

Cyclophilin A 通过调控炎症/免疫反应介导动脉粥样硬化

廖端芳¹, 廖勤慧¹, 郭琰¹, Berk BC²

(1 南华大学生命科学研究中心药物药理研究所, 湖南省衡阳市 421001;

2 Cardiovascular Research Institute University of Rochester NY)

[关键词] Cyclophilin A; 炎症反应; CD4⁺ T细胞; 动脉粥样硬化

亲环素 A (Cyclophilin A, CyPA) 是一种胞质蛋白, 属于亲免疫素家族。亲环素 A 是既可由氧化应激诱导释放, 又可触发细胞免疫反应的前炎症因子。由于动脉粥样硬化是一种全身性、慢性进展性的血管炎症病变, 亲环素 A 刺激的炎症/免疫反应参与了动脉粥样硬化性疾病的病理生理过程。

1 亲环素 A 与血管细胞粘附

血管细胞粘附分子存在于血管内皮细胞膜上, 由致炎因子刺激增加, 在体内参与许多生理和病理过程。作者从氧化应激处理的血管平滑肌条件培养液中分离纯化出氧化应激诱导因子复合物的主要组成亲环素 A。为进一步研究亲环素 A 对血管细胞粘附的影响, 作者采用缺氧/复氧诱导的人脐静脉内皮细胞 (ECV304) 与中性粒细胞粘附为模型, 结果发现经缺氧-复氧处理后, ECV304 细胞 E 选择素、细胞间粘附分子 1 的表达上调, 其表面中性粒细胞粘附增加, 并且 CyPA 蛋白表达明显上调, 细胞外信号调节激酶 (ERK) 和 p70 核糖体 S6 激酶显著活化。亲环素 A 抑制剂环孢霉素 A 以及亲环素 A 反义寡核苷酸均明显减轻缺氧-复氧诱导的 p70 核糖体 S6 激酶和 ERK 的活化, 还显著减少 ECV304 细胞与中性粒细胞的粘附。p70 核糖体 S6 激酶阻断剂雷帕霉素和 ERK 特异性阻断剂 PD98059 分别都显著抑制 ECV304 细胞与中性粒细胞粘附, 阻断亲环素 A 活化的作用。说明 CyPA-ERK-p70 核糖体 S6 激酶信号通路介导缺氧-复氧诱导的 ECV304 细胞与中性粒细胞粘附; 环孢霉素 A 通过抑制 ROS-CyPA-ERK1/2 的信号转导途径拮抗缺氧/复氧诱导的细胞粘附作用。

2 亲环素 A 与免疫细胞的炎症反应

文献报道亲环素 A 作为一种氧化应激因子, 由血管平

滑肌细胞以囊状形式分泌出来后能促进炎症反应、平滑肌增殖和内皮细胞的编程性细胞死亡。在亲环素 A 基因敲除型 (CyPA^{-/-}) 小鼠体内, 炎症细胞迁移到内膜明显减少, 在亲环素 A 过表达的老鼠体内却增加; 同时通过 K β 7(+) 细胞评估 VSMC 增殖时发现: CyPA^{-/-} 小鼠体内血管增殖明显很少, 而在亲环素 A 过表达小鼠体内相反。说明亲环素 A 的表达量与血管中膜、内膜厚度以及炎症反应程度密切相关。作者采用 MACS 分离技术从野生型 (Wt)、CyPA^{-/-}、APOE 基因敲除型 (Apo E^{-/-}) 以及 CyPA/APOE 基因双敲除型 (DKO) 小鼠脾脏分别提取 CD4⁺ T 细胞, 然后用 6 kg/L CD3 抗体和 2 kg/L CD28 抗体孵育 48 h, 酶联免疫吸附法检测细胞上清液中白细胞介素 4 和 10 因子 (IL-4, IL-10), γ 干扰素 (IFN- γ) 和单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 的分泌量。蛋白杂交和免疫共沉淀法分别检测 IFN- γ 释放所必须的 Th1 特异性转录因子 T-bet 的表达以及调控白介素释放的 Tec 家族酪氨酸激酶 ITK 的磷酸化。结果显示在 CD3 和 CD28 抗体共同孵育下, 来源于野生型小鼠脾脏的 CD4⁺ T 细胞分泌 IL-4, IL-10 和 IFN- γ 都增加, 但对 MCP-1 释放没有影响; 来源于亲环素 A 基因敲除小鼠的 T 细胞 IL-4 和 IL-10 的释放会进一步增多, 但 IFN- γ 的释放却比野生型减少。有趣的是, 当作者将来自 Apo E^{-/-} 或双基因敲除小鼠的 CD4⁺ T 细胞进行比较时发现了类似的现象; MCP-1 的分泌和 ITK 蛋白的表达在各组细胞中均没有差异性变化; 但 IL-2 诱导的 ITK 磷酸化水平在 CyPA^{-/-} 细胞组却显著增加。并且 T-bet 的表达在 CyPA^{-/-} 和双基因敲除组细胞明显低于野生型和 Apo E^{-/-} 组。这些数据充分说明亲环素 A 既可以通过促进小鼠脾脏 CD4⁺ T 细胞 T-bet 的表达而增加 IFN- γ 的分泌, 也可以通过抑制 ITK 磷酸化和下游 IL-4 和 IL-10 的释放来加剧炎症反应, 从而促进动脉硬化性病变。

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (30770868), 国家 973 项目 (2006CB503808)

[作者简介] 廖端芳, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事动脉硬化病理生理机制与药物蛋白质组学研究, Email 为 dfliao66@yahoo.com.cn