

趋化因子CX3CL1及其受体在肝脏炎症和纤维化中的作用

程琦, 施光峰 (复旦大学附属华山医院 感染科, 上海 200040)

趋化因子(chemokine)是使细胞发生趋化运动的小分子细胞因子, 其对不同靶细胞具有一定趋化效应。近年来研究表明趋化因子在急、慢性肝病起重要作用, 其通过浓度梯度趋化免疫细胞(如T细胞、NK细胞)渗入受损的肝脏。不仅如此, 随着炎症及纤维化反应, 趋化因子还可直接影响肝内细胞, 如肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)、肝细胞。虽然趋化因子种类繁多, 但动物模型显示体内仅有若千几种趋化因子及受体影响肝脏损伤过程。本文针对趋化因子CX3CL1及其受体CX3CR1在肝纤维化中作用的最新进展作一综述。

1 趋化因子概述

趋化因子是一类对不同靶细胞具有趋化效应的细胞因子家族。趋化因子的分子量多在7~13kD, 其结构和功能相似, 且对中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞等多种细胞均有趋化作用。迄今为止, 已发现50种不同趋化因子配体及19种受体, 这也表明多种趋化因子结合相同的受体^[1]。

根据前两个半胱氨酸的相对位置不同, 可以分为4大类: CXC趋化因子, 前两个半胱氨酸之间有一个非保守氨基酸相隔; CC趋化因子, 前两个半胱氨酸相邻; C趋化因子, 只有第二个和第四个半胱氨酸; CX3C趋化因子, 前两个半胱氨酸被其他3个非保守氨基酸隔开。其中CC和CXC趋化因子最多, 而CX3C家族只有1个配体, 即CX3CL1; C

家族目前发现有两个配体(XCL1和XCL2)^[2]。

趋化因子配体与G蛋白偶联受体超家族受体相结合。不同G蛋白结构上的差别主要表现在亚单位上, 且不同亚单位均有GTP结合位点。亚单位的多样性实现了G蛋白对多种功能的调节。当外部环境不存在趋化因子等激动剂时, G蛋白的3个亚单位呈聚合状态, 与GDP结合。而当趋化因子存在时, 其与受体结合, GTP取代GDP, 与亚单位结合形成游离的二聚体, 分别活化下游效应物。这些受体分为4个家族(CCR、CXCR、CX3CR以及XCR), 虽然多种配体可以结合同一受体, 但每个配体只结合其特定家族受体(如CC趋化因子只结合CCR)。趋化因子受体具有7个跨膜区。此外, 最近发现其第2个胞内环有3个氨基酸序列(DRY), 第2跨膜区的TXP序列尤为重要^[3]。这些序列突变会导致信号通路受损, 尽管胞内区域仍可以与趋化因子结合。

近年来, 趋化因子及其受体的研究渐渐受到重视。研究表明趋化因子及受体在机体炎症、肿瘤、自身免疫性疾病等均发挥重要的病理和生理作用。趋化因子的生物制剂包括重组趋化因子和拮抗剂抗体等已经着手研发, 这些制剂将来可提供一种新的治疗手段。

2 趋化因子CX3CL1及其受体CX3CR1

趋化因子CX3CL1[chemokine (C-X3-C motif) ligand 1, 也称作fractalkine, FKN]是1997年才发现的CX3C-类趋化因子中惟一的成员。CX3CL1有CX3C基序、跨膜区、黏液样结构域, 在非血液组织中大量表达, 在鼠脑中广泛分布,

但主要局限于神经元。在大鼠的心、脑、肺、肾、骨骼肌及睾丸组织中均存在CX3CL1 mRNA。鼠CX3CL1基因定位于8号染色体中心区,人趋化因子CX3CL1基因定位于16q13^[4]。

与其他趋化因子不同, CX3CL1有膜结合型和可溶型两种形式。成熟的膜结合型CX3CL1分为4个区域, 由373个氨基酸残基组成。膜结合型CX3CL1近膜侧有1对碱基的水解位点(Thr-Arg-Gln), 即第314~317位氨基酸残基, 可被蛋白酶水解为可溶型CX3CL1(相对分子质量为95 000的糖蛋白), 该种存在方式的CX3CL1结构上只含有趋化蛋白功能区和一部分黏蛋白样区。

CX3C趋化因子受体1(CX3CR1)是CX3CL1高亲和力的特殊受体, 属于趋化因子受体超家族, 具有7次跨膜G-蛋白偶联结构域。其基因定位于3p21-3pter, 临近CCR基因簇。CX3CR1主要表达于人外周血具有细胞毒效应的淋巴细胞表面, 包括NK细胞、 $\gamma\delta$ T细胞、终末分化的CD8⁺细胞, 以及小部分CD4⁺细胞^[5]。小鼠CX3CR1主要表达在单核细胞、NK细胞和树突状细胞表面, 而在T细胞表面不表达。大多数表达CX3CR1的细胞包含穿孔素和颗粒酶B等细胞颗粒。

趋化因子CX3CL1多表达在活化的内皮细胞表面, 既有趋化作用又有黏附功能, 参与白细胞向炎性组织的游走^[6]。可溶型CX3CL1分子对单核细胞、NK细胞和T细胞具有强效趋化作用, 而膜结合型CX3CL1介导了其CX3CR1表达阳性细胞的黏附过程。CX3CL1的这种结构使其具有特殊功能: 介导白细胞的迁移和紧密黏附; CXCL1可以诱导淋巴细胞从血管内向病理部位迁移, 通过CX3CL1-CX3CR1配体受体结合在病理过程如炎症、感染以及自身免疫过程中发挥重要作用。

3 CX3CL1/CX3CR1的细胞毒性

在T、B细胞上, CX3CR1只是零星表达, 在经过抗原刺激后表达量和表达比例会有少量上升, 但其在NK细胞CX3CR1的表达率达到95%以上, 显示出NK细胞功能与CX3CL1表达的独特关系^[7]。

NK细胞具有细胞杀伤能力, 在不经预先刺激的情况下可以杀伤病毒感染或者转化的肿瘤细胞, 是天然免疫系统的重要组成部分。NK细胞表面表达多种趋化因子受体, 调节NK细胞的迁移和聚集, 使NK细胞对于不同的免疫状态做出正确的反应^[8]。由于NK细胞表面受体的高表达, CX3CL1的表达和分泌控制着NK细胞的迁移和活化。CX3CL1功能很大程度上体现了NK细胞的功能。可溶型CX3CL1能诱导NK细胞跨膜转移和释放颗粒, 从而提高其细胞溶解作用。NK细胞在接受CX3CL1信号之后不仅会迁移, 并且其杀伤功能还得到了加强。杀伤功能在于NK细胞与靶细胞的结合, NK细胞的活化及其杀伤分子的释放。在CX3CL1刺激之后NK细胞释放更多的杀伤颗粒, 这可以部分解释杀伤力的提高。另外作为一个准黏附分子, 表达在靶细胞表面的CX3CL1可以将NK细胞和靶细胞牢固的结合在一起, 达到加强NK细胞杀伤力的效果^[9]。

过量细胞毒性淋巴细胞的活化会导致血管和组织损伤, 将ECV304细胞或人脐静脉内皮细胞(ICAM-1)转染CX3CL1 cDNA, 使细胞间黏附分子1(ICAM-1)或(VCAM-1)仍表达且在其细胞表面表达CX3CR1。结果发现转染CX3CR1的细胞与NK细胞相互作用明显增强, 并增加了NK细胞介导的细胞杀伤作用的敏感性^[9], 这表明炎症部位通过表达CX3CL1并与其受体CX3CR1结合, 使NK细胞得到趋化和激活, 当NK细胞活化后能溶解临近的内皮细胞, 而且未受MHC I类分子限制^[6]。

4 CX3CL1/CX3CR1在肝脏炎症的作用

临床研究表明, CX3CL1在急、慢性肝损伤特别是急性乙型肝炎患者的表达量上调, 同时研究发现CX3CL1仅在肝脏组织炎性坏死区域较为集中表达, 由于CX3CL1的趋化作用单核细胞浸润在CX3CL1阳性表达组织周围^[10]。在急性肝功能衰竭模型中, 由于肝脏损伤导致CX3CL1的表达增加, 至第3天表达量达最高, 随后CX3CL1水平渐恢复。CX3CL1的表达与肝功能(AST、ALT)呈正

相关,即随转氨酶的变化呈升至高峰再下降的趋势。CX3CL1的表达量在一定程度反映了肝损伤的严重程度。基于CX3CL1的趋化功能,认为其与各种表达CX3CR1的免疫细胞表面受体相结合,趋化免疫细胞向肝脏炎症部位聚集,通过细胞毒性作用造成肝脏损伤^[11]。

在慢性丙型肝炎患者,亦发现肝脏炎症部位CX3CL1及其受体的表达量明显增加,并且通过免疫组织化学染色发现其表达部位主要出现于扩大的肝门束与再生小节之间。表面CX3CL1及其受体CX3CR1肝损伤愈合的多个环节都有涉及。研究发现无论在肝脏炎症损伤的急性或慢性期,CX3CL1和CX3CR1均可以在炎症部位表达,并且产生趋化以及黏附淋巴细胞作用。

5 CX3CL1/CX3CR1在肝纤维化中的作用

CX3CL1和其特异性受体CX3CR1在不同肝纤维化过程中存在关联。肝脏发生纤维化时患者血中CX3CL1表达增强,特别是肝硬化患者。体外实验表明HSC通过刺激ADAM10和ADAM17等而产生CX3CL1。这些结果增加了局部和全身CX3CL1的浓度。激活的HSC影响CX3CL1的血清水平。奇怪的是,尽管全身高水平的CX3CL1,肝硬化患者肝内表达CX3CR1仍很低,这表明疾病进展后期体内HSC使得CX3CR1下调。人单核细胞与HSC共培养后可以下调其表面CX3CR1的表达^[12]。此外,患者严重的肝纤维化与肝内CX3CL1表达下调有关。这与相反的CX3CR1下调。尽管CX3CL1和CX3CR1在慢性丙型肝炎患者及PBC患者中均发现表达上调,但是CX3CR1在肝脏的确切作用仍不明确。

人肝癌细胞株HepG2在基因和蛋白水平均表达CX3CL1,并且其对高表达CX3CR1的细胞(主要是单核细胞和T细胞以及HSC)有趋化作用^[13]。由此可能直接造成HSC向损伤肝细胞迁移。

动物模型研究发现,CX3CR1敲除小鼠进展至更严重的肝纤维化。缺乏CX3CR1的Kupffer细胞失去抗感染作用(包括IL-10和精氨酸酶-1的表达),增加了促炎性细胞因子和趋化因子的表

达,并且促进肝纤维化的因子表达,如可强烈激活HSC导致肝纤维化的TGF- β 。而重组CX3CL1的可溶蛋白能够增加IL-10和精氨酸酶-1的表达,进而产生抑制肝纤维化的作用^[14]。这说明CX3CR1至少可部分起到保护肝作用。单核细胞在CX3CR1敲除小鼠肝脏聚集增加肝损伤,CX3CR1主要是由渗入的免疫细胞表达,而不是肝实质细胞或非实质细胞,其表达可以减轻肝脏炎症和纤维化。肝损伤中CX3CR1作用机制是促进单核细胞浸润以及介导单核细胞向巨噬细胞分化。虽然CX3CL1最初认为只可趋化单核细胞,也有证据表明CX3CR1与维系细胞生存有关。CX3CL1/CX3CR1通路可通过激活肝巨噬细胞的抗凋亡和抗感染信号,表现出抗感染和抗纤维化的保护作用。

在原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者同样发现特异性CX3CL1/CX3CR1作用。与病毒性肝炎及健康对照组相比,PBC患者CX3CL1血清水平显著升高^[15]。在后续研究中,发现PBC患者的CX3CL1特异性在胆管上皮细胞表达,并且其可以增加趋化分泌TNF- α 在白细胞及上皮细胞的表达^[16]。虽然尚缺乏相关体内研究,但这些发现依然可能为PBC提供新的治疗方法。

6 问题与展望

CX3CL1是一种特殊的趋化因子,兼有趋化因子和细胞间黏附分子的作用,其特殊的结构和功能引起了研究者浓厚的兴趣。以往对其在肝脏疾病中作用的研究表明,CX3CL1不仅参与肝脏的炎性损伤反应过程,其在肝脏再生中的作用同样不可忽视^[11]。近来一些研究表明NK细胞可产生具有抗纤维化作用的IFN- γ 以及直接杀死活化HSCs,从而发挥明显的抗肝纤维化作用^[17-19]。而NK细胞表面大量的趋化因子受体CX3CR1是否可以通过调节NK细胞活性从而对肝纤维化起作用有待进一步研究。分析CX3CL1及其受体CX3CR1的动态变化、调控机制、临床意义及与其他趋化因子、细胞因子相互作用,明确其在一系列生理病理过程中所扮演的角色,发展CX3CL1基因敲除、转基因或单克隆抗体等技术,发挥其优势并将其应用于临

床,将是今后研究的焦点。

参考文献

- [1] Raman D, Sobolik-Delmaire T, Richmond A. Chemokines in health and disease[J]. *Exp Cell Res*,2011,317:575-589.
- [2] Bonecchi R, Galliera E, Borroni EM, et al. Chemokines and chemokine receptors: an overview[J]. *Front Biosci*,2009,14:540-551.
- [3] White GE, Greaves DR. Fractalkine: A Survivor's Guide: Chemokines as Antiapoptotic Mediators[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,2012,32:589-594.
- [4] Graham GJ. D6 and the atypical chemokine receptor family: novel regulators of immune and inflammatory processes[J]. *Eur J Immunol*,2009,39:342-351.
- [5] Fraticelli P, Sironi M, Bianchi G, et al. Fractalkine (CX3CL1) as an amplification circuit of polarized Th1 responses[J]. *J Clin Invest*,2001,107:1173-1181.
- [6] Umehara H, Bollm ET, Okazaki T, et al. Fractalkine and vascular injury[J]. *Trends Immunol*,2001,22:602-607.
- [7] Maghazachi AA. Role of chemokines in the biology of natural killer cells[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*,2010,341:37-58.
- [8] Robertson MJ. Role of chemokines in the biology of natural killer cells[J]. *J Leukoe Biol*,2002,71:173-183.
- [9] Gorini S, Callegari G, Romagnoli G, et al. ATP secreted by endothelial cells blocks CX3CL 1-elicited natural killer cell chemotaxis and cytotoxicity via P2Y11 receptor activation[J]. *Blood*,2010,116:4492-4500.
- [10] Efsen E, Gralppone C, Defranco RM, et al. Up-regulated expression of fractalkine and its receptor CX3CR1 during liver injury in human[J]. *J Hepatol*,2002,37:39-47.
- [11] Wasmuth HE, Tacke F, Trautwein C. Chemokines in liver inflammation and fibrosis [J]. *Seminars in Liver Disease*,2010,30:215-225.
- [12] Karlin KR, Zimmermann HW, Roderburg C, et al. The fractalkine receptor CX3CR1 protects against liver fibrosis by controlling differentiation and survival of infiltrating hepatic monocytes[J]. *Hepatology*,2010,52:1769-1782.
- [13] Wasmuth HE, Zaldivar MM, Berres ML, et al. The fractalkine receptor CX3CR1 is involved in liver fibrosis due to chronic hepatitis C infection[J]. *J Hepatol*,2008,48:208-215.
- [14] Tomonori A, Sayaka I, David A, et al. CX3CL1-CX3CR1 interaction prevents carbon tetrachloride-induced liver inflammation and fibrosis in mice[J]. *Hepatology*,2010,52:1390-1400.
- [15] Isse K, Harada K, Zen Y, et al. Fractalkine and CX3CR1 are involved in the recruitment of intraepithelial lymphocytes of intrahepatic bile ducts[J]. *Hepatology*,2005,41:506-516.
- [16] Shimoda S, Harada K, Niuro H, et al. CX3CL1 (fractalkine): a signpost for biliary inflammation in primary biliary cirrhosis[J]. *Hepatology*,2010,51:567-575.
- [17] Melhem A, Muhanna N, Bishara A, et al. Anti-fibrotic activity of NK cells in experimental liver injury through killing of activated HSC[J]. *J Hepatol*,2006,45:60-71.
- [18] Jeong WI, Park O, Gao B. Abrogation of the antifibrotic effects of natural killer cells/interferon- γ contributes to alcohol acceleration of liver fibrosis[J]. *Gastroenterology*,2008,134:248-258.
- [19] Morishima C, Paschal DM, Wang CC, et al. Decreased NK cell frequency in chronic hepatitis C does not affect ex vivo cytolytic killing[J]. *Hepatology*,2006,43:573-580.

收稿日期: 2011-12-07

• 消息 •

与本刊编辑部互动方式

尊敬的作者、尊敬的读者,有关投稿、稿件查询、杂志订阅、地坛国际感染病学术会议消息、肝脏病和感染病诊疗指南等有关咨询或学术疑难问题,您可以登陆本刊网站<http://www.j-ditan.com>、发送邮件至Email: editor.ditan@gmail.com;或拨打电话010-84322058/84322059与编辑部联系。

本刊编辑部