

核因子- κ B 与动脉粥样硬化

徐红新 综述, 李建军, 李庚山 审校

(武汉大学人民医院心内科, 武汉, 430060)

[主题词] 核因子- κ B; 动脉粥样硬化; 炎症

[摘要] 炎症贯穿于动脉粥样硬化发生发展的全过程, 而核因子- κ B 又是调节免疫炎症相关基因的重要转录因子。众多研究提示, 动脉粥样硬化斑块的主要组成细胞为单核细胞、血管内皮细胞及血管平滑肌细胞, 甚至动脉粥样硬化斑块中存在核因子- κ B 的激活。而单核细胞迁入内膜下间隙又被认为是动脉粥样硬化的最早病变, 而且引起冠心病的三大独立危险因素(高血压、高血脂和高血糖)在引起动脉粥样硬化时均有核因子- κ B 的激活增加, 因此核因子- κ B 有可能是动脉粥样硬化发生与发展的始动机理之一。

[中图分类号] R543.5

[文献标识码] A

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是血管对血管壁损伤引起的一过强反应, 且以炎症和成纤维细胞增殖为特征^[1]。核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)为具有多向转录调节作用的蛋白质, 与许多基因特别是免疫炎症相关基因(如各种细胞因子、趋化因子和粘附分子等)的转录调控密切相关, 而这些因子又对相应细胞的活化、增殖、浸润、趋化和分泌功能起着直接的调控作用。众多研究提示 NF- κ B 存在于 As 病变的主要组成细胞即血单核细胞、血管内皮细胞和血管平滑肌细胞中^[2-10], 而单核细胞粘附于血管壁进而迁入内皮下间隙又被认为是 As 的最早期病变。而且冠心病(coronary heart disease, CHD)三大独立危险因素(高血压、高血脂和高血糖)在引起 As 时均有 NF- κ B 激活的增加。故 NF- κ B 可能是 As 发生的始动机制之一, 本文就这方面研究进展作一综述。

1 核因子- κ B 的构成、激活及其靶基因

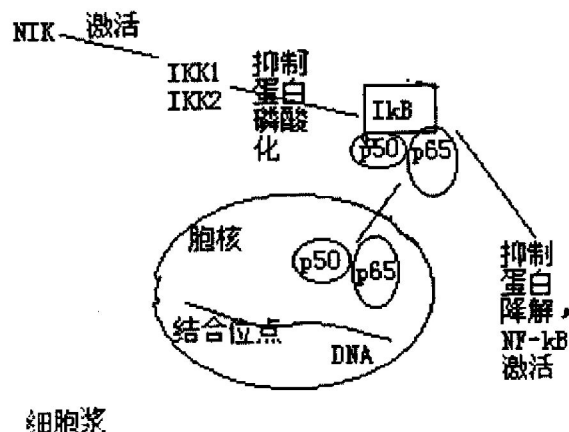
1.1 核因子- κ B 的构成

核因子- κ B 最早是从 B 细胞核抽提物中发现的一种能与免疫球蛋白 κ 轻链基因的增强子 κ B 序列(GGGACTTCC)特异性结合的核蛋白因子, 因而称 NF- κ B^[11]。后来越来越多的证据表明, 这一因子可启动较多基因转录。人们已经发现许多组织细胞及病毒的增强子和启动子存在 NF- κ B 的作用位点(κ B motif)^[12]。哺乳动物细胞中有五种 NF- κ B/Rel 家族成员^[13]: RelA(p65)、RelB、C- Rel、NF- κ B1(p50)及 NF- κ B2(p52)。其中 p50 和 p52 分别由其蛋白前体 p105 和 p100 裂解而来, 它们的氨基酸残基与原癌基因 Rel 表达的蛋白同源, 称 Rel 同源区(relhomology domain, RHD), RHD 内含 DNA 结合区和二聚化区域及核定位信号^[14]。RelA(p65)、RelB 和 C- Rel 没有前体, 除有 RHD 外, 尚有一个或多个转录活

性区^[13]。从广义上讲, 凡能与 DNA 上 κ B motif 相互作用的所有 Rel 蛋白的组合均可称之为 NF- κ B, 组成所谓的 NF- κ B/Rel 家族转录因子, 不同的组合激活不同的目的基因。细胞中发挥主要生理作用的是 p50- p65 异源二聚体, 因此通常习惯上将 p50- p65 异源二聚体称为 NF- κ B。研究发现, 活性形式的 NF- κ B 只存在于核抽提物中, 胞质中的 NF- κ B 与一种抑制蛋白(inhibitory κ B, I κ B)结合, 以无活性状态稳定地存在于细胞质中。这种形式的 NF- κ B 为 p50- p65- I κ B α (37 kDa)或 p50- p65- I κ B β (43 kDa)^[15]异源二聚体。

1.2 核因子- κ B 的激活

静息细胞中 NF- κ B 的 p65 亚基与 I κ B 蛋白结合, 覆盖 p50 蛋白的核定位信号, 使 NF- κ B 与 I κ B 形成三聚体以非活性形式存在于细胞浆。许多免疫刺激因子如细胞因子、生长因子、丝裂源、脂多糖和某些病毒蛋白等作用于细胞后, 通过一个或多个信号转导途径激活蛋白激酶, 致胞浆 NF- κ B 三聚体复合物中的 I κ B 磷酸化而解离, p50 亚单位上的核定位信号得以暴露, NF- κ B 活化, 迅速发生核易位, 与特异性 κ B 序列结合而启动靶基因转录(见图 1)。活化的 NF- κ B 同样可以启动编码 I κ B 的基因转录, 新合成的 I κ B 能使与 DNA 结合的 p50- p65 失活, 将 NF- κ B 运回胞质重新利用^[14]。

图 1. 核因子- κ B 激活示意图

[作者简介] 徐红新, 女, 1976 年出生, 河北景县人, 心血管内科硕士研究生, 从事冠心病方面研究。

1.3 核因子- κ B 的靶基因

在增强子中含有 NF- κ B 结合位点的基因均可视为 NF- κ B 调控的靶基因。迄今为止,业已证实的 NF- κ B 靶基因包括:促炎症细胞因子如肿瘤坏死因子 α 、白细胞介素-1 等;细胞粘附分子如 VCAM-1、ICAM-1 等;趋化因子如 MCP-1、IL-8 等;生长因子如 PDGF、M-CSF、GM-CSF 等;以及组织因子 (TF)、一氧化氮合酶 (NOS)、血管紧张素原等^[2-10,12,15]。这些因子对细胞的活化、增殖、浸润、趋化和分泌功能起着直接的调控作用。

正是由于 NF- κ B 参与调控众多炎症因子的基因表达,而某些因素作用又可激活 NF- κ B,且这种激活、诱导基因表达多较迅速(因 NF- κ B 原已存在于细胞中,只经“简单”的解离反应就可触发激活,不需新合成),从而使 NF- κ B 在细胞因子网络调节中发挥重要作用。研究 NF- κ B 与各因子的关系对于阐明疾病的分子机制及其防治具有十分重要的意义。

2 炎症是核因子- κ B 与动脉粥样硬化联系的“桥梁”

传统的心血管危险因素、生活方式的改变和预防性干预仅能解释约 50% 冠心病的发生和发展,不能完全解释其时间和地区的差异^[16,17]。最近 Ross^[17] 认为,动脉粥样硬化斑块表现为一系列高特异性的细胞、分子反应,从总体上来讲,它可以被描述为一种炎症性疾病,在其形成与发展过程中有大量炎症因子的参与。众所周知,单核细胞迁入内皮下间隙是 As 中最早期的事件。它受多种因素影响,其中最重要的是平滑肌细胞分泌的单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 对单核细胞有很强的趋化性。此外,内皮细胞受损后粘附分子细胞间粘附分子-1 (ICAM-1)、血管细胞粘附分子-1 (VCAM-1) 及血小板内皮细胞粘附分子-1 (PECAM-1) 表达增加,亦使其粘附白细胞(以单核细胞为主)的能力增强,单核细胞继之进入内皮下,吞噬脂质形成泡沫细胞。ICAM-1 还介导淋巴细胞聚集在损害部位,共同促进 As 慢性炎症过程。激活的白细胞粘附到血管内皮细胞能通过一系列机制促进内皮细胞损伤,使 ICAM-1 等粘附分子表达进一步增加,进而又吸引大量白细胞,形成自我增殖的恶性循环。粘附分子介导的白细胞粘附增加还促进斑块的不稳定性,削弱斑块处的纤维帽,最终导致斑块破裂、血栓形成,临床上表现为不稳定型心绞痛(UA)和心肌梗死(MI)的发生。此外,As 晚期内皮细胞、巨噬细胞及平滑肌细胞均可分泌生长因子如血小板源性生长因子(PDGF)、成纤维生长因子(FGF)、表皮生长因子(EGF)等,在其作用下,内膜平滑肌细胞增殖,中膜平滑肌细胞由收缩型转变为合成型,同时穿过内弹力板窗孔迁移入内皮下间隙并增殖,摄取脂质而成为泡沫细胞。

业已证实,作为一个重要的转录因子,NF- κ B 对多种促炎症细胞因子、粘附分子、趋化因子和生长因子等的表达起着关键性的调控作用。由此可见,As 各期的共同特征是血管壁的炎症,而 NF- κ B 参与炎症过程中的多种信号转导途径。且 As 晚期参与平滑肌细胞增殖的生长因子亦可由 NF- κ B 调控,故 NF- κ B 的激活可能是 As 发生与发展的始动

机理之一^[2,3]。

3 核因子- κ B 与动脉粥样硬化关系的研究

3.1 动脉粥样硬化中核因子- κ B 的激活现象

应用免疫荧光和免疫组织化学技术,Brand 等^[2] 在 As 斑块纤维化增厚的内膜/中膜及动脉粥样硬化区均检测到了激活的 NF- κ B,且有相应靶基因表达的合并定位,提示 NF- κ B 在 As 斑块中的功能(见图 2)。而未发生 As 的血管则很少或无 NF- κ B 的激活。Brand 利用新型的鼠抗体 α -p65 mAb(能识别 p65 亚单位 DNA 结合区上的 I κ B 结合区,因此可选择性与激活的 NF- κ B 的 p65 反应),首次证实了人 As 组织中有 NF- κ B 激活,且认为以慢性炎症和增殖过程为特征的 As 可能是 NF- κ B/Rel 介导的慢性炎症疾病的一个范例。此外,亦有学者^[13] 证明 NF- κ B 在不稳定心绞痛患者选择性地显著激活,且不受冠状动脉疾病严重程度或用药的影响。而且,由于 NF- κ B 发生在临床事件之前,因此有可能参与斑块破裂(致急性冠脉综合征)的发病机制。

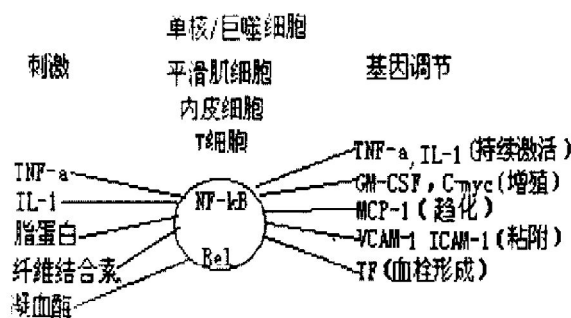


图 2. 核因子- κ B 在动脉粥样硬化中的作用模式图

3.2 药物干预研究

组织因子是凝血的主要启动因子,在炎症和动脉粥样硬化过程中表达增加,溶血性卵磷脂可阻止 NF- κ B 向组织因子特异性 κ B 位点的核定位,从而显著减少脂多糖介导的人单核细胞表达组织因子,减弱了 As 过程中的凝血激活^[4]。已证明羟甲基戊二酰辅酶 A (HMG-CoA) 还原酶抑制剂可降低不稳定 As 斑块破裂所致的患者病死率,且已知由趋化因子吸引至血管斑块处的炎症细胞参与了斑块的破裂过程。因此有学者^[15] 研究了 HMG-CoA 还原酶抑制剂 Atorvastatin (Atv) 对培养血管平滑肌细胞和 U937 单个核细胞 NF- κ B(诱导趋化因子 MCP-1、IP-10 mRNA 表达)活动的影响,发现:血管紧张素 II (Ang II) 和 TNF- α 分别增加血管平滑肌细胞中 NF- κ B 活性 2 倍和 5 倍,而给予 10-7 mmol/L Atv 预处理后可分别减少 NF- κ B 激活 44% 和 53%。与之一致的是,Ang II 和 TNF- α 使胞浆 I κ B 水平降低,而在 Atv 预处理后得以恢复。此外,Ang II 和 TNF- α 可增加血管平滑肌细胞中 IP-10 (1.5 和 3.4 倍) 及 MCP-1 (2.4 和 4 倍) 的表达,Atv 则抑制这一过度表达约 38% 和 35% (IP-10) 及 54% 和 39% (MCP-1)。以上结果极有力地证明了 Atv 可通过抑制 NF- κ B 活化和趋化因子表达而减轻 As 斑块的炎症,有利于斑块稳定。

Kothe 等^[6]亦揭示, HMG- CoA 还原酶抑制剂 Statins 可通过抑制 NF- κ B 而减少感染肺炎衣原体的人巨噬细胞和内皮细胞中趋化因子 MCP- 1 及细胞因子 IL- 8 的产生。

3.3 刺激因子干预研究

有学者用血管紧张素(Ang)刺激人血管平滑肌细胞发现: Ang ②可呈浓度依赖性(1 nmol/L 至 1 μ mol/L)激活 Ang ② iv型受体(由 iv型受体拮抗剂 losartan 的阻滞作用证实), 刺激平滑肌细胞产生 IL- 6。Ang iv亦使 IL- 6 产生增加, 但可被血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)类药物 captopril 和 ramiprilat 抑制, 表明平滑肌细胞中存在血管紧张素转换酶(ACE)使 Ang iv转变为 Ang ②。Ang ②刺激细胞使 IL- 6 稳态 mRNA 增加, 表明 Ang 诱发 IL- 6 释放的调节发生在转录前水平。而且, 核因子- κ B 为许多细胞因子转录所必需, 同样可被 Ang ②激活。因此得出结论, Ang ②通过激活 NF- κ B 促进了细胞因子产生, 引起人血管平滑肌细胞炎症激活, 故肾素- 血管紧张素系统失调导致的血管壁炎症激活可能有助于 As 的形成^[7]。此外, 研究表明 Ang ②虽可引起人单核细胞中 NF- κ B 的激活, 但不能引起淋巴细胞 NF- κ B 激活^[8]。实验性高胆固醇(HC)以一氧化氮(NO)生物利用度降低和细胞增殖为特征。Wilson 等^[9]检测了 HC 猪的冠状血管中是否存在与 NO 生物利用度降低一致的 NF- κ B 激活。14 例 HC 猪中 12 例存在 NF- κ B 激活(内膜染色阳性), 而对照组为 0/6($P < 0.001$)。Western immunoblot 亦提示: 与对照组相比, HC 组血管壁 NF- κ B 激活增加, 且与内皮一氧化氮合酶(eNOS) 蛋白降低有关, 支持 NF- κ B 激活是在冠状动脉粥样硬化的早期发挥作用。

还有学者研究了高糖状态(25 mmol/L) (以刺激糖尿病状态的猪血管平滑肌细胞(PVSMCs)是否可引起 NF- κ B 激活, 及细胞因子或生长因子引起的 NF- κ B 激活是否因高糖培养而有所改变^[10]。学者们惊喜发现: 与正常血糖(5. 5 mmol/L) 培养的细胞相比, 高糖培养的 PVSMCs 中 NF- κ B 激活显著增加。且细胞因子如 TNF- α 、IL- 1 β 或生长因子如 PDGF、IGF- 1、EGF 等处理高糖和正常血糖培养细胞, 均有 NF- κ B 的激活, 高糖培养细胞中 NF- κ B 的激活明显高于正常血糖培养细胞。抗 p65 抗体免疫印染结果示高糖培养的细胞核抽提物中 NF- κ B 蛋白水平亦较正常血糖培养者为高。还发现高糖环境中 TNF- α 引起的 NF- κ B 激活增加与 TNF- α 引起的 VCAM- 1 转录激活增加相一致。

由以上可见, 引起冠心病的三大独立危险因素导致 As 发生与发展时, 均有 NF- κ B 的激活增加及相关基因的表达增加, 且 Ross 归纳的“损伤应答”学说亦可由 NF- κ B 的激活解释。因此, 核因子- κ B 的激活有可能是 As 发生与发展的重要分子机制之一。

参考文献

[1] Ross R. The Pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the

1990s [J]. *Nature*, 1993, **362**: 801- 808

- [2] Brand K, Page S, Rogler G, et al. Activated transcription factor nuclear factor- κ B is present in the atherosclerotic lesion [J]. *J Clin Invest*, 1996, **97**(7): 1 715- 722
- [3] Ritchie ME. Nuclear factor- κ B selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris [J]. *Circulation*, 1998, **98**: 1 707- 713
- [4] Engelmann B, Zieseniss S, Brand K, et al. Tissue factor expression of human monocytes is suppressed by lysophosphatidylcholine [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19**: 47- 53
- [5] Ortego M, Bustos C, Hernandez- Presa MA, et al. Atorvastatin reduces NF- κ B activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells [J]. *Atherosclerosis*, 1999, **147**: 253- 261
- [6] Kothe H, Dalhoff K, Rupp J, et al. Hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors modify the inflammatory response of human macrophages and endothelial cells infected with chlamydia pneumoniae [J]. *Circulation*, 2000, **101**: 1 760- 763
- [7] Kranzhofer R, Schmidt J, Pfeiffer CA, et al. Angiotensin induces inflammatory activation of human vascular smooth muscle cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19**: 1 623- 629
- [8] Kranzhofer R, Browatzki M, Schmidt J, et al. Angiotensin ② activates the proinflammatory transcription factor nuclear factor- κ B in human monocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **257**: 826- 828
- [9] Wilson SH, Caplice NM, Simari RD, et al. Activated nuclear factor- κ B is present in the coronary vasculature in experimental hypercholesterolemia [J]. *Atherosclerosis*, 2000, **148**: 23- 30
- [10] Yerneni KK, Bai W, Khan BV, et al. Hyperglycemia - Induced activation of nuclear transcription factor- κ B in vascular smooth muscle cells [J]. *Diabetes*, 1999, **48**: 855- 864
- [11] Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences [J]. *Cell*, 1986, **46**: 705- 716
- [12] Shakhov AN, Collart MA, Vassalli P, et al. κ B- Type enhancers are involved in lipopolysaccharide- mediated transcriptional activation of the tumor necrosis factor α gene in primary macrophages [J]. *J Exp Med*. 1990. **171**: 35- 47
- [13] Thanos D, Maniatis T. NF- κ B: a lesson in family values [J]. *Cell*, 1995, **80**: 529- 532
- [14] Baltimore D, Beg AA. A butterfly flutters [J]. *Nature*, 1995, **373**: 287- 288
- [15] Baenerle PA, Baltimore D. I κ B: a specific inhibitor of the NF- κ B transcription factor [J]. *Science*, 1988, **242**: 540- 546
- [16] Buja LM. Does atherosclerosis have a infectious etiology [J]? *Circulation*, 1996, **94**: 872- 873
- [17] Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease [J]. *N Engl J Med*, **340**(2): 115- 126

(此文 2000- 08- 31 收到, 2001- 03- 31 修回)

(此文编辑 朱雯霞)