

综述

巨噬细胞游走抑制因子在全身性感染发病机制中的研究进展

刘云(综述) 邱海波(审校)

【关键词】巨噬细胞游走抑制因子; 全身性感染; 炎症

全身性感染的发病机制非常复杂,它不仅与炎症失控相关,还牵涉到神经系统、内分泌调节、免疫系统以及它们之间的相互作用^[1]。同样,巨噬细胞游走抑制因子(MIF)的功能和角色具有多面性,不仅是促炎因子,同时还是神经内分泌因子,不仅可参与促进炎症反应,同时还具有免疫调节作用。因而其在全身性感染中的角色越来越受到人们的重视。现就 MIF 在全身性感染发病机制中的研究进展进行综述。

1 MIF 的结构与细胞来源

MIF 是 1966 年 Bloom 和 Bennett 等在研究迟发型超敏反应时发现的一个细胞因子。人的 MIF 基因位于第 22 号染色体长臂(22q11.2)的保守区内,单个 MIF mRNA 约为 800 个碱基对,由 3 个外显子和 2 个内含子组成,编码相对分子质量约为 12 500 的非糖基化蛋白。MIF 分子是由 6 个 α 螺旋围绕 3 个 β 折叠形成的一个圆桶状同源三聚体结构。MIF 的细胞来源非常广泛,其中垂体前叶细胞、活化的 T 细胞、单核/巨噬细胞等是体内 MIF 的主要来源。此外,胰腺 β 细胞、心肌细胞以及肝、肾、脑等实质细胞内也能发现 MIF 的存在。

2 MIF 在全身性感染中的主要特性

2.1 促炎特性:在全身性感染中,MIF 可以直接介导炎症反应。单核/巨噬细胞等在受到细菌、毒素及某些细胞因子,〔如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 γ -干扰素(IFN- γ)〕的刺激后释放 MIF,当 MIF 释放到组织或在全身循环时,它充当一个经典的促炎因子。有研究显示,MIF 可直接或间接诱导产生环氧化酶途径的中间产物〔如花生四烯酸、前列腺素 E₂

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

2009.01.020

基金项目:江苏省医学领军人才基金资助项目(2006-50-11)

作者单位:210009 江苏南京,东南大学临床医学院附属中大医院 ICU

通信作者:邱海波,Email:haiboq2000@yahoo.com.cn

(PGE₂)、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、TNF- α 、一氧化氮(NO)等。同时,MIF 也可以上调某些细胞因子〔如白细胞介素-1(IL-1)、TNF- α)受体的表达^[2]和 Toll 样受体 4(TLR4)的表达^[3]。在非炎症状态下,在未被激活的巨噬细胞内就可以观察到大量 MIF 蛋白和高水平的 MIF mRNA 存在,一旦巨噬细胞被活化,MIF 即可在其他需要重新合成的细胞因子之前快速释放^[4]。可见 MIF 不仅可以放大炎症效应,也是宿主抗感染免疫应答启动阶段的重要细胞因子之一。

2.2 神经内分泌因子特性:下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPAA)是全身性感染时神经系统重要的抗炎途径。HPAA 活化后,下丘脑释放促肾上腺皮质激素释放激素(CRH),CRH 进一步促进脑垂体分泌促肾上腺皮质激素(ACTH),ACTH 通过血液循环到达肾上腺皮质,促使其释放盐皮质激素和糖皮质激素,进而调控机体炎症反应和全身性感染的病理生理过程。MIF 与 ACTH 共同位于垂体前叶 ACTH 细胞的分泌囊泡中,其分泌受下丘脑-垂体的控制,体外用 CRH 刺激可以诱导 MIF 释放,且所需浓度比诱导 ACTH 释放低,释放的 MIF 可以拮抗糖皮质激素的免疫抑制作用。提示 MIF 可能是联系神经内分泌系统与免疫系统的重要中介者。

3 MIF 在全身性感染炎症反应中的作用机制

MIF 在全身性感染炎症反应中的作用主要体现在其激活炎症反应、拮抗糖皮质激素和抑制细胞凋亡 3 个方面。虽然 MIF 的作用机制仍有待进一步研究阐明,但目前对于 MIF 如何影响细胞生理过程的认识已经有了很大的进展。

3.1 MIF 受体复合体:MIF 与靶细胞膜表面特异性受体结合,是其发挥重要生理功能的主要方式。但是对 MIF 的受体仍没有完全了解清楚,目前研究大致可以分为两类。①CD74/CD44/Src 激酶受体复合体:Leng 等^[5]最先研究发现,MIF 可与 CD74 分子的胞外部分高亲和

力结合。然而 CD74 为主要组织相容复合体(MHC)-I 类分子相关恒定链(即 Ii 链),是一种 I 型整膜蛋白,它的胞质区缺乏信号转导区,即 CD74 无法独自介导信号转导,因此推测 CD74 应该是 MIF 受体复合体的重要成员之一。随后发现 MIF 的信号转导可以由 CD44 辅助完成,CD44 属于连接蛋白家族,其胞质区内含有可以激活非受体酪氨酸激酶的信号区,激活 Src 酪氨酸激酶。因此,CD74、CD44、Src 激酶可以形成功能性受体酪氨酸激酶(RTK)样受体复合体传导信号。②非同源受体 CXCR2 和 CXCR4:最近 Bernhagen 等^[6]研究发现,MIF 也可以作为 CXCR2、CXCR4 的配体,参与炎症细胞的募集和粥样斑块的形成。CXCR2/CD74 复合体参与单核细胞的募集。此外,推测 MIF 的功能性受体复合体还包括 G 蛋白耦联受体(GPCRs)和 CD74,共同参与细胞迁移的信号转导。是否 CXCR、GPCRs 和 CD74 共同参与了细胞的趋化迁移,以及 RTK 和 GPCRs 两条通路如何交互作用,这些都有待于进一步研究。

3.2 激活炎症反应:MIF 通过激活炎症反应信号通路参与炎症介质的生成及其受体的上调和炎症细胞的募集。具体机制:①促进炎症介质的转录生成^[7-8]:MIF 通过 CD74/CD44/Src 激酶受体复合体传递信号,能够快速激活细胞外信号调节激酶 1/2-丝裂素活化蛋白激酶(ERK1/2-MAPK)途径。该途径可活化胞质磷脂酶 A₂(cPLA₂),而 cPLA₂ 是炎症级联反应中最关键的组分,进一步生成白三烯(LTs)、前列腺素(PGs)等炎症介质。②上调炎症介质的受体^[2,9]:MIF 可以通过 Src-JNK 信号通路激活活化蛋白-1(AP-1)——一种上调炎症因子基因表达的转录因子,进而上调肿瘤坏死因子受体-I(TNFR-I,主要转导促炎症反应信号)表达,而 TNFR-I (具有促进凋亡的功能)的表达不受影响。通过这种方式,MIF 在放大炎症信号的同时,还能消减 TNF- α 可能引起的

凋亡和细胞毒性。^③募集炎症细胞^[6,10]; MIF 还可作为趋化因子,结合到受体 CXCR2 和 CXCR4 上,趋化因子受体是一类介导趋化因子行使功能的 GPCR,激活受体转导信号,使炎症细胞产生趋化运动。MIF 分别通过与 CXCR2 和 CXCR4 相互作用,促进单核细胞和 T 细胞募集。MIF 促进细胞迁移的机制是通过 Rho-GTP 激活 Rho 激酶(ROCK),ROCK 进而使肌球蛋白轻链(MLC)磷酸化,高度磷酸化的 MLC 可导致细胞收缩增强,细胞体前移。同时,高度磷酸化的 MLC 可以诱导 ERK1/2-MAPK 的持续性激活,说明 MIF 在募集炎症细胞的同时又可以激活,武装炎症细胞,使其释放大量的炎症介质,增强细胞的吞噬和杀伤能力。

3.3 拮抗糖皮质激素:MIF 与其他促炎因子不同的是可以被糖皮质激素诱导生成,而生成的 MIF 可以拮抗糖皮质激素的免疫抑制和抗炎效应,在细胞因子的级联反应中,两者的相互作用共同决定炎症反应的“调定点”和强度。糖皮质激素发挥抗炎作用的机制主要包括:与其受体相互作用,下调炎症因子基因转录和表达;抑制核转录因子- κ B(NF- κ B)亚单位 p56 与靶基因结合;诱导 NF- κ B 抑制因子(I κ B)的合成。一方面,MIF 通过激活 ERK1/2-MAPK 途径,介导磷脂酶 A₂(PLA₂)及花生四烯酸代谢产物的生成,对抗糖皮质激素作用;另一方面,MIF 抑制糖皮质激素对 I κ B 的诱导合成,从而促使 NF- κ B 进入核内和相应 DNA 序列结合,从而转录生成大量炎症因子,拮抗糖皮质激素的抗炎作用。

3.4 抑制细胞凋亡:MIF 促进细胞存活特性可能是其发挥促炎作用的重要机制之一。凋亡对于清除免疫应答后的效应细胞,维持免疫稳态方面起决定性作用。凋亡缺陷可能导致效应细胞避免凋亡的同时,能更持久地分泌炎症因子,导致炎症反应的失控。已发现 MIF 不仅可以促进巨噬细胞、T 细胞和 B 细胞的增殖、活化和存活,而且可以促进内皮细胞的活化、增殖、抑制其凋亡。其具体机制为^[11-14]:^①抑制 p53 蛋白聚集:在单核/巨噬细胞中,MIF 抑制其凋亡与 ERK1/2-MAPK 途径激活有关,通过介导 PLA₂ 及花生四烯酸代谢产物如环氧合酶 2(COX2)、PGE₂ 的生成,拮抗一氧化氮(NO)诱导的 p53 蛋白在巨噬细胞

内的聚集,从而抑制活化诱导的 p53 依赖的细胞凋亡。^②调节 Flice 样抑制蛋白(FLIP):在人肺动脉内皮细胞中,MIF 可以通过 FLIP 参与凋亡耐受。FLIP 是天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 8(caspase-8)前体活化的抑制蛋白,能抑制细胞凋亡。^③激活 PI3K-Akt 通路:T 细胞和 B 细胞的增殖、存活与 MIF 通过 Src 型酪氨酸激酶激活 PI3K-Akt 通路有关,活化的 Akt 可以磷酸化凋亡前体蛋白 BAD 和 FoxO,使两者磷酸化后失活。阻止 BAD 与早期凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-xL 之间相互作用而抑制细胞凋亡。FoxO 对细胞增殖和凋亡等生理过程有重要调节作用,可以通过 Fas 和 Bcl-2 多途径活化 caspase 诱导细胞凋亡,并可能对免疫细胞凋亡及亚群间的平衡起一定调节作用,MIF 通过使 FoxO 磷酸化来抑制细胞凋亡。可见 MIF 既能调节固有免疫细胞又能调节适应性免疫细胞的存活,因此其在调节固有免疫和适应性免疫中均起重要作用。

全身性感染时机体免疫状态是特异性免疫系统抑制而非特异性炎症反应亢进,拮抗 MIF 在起抗炎作用的同时可能会削弱其对特异性免疫细胞(T 细胞和 B 细胞)的凋亡抑制作用,但正是由于大量促炎因子如 TNF- α 、颗粒酶等的产生加速了淋巴细胞(包括 T 细胞和 B 细胞)的凋亡,所以即使在免疫麻痹状态采用抗炎治疗也是必要的^[15]。

4 拮抗 MIF 治疗在全身性感染中的应用前景

拮抗 MIF 对全身性感染的治疗有重要意义。临床研究显示全身性感染患者血清 MIF 浓度显著升高,并且 MIF 水平与全身性感染的严重程度、不良预后和重要器官的损伤呈正相关^[16-18]。动物实验已证实,中和 MIF 或 MIF 基因敲除可显著改善小鼠感染性休克模型的存活率^[19-20]。不论是革兰阴性(G⁻)菌或阳性(G⁺)菌引起的全身性感染,MIF 单克隆抗体均可提高动物存活率。在采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备的感染性休克动物模型中,即使在感染发生后 8 h 才给予中和 MIF 治疗仍能起到保护作用^[19]。而且 MIF 具有独特的对抗糖皮质激素抗炎活性的作用,中和 MIF 能与糖皮质激素产生相乘作用,增加糖皮质激素的敏感性^[21-22]。这些均使 MIF 成为一个有吸引力的治疗靶点。目前研究中的

拮抗 MIF 治疗可分为 3 种^[23]。

4.1 抗 MIF 抗体:在 CLP 小鼠模型以及 G⁺菌全身性感染的小鼠模型中,用抗 MIF 抗体治疗均能起到保护作用,显著增加小鼠存活率^[24]。然而特异性抗 MIF 抗体应用到临床治疗时需要考虑其潜在的免疫原性,在活体内的短半衰期以及可能的副作用,非口服的给药方式和治疗的高费用,需要更多的临床研究去检验抗 MIF 抗体的长期有效性和安全性。

4.2 MIF 酶活性的化学抑制剂:MIF 具有异构酶、氧化还原酶的活性,其结构中的脯氨酸残基在其酶催化活性中起关键作用。针对 MIF 异构酶活性位点设计的 MIF 抑制剂已证明其可以抑制 MIF 的促炎因子活性。最近合成的(S,R)-3-(4-羟苯基)-4,5-二氢-5-异噁唑乙酸甲酯(ISO-1)可以抑制 MIF 介导的花生四烯酸在巨噬细胞内的表达上调,并且抑制 MIF 对糖皮质激素的拮抗作用,同时可以抑制 COX2 的分泌。ISO-1 剂量依赖性抑制脂多糖(LPS)导致的 TNF- α 释放和 NF- κ B 的移位。实验证明 ISO-1 可以增加严重全身性感染动物的存活率^[25]。继 ISO-1 后 Dabideen 等^[26]新合成了一种无毒的酚酞类化合物 7,并在 CLP 诱导的全身性感染动物模型上证明了其有效性,在 CLP 后 24 h 给予酚酞类化合物 7 治疗仍能起到保护作用(实验组存活率 65% 比对照组 28%),被认为是最有应用前景的 MIF 抑制剂。此外, α 、 β 不饱和环酮类小分子化合物也是 MIF 异构酶的有效抑制剂^[27]。总之,人工合成的小分子化合物可能提供可靠的疗效、方便的口服给药方式和相对较低的花费,临床应用潜力很大。

4.3 植物中提取的 MIF 抑制剂:从天然植物中提取的 MIF 抑制剂种类繁多,其中姜黄和咖啡酸被认为是 MIF 互变异构酶活性最有潜力的抑制剂^[28]。值得一提的是咖啡酸被证明在正常肺组织中没有毒性^[29],这对于临床应用很有吸引力。当然,MIF 的抑制剂尚处于研究阶段还没有用于临床治疗,仍有待于临床试验的进一步检验。

综上所述,MIF 的生物活性广泛,不仅在全身性感染的炎症反应失控方面起关键作用,还可能是联系神经、内分泌和免疫系统的重要中介因子,提示拮抗 MIF 治疗可能成为治疗全身性感染的有效手段。拮抗 MIF 治疗在全身性感染

的动物模型上已取得显著而肯定的疗效,进一步研究 MIF 在全身性感染中的作用机制、MIF 抑制剂安全性及有效性,并及早进行 MIF 抑制剂的临床试验观察,将有助于推动全身性感染的治疗,降低全身性感染患者的病死率。

参考文献

- [1] 姚咏明, 盛志勇. 重视对脓毒症本质的探讨. 中华急诊医学杂志, 2005, 14(3): 185-186.
- [2] Toh ML, Aeberli D, Lacey D, et al. Regulation of IL-1 and TNF receptor expression and function by endogenous macrophage migration inhibitory factor. *J Immunol*, 2006, 177(7): 4818-4825.
- [3] Roger T, Froidevaux C, The martin C, et al. The macrophage migration inhibitory factor (MIF) regulates host responses to endotoxin through modulation of Toll-like receptor 4 (TLR4). *J Endotoxin Res*, 2003, 9(2): 119-123.
- [4] Calandra T, Bernhagen J, Mitchell RA, et al. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J Exp Med*, 1994, 179(6): 1895-1902.
- [5] Leng L, Metz CN, Fang Y, et al. MIF signal transduction initiated by binding to CD74. *J Exp Med*, 2003, 197(11): 1467-1476.
- [6] Bernhagen J, Krohn R, Lue H, et al. MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. *Nat Med*, 2007, 13(5): 587-596.
- [7] 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/CNS5 and Src kinase activity. *Cell Signal*, 2006, 18(5): 688-703.
- [8] Shi X, Leng L, Wang T, et al. CD44 is the signalling component of the macrophage migration inhibitory factor CD74 receptor complex. *Immunity*, 2006, 25(4): 595-606.
- [9] 王启宇, 王惟, 乔晓杭, 等. MIF 调节巨噬细胞系 RAW264.7 中 TNF- α I 型受体的表达. 生物化学与生物物理进展, 2007, 34(6): 580-584.
- [10] Swant JD, Rendon BE, Symons M, et al. Rho GTPase-dependent signalling is required for macrophage migration inhibitory factor-mediated expression of cyclin D1. *J Biol Chem*, 2005, 280(24): 23066-23072.
- [11] Mitchell RA, Liao H, Chesney J, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53; regulatory role in the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(1): 345-350.
- [12] Damico RL, Chesley A, Johnston L, et al. Macrophage migration inhibitory factor governs endothelial cell sensitivity to LPS-induced apoptosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 89(1): 77-85.
- [13] Gore Y, Starlets D, Maharshak N, et al. Macrophage migration inhibitory factor induces B cell survival by activation of a CD74-CD44 receptor complex. *J Biol Chem*, 2008, 283(5): 2784-2792.
- [14] Lue H, Thiele M, Franz J, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) promotes cell survival by activation of the Akt pathway and role for CSN5/JAB1 in the control of autocrine MIF activity. *Oncogene*, 2007, 26(35): 5046-5059.
- [15] 林洪远, 盛志勇. 脓毒症免疫调理治疗的新思路. 中国危重病急救医学, 2004, 16(2): 67-69.
- [16] Bozza FA, Gomes RN, Japiassu AM, et al. Macrophage migration inhibitory factor levels correlate with fatal outcome in sepsis. *Shock*, 2004, 22(4): 309-313.
- [17] Chuang CC, Wang ST, Chen WC, et al. Increases in serum macrophage migration inhibitory factor in patients with severe sepsis predict early mortality. *Shock*, 2007, 27(5): 503-506.
- [18] Emonts M, Sweep FC, Grebenchtchikov N, et al. Association between high levels of blood macrophage migration inhibitory factor, inappropriate adrenal response, and early death in patients with severe sepsis. *Clin Infect Dis*, 2007, 44(10): 1321-1328.
- [19] Bozza M, Satoskar AR, Lin G, et al. Targeted disruption of migration inhibitory factor gene reveals its critical role in sepsis. *J Exp Med*, 1999, 189(2): 341-346.
- [20] Calandra T, Echtenacher B, Roy DL, et al. Protection from septic shock by neutralization of macrophage migration inhibitory factor. *Nat Med*, 2000, 6(2): 164-170.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] Cvetkovic I, Stosic-Grujicic S. Neutralization of macrophage migration inhibitory factor-novel approach for the treatment of immunoinflammatory disorders. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6(10): 1527-1534.
- [24] Calandra T, Spiegel LA, Metz CN, et al. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of the activation of immune cells by exotoxins of Gram-positive bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(19): 11383-11388.
- [25] Al-Abed Y, Dabideen D, Aljabari B, et al. ISO-1 binding to the tautomerase active site of MIF inhibits its proinflammatory activity and increases survival in severe sepsis. *J Biol Chem*, 2005, 280(44): 36541-36544.
- [26] Dabideen DR, Cheng KF, Aljabari B, et al. Phenolic hydrazones are potent inhibitors of macrophage migration inhibitory factor proinflammatory activity and survival improving agents in sepsis. *J Med Chem*, 2007, 50(8): 1993-1997.
- [27] Garai J, Molnár V, Eros D, et al. MIF tautomerase inhibitor potency of α, β -unsaturated cyclic ketones. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7(13): 1741-1746.
- [28] Molnar V, Garai J. Plant-derived anti-inflammatory compounds affect MIF tautomerase activity. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5(5): 849-856.
- [29] Chen MF, Keng PC, Lin PY, et al. Caffeic acid phenethyl ester decreases acute pneumonitis after irradiation in vitro and in vivo. *BMC Cancer*, 2005, 5: 158.

(收稿日期: 2008-06-06)

修回日期: 2008-10-26)

(本文编辑: 李银平)