

内皮细胞活化参与类风湿血管炎病理机制研究进展

朱悦 综述 张玲玲 魏伟 审校

摘要 类风湿血管炎(RV)是类风湿关节炎(RA)的严重并发症,以坏死性动脉炎或伴有活动性全身关节外较小血管炎为特征。RV有较高的心血管疾病发病率,其潜在机制可能是内皮细胞功能障碍。在RA慢性炎症下,活化的巨噬细胞产生大量一氧化氮(NO),导致氧化应激,引起血管内皮细胞损伤,增加血管通透性。氧化三甲胺(TMAO)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、鞘氨醇-1-磷酸(S1P)作为血管炎症调节因子,分别通过MAPK/NF- κ B和NLRP3/SOD2/mtROS、CCR-2/NF- κ B/NO/Rho GTPases等多条信号通路促进内皮细胞活化。内皮细胞活化参与RV发生与发展。该文就内皮细胞参与RV病理机制进行综述。

关键词 类风湿血管炎;类风湿关节炎;内皮细胞;促炎细胞因子;信号通路

中图分类号 R 593.22

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)07-1147-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.07.033

类风湿血管炎(rheumatoid vasculitis, RV)诱发因素包括高滴度的类风湿因子(rheumatoid factors, RF)、严重的类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)病程、长期吸烟。长期伴有血清阳性、结节性糜烂的男性RA患者也易发生RV^[1-2]。但RV发病机制尚不明确, Lau et al^[3]发现RV患者内皮功能明显受损,因此内皮细胞功能障碍可能是RV发生的潜在机制^[4]。现就内皮细胞活化参与RV病理机制研究进展进行综述。

1 诱导型一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)参与内皮细胞活化

内皮细胞排列在所有血管的内壁,正常内皮功

能包括抑制血管平滑肌收缩、血小板聚集、血管平滑肌细胞增生、白细胞黏附和血栓生成。内皮细胞产生的血管活性物质包括血管扩张剂[一氧化氮(nitric oxide, NO)、前列环素和内皮源性超极化因子]和血管收缩剂(内皮素-1、血管紧张素II和血栓素A₂)^[5]。在RA炎症环境下,内皮细胞被激活,调节T细胞、巨噬细胞和中性粒细胞从血管腔外迁移以及血管对大分子的通透性来促进炎症进程^[6]。

正常水平的NO可以维持血管低动脉张力和血管系统的屏障功能,降低血小板聚集和平滑肌细胞增殖。然而不足或过量的NO都可导致内皮细胞功能失调,因此NO在内皮细胞功能中发挥着双重作用。在RA滑膜炎中,不同类型的细胞产生NO,包括成骨细胞、破骨细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、中性粒细胞和内皮细胞。NO是由NOS家族产生的,其同功酶有三种亚型,即在正常状态下表达的神经元型NOS(neuronal NOS, nNOS/NOS1)和内皮型NOS(endothelial NOS, eNOS/NOS3)以及在损伤后诱导表达的诱导型NOS(inducible NOS, iNOS/NOS2)。nNOS在神经元和骨骼肌中表达,并以细胞信号分子的形式产生NO; iNOS存在于巨噬细胞、血管平滑肌、肾小球细胞、纤维幼芽细胞和内皮细胞中; eNOS于血管内产生NO及协助调节血管功能。nNOS和eNOS都是内源性表达,对维持正常生理功能至关重要,而许多炎症性疾病与上调的iNOS有关^[7]。

正常情况下,血管系统中NO的主要来源是eNOS。而在炎症条件下, eNOS发生解耦反应, eNOS来源的NO生物利用度降低,同时诱导内皮细胞和巨噬细胞中iNOS来源的NO表达增加,这是NO异常升高的主要原因^[8]。Lowry et al^[9]研究表明,在炎症条件下, NF- κ B-iNOS-NO途径被激活, iNOS在Ser745位点磷酸化,使iNOS活性增加3~5倍,促进血管系统中NO的水平升高。高浓度的NO与氧化剂结合产生超氧化物和过氧亚硝酸盐,引起内皮细胞损伤,增加血管通透性,促进RV的发生^[10]。C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)

2020-02-12 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: U1803129、81673444)

作者单位: 安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 安徽省高校抗炎免疫药物协同创新中心, 合肥 230032

作者简介: 朱悦, 女, 硕士研究生;

张玲玲, 女, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: llzhang@ahmu.edu.cn;

魏伟, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wwwei@ahmu.edu.cn

可通过氧化修饰下调 eNOS。eNOS 水平的降低激活 TLR4/p38 通路,促进内皮细胞分泌白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6),促进血管炎症反应^[11]。

2 RA 系统性炎症中免疫复合物引起内皮细胞活化

内皮细胞的激活有两种途径: I 型激活是一种快速但短暂的反应,由 G 蛋白偶联受体介导,促进中性粒细胞进入炎症部位; II 型激活是一种较慢但更持久的反应,促炎性细胞因子如 TNF- α 和 IL-1, 激活内皮细胞并招募单核细胞和 T 细胞参与慢性炎症反应^[12]。免疫复合物 (immune complexes, ICs) 和中性粒细胞介导的内皮细胞 II 型激活在 RV 发病中的作用已引起广泛关注。在 RA 中,单核细胞和巨噬细胞通过产生促炎细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 和活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 将自身抗原和 ICs 迁移到炎症部位^[13]。RV 患者循环 ICs 滴度比 RA 患者高,循环 ICs 滴度与 RA 关节外表现呈正相关,关节中的血管更容易受到 ICs 介导的损伤^[14]。微粒 (microparticles, MPs) 是炎症、血管生成、血管损伤和血栓形成的生物效应因子。RA 患者血液循环中,包含 MPs 的 ICs 显著增加,加速内皮细胞损伤^[15]。因此,增强内皮细胞屏障功能可以减轻 ICs 介导的炎症损伤,限制 ICs 沉积和白细胞进入组织。

3 炎症免疫细胞和炎症细胞因子参与内皮细胞活化

RA 系统性炎症下,免疫细胞被激活,促炎细胞因子、趋化因子和黏附分子的大量分泌会促进内皮细胞活化。反过来活化的内皮细胞表达的黏附分子和趋化因子加快和定位炎症过程,促进 RV 的发生。炎症环境下,CD8⁺T 细胞作为启动炎症反应的细胞,在淋巴细胞中的数量超过 CD4⁺T 细胞。CD8⁺T 细胞可被自然杀伤 T 细胞激活,活化的 CD8⁺T 细胞可引起急性内皮细胞损伤,导致炎症和中性粒细胞浸润,浸润中性粒细胞和活化的 CD8⁺T 细胞均可引起血管炎症。无抗原刺激下 CD8⁺T 细胞产生干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ),促进巨噬细胞吞噬病原体以及中性粒细胞吞噬作用,引起内皮细胞功能障碍^[16]。去整合素-金属蛋白酶家族 (a disintegrin and metalloprotease, ADAM) 是一类释放多种膜蛋白的金属蛋白酶家族,其中 ADAM-10 促进不同的趋化因子,如 CXCL16 和 CX3CL1 释放。在 RA 患者炎症

组织中,内皮细胞表面 CX3CL1 高表达,导致单核细胞黏附性增加并募集到病变部位,导致内皮细胞活化并释放细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和 CCL-1^[17]。ICAM-1 作为膜结合分子,与 CCL-1 通过介导白细胞迁移、活化和增殖,募集循环炎症细胞参与 RV 的发展^[18]。

在 RA 中,炎症诱导内皮细胞分泌大量胞外囊泡,胞外囊泡中 ICAM-1 高表达。除此之外,炎症环境还增强了黏附分子 [血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、E-选择素 (E-selectin)],促炎细胞因子 (TNF- α 、IFN- γ 、IL-1、IL-6)、趋化因子 (CXCL16、CX3CL1、CCL-1) 的表达。高水平趋化因子会导致内皮细胞损伤^[19]。IL-6 被认为是引起炎症的因子之一,它可以促进巨噬细胞的原位活化、T 淋巴细胞的分化。高表达的 IL-6 通过激活 JAK2/STAT3 信号通路上调 RhoA, RhoA 是调节血管内皮细胞黏附、运动和细胞骨架的关键调控因子, RhoA 的激活抑制 eNOS 活性,使内皮细胞分泌 ICAM-1 和 VCAM-1,促进细胞间黏附,导致内皮功能障碍和 RV 的发生^[20]。

4 RA 特征性炎症因子 CRP、anti-CCP、RF 等参与内皮细胞活化

CRP 作为全身炎症的生物标志物,参与单核细胞与内皮细胞的黏附、巨噬细胞中 LDL 的积累、血小板聚集、ROS 的产生以及内皮细胞中 NO 的减少,促进 RV 的发生。CRP 与类凝集素氧化低密度脂蛋白受体-1 (lectin-like oxidized LDL receptor-1, LOX-1) 结合,增加 LOX-1 在内皮细胞中的表达,从而促进 LOX-1 摄取 oxLDL 进入内皮细胞,诱导内皮细胞功能障碍。除此之外,CRP 也能与 oxLDL 特异性地结合。LOX-1 作为 oxLDL 的受体,主要在内皮细胞中表达, LOX-1 可以介导 oxLDL 进入内皮细胞,诱导动脉粥样硬化反应和内皮细胞凋亡。因此,CRP、LOX-1 和 LDL 之间的相互作用可能导致内皮细胞功能障碍^[21]。RV 患者通常伴有高水平 RF^[22],并且 Hjeltne et al^[23]报道抗环瓜氨酸肽 (anti-cyclic citrullinated peptide, anti-CCP) 和 IgM-RF 的存在与 RA 患者内皮功能受损有关,但 anti-CCP 和 IgM-RF 导致内皮细胞功能障碍的机制需进一步研究。

5 内皮细胞活化的主要信号通路

5.1 TMAO 通过激活 MAPK/NF- κ B 和 NLRP3/SIRT3/SOD2/mtROS 信号通路活化内皮细胞 近

年来氧化三甲胺(trimethylamine-N-oxide, TMAO)被确定为一种诱导血管炎症的危险因素。TMAO通过丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号转导促进血管炎症,加快RV进程^[24]。NLRP3炎性小体是IL-1 β 家族细胞因子活化蛋白复合物,参与调节先天免疫和炎症反应。在内皮细胞中,TMAO通过激活NLRP3炎性小体促进血管炎症,其中NLRP3炎性小体活化部分是通过抑制SIRT3/SOD2/mtROS信号通路介导的^[25]。90%以上的ROS来自于线粒体,线粒体ROS(mtROS)水平的稳态调节主要过去乙酰化酶(Sirtuin 3, SIRT3)改变线粒体抗氧化酶的乙酰化来调控mtROS水平,与血管内皮细胞氧化应激损伤密切相关。线粒体抗氧化酶主要包括锰超氧化物歧化酶2(manganese superoxide dismutase, SOD2)、异柠檬酸脱氢酶2(isocitrate dehydrogenase 2, IDH2)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)。更重要的是SIRT3可以直接与SOD2结合,使SOD2去乙酰化,导致SOD2活性增加,进而对mtROS稳态和NLRP3炎性小体活化产生显著影响^[26]。

5.2 内皮细胞中高表达的单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)通过CCR-2/NF- κ B/MCPIP/Akt/eNOS/NO信号通路促进内皮细胞功能障碍的发生 MCP-1在系统性血管炎患者中高表达,有可能成为血管炎的生物标志物^[27]。RA发病机制中,关节炎症引起MCP-1的升高,MCP-1与其内皮细胞中趋化因子受体(CC chemokine receptor-2, CCR-2)结合,增加了单核细胞趋化蛋白-1诱导蛋白(monocyte chemotactic protein-induced protein, MCPIP)的NF- κ B转录激活。MCPIP可能是内皮细胞活化的重要分子。促炎细胞因子激活黄嘌呤氧化酶和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸还原形式的氧化酶,产生过量的ROS,导致氧化应激增加。氧化应激状态下,细胞中蛋白质功能被化学修饰,导致NF- κ B异构体 α 抑制剂失活,再次激活NF- κ B转录,升高内皮细胞内MCPIP水平。MCPIP水平的升高导致氧化应激增加,抑制内皮依赖性Akt活性,抑制eNOS活性,降低eNOS来源的NO生物利用度,导致内皮细胞功能障碍,参与血管炎症,促进RV发生(图1)^[28]。

5.3 S1P通过Rho GTPases信号通路破坏内皮细胞屏障功能 鞘氨醇-1-磷酸(sphingosine 1-phos-

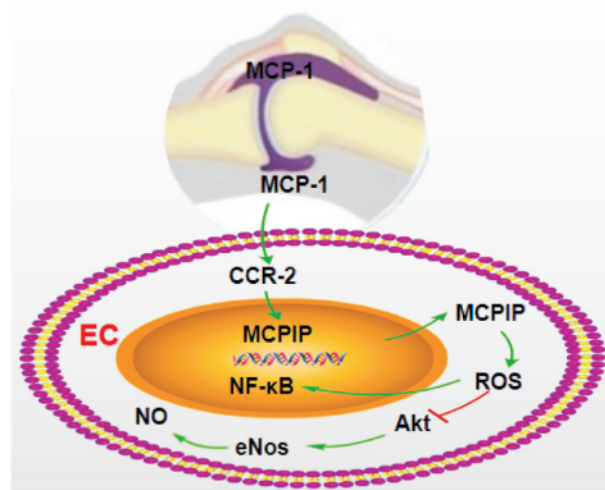


图1 MCP-1参与内皮细胞活化的机制

phate, S1P)主要由红细胞、内皮细胞和活化的血小板分泌,是内皮细胞屏障功能和淋巴细胞从淋巴结和胸腺排出的关键调控因子^[29]。Rho鸟苷三磷酸酶(GTPases)信号通路,尤其是RhoA和Rac1,参与了内皮细胞活化。RhoA和Rac1在调节内皮细胞屏障功能时,对不同S1PRs激活起相反作用。生理水平的S1P可激活S1PR1,通过诱导Rac1信号通路的激活,从而保护内皮屏障功能,而过多的S1P会与S1PR2/S1PR3结合,从而激活RhoA,破坏内皮屏障功能^[30]。因此,RhoA与Rac1的平衡被破坏,将会导致内皮功能受损,促进血管炎症进程,参与RV的发生。

6 总结与展望

总之,内皮细胞功能障碍参与了RV的发生与发展。炎症标志物(CRP、TNF- α 、ox-LDL)下调eNOS来源的NO导致内皮细胞功能障碍。在RA系统性炎症下,活化的巨噬细胞产生大量iNOS来源的NO,引起血管内皮细胞损伤,增加血管通透性。NO长期处于高水平状态会导致T淋巴细胞功能障碍,可加重RA等慢性炎症性疾病。炎症条件下,CD8⁺T免疫细胞被激活,促炎细胞因子(TNF- α 、IFN- γ 、IL-1、IL-6),趋化因子(CXCL16、CX3CL1、CCL4)和黏附分子(ICAM-1、VCAM-1、E-选择素)的大量分泌会引起内皮细胞功能障碍。在内皮细胞中,TMAO激活MAPK/NF- κ B和NLRP3/SIRT3/SOD2/mtROS信号通路活化内皮细胞促进血管炎症;MCP-1激活CCR-2/NF- κ B/MCPIP/Akt/eNOS/NO信号通路降低NO生物利用度,导致内皮细胞功能障碍;S1P通过Rho GTPases信号通路调节内皮

细胞屏障功能,参与血管炎症。而内皮细胞长期处于血管炎症下,会促进 RV 发生与发展。

参考文献

- [1] Puechal X, Gottenberg J E, Berthelot J M, et al. Rituximab therapy for systemic vasculitis associated with rheumatoid arthritis: results from the autoimmunity and rituximab registry [J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012 64(3): 331–9.
- [2] Voskuyl A E, Zwinderman A H, Westedt M L, et al. Factors associated with the development of vasculitis in rheumatoid arthritis: results of a case-control study [J]. *Ann Rheum Dis* 1996 55(3): 190–2.
- [3] Lau C S, McLaren M, Hanslip J, et al. Abnormal plasma fibrinolysis in patients with rheumatoid arthritis and impaired endothelial fibrinolytic response in those complicated by vasculitis [J]. *Ann Rheum Dis* 1993 52(9): 643–9.
- [4] Foster W, Carruthers D, Lip G Y, et al. Inflammation and microvascular and macrovascular endothelial dysfunction in rheumatoid arthritis: effect of treatment [J]. *J Rheumatol* 2010 37(4): 711–6.
- [5] Ley K, Reutershan J. Leucocyte-endothelial interactions in health and disease [J]. *Handb Exp Pharmacol* 2006(176 Pt 2): 97–133.
- [6] Vestweber D. How leukocytes cross the vascular endothelium [J]. *Nat Rev Immunol* 2015 15(11): 692–704.
- [7] Shu X, Keller T T, Begandt D, et al. Endothelial nitric oxide synthase in the microcirculation [J]. *Cell Mol Life Sci* 2015 72(23): 4561–75.
- [8] Chatterjee A, Black S M, Catravas J D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation [J]. *Vasc Pharmacol* 2008 49(4–6): 134–40.
- [9] Lowry J L, Brovkovich V, Zhang Y, et al. Endothelial nitric-oxide synthase activation generates an inducible nitric-oxide synthase-like output of nitric oxide in inflamed endothelium [J]. *J Biol Chem* 2013 288(6): 4174–93.
- [10] Brovkovich V, Zhang Y, Brovkovich S, et al. A novel pathway for receptor-mediated post-translational activation of inducible nitric oxide synthase [J]. *J Cell Mol Med* 2011 15(2): 258–69.
- [11] Stark R J, Koch S R, Choi H, et al. Endothelial nitric oxide synthase modulates Toll-like receptor 4-mediated IL-6 production and permeability via nitric oxide-independent signaling [J]. *Faseb J* 2018 32(2): 945–56.
- [12] Pober J S, Sessa W C. Evolving functions of endothelial cells in inflammation [J]. *Nat Rev Immunol* 2007 7(10): 803–15.
- [13] Mula R V, Machiah D, Holland L, et al. Immune complex-induced, nitric oxide-mediated vascular endothelial cell death by phagocytes is prevented with decoy fcγ receptors [J]. *Plos One* 2016 11(4): e153620.
- [14] Binstadt B A, Patel P R, Alencar H, et al. Particularities of the vasculature can promote the organ specificity of autoimmune attack [J]. *Nat Immunol* 2006 7(3): 284–92.
- [15] Atehortua L, Rojas M, Vasquez G, et al. Endothelial activation and injury by microparticles in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Res Ther* 2019 21(1): 34.
- [16] Kobayashi M, Ogawa E, Okuyama R, et al. In vasculitis of small muscular arteries, activation of vessel-infiltrating CD8 T cells seems to be antigen-independent [J]. *Virchows Arch* 2018 472(2): 271–9.
- [17] Babendreyer A, Molls L, Dreymueller D, et al. Shear stress counteracts endothelial CX3CL1 induction and monocytic cell adhesion [J]. *Mediat Inflamm* 2017 2017: 1515389.
- [18] Moura M F, Navarro T P, Silva T A, et al. Periodontitis and endothelial dysfunction: periodontal clinical parameters and levels of salivary markers interleukin-1β, tumor necrosis factor-α, matrix metalloproteinase-2, tissue inhibitor of metalloproteinases-2 complex, and nitric oxide [J]. *J Periodontol* 2017 88(8): 778–87.
- [19] Murdaca G, Colombo B M, Cagnati P, et al. Endothelial dysfunction in rheumatic autoimmune diseases [J]. *Atherosclerosis* 2012, 224(2): 309–17.
- [20] Wei Z, Jiang W, Wang H, et al. The IL-6/STAT3 pathway regulates adhesion molecules and cytoskeleton of endothelial cells in thromboangiitis obliterans [J]. *Cell Signal* 2018 44: 118–26.
- [21] Stancel N, Chen C C, Ke L Y, et al. Interplay between CRP, atherogenic LDL, and LOX-1 and its potential role in the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Clin Chem* 2016 62(2): 320–7.
- [22] Genta M S, Genta R M, Gabay C. Systemic rheumatoid vasculitis: a review [J]. *Semin Arthritis Rheu* 2006 36(2): 88–98.
- [23] Hjeltne G, Hollan I, Forre O, et al. Anti-CCP and RF IgM: predictors of impaired endothelial function in rheumatoid arthritis patients [J]. *Scand J Rheumatol* 2011 40(6): 422–7.
- [24] Seldin M M, Meng Y, Qi H, et al. Trimethylamine-N-oxide promotes vascular inflammation through signaling of mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-κB [J]. *J Am Heart Assoc* 2016 5(2): e002767.
- [25] Chen M L, Zhu X H, Ran L, et al. Trimethylamine-N-oxide induces vascular inflammation by activating the NLRP3 inflammasome through the SIRT3-SOD2-mtROS signaling pathway [J]. *J Am Heart Assoc* 2017 6(9): e006347.
- [26] Qiu X, Brown K, Hirschey M D, et al. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation [J]. *Cell Metab* 2010 12(6): 662–7.
- [27] Liu S, Li N, Zhu Q, et al. increased serum MCP-1 levels in systemic vasculitis patients with renal involvement [J]. *J Interf Cytok Res* 2018 38(9): 406–12.
- [28] Bianconi V, Sahebkar A, Atkin S L, et al. The regulation and importance of monocyte chemoattractant protein-1 [J]. *Curr Opin Hematol* 2018 25(1): 44–51.
- [29] Proia R L, Hla T. Emerging biology of sphingosine-1-phosphate: its role in pathogenesis and therapy [J]. *J Clin Invest* 2015 125(4): 1379–87.
- [30] Sun X J, Chen M, Zhao M H. Rho GTPases are involved in S1P-enhanced glomerular endothelial cells activation with anti-myeloperoxidase antibody positive IgG [J]. *J Cell Mol Med* 2018 22(9): 4550–4.