织细胞中可检测 Fkn 的 mRNA, 最常见的是 3.5 kb 的 mRNA, 其次是 2.5 kb 的 mRNA, 主要存在于结肠、前列腺、心肌和骨骼肌组织中^[1]。最近有学者发现在中枢神经系统如星形胶质细胞表面也发现 Fkn 的高表达^[2,3]。与其它趋化因子不同的是外周血细胞表达极少甚至不表达, 大多数 Fkn 表达在活化的内皮细胞表面, 参与趋化和粘附功能, 使白细胞向炎症组织的游走^[4,5]。使用人重组活化蛋白 C (recombinant human activated protein C, rhAPC) 能诱导 Fkn 在血管内皮细胞上的大量释放^[6]。

2 CX3CR1 结构、表达和分布

CX3CR1 是 Fkn 的高亲和力受体, 属于趋化因子受体超家族成员。其基因位于 3p21.3^[7], 由 1065 个核苷酸组成, 编码 355 个氨基酸, 具有 7 次跨膜 G-蛋白偶联结构域, 含有趋化因子受体超家族的保守序列, 如 DRY 序列^[8]。CX3CR1 主要表达在单核细胞、巨噬细胞、自然杀伤(NK)细胞、树突状细胞(DC)和小胶质细胞。Imai 等^[8]发现 CD16+ NK 细胞, CD14+ 单核细胞, CD3+、CD8+ 淋巴细胞上表达有 CX3CR1。进一步研究发现 CX3CR1 的表达只限于有活性的辅助 T 淋巴细胞, 主要表达在 CD4+ T 细胞、CD8+ T 细胞、NK 细胞, 也表达在细胞毒性 T 细胞的 CD57 和 CD11b 上^[9]。CX3CR1 主要表达在这些细胞的包膜, 有少部分表达在胞质^[10]。因此, 有学者认为 CX3CR1 是 NK 细胞、细胞毒性 T 淋巴细胞和 γ 、 δ T 细胞等细胞毒性效应淋巴细胞的一种高选择性趋化因子受体和标志, 并且这些细胞包含穿孔素和颗粒酶 B 等细胞颗粒^[11]。

3 CX3CR1 结构多态性

CX3CR1 在不同的病理生理条件下表达不同, 是由其结

[收稿日期] 2007-03-13

[修回日期] 2007-11-08

[作者简介] 彭旭, 硕士研究生, 研究方向为脑血管病, E-mail 为 pengxu888@163.com。张智博, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为脑血管病, E-mail 为 zhangzhibozh@yaho.com.cn。

构的多型性决定的。Faure 等^[12]运用限制片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism based, RFLP) 方法, 在三组不同病程 (血清变化组、中度进展组和长期无症状组) 人类免疫缺陷病毒 1 (HIV-1) 感染的法裔高卢人中发现趋化因子受体 CX3CR1 存在 5 个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 位点的遗传变异, 并且 CX3CR1 249 和 280 位基因的变异频率最高, I249/M280 单倍型在中度进展组中的出现频率要高于长期无症状组, HIV-1 患者 CX3CR1-M280 纯合子比 CX3CR1-T280 纯合子更快发展到临床艾滋病, 而 I249 的单独效应似乎不明显, 说明 CX3CR1 结构的多型性, 尤其 I249/M280 突变会加速 HIV-1 的感染进程。McDermott 等^[13]运用单链构型多态性技术 (single-stranded conformation polymorphism, SSCP) 明确了 5 个单核苷酸多态性位点, 其中 V249I (G \rightarrow A)、T280M (C \rightarrow T)、T57A (A \rightarrow G) 和 V122I (G \rightarrow A) 影响蛋白的翻译, 而 255 位单核苷酸的变异不影响翻译。并且变异的频率有差异, 突变子 V249I 和 T280M 在受检人群中出现频率最高, 分别为 25.7% 和 13.5%, T57A 和 V122I 的变异频率较低。由于结构影响功能, 所以推测 CX3CR1 基因多态性特别是遗传突变子 V249I 和 T280M 与动脉粥样硬化之间存在某种联系。

4 CX3CR1 位点 T280M 和 V249I 基因多态性与动脉粥样硬化

越来越多的证据表明 Fractalkine/CX3CR1 系统可能参与了动脉粥样硬化的病理生理过程。外周血中的单核细胞是动脉粥样斑块中泡沫细胞的前体细胞, 趋化因子 Fkn 在单核细胞向血管壁迁移的过程中起着关键作用。Goda 等^[14]的研究结果表明 Fkn 通过加强内皮细胞和单核细胞的粘附, 参与了血管损伤。Schafer 等^[15]研究发现 Fkn 在动脉粥样硬化和血管损伤中的过度表达与血小板活化及粘附密切相关, 因而 Fkn 可能促进血栓形成。Lesnik 等^[16]证明在载脂蛋白 E^{-/-}小鼠的动脉粥样硬化性损伤中 Fkn 表达上调, 而将 CX3CR1^{-/-} 插入到载脂蛋白 E^{-/-} 位置能减轻粥样硬化病变, 减少巨噬细胞的聚集。Auffray 等^[17]证实 CX3CR1 介导单核细胞快速向损伤的内皮浸润, 触发早期的免疫反应和单核细胞向巨噬细胞分化。因此, CX3CR1 基因多态性影响 Fractalkine/CX3CR1 系统病理生理, 参与动脉粥样硬化性疾病的发生。

4.1 CX3CR1 位点 T280M 和 V249I 基因多态性与心血管病的相关性

依据 249 位氨基酸即异亮氨酸或缬氨酸的不同, V249I 等位基因可以分为 V249 (A \rightarrow G) 和 I249 (G \rightarrow A), 研究发现 V249 携带者较 I249 者更加容易患冠状动脉疾病 (coronary artery disease, CAD)。McDermott 等^[18]采用冠脉内给予乙酰胆碱的药理实验发现, CX3CR1 基因型 I249 等位基因携带者其血管内皮有更强的血管舒张潜能。CAD 的发生率较低且病情较轻。Moatti 等^[19]等也证实等位基因 I249 可能是冠心病的一种保护性基因, 其内在的机制可能是通过减少外周单核细胞上 Fkn 受体数目及降低 Fkn 与受体亲和力来发挥保护性

作用。但也有研究发现 M280 等位基因可能才是冠心病的保护因素。Niessner 等^[20]在冠状动脉再狭窄的研究中发现, I249 等位基因患者循环中 Fkn 与 hsCRP 明显升高, I249 等位基因患者发生再狭窄的机率明显增加, 而 M280 等位基因携带者其冠状动脉再狭窄的发生率有所下降, 所以 I249 和 M280 在 CAD 的发生中起着相反的作用。进一步研究发现, 单个 I249 或者 M280 等位基因与 CAD 的发病无关, 所以 I249 与 M280 等位基因连锁不平衡大大增加了急性冠状动脉综合征的风险, 可能与 Fkn 介导的炎症反应有关。Apostolakis 等^[21]对经冠状动脉造影确诊的冠心病者细胞因子进行研究, 发现 SDF1-3' A、CCR5-delta32、CCR2-64I 和 CX3CR1-V249I 的相关等位基因及基因频率没有明显变化, CX3CR1-M280 等位基因的基因频率明显降低。与以往 CAD 的遗传易感因素相比 M280 等位基因具有保护作用, 并支持 Fkn/CX3CR1 途径在动脉粥样硬化中的作用, 其具体的机制有待进一步研究。

4.2 CX3CR1 位点 T280M 和 V249I 基因多态性与颈动脉狭窄性疾病的相关性

颈动脉狭窄不仅影响大脑的血流灌注, 而且引起狭窄部位不稳定斑块的脱落, 导致卒中事件的发生。意大利研究者在颈内动脉闭塞 (或者狭窄) 的患者中发现, M280 等位基因能明显减少颈内动脉闭塞性疾病的患病风险, I249 与颈内动脉闭塞性疾病发生无关, 但 I249 在有硬斑块的颈内动脉狭窄患者中基因频率明显增高^[22]。因此, M280 等位基因变异是颈内动脉狭窄的独立危险因素, I249 与颈动脉斑块稳定性有关, 为颈内动脉狭窄治疗及颈内动脉系统卒中的预防提供依据, 但结果有待于前瞻性横向研究进一步证实。Norata 等^[23]在进展性颈动脉内膜损伤患者发现, T280M 位点 MM 基因型较 TT 和 TM 基因型的内膜中膜厚度 (intima-media thickness, IMT) 明显变薄, 而 V249I 携带者的 IMT 在三种基因型 (VV、VI 和 II) 中分布无差异, 同时单倍型 VI249/MM280 和 II249/MM280 IMT 也减少, 因此, M280 等位基因与 IMT 的减少相关, 而 I249 与动脉粥样硬化的进展无关。结果表明, M280 缺乏是颈内动脉狭窄性疾病的独立危险因素, M280 在早期动脉粥样硬化炎症方应有保护作用, 可能与其变异后引起 CX3CR1 在动脉粥样硬化中减少单核细胞的粘附和血管平滑肌细胞增殖有关^[24]。

4.3 CX3CR1 位点 T280M 和 V249I 基因多态性与周围血管闭塞性疾病的相关性

周围血管闭塞性疾病与 CAD 有着相同的发病过程, 动脉粥样硬化是其共同的病理生理基础。Gugl 等^[25]在周围血管闭塞性疾病患者中发现, CX3CR1 基因型与患病年龄及疾病严重程度无关。进一步对 CAD 合并周围血管闭塞性疾病患者进行分析发现, I 或者 M 等位基因与周围血管闭塞性疾病的发病无关, 说明 CX3CR1 基因多态性与周围血管闭塞性疾病无关。其可能原因为两者有着不同的流行病学特点, 与 CAD 相比, 周围血管闭塞性疾病更易受生活方式的影响^[26]。

4.4 CX3CR1 位点 T280M 和 V249I 基因多态性与缺血性脑血管病的相关性

法国一项多中心研究发现, CX3CR1 I249 和 M280 等位基

因能增加脑梗死的危险,但与疾病的严重程度无关(通过IMT厚度、纤维帽破裂和死亡率评估)^[27]。体外实验表明,CX3CR1突变子增强单核细胞的额外粘附功能,导致卒中事件的发生。但是日本的一项研究结果显示,CX3CR1等位基因T280M、V249I各基因型及等位基因频率在缺血性脑血管病组与正常对照组间分布没有差异,说明在日本人群中,CX3CR1的基因多态性与缺血性脑血管病无关^[28]。综上所述,CX3CR1基因多态性与缺血性脑血管病之间关系存在地区与人种的差异,需多中心多样本实验进一步证实。

[参考文献]

- Pan Y, Lloyd C, Zhou H, Dolich S, Deeds J, Gonzalo JA, et al. Neurotactin, a membrane anchored chemokine upregulated in brain inflammation [J]. *Nature*, 1997, **387** (6633): 611-617.
- Sumemark D, Eltayeb S, Nilsson M, Wallström E, Lassmann H, Olsson T, et al. CX3CL1 (fractalkine) and CX3CR1 expression in myelin oligodendrocyte glycoprotein induced experimental autoimmune encephalomyelitis: kinetics and cellular origin [J]. *J Neuroinflammation*, 2005, **2**: 17.
- Lindia JA, McGowan E, Jochnowitz N, Abbadie C. Induction of CX3CL1 expression in astrocytes and CX3CR1 in microglia in the spinal cord of a rat model of neuropathic pain [J]. *J Pain*, 2005, **6** (7): 434-438.
- Umehara H, Bloom E, Okazaki T, Domae N, Imai T. Fractalkine and vascular injury [J]. *Trends Immunol*, 2001, **22** (11): 602-607.
- Schulz C, Schräfer A, Stolla M, Kerstan S, Lorenz M, von Brühl ML, et al. Chemokine fractalkine mediates leukocyte recruitment to inflammatory endothelial cells in flowing whole blood: a critical role for P-selectin expressed on activated platelets [J]. *Circulation*, 2007, **116** (7): 764-773.
- Brückmann M, Nahrup AS, Lang S, Bertsch T, Fukudome K, Liebe V, et al. Recombinant human activated protein C upregulates the release of soluble fractalkine from human endothelial cells [J]. *Br J Haematol*, 2006, **133** (5): 550-557.
- Bazan JF, Bacon KB, Hardman G, Wang W, Soo K, Rossi D, et al. A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif [J]. *Nature*, 1997, **385** (6617): 640-644.
- Imai T, Hieshima K, Haskell C, Baba M, Nagira M, Nishimura M, et al. Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion [J]. *Cell*, 1997, **91** (4): 521-530.
- Nishimura M, Umehara H, Nakayama T, Yoneda O, Hieshima K, Kakizaki M, et al. Dual functions of fractalkine/CX3C ligand 1 in trafficking of perforin+ / granzyme B+ cytotoxic effector lymphocytes that are defined by CX3CR1 expression [J]. *J Immunol*, 2002, **168** (12): 6173-180.
- Yang XP, Mattagajasingh S, Su S, Chen G, Cai Z, Fox-Talbot K, et al. Fractalkine Upregulates Intercellular Adhesion Molecule-1 in Endothelial Cells Through CX3CR1 and the Jak Stat5 Pathway [J]. *Circ Res*, 2007, [Epub ahead of print].
- Umehara H, Goda S, Imai T, Nagano Y, Minami Y, Tanaka Y, et al. Fkn, a CX3C-chemokine, functions predominantly as an adhesion molecule in monocytic cell line THP-1 [J]. *Immunol Cell Biol*, 2001, **79** (3): 298-302.
- Faure S, Meyer L, Costagliola D, Vaneensberghe C, Genin E, Autran B, et al. Rapid progression to AIDS in HIV+ individual with a structural variant of the chemokine receptor CX3CR1 [J]. *Science*, 2000, **287** (5461): 2274-2277.
- McDermott DH, Colla JS, Kleberger CA, Plankey M, Rosenberg PS, Smith ED, et al. Genetic polymorphism in CX3CR1 and risk of HIV disease [J]. *Science*, 2000, **290** (5499): 2031.
- Goda S, Imai T, Yoshie O, Yoneda O, Inoue H, Nagano Y, et al. CX3C-chemokine, fractalkine-enhanced adhesion of THP-1 cells to endothelial cells through integrin-dependent and -independent mechanisms [J]. *J Immunol*, 2000, **164** (8): 4313-320.
- Schulz C, Schulz C, Fraccarollo D, Tas P, Leutke M, Eigenthaler M, et al. The CX3C Chemokine Fractalkine Induces Vascular Dysfunction by Generation of Superoxide Anions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, **27** (1): 55-62.
- Lesnik P, Haskell CA, Charo IF. Decreased atherosclerosis in CX3CR1-/- mice reveals a role for fractalkine in atherogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2003, **111** (3): 333-340.
- Auffray C, Fogg D, Garfa M, Elain G, Joir-Lambert O, Kayal S, et al. Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior [J]. *J Science*, 2007, **317** (5838): 666-670.
- McDermott DH, Halcox JP, Schenke WH, Wacławski MA, Merrell MN, Epstein N, et al. Association between polymorphism in the chemokine receptor CX3CR1 and coronary vascular endothelial dysfunction and atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2001, **89** (5): 401-407.
- Moatti D, Faure S, Fumeron F, Amara M-W, Seknadji P, McDermott DH, et al. Polymorphism in the fractalkine receptor CX3CR1 as a genetic risk factor for coronary artery disease [J]. *Blood*, 2001, **97** (7): 1925-928.
- Niessner A, Marculescu R, Haschemi A, Endler G, Zorn G, Weyand CM, et al. Opposite effects of CX3CR1 receptor polymorphisms V249I and T280M on the development of acute coronary syndrome. A possible implication of fractalkine in inflammatory activation [J]. *Thromb Haemost*, 2005, **93** (5): 949-954.
- Apostolakis S, Baritaki S, Kochiadakis GE, Igoumenidis NE, Panutsopoulos D, Spandidos DA. Effects of polymorphisms in chemokine ligands and receptors on susceptibility to coronary artery disease [J]. *Thromb Res*, 2007, **119** (1): 63-71.
- Ghilardi G, Biondi ML, Turri O, Guagnellini E, Scorza R. Internal carotid artery occlusive disease and polymorphisms of fractalkine receptor CX3CR1: a genetic risk factor [J]. *Stroke*, 2004, **35** (6): 1276-279.
- Norata GD, Garlaschelli K, Ongari M, Raselli S, Grigore L, Catapano AL. Effects of fractalkine receptor variants on common carotid artery intima-media thickness [J]. *Stroke*, 2006, **37** (6): 1558-561.
- Liu P, Patil S, Rojas M, Fong AM, Smyth SS, Patel DD. CX3CR1 deficiency confers protection from intimal hyperplasia after arterial injury [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, **26** (9): 2056-062.
- Gugl A, Renner W, Seinst G, Brodmann M, Pabst E, Wascher TC, et al. Two polymorphisms in the fractalkine receptor CX3CR1 are not associated with peripheral arterial disease [J]. *Atherosclerosis*, 2003, **166** (2): 339-343.
- Management of peripheral arterial disease (PAD). TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC) [J]. *Int Angiol*, 2000, **19** (1-XXIV): 1-304.
- Lavergne E, Labreuche J, Daoudi M, Debret P, Cambien F, Deterre P, et al. Adverse associations between CX3CR1 polymorphisms and risk of cardiovascular or cerebrovascular disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (4): 847-53.
- Hattori H, Ito D, Tanahashi N, Murata M, Saito I, Watanabe K, et al. T280M and V249I polymorphisms of fractalkine receptor CX3CR1 and ischemic cerebrovascular disease [J]. *Neurosci Lett*, 2005, **374** (2): 132-135.

(此文编辑 陈临溪)