

肺炎衣原体感染在动脉粥样硬化不同阶段作用机制研究进展

洪莉综述, 张丽若审校

(天津医科大学基础医学院, 天津市 300070)

[关键词] 病理学与病理生理学; 肺炎衣原体; 动脉粥样硬化; 信号转导; 炎症介质

[摘要] 近年来感染作为动脉粥样硬化新的危险因素备受关注。大量研究显示肺炎衣原体感染参与动脉粥样硬化病变的整个过程。本文对肺炎衣原体感染在动脉粥样硬化不同阶段的相关细胞分子机制加以综述, 为明确肺炎衣原体感染与动脉粥样硬化的因果关系, 进一步阐明动脉粥样硬化的发病机制提供理论基础。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

肺炎衣原体是1989年确立的新种衣原体, 为专性细胞内寄生的革兰氏阴性菌。近年来研究结果显示其可能是导致动脉粥样硬化(atherosclerosis As)新的危险因素^[1-3]。肺炎衣原体经呼吸道传播进入机体后被肺部单核/巨噬细胞吞噬, 通过血液循环侵入血管内壁而感染在As病变形成中起主要作用的三种细胞如巨噬细胞、内皮细胞和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell VSMC), 并在其中复制和增殖, 引起血管内膜的慢性或持续性炎症反应^[4]。目前认为As是一种慢性炎症性疾病^[5], 研究表明肺炎衣原体参与As的起始、进展及斑块破裂等各个环节, 影响As的进程。本文就肺炎衣原体感染导致As发病不同阶段的细胞分子学特征及其相关发病机制研究进展做一综述。

1 肺炎衣原体感染与内皮功能紊乱

血管内皮功能紊乱是As形成的基础, 其中血管壁的慢性炎症刺激被认为是重要原因之一。肺炎衣原体及其抗原成分感染内皮细胞, 可通过激活多条信号转导通路促进粘附分子和促炎症介质的分泌, 引起炎症反应。内皮细胞膜表面iv型跨膜蛋白-Toll样受体4(Toll-like receptor 4 TLR4)可以识别衣原体的脂多糖和热休克蛋白60通过TLR4-蛋白髓样分化因子2复合物, 经接头分子髓样分化因子88依赖途径激活核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B), 诱导促炎症介质白细胞介素(interleukin IL)-6、IL-8、单核细胞趋化蛋白1和细胞间粘附分子1(intercellular adhesion molecule ICAM-1)分泌^[6]。肺炎衣原体还能直接增强内皮细胞内有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase MAPK)家族的细胞外受体激酶p38-MAPK和c-Jun-NH2磷酸化, 且前两者的激活促进IL-8和ICAM-1释放^[7]。肺炎衣原体侵入内皮细胞后, 可被胞质蛋白家族受体核苷酸结合寡聚化结构域

1蛋白识别, 经衔接蛋白受体相互作用蛋白2信号转导通路, 激活NF- κ B, 也可增加IL-8表达^[8]。肺炎衣原体感染人主动脉内皮细胞上调ICAM-1表达水平, 还可通过蛋白激酶C依赖途径激活NF- κ B而实现^[9]。这些炎症介质协同作用不仅加剧内皮细胞本身的损伤, 而且诱导白细胞在内皮下聚集、粘附, 促进T细胞和单核细胞迁入内膜。

肺炎衣原体在内皮细胞内增殖, 最终引起宿主细胞的坏死与凋亡, 从而增加血管壁的通透性。肺炎衣原体在血管内皮细胞增殖晚期, 宿主细胞出现明显的染色质浓缩, 伴有细胞器及膜的损伤, 反映细胞凋亡的存在。细胞坏死通常用细胞释放乳酸脱氢酶的量来衡量, 肺炎衣原体感染引起内皮细胞释放乳酸脱氢酶的作用呈剂量依赖的线性关系; 同时内皮细胞还分泌一种核因子- κ B高迁移率蛋白B1, 其仅在细胞坏死时分泌, 具有很强的促炎症作用, 诱导血管细胞粘附分子1和肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor TNF)的释放^[10]。

2 肺炎衣原体感染与泡沫细胞和脂纹形成

泡沫细胞与脂纹是As病变的早期标志。聚集在内膜下的单核细胞只有活化为巨噬细胞后才有吞噬功能, 摄入氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein ox-LDL)使自身泡沫化。肺炎衣原体感染可以诱导内皮细胞和T淋巴细胞分泌一种主要的免疫活化因子干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ), 作用于迁入内膜的单核细胞使其迅速分化为巨噬细胞^[11, 12], 诱导炎症反应发生。继而被感染的内皮细胞释放子代肺炎衣原体继续感染巨噬细胞, 增加TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及IL-8等促炎症介质的表达, 促进单核细胞浸润入内膜衍化成巨噬细胞^[13]。此外, 肺炎衣原体感染促进巨噬细胞与正常血脂和高血脂主动脉的粘附, 这是因为肺炎衣原体可增加巨噬细胞上整合蛋白CD11a/CD18和CD11b/CD18亲和性, 使其易与内皮细胞上它的配体ICAM-1粘着^[14]; 同时还活化内皮细胞, 增加ICAM-1的表达。

内皮细胞损伤后血液中大量LDL渗透到内膜, 可被氧化酶和氧自由基氧化修饰, 形成ox-LDL, 它被巨噬细胞表面的清道夫受体介导进入细胞, 由于此过程缺乏负反馈调节机制, 促使ox-LDL不断被摄入, 造成细胞内脂质大量积聚, 从

[收稿日期] 2008-10-03 [修回日期] 2008-12-05

[基金项目] 教育部科学技术研究重点项目(206008)

[作者简介] 洪莉, 硕士研究生, 研究方向为肺炎衣原体与动脉粥样硬化致病机制, E-mail为 barbara0811@hotmail.com。通讯作者张丽若, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为肺炎衣原体与动脉粥样硬化, E-mail为 Lijunw@hotmai.com。

而形成泡沫细胞。Kalayoglu等^[15]率先报道 LDL的氧化修饰与 As的炎症假说之间的联系,提出肺炎衣原体及其热休克蛋白 60参与 LDL的氧化修饰过程;肺炎衣原体又能诱导血小板分泌脂氧合酶和一氧化氮合酶,加速 ox-LDL的形成^[16];加之肺炎衣原体活化巨噬细胞上调清道夫受体,这些作用均可导致巨噬细胞摄入 ox-LDL增加。泡沫细胞形成不仅受细胞摄入胆固醇增多的影响,而且与胞内胆固醇流出减少有关。肺炎衣原体及其脂多糖、热休克蛋白 60主要经 TLR2介导的信号转导通路促进巨噬细胞摄入 ox-LDL,使用肝 X受体激动剂处理上述巨噬细胞引起细胞内的脂质颗粒明显减少,表明肺炎衣原体感染及 TLR的激活可以在不同程度上干扰在巨噬细胞上高度表达的肝 X受体转录活化^[17,18],从而减少肝 X受体介导细胞内胆固醇的外流。

3 肺炎衣原体感染与纤维斑块形成

脂质条纹继续发展形成纤维斑块,后者主要由迁入内膜的 VSMC及其分泌的细胞外基质如纤维蛋白、胶原纤维和蛋白聚糖形成的纤维帽和中央脂质池组成。在此阶段 VSMC的迁移、增殖是形成纤维斑块的重要条件。肺炎衣原体感染内皮细胞分泌的生长因子如血小板源性生长因子、肝素结合性表皮生长因子,感染巨噬细胞分泌的 TNF、IL-18及血管内皮生长因子与 ox-LDL共同作用刺激 VSMC增殖并从中膜迁移到内膜。而且, VSMC的 TLR4识别肺炎衣原体及其热休克蛋白 60通过 p44/42MAPK 信号转导途径使 MAPK 磷酸化^[19],激活后的 MAPK进入细胞核内使某些转录因子上的丝氨酸和苏氨酸磷酸化,如 c-myc、AP-1、ATF-2和 E2F-1等,使其与 DNA结合的亲和力增加,增强特异基因的转录,促进 VSMC分化、增殖;Rupp等^[20]进一步证实通过此信号转导途径,主要是诱导细胞核内与早期生长反应因子 1有关的 DNA转录,并且在肺炎衣原体感染的小鼠动脉内早期生长反应因子 1的表达显著增加。早期生长反应因子 1是在 As病变进展中起枢纽作用的转录因子,不仅能调节细胞从 G₀期向 G₁期过渡,促进细胞有丝分裂和分化,而且与编码细胞因子、粘附分子和生长因子启动区的基因相关。此外,衣原体的热休克蛋白 60刺激巨噬细胞分泌基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase MMP)^[21],使细胞外基质降解,有助于中膜内 VSMC迁移至内膜。

随着 As病变进一步发展,增殖并迁移到内膜的 VSMC经其表面的清道夫受体介导不断吞噬 ox-LDL,形成平滑肌源性泡沫细胞。在细胞因子及 ox-LDL的作用下,使不同来源的泡沫细胞坏死、崩解导致大量脂质释放而形成脂质池。在此过程中,肺炎衣原体除激活内皮细胞释放 IFN- γ 和 TNF- α 等细胞因子参与外,肺炎衣原体特异性蛋白如外膜蛋白 2和两个 53 kDa蛋白(Cpn 0980和 Cpn 0809)也能被巨噬细胞上的 TLR2和 TLR4识别,经 p44/42MAPK 磷酸化途径分泌早期生长反应因子 1,促进 TNF- α 转录^[22];肺炎衣原体感染还可通过 TLR2信号转导依赖途径加剧 ox-LDL对巨噬细胞的毒性作用^[23]。

4 肺炎衣原体感染与斑块不稳定及破裂

脂质浸润和泡沫细胞的不断坏死导致细胞外脂质核的发生和扩大,增强斑块的不稳定性。目前研究证实,肺炎衣原体感染参与斑块不稳定因素的形成,除诱导促细胞凋亡因子 IFN- γ 、TNF分泌及 ox-LDL形成外,还可直接感染 VSMC并在其内增殖,最终可诱导宿主细胞坏死和凋亡,引起 VSMC数量减少,导致 VSMC合成分泌的细胞外基质减少^[24]。近年来研究认为,斑块内 MMP等蛋白水解酶活性显著升高所导致的组成纤维帽的细胞外基质降解、强度减小,是斑块纤维帽变薄易破裂的主要原因。其亚型 MMP-2和 MMP-9能将斑块中的胶原彻底分解,引起斑块破裂。肺炎衣原体和其热休克蛋白 60感染鼠巨噬细胞可诱导 MMP-9和 TNF- α 表达^[21]。A mo等^[25]对冠状动脉内膜剥脱术样本进行连续切片发现,肺炎衣原体与 MMP-9表达局限于斑块内的相同区域,说明 MMP-9表达增加与肺炎衣原体感染之间存在一定相关性。进一步研究证实肺炎衣原体诱导单核细胞上调细胞外 MMP诱导因子,且细胞外 MMP诱导因子的抑制能完全阻止肺炎衣原体感染的单核细胞分泌 1型跨膜 MMP蛋白和 MMP-9提示肺炎衣原体诱导单核细胞分泌 MMP,主要是通过细胞外 MMP诱导因子调节机制实现的;同时被肺炎衣原体感染的单核细胞分泌细胞因子 IL-1 β 和 IL-6还可经旁分泌途径诱导 VSMC释放 MMP-2^[26]。

斑块破裂后进入血管腔的脂质具有高度致血栓性,可引起继发血栓形成并导致多种临床症状。肺炎衣原体感染除使纤维斑块趋向不稳定外,还可激活内皮细胞分泌组织因子和纤溶酶原激活物抑制剂^[12],且肺炎衣原体特异性蛋白外膜蛋白 2、Cpn0890和 Cpn0809也可诱导巨噬细胞释放组织因子^[22],共同促进血小板聚集、粘附和血栓形成。斑块破裂伴有表面血栓形成是导致不稳定型心绞痛、心肌梗死和猝死的主要原因。显而易见,肺炎衣原体感染是引起斑块不稳定并导致严重临床症状的重要因素之一。

5 结语

综上所述,在 As病变的各阶段肺炎衣原体与靶细胞相互作用,通过不同信号转导途径刺激分泌多种炎症介质,参与 As的形成并促进 As发展。然而,As是一种遗传与环境多因素导致的疾病,肺炎衣原体感染作为 As发病一种新的危险因素,与其他危险因素之间的相互作用尚有待于进一步研究。此外,针对肺炎衣原体的疫苗开发和相应抗生素应用,将为临床上预防和治疗 As提供新的可能。

【参考文献】

- [1] Jackson LA, Campbell LA, Kuo CC, et al. Isolation of Chlamydia pneumoniae from a carotid endarterectomy specimen [J]. *J Infect Dis* 1997; **176** (1): 292-295.
- [2] Kaul R, Uphoff I, Wiedeman J, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae DNA in CD34⁺ lymphocytes from healthy blood donors and patients with coronary artery disease [J]. *Circulation* 2000; **102** (19): 2341-2346.
- [3] Zhang L, Ishikawa Y, Akasaka Y, et al. Limited association of Chlamydia pneumoniae detection with coronary atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis* 2003; **167** (1): 81-88.

- [4] Gieffers J, Van Zandbergen G, Rupp J, et al. Phagocytes transmit Chlamydia pneumoniae from the lungs to the vasculature [J]. *Eur Respir J*, 2004, 23 (4): 506-510.
- [5] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s [J]. *Nature*, 1993, 362(6423): 801-809.
- [6] Yonca Bulut, Emmanuelle Faure, Lisa Thomas, et al. Chlamydial heat shock protein 60 activates macrophages and endothelial cells through toll-like receptor 4 and MD2 in a MyD88-dependent pathway [J]. *J Immunol*, 2002, 168 (3): 1435-440.
- [7] Krill M, Kramp J, Petrov T, et al. Inferences in cell activation by Chlamydia pneumoniae and Chlamydia trachomatis infection in human endothelial cells [J]. *Infect Immun*, 2004, 72 (11): 6615-621.
- [8] Opitz B, Fülster S, Hocke AC, et al. Nod1-mediated endothelial cell activation by Chlamydia pneumoniae [J]. *Circ Res*, 2005, 96 (3): 319-326.
- [9] Vieira SA, Krings G, Lopes-Virella MF. Chlamydia pneumoniae induces ICAM-1 expression in human aortic endothelial cells via protein kinase C-dependent activation of nuclear factor-kappaB [J]. *Circ Res*, 2003, 92 (10): 1130-137.
- [10] Marino J, Stoeckli I, Walch M, et al. Chlamydia pneumoniae derived from inclusions late in the infectious cycle induce apoptosis in human aortic endothelial cells [J]. *BMC Microbiol*, 2008, 8 (2): 32-38.
- [11] Joyce AG, Qiu H, Wang S, et al. Distinct NKT cell subsets are induced by different Chlamydia species leading to differential adaptive immunity and host resistance to the infections [J]. *J Immunol*, 2007, 178 (2): 1048-058.
- [12] Krull M, Klucken AC, Wuppemann FN, et al. Signal transduction pathways activated in endothelial cells following infection with Chlamydia pneumoniae [J]. *J Immunol*, 1999, 162 (8): 4834-841.
- [13] Watson C, Alpers NJ. Role of Chlamydia pneumoniae in atherosclerosis [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2008, 114 (8): 509-531.
- [14] Takaoka N, Campbell LA, Lee A, et al. Chlamydia pneumoniae infection increases adherence of mouse macrophages to mouse endothelial cells in vitro and to aortas ex vivo [J]. *Infect Immun*, 2008, 76 (2): 510-514.
- [15] Kalayoglu MV, Hoeman B, LaVerda D, et al. Cellular oxidation of low-density lipoprotein by Chlamydia pneumoniae [J]. *J Infect Dis*, 1999, 180 (3): 780-790.
- [16] Kallvegren H, Bylin H, Leanderson P, et al. Chlamydia pneumoniae induces nitric oxide synthase and lipoxygenase-dependent production of reactive oxygen species in platelets: Effects on oxidation of low density lipoproteins [J]. *Thromb Haemost*, 2005, 94 (2): 327-335.
- [17] Cao F, Castrillo A, Tontonoz P, et al. Chlamydia pneumoniae-induced macrophage foam cell formation is mediated by toll-like receptor 2 [J]. *Infect Immun*, 2007, 75 (2): 753-759.
- [18] Castrillo A, Joseph SB, Vaidya SA, et al. Crosstalk between LXR and toll-like receptor signaling mediates bacterial and viral antagonism of cholesterol metabolism [J]. *Mol Cell*, 2003, 12 (4): 805-816.
- [19] Sasu S, LaVerda D, Qureshi N, et al. Chlamydial pneumoniae and chlamydial heat shock protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via Toll-like receptor 4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation [J]. *Circ Res*, 2001, 89 (3): 244-250.
- [20] Rupp J, Hellwig-Burgel T, Wobbe V, et al. Chlamydia pneumoniae infection promotes a proliferative phenotype in the vasculature through Egr-1 activation in vitro and in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102 (9): 3447-452.
- [21] Kol A, Sukhova GK, Lichtman AH, et al. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor- α and matrix metalloproteinase expression [J]. *Circulation*, 1998, 98 (4): 300-307.
- [22] Jiang SJ, Kuo CC, Berry MW, et al. Identification and characterization of Chlamydia pneumoniae-specific proteins that activate tumor necrosis factor alpha production in RAW 264.7 murine macrophages [J]. *Infect Immun*, 2008, 76 (4): 1558-564.
- [23] Yaraei K, Campbell LA, Zhu X, et al. Chlamydia pneumoniae augments the oxidized low-density lipoprotein-induced death of mouse macrophages by a caspase-independent pathway [J]. *Infect Immun*, 2005, 73 (7): 4315-322.
- [24] Dumrese G, Maurus CF, Gygi D, et al. Chlamydia pneumoniae induces apoptosis in human aortic smooth muscle cells [J]. *BMC Microbiol*, 2005, 5 (1): 2-10.
- [25] Amo G, Kaski JC, Smith DA, et al. Matrix metalloproteinase-9 expression is associated with the presence of Chlamydia pneumoniae in human coronary atherosclerotic plaques [J]. *Heart*, 2005, 91 (4): 521-525.
- [26] Schmidt R, Redecke V, Breitfeld Y, et al. EMMPRN (CD 147) is a central activator of extracellular matrix degradation by Chlamydia pneumoniae-infected monocytes: Implications for plaque rupture [J]. *Thromb Haemost*, 2006, 95 (1): 151-158.

(此文编辑 文玉珊)