

·文献综述·

[文章编号] 1007-3949(2008)16-07-0582-03

# 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子在 动脉粥样硬化发展进程中的相关研究进展

袁伟综述; 何奔, 葛恒审校

(上海交通大学医学院附属仁济医院心内科, 上海市 200001)

[关键词] 病理学与病理生理学; 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子; 基质金属蛋白酶; 动脉粥样硬化

[摘要] 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子在多种细胞表达并诱导基质金属蛋白酶产生, 近期有较多研究表明, 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子在动脉粥样硬化相关细胞以及人类动脉粥样斑块内高表达, 推测其在动脉粥样硬化的病理生理中可能起到重要的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN) 又称为 basigin、M6、Neurothelin 和 CD147 分子, 是一种高度糖基化的、广泛表达于造血及非造血细胞系, 分子质量为 50~ 60 kDa 的跨膜糖蛋白, 属于免疫球蛋白超家族成员。最早发现其在肿瘤细胞及肿瘤组织内的成纤维细胞表面高度表达, 并通过自分泌和旁分泌途径, 诱导成纤维细胞、内皮细胞等表达基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)<sup>[1,2]</sup>。近期有较多的研究<sup>[3-5]</sup>表明, EMMPRIN 在动脉粥样硬化(atherosclerosis, As) 相关细胞以及人类动脉粥样硬化斑块内高表达, 推测其在 As 的病理生理中可能起到重要的作用, 本文旨在对这些研究结果进行综述。

## 1 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子简介

### 1.1 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子分子的结构

细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(EMMPRIN) 属单次跨膜糖蛋白, 含 269 个氨基酸, 其中 21 个氨基酸为信号肽, 中间 185 个氨基酸构成胞外结构域, 有 24 个氨基酸为穿膜区, C 端 39 个氨基酸为胞内结构域。从结构上分析, EMMPRIN 属于免疫球蛋白超家族成员之一。包膜外区有 3 个相似的 N-糖基化天冬酰胺序列, 糖基化程度具有组织特异性, 不同的糖基化方式使 EMMPRIN 在不同的组织中发挥不同的作用。如 Sun 等<sup>[1]</sup> 研究显示, 在肿瘤细胞中 EMMPRIN 糖基化的程度决定其诱导 MMP 表达的活性强度, 去糖基化的 EMMPRIN 蛋白纯化产物无法诱导肿瘤细胞产生 MMP。对颈动脉斑块的研究<sup>[5]</sup> 发现, 富含平滑肌细胞的斑块中低度糖基化的 EMMPRIN 含量很高并与基质金属蛋白酶 2(matrix metallopro-

teinase 2, MMP-2) 表达呈正相关, 而在富含巨噬细胞的斑块中多为高度糖基化的 EMMPRIN 并与基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9) 表达量呈正相关。

### 1.2 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子基因的结构

编码 EMMPRIN 的基因定位于人 19 号染色体 19p13.3, 基因由 8 个外显子编码, 长度为 10.8 kb。mRNA 全长约为 1.6 kb, cDNA 约由 70 个核苷酸组成, 其中 33 个对应于编码序列, 剩余 37 个对应于 5' 非翻译区, 转录起始位点位于第 1 核苷酸处。EMMPRIN 的基因转录主要受 Sp1 元件的调控, Sp1 元件在 EMMPRIN 的启动子上<sup>[6]</sup>。

### 1.3 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子的存在形式

机体中 EMMPRIN 以可溶性及与细胞膜结合的两种形式存在。可溶性 EMMPRIN 有两种产生机制, 一种是 MMP 介导的 EMMPRIN 羧基端裂解产生<sup>[7]</sup>; 另一种形式是通过细胞表面的微泡脱落释放 EMMPRIN 蛋白<sup>[8]</sup>。

## 2 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子与动脉粥样硬化的关系

动脉粥样硬化(As) 的主要病理特征是持续的血管壁慢性炎症, 受到致病源侵袭的血管内皮细胞表达黏附分子, 吸引大量炎症细胞移行进入内皮层下, 单核/巨噬细胞是最主要的效应炎症细胞, 它们分泌释放的各种细胞因子在斑块形成、进展和破裂中发挥关键的作用。其中 MMP 是可降解细胞外基质的蛋白水解酶, 参与 As 斑块的形成, 并且被认为是引发斑块破裂的最重要细胞因子。其亚型中, MMP-2 和 MMP-9 可能是参与 As 的最主要的 MMP<sup>[9]</sup>。研究发现 EMMPRIN 可以在平滑肌细胞、内皮细胞、单核细胞等多种细胞中诱导 MMP 产生, 包括 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-9、1 型跨膜基质金属蛋白酶蛋白(membrane type 1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP) 和 2 型跨膜基质金属蛋白酶蛋白(membrane type 2 matrix metalloproteinase, MT2-MMP)<sup>[10]</sup>。在人、鼠及兔的 As 斑块中也发现了高表达的 EMMPRIN, 因而推测 EMMPRIN 可能是 MMP 的主要调节因子并在 As 的病理生理中可能起

[收稿日期] 2008-01-25 [修回日期] 2008-06-20

[作者简介] 袁伟, 博士研究生, 医师, 研究方向为动脉粥样硬化的机制与防治, 联系电话为 021-58752345, E-mail 为 yuanwei1006@yahoo.com.cn。通讯作者何奔, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化的机制及冠心病的介入治疗, 联系电话为 021-58752345-2324, E-mail 为 heben@medmail.com.cn。葛恒, 博士, 主治医师, 联系电话为 021-58752345-2324, E-mail 为 dr.geheng@gmail.com。

到重要的作用。

### 2.1 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子与单核/巨噬细胞

Major 等<sup>[3]</sup>发现人的单核细胞表面有 EMMPRIN 表达,而且 EMMPRIN 在人 As 斑块病理切片中与巨噬细胞共分布和局部 MMP-9 活性增强一致。Yoon 等<sup>[4]</sup>也发现 EMMPRIN 存在于颈内和主 As 斑块中,并在人单核细胞中表达,体外培养人单核细胞并用白细胞介素 6、肿瘤坏死因子  $\alpha$  等炎症因子刺激后发现单核细胞表达 EMMPRIN 和 MMP 明显增加。由于单核细胞移行进入内皮细胞层需要依赖 MMP 对细胞基质的消化,EMMPRIN 可能是早期调控其迁移的重要蛋白。张俊峰等<sup>[11]</sup>又用佛波醇体外诱导人单核细胞 THP-1 向巨噬细胞分化,发现 EMMPRIN 基因和蛋白表达明显增加,他们在巨噬细胞基础上加入氧化型低密度脂蛋白诱导其向泡沫细胞分化,发现泡沫细胞中同样高表达 EMMPRIN,这提示 EMMPRIN 在斑块中可以发挥持续的作用。

### 2.2 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子与平滑肌细胞

血管平滑肌细胞的迁移和增殖是形成 As 斑块的重要条件。和单核细胞类似,MMP 在平滑肌细胞的迁移和增殖中也至关重要<sup>[12]</sup>。Haug 等<sup>[13]</sup>通过体外培养人的冠状动脉平滑肌细胞(human coronary smooth muscle cells, HCA-SMC),发现 EMMPRIN 在 HCA-SMC 中表达。而在体外培养的平滑肌细胞中加入 EMMPRIN 则可以诱导其产生 MMP-2<sup>[14]</sup>。

### 2.3 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子与血小板

血小板不仅与 As 斑块破裂产生的心脑血管血栓事件有关,而且在斑块的发生发展中也有一定的病理生理作用<sup>[15]</sup>。动物实验证实,在血小板减少时,输入新鲜血小板后,可在电镜下观察到血小板粘附并融合到血管内皮中,从而维持血管内皮的完整。血小板释放的血小板源性生长因子能促进血管内皮细胞、平滑肌细胞及成纤维细胞增殖。血小板还与血液循环中的单核细胞相互作用,在急性心肌梗死的一段时期内已观察到血小板和单核细胞形成的聚集物增加。之前有研究发现血小板与单核细胞作用后核因子  $\kappa$ B 家族中的 RelA 发生核转位并导致单核细胞趋化蛋白及白细胞介素 8 的合成增加,但是通过何种血小板受体的作用并不清楚,核因子  $\kappa$ B 的激活可以刺激单核细胞产生促炎症因子白细胞介素 6、肿瘤坏死因子  $\alpha$  和抗炎因子白细胞介素 10<sup>[16]</sup>。此外,血小板与单核细胞在胶原上的结合通过一未知的受体使单核细胞产生的 MMP-9 活性增加<sup>[17]</sup>。最近 Schmdit 等<sup>[18]</sup>通过对血小板的研究认为这一受体就是 EMMPRIN,他们发现血小板表达 EMMPRIN 并且在血小板活化时 EMMPRIN 表达也上调;EMMPRIN 与血小板的结合诱导血小板的活化和脱颗粒;EMMPRIN 介导的血小板和单核细胞的结合促进单核细胞分泌 MMP-9 及核因子  $\kappa$ B 依赖形式的白细胞介素 6、白细胞介素 10、肿瘤坏死因子  $\alpha$  等细胞因子。此前他们的研究已经发现表达 EMMPRIN 的单核细胞及平滑肌细胞的相互间毗邻接触都会相互诱导 MMP 的产生<sup>[14]</sup>,因此认为 EMMPRIN 介导的细胞间相互作用有促进血管壁发生 As 的作用。

### 2.4 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子与斑块稳定性

动脉粥样斑块的破裂是导致血管急性血栓形成,堵塞并

引起诸如急性冠脉综合症等严重临床事件的主要原因。国内外均有报道急性冠状动脉综合症患者血清中 MMP 水平明显升高<sup>[19]</sup>。目前认为,MMP 对包绕在动脉粥样斑块外纤维帽中的胶原成份的降解是削弱斑块强度,诱发斑块破裂的主要原因。最近研究者<sup>[14]</sup>发现急性心肌梗死患者外周单核细胞表面的 EMMPRIN 表达数量明显增高并伴随有 MMP 的增高,而病情稳定后 EMMPRIN 的表达趋于常态化,提示 EMMPRIN 可能通过诱导 MMP 的大量产生而参与了不稳定斑块的形成。目前推测 EMMPRIN 诱导 MMP 产生的作用存在正反馈的模式:EMMPRIN 通过自分泌和旁分泌机制诱导 MMP 的合成,而 MMP 又可促进可溶性 EMMPRIN 的产生,整个级联反应加速了动脉粥样斑块细胞外基质的降解及斑块的扩大和不稳定性。

### 2.5 他汀类药物对细胞外基质金属蛋白酶诱导因子的表达影响

临床研究发现他汀类药物可以降低冠心病患者的血浆 MMP 浓度,抑制单核细胞产生 MMP-9<sup>[20]</sup>,并认为其稳定 As 斑块的作用可能与抑制 MMP 有关,但其中的机制尚不清楚。Abe 等<sup>[21]</sup>通过体外培养大鼠巨噬细胞给予 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)进行了一些研究。此前有资料表明 CRP 能诱导单核/巨噬细胞分泌炎症因子(包括 MMP-2<sup>[22]</sup>)并增加单核细胞的趋化性;CRP 增加内皮细胞表达细胞粘附分子和内皮素 1,减少内皮细胞 NO 合成酶的表达及活性并增加单核细胞与内皮细胞间的粘附;此外 CRP 还促进血管平滑肌细胞的迁移和增殖并增加其活性氧的表达。Abe 他们体外培养大鼠巨噬细胞给予 CRP 后发现 EMMPRIN 的表达增加并在 24 h 后达到峰值,48 h 后 MMP-9 的表达达到峰值,认为 CRP 介导的 MMP-9 活化可能与 EMMPRIN 有关;进一步给予他汀类药物发现氟伐他汀能抑制 CRP 诱导的 EMMPRIN 和 MMP-9 的表达,且氟伐他汀在基因转录水平抑制 CRP 介导的 MMP-9 活化但帕伐他汀无此作用,由于氟伐他汀具有抗氧化作用而帕伐他汀抗氧化作用较弱,再进一步通过对二者的氧化标记物测定比较后认为氟伐他汀这一抑制作用可能与其氧化作用有关,结合之前报道 EMMPRIN 基因在巨噬细胞的表达受转录因子 Sp1 和 Sp3 的调节<sup>[6]</sup>,推测氟伐他汀抑制 EMMPRIN 基因的表达可能与上述转录因子有关。但他汀类药物稳定 As 斑块的作用是否与抑制 EMMPRIN 基因的表达有关还有待进一步研究。

## 3 展望

上述的一些研究表明 EMMPRIN 不仅诱导 MMP 的产生而且与多种细胞及细胞因子相互作用参与 As 的发生发展过程,并可能扮有重要作用。目前的问题:EMMPRIN 对 MMP 的生成及活性的调控机制还不完全清楚,EMMPRIN 在 As 相关细胞中促进其他细胞因子生成的直接证据不多,虽然体外抑制 EMMPRIN 能减少相关细胞 MMP 的生成及活化<sup>[14]</sup>,但体内和体外的环境不同,体外研究的结果在体内是否有效,继而对细胞功能乃至斑块形态和稳定性产生影响还不得而知,上述问题有待进一步证实。总之,EMMPRIN 与多种细胞及

细胞因子间相互作用的机制尚不完全明确,有待更深入的研究,进一步明确 As 发生发展的机制,为预防和治疗 As 相关疾病提供新的方法。

#### [参考文献]

- [1] Sun J, Hemler ME. Regulation of MMP-1 and MMP-2 production through CD147/ extracellular matrix metalloproteinase inducer interactions [J]. *Cancer Res*, 2001, **61** (5): 2 276-281.
- [2] Caudroy S, Polette M, Nawrocki-Raby B, et al. EMMPRIN-mediated MMP regulation in tumor and endothelial cells [J]. *Clin Exp Met*, 2002, **19** (8): 697-702.
- [3] Major TC, Liang L, Lu X, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) is induced upon monocyte differentiation and is expressed in human atheroma [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22** (7): 1 200-207.
- [4] Yoon YW, Kwon HM, Hwang KC, et al. Upstream regulation of matrix metalloproteinase by EMMPRIN; extracellular matrix metalloproteinase inducer in advanced atherosclerotic plaque [J]. *Atherosclerosis*, 2005, **180** (1): 37-44.
- [5] Sluijter JP, Pulskens WP, Schoneveld AH, et al. Matrix metalloproteinase 2 is associated with stable and matrix metalloproteinase 8 and 9 with vulnerable carotid atherosclerotic lesions: a study in human endarterectomy specimen pointing to a role for different extracellular matrix metalloproteinase inducer glycosylation forms [J]. *Stroke*, 2006, **37** (1): 235-239.
- [6] Liang L, Major T, Bocan T. Characterization of the promoter of human extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) [J]. *Gene*, 2002, **282** (1-2): 75-86.
- [7] Tang Y, Kesavan P, Nakada MT, et al. Tumor-stroma interaction: Positive feedback regulation of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) expression and matrix metalloproteinase-dependent generation of soluble EMMPRIN [J]. *Mol Cancer Res*, 2004, **2** (2): 73-80.
- [8] Sidhu SS, Mengistab AT, Tauscher AN, et al. The microvesicle as a vehicle for EMMPRIN in tumor stromal interactions [J]. *Oncogene*, 2004, **23** (4): 956-963.
- [9] 王长谦, 汤大鸣, 谢秀兰, 等. 氧化型低密度脂蛋白对入血单核细胞源巨噬细胞基质金属蛋白酶表达及其活性的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (2): 126-130.
- [10] Nabeshima K, Iwasaki H, Koga K, et al. Emmprin (basigin/CD147): Matrix metalloproteinase modulator and multifunctional cell recognition molecule that plays a critical role in cancer progression [J]. *Pathol Int*, 2006, **56** (7): 359-367.
- [11] Zhang JF, Ge H, Wang CQ, et al. Inhibitory effect of PPAR on the expression of EMMPRIN in macrophages and foam cells [J]. *Int J Cardiol*, 2007, **117** (3): 373-380.
- [12] Cho A, Reidy MA. Matrix metalloproteinase-9 is necessary for the regulation of smooth muscle cell replication and migration after arterial injury [J]. *Circ Res*, 2002, **91** (9): 845-851.
- [13] Haug C, Lenz C, Diaz F, et al. Oxidized low-density lipoproteins stimulate extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) release by coronary smooth muscle cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, **24** (10): 1 823-829.
- [14] Schmidt R, Bulmann A, Ungerer M, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer regulates matrix metalloproteinase activity in cardiovascular cells: implications in acute myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2006, **113** (6): 834-841.
- [15] Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis [J]. *J Clin Invest*, 2005, **115** (12): 3 378-384.
- [16] Winther MP, Kanters E, Kraal G, et al. Nuclear factor  $\kappa$ B signaling in atherogenesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, **25** (5): 904-914.
- [17] Galt SW, Lindemann S, Medd D, et al. Differential regulation of matrix metalloproteinase-9 by monocytes adherent to collagen and platelets [J]. *Circ Res*, 2001, **89** (6): 509-516.
- [18] Schmidt R, Bulmann A, Fischel S, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147) is a novel receptor on platelets, activates platelets, and augments nuclear factor  $\kappa$ B-dependent inflammation in monocytes [J]. *Circ Res*, 2008, **102** (3): 302-309.
- [19] 孟晓萍, 王超, 孙健, 等. 急性冠状动脉综合征患者血清基质金属蛋白酶 2 水平的检测[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (4): 339-342.
- [20] Xu Z, Zhao S, Zhou H, et al. Atorvastatin lowers plasma matrix metalloproteinase-9 in patients with acute coronary syndrome [J]. *Clin Chem*, 2004, **50** (4): 750-753.
- [21] Abe N, Osanai T, Fujiwara T, et al. C-reactive protein-induced upregulation of extracellular matrix metalloproteinase inducer in macrophages: inhibitory effect of fluvastatin [J]. *Life Sci*, 2006, **78** (9): 1 021-028.
- [22] 沈彬, 吴宗贵. C 反应蛋白对 U937 细胞表达基质金属蛋白酶 2 的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, **13** (1): 25-28.

(此文编辑 李小玲)