

• 综述 •

# 巨噬细胞移动抑制因子及其负向调节糖皮质激素抗炎作用机制的研究进展

孙瑜(综述) 夏照帆(审校)

【关键词】 巨噬细胞移动抑制因子; 糖皮质激素; 抗炎作用

巨噬细胞移动抑制因子(MIF)是一种主要由巨噬细胞、激活的 T 淋巴细胞及垂体前叶促肾上腺皮质激素细胞合成的细胞因子。细菌、毒素及某些细胞因子刺激可诱导 MIF 释放,从而限制巨噬细胞的迁移,与肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1(IL-1)等组成机体天然免疫的第一道防线。糖皮质激素(GC)在全身免疫炎症反应中具有广泛的作用。外源性 GC 可抑制整个免疫炎症系统,包括促炎因子的表达、T 淋巴细胞的激活、黏附分子的表达、细胞迁移与效应分子的生成等;内源性 GC 以一种双相、浓度依赖性的方式调节免疫炎症系统。目前 MIF 是唯一被认为能负向调节 GC 抗炎作用的细胞因子,它可能与局部或全身炎症、自身免疫性疾病等密切相关,亦可能是 GC 不能有效发挥抗炎作用的关键因子。现就近年 MIF 及其负向调节 GC 抗炎作用机制的研究进行综述。

## 1 MIF 的组织细胞来源、基因结构、蛋白质结构及生物学活性

**1.1 MIF 的组织细胞来源:** MIF 是 1966 年 Bloom 等在研究迟发型变态反应中发现的由致敏 T 淋巴细胞分泌的一种细胞因子。它可抑制巨噬细胞的随机迁移,使巨噬细胞聚集在分泌 MIF 的组织部位,并促进多种促炎细胞因子分泌,通过天然免疫机制清除入侵病原体。除 T 淋巴细胞外, B 淋巴细胞、巨噬细胞、内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞、神经树突细胞及垂体细胞等均可分泌 MIF。T 淋巴细胞内 MIF 的基础表达水平是其在 B 淋巴细胞及巨噬细胞内的 2 倍。各种组织器官都可以分泌 MIF,包

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.

2009.09.019

基金项目:上海市科委科技计划项目(05JC14046)

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院烧伤外科

Email:littlefish0916@126.com

括脑、垂体、肾、肺、肝、脾、肾上腺及皮肤等。mRNA 分析提示,肾及脑组织有较高的 MIF 表达,而肌肉和胰腺组织 MIF 表达较低。MIF 同时也在胰岛  $\beta$  细胞中表达并受葡萄糖水平的调节。

**1.2 MIF 的基因结构:** 人的 MIF 基因定位于 22 号染色体(22q11.2),由 3 个外显子和 2 个内含子组成<sup>[1]</sup>。人 MIF 基因存在 4 个可能产生基因多态性的区域,在 -173nt 位置存在 G/C 多态性, +254nt T/C 多态性, +656nt C/G 多态性,在 -794nt 位置存在 CATT 重复序列的多态性(5~8 次不等)<sup>[2]</sup>。MIF 启动子因以 CATT 重复次数的不同而具有不同的启动活性,以 CATT 5 次重复活性最低,随 CATT 序列重复次数增加,活性也增加, CATT 8 次重复活性最高。MIF -173 G/C 多态性也可调节 MIF 启动子活性。如 MIF -173\*/C 在人 T 淋巴细胞中活性最大, MIF -173\*/G 在人肺上皮细胞(A549)中具有最大启动子活性。可以说 MIF 的启动子活性具有细胞特异性。由于 MIF 启动子多样性及细胞特异性的存在,故 GC 对 MIF 表达的调节同样具有细胞特异性,具体表现在 GC 能抑制人 T 淋巴细胞 MIF 启动子的活性,而对人肺上皮细胞 MIF 启动子却无抑制作用。MIF 启动子区还有环磷酸腺苷(cAMP)反应元件,毛喉蕈通过该元件能激活垂体细胞系内源性 & 外源性 MIF 活性。目前还无 MIF 基因多态性与疾病相关性的报道。

**1.3 MIF 蛋白质的结构特点:** MIF 是相对分子质量为 125 000、含有 115 个氨基酸的非糖基化蛋白, MIF 与其他细胞因子无同源性,三级结构也不同于其他细胞因子及垂体激素,仅与几种酶有部分相似性。MIF 为同源三聚体,单体及二聚体仍具有生物活性。人 MIF 三聚体结构与 D-多巴色素互变异构酶具有一定的相似性。

## 1.4 MIF 的生物学功能及应用

**1.4.1 作为巨噬细胞和 T 淋巴细胞的细胞因子:** MIF 是一种 T 淋巴细胞因子,在免疫调节中起重要作用。抗 MIF 抗体能抑制体内 T 淋巴细胞的增殖和 B 淋巴细胞抗体的产生。MIF 能抑制 IgE 结合蛋白的糖基化,是一种与迟发型超敏反应(DTH)相关的细胞因子,在 DTH 炎症部位,巨噬细胞一旦释放 MIF 就激活了位于 DTH 部位的 T 淋巴细胞。因此, MIF 是 DTH 应答的主要介质<sup>[3]</sup>。MIF 可诱导巨噬细胞分泌 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-8,并与 TNF- $\alpha$  协同诱导巨噬细胞产生一氧化氮(NO); MIF 能激活巨噬细胞杀伤利什曼颗粒的活性。

**1.4.2 神经-内分泌功能:** MIF 为垂体激素和 GC 的一种负反馈调节剂,可能是第一种作为 GC 负调节剂的细胞因子<sup>[4]</sup>。某些促甲状腺素垂体细胞通过下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPAA)起始宿主应答伴有 MIF 的释放,在下丘脑切除的裸鼠体内注射脂多糖(LPS)后发现垂体细胞释放 MIF 的量与血清中 MIF 的量是一致的。在 HPAA 受刺激后,垂体以“激素样”方式分泌 MIF。

**1.4.3 内毒素血症的重要炎症介质:** MIF 作为巨噬细胞的趋化因子,在巨噬细胞介导的炎症损伤中起重要作用。在 LPS 诱导的疾病如内毒素血症中, MIF 是一种重要的前炎症介质。纯化的重组 MIF 能促进 LPS 的致死效应(15%~85%),而抗 MIF 抗体则能完全避免由 LPS 诱导的致死效应, MIF 的作用是促炎性的,并且在由革兰阳性(G<sup>+</sup>)菌感染触发的细胞因子级联反应中, MIF 也是重要的介质。实验证明中枢 MIF(来自垂体)和外周 MIF(来自免疫细胞)的产生均有助于 MIF 的促炎活性,应用 D-半乳糖敏感的小鼠 TSST-1 休克模型中,抗 MIF 抗体能明显提高其存活率(17%~74%)<sup>[5]</sup>。

**1.4.4 对肿瘤的作用:** MIF 具有免疫调节功能,但在肿瘤发生发展中的作用

尚未明确。多数学者认为 MIF 通过刺激巨噬细胞产生 TNF- $\alpha$ 、IL-1、NO、过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 等细胞因子, 增强黏附、吞噬功能和细胞毒性并杀伤肿瘤细胞<sup>[6-7]</sup>。但也有相反的报告<sup>[8]</sup>, 认为在 MIF 作用下肿瘤细胞与巨噬细胞参与了肿瘤血管的生成反应, MIF 可直接或通过协助其他生长因子间接促进肿瘤细胞生长、侵犯和转移, 而抗 MIF 抗体可有效抑制肿瘤细胞在淋巴细胞系和血管内皮细胞系中生长及新生血管的形成, 从而有效减慢肿瘤的生长速度; 对 MIF 促瘤作用机制的研究发现, MIF 对抑瘤基因 p53 有潜在的抑制作用, 这就从分子水平解释了 MIF 促进肿瘤细胞生长的原因。

## 2 MIF 与 GC 相互作用的可能机制

目前研究证实, MIF 和 GC 的作用可以发生在纳摩尔浓度水平, 也就是说在生理情况下, 这两个蛋白就可以发生直接的相互作用或作用在胞内信号转导途径的上游水平<sup>[9]</sup>。现已有足够的分子生物学证据表明, MIF 和 GC 在细胞表面受体及胞内两个水平上具有相互作用, 而根据实验研究的结果已基本排除了它们之间直接作用的可能性。

GC 可以纠正炎症反应的失调, 在临床中常用来治疗免疫性疾病、难治性感染、脓毒症、急性呼吸窘迫综合征<sup>[10]</sup>, 甚至是持续性急性呼吸窘迫综合征<sup>[11]</sup>。GC 主要是通过糖皮质激素受体 (GR) 结合, 经不同途径发挥作用, 其中包括通过作用于核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 抑制多种炎症介质的产生和增强某些抗炎介质 (IL-10 等) 的活性<sup>[12]</sup>。目前对于 GC 作用机制的研究认为, 主要包含了两条途径, 即基因调控途径和快速的非基因调控途径。下面就从 GC 发挥抗炎作用的途径入手, 探讨 MIF 负向调节 GC 抗炎作用的可能机制。

**2.1 直接基因转录调控途径:** 当 GC-GR 复合物进入细胞核后, 互相结合产生同源二聚体, 然后与 DNA 序列上的糖皮质激素反应元件 (GRE) 结合, 导致 GR 构型发生改变, 募集协同激活物, 从而激活基因转录。被 GC 激活转录的抗炎蛋白有膜联蛋白 I (Annexin I)、血清白蛋白蛋白酶抑制剂、Clara 细胞蛋白 10 (CC10)、IL-1 受体拮抗剂、IL-10、神经内皮多肽酶及丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK) 磷酸化酶 1 (MKP-1) 等<sup>[13]</sup>。

目前已经明确的是 MIF 能负向调

节 GC 作用的一个重要机制就是抑制了 MKP-1 的表达<sup>[14-16]</sup>。通常情况下, GC 可以诱导 MKP-1 表达, 进而干扰 MAPK 的促炎途径, 如对细胞外信号调节激酶 (ERK1/2)、c-Jun N 端激酶 (JNK) 和 p38 的去磷酸化。Roger 等<sup>[14]</sup>发现, MIF 以自分泌的方式负向调节了 GC 对 MKP-1 诱导表达的作用, 从而减弱了 GC 抑制促炎细胞因子的作用, 而 MKP-1 正是 MIF 这种负向调节作用的重要靶点。Aeberli 等<sup>[15]</sup>研究证实, MIF 基因敲除鼠来源的巨噬细胞对 GC 的敏感性升高, MKP-1 表达增多, 与野生型的细胞相比, 其体内 p38 磷酸化的水平也相应降低。外源性的 MIF 能以剂量依赖方式减弱 GC 诱导 MKP-1 的表达, 如在培养基中加入抗 MIF 单克隆抗体又能恢复 GC 诱导 MKP-1 的表达。

Mitchell 等<sup>[16]</sup>报道 MIF 能激活 ERK, 活化的 ERK 信号转导级联反应可磷酸化并活化胞质内磷脂酶 A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>), cPLA<sub>2</sub> 是参与炎症反应的关键因子, 其产物花生四烯酸是前列腺素和白细胞三烯合成的前体。花生四烯酸能激活 JNK, JNK 对 TNF- $\alpha$  和其他细胞因子的有效翻译是必需的<sup>[17]</sup>。GC 通过诱导抗炎蛋白 Annexin I 的表达, 可显著抑制 cPLA<sub>2</sub> 的活性。在 GC 能抑制免疫反应的浓度下, MIF 还能激活 cPLA<sub>2</sub>, 可能是 MIF 负向调节 GC 抗炎作用的机制之一。

**2.2 间接基因转录调控途径:** GC 发挥免疫抑制和抗炎作用的另一条途径是对 NF- $\kappa$ B 的抑制。正常情况下 NF- $\kappa$ B 与其抑制蛋白 I $\kappa$ B $\alpha$  结合存在于胞质中。内生的信号诱导 I $\kappa$ B $\alpha$  降解, 从而使得 NF- $\kappa$ B 转位入核, 导致无数细胞因子、共激活因子、黏附分子的基因转录<sup>[18]</sup>。GC 抑制 NF- $\kappa$ B 的活性部分是通过增加 I $\kappa$ B $\alpha$  表达<sup>[19-20]</sup>, 以维持 NF- $\kappa$ B 的无活性形式。2000 年 Daun 等<sup>[21]</sup>提出 MIF 负向调节 GC 对 NF- $\kappa$ B 的抑制作用是通过干扰 GC 诱导 I $\kappa$ B $\alpha$  表达。然而 GC 诱导 I $\kappa$ B $\alpha$  表达只发生在少数的细胞类型中, 在原始细胞中, GC 的免疫机制仍然未知。

影响 GC-GR 复合物最常见的另一转录因子是活化蛋白-1 (AP-1)。GR 抑制 AP-1 活性的机制与其作用于 NF- $\kappa$ B 的机制类似, 主要是通过蛋白与蛋白间相互作用, 与 Fos 蛋白结合, 抑制 AP-1 介导的转录<sup>[22]</sup>; 也可以在胞质中通过抑

制 c-Jun 上游信号转导途径来起抗炎作用, 其与 JNK 直接结合, 阻止了 MAPK 激酶 (MKK) 对其的磷酸化活化作用, 从而阻断之后的信号转导, 抑制 AP-1 介导的炎症基因转录<sup>[23]</sup>。Kleemann 等<sup>[24]</sup>首次证实, 无论内源性或外源性 MIF 均可与胞质内的蛋白 JUN 活化域结合蛋白 1 (JAB-1) 结合, 反向调节 JAB-1 的功能。胞外的 MIF 先被细胞内吞后, 穿过内质网膜, 再以完整的形式或者含有氧化还原原激活区域的形式进入溶质小室与 JAB-1 作用。JAB-1 既是 COP9 信号小体上的第 5 个亚单位, 也是转录因子 AP-1 的共激活因子, 能活化 AP-1, 进而控制细胞生长, 上调炎症基因表达。研究还证实, COP9 通过它的第 3 个亚单位与 I $\kappa$ B $\alpha$  发生作用进而抑制了 TNF- $\alpha$  诱导 NF- $\kappa$ B 的激活<sup>[25-26]</sup>。由此可见, MIF 和 GC 的相互作用还与 COP9 信号小体调节 I $\kappa$ B $\alpha$  相关。

**2.3 其他可能的途径:** 2003 年, Leng 等<sup>[27]</sup>通过对 MIF 基因表达及功能分析发现, MIF 有一个跨膜蛋白受体 CD74, MIF 与 CD74 胞外部分 73-323 位氨基酸高亲和力结合, 活化 MAPK 信号途径, 从而影响细胞功能。最近研究发现, 能激活非受体型酪氨酸激酶的 CD44 是 MIF-CD74 复合物信号转导的组成部分<sup>[27-29]</sup>。CD74 能使 MIF 结合于细胞表面, CD44 是 MIF 诱导 ERK1/2 磷酸化所必需的。MIF 结合后, CD74 和 CD44 胞内区域上的丝氨酸磷酸化, 进而激活丝氨酸激酶, 从而磷酸化 ERK1/2。通过上述途径激活 ERK 还需 MIF 先激活 cAMP 依赖的蛋白激酶 A (PKA)。MIF 能瞬时或持久激活 ERK1/2, 前者需要胞内 JAB-1 的帮助, 而后者则是在贴壁细胞中整合素发挥的作用<sup>[30]</sup>。高浓度的 JAB-1 抑制了 ERK1/2 的持续激活, 但对 ERK1/2 瞬时磷酸化无影响, 而且低浓度 JAB-1 就能瞬时激活 ERK1/2, 其机制及 MIF 与 GC 间可能存在的相互作用关系有待进一步研究<sup>[31-32]</sup>。

## 3 小结

MIF 作为机体天然免疫与获得性免疫的重要因子, 在脓毒性休克、自身免疫性疾病及多器官功能损伤中具有重要作用。虽然目前对 MIF 负向调节 GC 的作用已经有了一定的认识, 但这两者之间的相互作用关系还有待进一步阐明。如 MIF 直接调节 NF- $\kappa$ B 活性的确切机

制; ERK1/2 促进下游细胞因子产生的机制等。明确 MIF 负向调节 GC 抗炎作用的机制, 不仅能更有效地发挥 GC 对全身炎症、免疫系统疾病的治疗作用, 还可以避免因长期大量使用 GC 而产生的副作用, 因而具有十分重要的意义。

#### 参考文献

- [1] Paralkar V, Wistow G. Cloning the human gene for macrophage migration inhibitory factor (MIF). *Genomics*, 1994, 19(1): 48-51.
- [2] Donn R, Alourfi Z, De Benedetti F, et al. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene; positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(9): 2402-2409.
- [3] Bernhagen J, Bacher M, Calandra T, et al. An essential role for macrophage migration inhibitory factor in the tuberculin delayed-type hypersensitivity reaction. *J Exp Med*, 1996, 183(1): 277-282.
- [4] Donnelly SC, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor, a regulator of glucocorticoid activity with a critical role in inflammatory disease. *Mol Med Today*, 1997, 3(11): 502-507.
- [5] Bernhagen J, Calandra T, Bucala R, et al. Regulation of the immune response by macrophage migration inhibitory factor; biological and structural features. *J Mol Med*, 1998, 76(3-4): 151-161.
- [6] Pozzi LA, Weiser WY. Human recombinant migration inhibitory factor activates human macrophage to kill tumor cells. *Cell Immunol*, 1992, 145(2): 372-379.
- [7] 刘艳君, 田野萃, 曹雪涛. 巨噬细胞在 MIF 基因修饰瘤苗诱导小鼠抗肿瘤免疫中的作用. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2000, 7(1): 35.
- [8] Chesney J, Metz C, Bacher M, et al. An essential role for macrophage migration inhibitory factor (MIF) in angiogenesis and the growth of a murine lymphoma. *Mol Med*, 1999, 5(3): 181-191.
- [9] Calandra T, Bernhagen J, Metz CN, et al. MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. *Nature*, 1995, 377(6544): 68-71.
- [10] 俞森洋. 糖皮质激素在急性呼吸窘迫综合征治疗中的作用和评价. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(6): 321-322.
- [11] 车晋伟, 胡森, 编译. 糖皮质激素用于持续性急性呼吸窘迫综合征的疗效和安全性. *中国危重病急救医学*, 2006, 16(8): 481.
- [12] 崔娜, 刘大为. 糖皮质激素在严重感染和感染性休克中的应用. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(4): 241-243.
- [13] Barnes PJ. Molecular mechanisms and cellular effects of glucocorticosteroids. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2005, 25(3): 451-468.
- [14] Roger T, Chanson AL, Knaup-Reymond M, et al. Macrophage migration inhibitory factor promotes innate immune responses by suppressing glucocorticoid-induced expression of mitogen-activated protein kinase phosphatase-1. *Eur J Immunol*, 2005, 35(12): 3405-3413.
- [15] Aeberli D, Yang Y, Mansell A, et al. Endogenous macrophage migration inhibitory factor modulates glucocorticoid sensitivity in macrophages via effects on MAP kinase phosphatase-1 and p38 MAP kinase. *FEBS Lett*, 2006, 580(3): 974-981.
- [16] Mitchell RA, Metz CN, Peng T, et al. Sustained mitogen-activated protein kinase (MAPK) and cytoplasmic phospholipase A2 activation by macrophage migration inhibitory factor (MIF), regulatory role in cell proliferation and glucocorticoid action. *J Biol Chem*, 1999, 274(25): 18100-18106.
- [17] Swantek JL, Cobb MH, Geppert TD. Jun N-terminal kinase/stress activated protein kinase (JNK/SAPK) is required for lipopolysaccharide stimulation of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) translation; glucocorticoids inhibit TNF- $\alpha$  translation by blocking JNK/SAPK. *Mol Cell Biol*, 1997, 17(11): 6274-6282.
- [18] Karin M, Yamamoto Y, Wang QM. The IKK NF- $\kappa$ B system; a treasure trove for drug development. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, 3(1): 17-26.
- [19] Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, et al. Immunosuppression by glucocorticoids; inhibition of NF- $\kappa$ B activity through induction of I kappa B synthesis. *Science*, 1995, 270(5234): 286-290.
- [20] Scheinman RI, Cogswell PC, Lofquist AK, et al. Role of transcriptional activation of I kappa B alpha in mediation of immunosuppression by glucocorticoids. *Science*, 1995, 270(5234): 283-286.
- [21] Daun JM, Cannon JG. Macrophage migration inhibitory factor antagonizes hydrocortisone-induced increases in cytosolic I kappa B alpha. *Am J Physiol Regul Integr comp physiol*, 2000, 279(3): R1043-1049.
- [22] Lu NZ, Cidlowski JA. The origin and functions of multiple human glucocorticoid receptor isoforms. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1024: 102-123.
- [23] Bruna A, Nicolàs M, Muñoz A, et al. Glucocorticoid receptor-JNK interaction mediates inhibition of the JNK pathway by glucocorticoids. *EMBO J*, 2003, 22(22): 6035-6044.
- [24] Kleemann R, Hauser A, Geiger G, et al. Intracellular action of the cytokine MIF to modulate AP-1 activity and the cell cycle through Jab1. *Nature*, 2000, 408(6809): 211-216.
- [25] Seeger M, Kraft R, Ferrell K, et al. A novel protein complex involved in signal transduction possessing similarities to 26S proteasome subunits. *FASEB J*, 1998, 12(6): 469-478.
- [26] Hong X, Xu L, Li X, et al. CSN3 interacts with IKKgamma and inhibits TNF but not IL-1-induced NF- $\kappa$ B activation. *FEBS Lett*, 2001, 499(1-2): 133-136.
- [27] Leng L, Metz CN, Fang Y, et al. MIF signal transduction initiated by binding to CD74. *J Exp Med*, 2003, 197(11): 1467-1476.
- [28] Leng L, Bucala R. Insight into the biology of macrophage migration inhibitory factor (MIF) revealed by the cloning of its cell surface receptor. *Cell Res*, 2006, 16(2): 162-168.
- [29] Shi X, Leng L, Wang T, et al. CD44 is the signaling component of the macrophage migration inhibitory factor-CD74 receptor complex. *Immunity*, 2006, 25(4): 595-606.
- [30] Liao H, Bucala R, Mitchell RA. Adhesion-dependent signaling by macrophage migration inhibitory factor (MIF). *J Biol Chem*, 2003, 278(1): 76-81.
- [31] Lue H, Kapurniotu A, Fingerle-Rowson G, et al. Rapid and transient activation of the ERK MAPK signalling pathway by macrophage migration inhibitory factor (MIF) and dependence on JAB1/CSN5 and Src kinase activity. *Cell Signal*, 2006, 18(5): 688-703.
- [32] Wolf DA, Zhou C, Wee S. The COP9 signalosome: an assembly and maintenance platform for cullin ubiquitin ligases? *Nat Cell Biol*, 2003, 5(12): 1029-1033.

(收稿日期: 2008-12-16)

(本文编辑: 李银平)