

肿瘤坏死因子在缺血性脑血管病发病机制中作用的研究进展^{*}

李娜¹综述,胡晓芳²,郑伟^{1△}审校(1. 辽宁医学院研究生院,辽宁锦州 121001;2. 沈阳军区总医院检验科,沈阳 110016)

【关键词】 肿瘤坏死因子; 缺血性脑血管病; 发病机制

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.22.060 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)22-3435-03

脑血管病已成为危害我国中老年人身体健康和生命的主要疾病,其中缺血性脑血管病在脑血管病中占有 60%~80%。缺血性脑血管病作为脑血管病的重要亚型,具有高发病、高致残及高致死性的特点,长期以来一直缺乏有效的治疗手段,给社会及家庭造成沉重的经济和心理负担。因此对于其发病机制的研究显得尤为重要。近年来,随着对缺血性脑血管病发病机制研究的不断深入,越来越多的证据显示免疫应答与炎症反应、血小板活化等均在缺血性脑血管病发病机制中发挥着重要作用。另有研究显示,肿瘤坏死因子(TNF)作为重要的促炎症因子,其可介导相关炎症反应,并可导致血小板活化。本文针对 TNF 的促炎作用及其对血小板活化的调控两个方面,对 TNF 在缺血性脑血管病发病机制中的作用综述如下。

1 TNF 介导的炎症反应在缺血性脑血管病发病机制中的作用

1.1 TNF 的生物学特性 TNF 主要由活化的巨噬细胞, NK 细胞及 T 淋巴细胞产生,1985 年 Shalaby 把巨噬细胞产生的 TNF 命名为 TNF- α ,把 T 淋巴细胞产生的淋巴毒素命名为 TNF- β 。人类 TNF- α 定位于 6p21.4,长约 3.6 kbp,有 4 个外显子和 3 个内含子,与主要组织相容性复合体(MHC)基因紧密连锁位于人类白细胞抗原 HLA-B 和 HLA-C2 位点之间的人类主要组织相容性复合体Ⅲ(MHCⅢ类)基因区内,由 TNF-A 和 TNF-B 组成,分别编码 TNF- α 和 TNF- β ^[1]。TNF- β 基因位于 TNF- α 基因的 5'端,相隔 1.2 kbp,每个基因约有 3 000 个碱基对,有 4 个外显子和 3 个内含子,其中第 4 个外显子与 TNF- α 高度同源,编码 80%~90%的成熟蛋白质,这些均提示这两个基因来自同一个祖先。TNF- α 有两种受体,分别是相对分子质量为 55 000 的肿瘤坏死因子受体 I(TNFR I)及相对分子质量为 75 000 的肿瘤坏死因子受体 II(TNFR II)。TNF- α 大部分生物学活性是由 TNFR I 所介导,在细胞损伤、细胞的程序性死亡、激活 NF- κ B 等生物活性的传递过程中起重要作用。TNFR II 通过促进 TNF- α 结合 TNFR I 而增加 TNFR I 诱导的作用,同时增加细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的表达。

1.2 TNF 介导的炎症反应与缺血性脑血管病的关系 TNF 主要通过以下方式介导炎症反应:(1)TNF- α 与内皮细胞结合可增加过氧化物阴离子产生,刺激细胞脱颗粒和髓过氧化物酶,从而使内皮细胞分泌白细胞介素(IL-8 和 IL-1)和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等炎症因子增加,并促使中

性粒细胞在内皮细胞上黏附,进而刺激机体局部发生炎症反应;(2)TNF- α 通过刺激单核细胞和巨噬细胞生成并释放 IL-1、IL-8,导致炎症进一步发展扩大^[2]。另有研究表明,TNF- α 通过激活诱导型一氧化氮合酶(iNOS),使 NO 合成增加,进而刺激外周血单核细胞释放 IL-8,使炎症反应进一步加重^[3]。

有研究显示,炎症反应在缺血性脑血管病发病机制中发挥重要作用^[4]。当发生缺血性脑血管病时,由于缺氧等因素可刺激内皮细胞、多形核白细胞和巨噬细胞、小胶质细胞以及星形胶质细胞等一些具有免疫活性的细胞产生细胞因子,如 TNF- α 和 IL-6 等。Martínez-Sánchez 等^[5]认为在脑缺血发生后 12 h 内血浆 TNF- α 浓度达到高峰。TNF 对白细胞具有趋化作用,并可诱导内皮细胞表达 ICAM-1、P-选择素等黏附分子,同时具有神经毒性作用,可诱导神经细胞凋亡并可提高星形胶质细胞内 MHC II 表达,从而引起白细胞滤过及破坏血脑屏障;而 IL-6 可诱导内皮细胞、白细胞、血小板等其基因表达,从而可对大脑产生二次损伤^[6]。由此提示,TNF 通过诱导 ICAM-1、P-选择素等黏附分子表达以及 MHC II 的过度活化从而参与缺血性脑血管病的发生。

1.3 血小板活化及早期凋亡信号的表达在缺血性脑血管病发病机制中的作用 在缺血性脑血管病发病机制中,血小板发挥重要作用。血小板被活化后,可结合于单核细胞、粒细胞,从而削弱内皮下层,因此与动脉粥样硬化炎症过程有关。Park 等^[7]认为 TNF- α 可能调控血小板的活化。Pignatelli 等^[8]报道称 TNF- α 通过激活花生四烯酸途径来活化血小板。

Nagahama 等^[9]认为 TNF- α 等因子可能与血小板活化标志物如 P-选择素(CD62p)及结合素 V 等有关。线粒体内跨膜电位的去极化可引起血小板凋亡,并可表达多种凋亡相关物质如胱天蛋白酶(caspase-3、caspase-8、caspase-9)及 Bax、Bcl-2 等。Cevik 等^[10]发现在缺血性脑血管病发病早期阶段,炎症可引起血小板活化及早期凋亡信号的表达,并且血小板活化及早期凋亡信号的表达增强与血液循环中高浓度的 TNF- α 有关。这可能提示在高浓度的 TNF- α 影响下,血小板可被 TNF- α 引起的相关炎症因子活化,而 TNF- α 释放的相关凋亡蛋白可引起血小板等缺血细胞的早期凋亡。由此提示,血栓形成有关的机制可能在缺血性脑血管病发病机制中发挥作用。

2 TNF 基因多态性在缺血性脑血管病发病机制中的作用

近年来,与环境有关的遗传变异在脑血管病发病机制中的研究日益增多。发生在编码促炎因子基因内的多态性在缺血

* 基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(201102240)。

△ 通讯作者,E-mail:zhengweidr@163.com。

性脑血管病发病机制及预后方面发挥重要作用^[11]。TNF- α 和 TNF- β 均有 4 个外显子及 3 个内含子,是脑血管病发病机制中最复杂的促炎症因子^[1]。

2.1 TNF- α + 488 位 G/A 基因多态性 TNF- α 基因筛查显示,其第 1 个内含子区域下游 488 位存在腺嘌呤与鸟嘌呤替换(G/A),且等位基因 A 与 TNF- α 产生增多有关^[12]。Munshi 等^[13] 研究显示,病例人群中 TNF- α (+488)G/A 基因多态性等位基因及基因型频数与对照组显著不同,且差异有统计学意义,并且发现 AA 基因型及等位基因 A 与缺血性脑血管病有显著关联。其机制均和等位基因 A 与 TNF- α 产生增加有关。血浆高 TNF- α 水平可能会增加血栓形成的风险,因为 TNF- α 可作用于血管内皮,增加毛细血管渗透性,活化血管内皮,引起嗜中性粒细胞在毛细血管及小血管内大量黏附聚集。TNF- α 亦可通过各种机制如血栓形成,内皮素-1 及氮氧化物释放,诱导白细胞聚集及滤过从而破坏血脑屏障及组织损伤等机制使缺血损伤加重,增加梗死面积。在缺血性脑血管病人群中发现其血浆及脑脊液中 TNF- α 浓度增高,TNF 作为重要的促炎症因子,可能作用于缺血性脑血管病的发生及发展。

2.2 TNF- α - 308 位 G/A 基因多态性 在众多研究 TNF- α 基因多态性的文献中,研究较多的有位位于 TNF- α 启动子上游的 -308 位 G/A 基因多态性。但其研究结论不完全一致。可能与种族差异等有关。如 Wawrzynek 等^[14] 对居住在波兰的高加索人群研究发现,病例组与对照组人群中 AA 纯合子、GG 纯合子及 G/A 杂合子数目相近,无明显差异。而 Rubattu 等^[15] 研究显示在意大利青少年人群中 TNF- α 基因变异与缺血性脑血管病有关。Gupta 等^[16] 研究发现 TNF- α G/A 基因多态性可能与高血压及高胆固醇血症有关。

2.3 TNF- β + 252 位 A/G 基因多态性 在 TNF- β 第一个内含子下游 252 位存在单个核苷酸基因多态性,命名为 Nco I 基因多态性(A252G,rs909253),即其存在限制性片段长度多态性(RFLP),此由等位基因 TNFB1 内的鸟嘌呤和 TNFB2 上的腺嘌呤组成。此基因多态性被认为与 TNF- α 转录增加及与包括心肌梗死、缺血性脑血管病等易感性有关^[17]。TNFB1 等位基因含有两个限制性酶切(Nco I)位点分别位于 196、586 bp,TNFB2 则无限制性酶切位点,其等位基因位于 782 bp。而杂合子 TNFB1/B2 含有 3 个片段分别位于 782、586 bp 及 196 bp。TNF- β 等位基因发生在邻近 TNF- α 启动子部位的染色体上,选择性的激活 TNF- α 基因,可能会引起 TNF- α 产生增加^[11]。de Sousa Parreira 等^[11] 研究发现,携带 TNFB2/B2 基因型的缺血性脑血管病患者血浆 TNF- α 水平是其他基因型患者的 4.9 倍,同时携带此基因型的患者其血浆白细胞计数、IL-6 水平、血糖水平、红细胞沉降率等均高于其他基因型,并与疾病预后和脑梗死面积呈正相关,这些均提示此等位基因可能与缺血性脑血管病发病及预后有关。

3 小 结

TNF 作为重要的促炎症因子,其通过介导相关炎症反应及促进血小板活化在缺血性脑血管病发病机制中发挥着重要作用。其主要通过诱导 ICAM-1、P-选择素等黏附分子表达以及炎症细胞因子 MHC II 的过度活化,并且通过花生四烯酸途径引起血小板过度活化进而参与缺血性脑血管病的发生。而 TNF- α 及 TNF- β 基因多态性是导致缺血性脑血管病发生的重要遗传因素。国内外多项研究数据表明 TNF 基因多态性可引起缺血性脑血管病患者血浆及脑脊液内 TNF- α 水平增高。因

此,在缺血性脑血管病发病机制中,对 TNF 的研究至关重要。

参考文献

- [1] Um JY, An NH, Kim HM. TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms in cerebral infarction[J]. Mol Neurosci, 2003, 21(2):167-171.
- [2] Li X, Huang Q, Ong CN, et al. Chrysin sensitizes tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in human tumor cells via suppression of nuclear factor-kappa B[J]. Cancer Lett, 2010, 293(1):109-116.
- [3] Singh U, Kumar A, Sinha R, et al. Calreticulin transacetylase catalyzed modification of the TNF-alpha mediated pathway in the human peripheral cells by polyphenolic acetates[J]. Chem Biol Interact, 2010, 185(3):263-270.
- [4] Bokhari FA, Shakoori TA, Butt A, et al. TNF-alpha: a risk factor for ischemic stroke[J]. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2014, 26(2):111-114.
- [5] Martínez-Sánchez P, Gutiérrez-Fernández M, Fuentes B, et al. Biochemical and inflammatory biomarkers in Ischemic stroke; translation study between humans and two experimental rat model[J]. J Transl Med, 2014, 12:220-223.
- [6] Wang Q, Tang XN, Yenari MA. The inflammatory response in stroke[J]. J Neuroimmunol, 2007, 184(1/2):53-68.
- [7] Park KM, Bowers WJ. Tumor necrosis factor-alpha mediated signaling in neuronal homeostasis and dysfunction[J]. Cell Signal, 2001, 22(7):977-983.
- [8] Pignatelli P, De Biase L, Lenti L, et al. Tumor necrosis factor-alpha as trigger of platelet activation in patients with heart failure[J]. Blood, 2005, 106(6):1992-1994.
- [9] Nagahama M, Nomura S, Ozaki Y, et al. Platelet activation markers and soluble adhesion molecules in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Autoimmunity, 2001, 33(2):85-94.
- [10] Cevik O, Adikuzel Z, Baykal Z, et al. The apoptotic actions of platelets in acute ischemic stroke[J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(12):6721-6727.
- [11] de Sousa Parreira J, Kallaur AP, Lehmann MF, et al. Tumor necrosis factor beta Nco I polymorphism (rs909253) is associated with inflammatory and metabolic markers in acute ischemic stroke[J]. Metab Brain Dis, 2015, 30(1):159-167.
- [12] Jongeneel CV, Beutler B. Genetic polymorphism in the human TNF region: correlation or causation? [J]. J Inflamm, 1995-1996, 46(1):iii-vi.
- [13] Munshi A, Rajeshwar K, Kaul S, et al. Association of tumor necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinase-3 gene variants with stroke[J]. Europe, 2011, 18(8):1053-1059.
- [14] Wawrzynek A, Dobiala J, Wender M, et al. TNF-alpha gene G-308A polymorphism and the risk of ischemic stroke [J]. Neurol Neurochir, 2014, 48(6):387-390.

- [15] Rubattu S, Speranza R, Ferrari M, et al. A role of TNF- α gene variant on juvenile ischemic stroke: a case-control study[J]. Eur J Neurol, 2005, 12(12): 989-993.
- [16] Gupta V, Gupta A, Jafar T, et al. Association of TNF- α promoter gene G-308A polymorphism with metabolic syndrome, insulin resistance, serum TNF- α and leptin levels in Indian adult women[J]. Cytokine, 2012, 57(1): 32-36.

- [17] Wang X, Cheng S, Brophy VH, et al. A meta-analysis of candidate gene polymorphisms and ischemic stroke in six study populations: association of lymphotoxin- α in non-hypertensive patients[J]. Stroke, 2009, 40(3): 683-695.

(收稿日期: 2015-03-25 修回日期: 2015-08-15)

• 综 述 •

肿瘤细胞休眠的新机制研究进展

李明¹综述, 刘跃亮^{2△}审校(1. 重庆市巫溪县人民医院检验科 405800; 2. 重庆市中医院检验科 400000)

【关键词】 肿瘤转移; 肿瘤复发; 肿瘤细胞休眠

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 22. 061 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)22-3437-03

生物细胞休眠是普遍存在于生物界的一种自然现象。近年来众多研究表明, 肿瘤细胞休眠是肿瘤复发和远处转移的主要原因。对肿瘤细胞休眠机制研究, 目前较明确的机制, 如各种因素激活休眠相关基因、暂时性抑制肿瘤血管生成、肿瘤细胞自身的免疫逃逸、生物体癌基因与抑癌基因之间的相互作用、信号转导的分子机制等因素。然而, 研究的主要目的是发掘更有效的肿瘤治疗方法与手段, 如通过有意地促进肿瘤细胞休眠, 延缓肿瘤转移与复发, 抑制恶性肿瘤的快速进展, 在早期即抑制肿瘤的发展等。本方通过阅读大量文献, 收集并整理针对肿瘤细胞休眠的新思路、新方法及通过建立各种实验动物模型并进行科学观察得出的最新进展, 为肿瘤治疗新方法、新思路提供有力的科学依据和理论支持, 现综述如下。

1 肿瘤转移和复发

肿瘤患者死亡的主要原因就是肿瘤转移和(或)抗肿瘤治疗后复发, 而且在早期并没有发现转移或复发的任何迹象。这种令人费解的临床现象, 成为现代肿瘤学理论研究人员的热点与重点。肿瘤细胞分散地存在并且播散到机体的其他部位或组织, 多数学者认为这可能在肿瘤诊断的早期就已经发生。对肿瘤患者实施辅助治疗, 通常被认为可以有效预防局部肿瘤复发或可以靶向抑制残留病灶内的肿瘤细胞。临床数据表明部分患者通过辅助治疗得到一定的治疗效果, 但是, 不是所有患者都能获得同样的效果。有研究数据证实, 残留病灶内散在的肿瘤细胞, 其生物学特性与原发肿瘤或已经发生转移的肿瘤细胞的生物学特性有很大差异, 造成这种差异的主要原因是分散于病灶内的肿瘤细胞可以使患者无任何临床症状和不表达可检测到的肿瘤分子标记, 而且可以进入休眠状态, 对靶向治疗药物或常规抗肿瘤药物不敏感或逃避。如乳腺癌患者中, 大约有 62% 的患者在 5 年内再次产生可检测到的肿瘤标记物^[1], 这些结果或许在暗示分散的肿瘤细胞可以引起复发。因此, 通过靶向抑制分散的休眠中的肿瘤细胞, 或许可以延长更多肿瘤患者的生存期。

2 肿瘤细胞休眠的新机制

2.1 肿瘤细胞早期分散并进入休眠状态 肿瘤细胞早期就出

现分散现象, 而且具有异质性^[2], 这群细胞被从休眠中唤醒后, 在周围微环境适宜的条件下, 可能再次诱发肿瘤复发。肿瘤细胞进入休眠状态, 有其独特的机制, 与发生转移的肿瘤细胞不同。转移的肿瘤细胞, 先在经过上皮细胞与间叶细胞之间的过渡转换^[1], 这种过渡细胞可能会稍晚于肿瘤细胞发生分散。早期发生分散的肿瘤细胞, 先经过长时间的休眠, 再过渡为可转移的肿瘤细胞^[3]。关于肿瘤细胞团早期发生分散, 目前可获得的研究数据表明, 首先, 早期分散的肿瘤细胞经过独自的分化并最终发展为与原发肿瘤细胞不同的生物学特性^[1], 这解释了为什么常规抗肿瘤治疗没有明显的效果; 其次, 实验动物模型研究表明, 发生分散的肿瘤细胞处于休眠状态, 这得到了临床证据支持^[4], 长时间的休眠和分散, 使得这部分肿瘤细胞对常规抗肿瘤治疗不敏感, 成为后期复发的源头。此外, 转移生态位学说认为, 早期发生分散的肿瘤细胞在机体内其他部位获得了一定的营养物质支持^[5]。早期分散的肿瘤细胞会主动发展为肿瘤转移, 即使这部分细胞一直处于休眠状态, 这表现为早期分散的肿瘤细胞和发生转移的肿瘤细胞有着密切的关系, 早期分散的肿瘤细胞群可以逃避抗肿瘤药物而生存下来^[6], 成为晚期肿瘤转移的源头。原发肿瘤与复发肿瘤细胞之间, 其生物学特性是有差异的, 这种差异体现在残留于患者体内休眠的肿瘤细胞所表现出来的独特的生物学特征。

2.2 休眠中的肿瘤细胞

有关肿瘤休眠, 最早期是 20 世纪 40 年代由 Wilis 等人研究发现并命名; 后来, 被 Hadfield 等人再次进行了较详细的描述。这两篇文献都源于在研究中观察到肿瘤细胞有丝分裂周期停滞和细胞增殖抑制。休眠, 被形容为三种形式: 细胞休眠, 通过内在的或外在的机制使实体肿瘤细胞或分散的肿瘤细胞处于沉默状态^[7]; 血管生成休眠, 即肿瘤细胞团块内部, 存活的分散的肿瘤细胞与因血管生成不良而死亡的肿瘤细胞之间的平衡; 免疫介导的休眠, 即肿瘤细胞团块内细胞本身分泌的毒素物质的作用^[8]使该团块细胞数量保持相对平衡。临床研究表明, 散在的单个肿瘤细胞是不具有增殖能力的, 因为不能检测到任何细胞增殖相关标记物信息, 这可能是细胞休眠的真实表现方式。另有学者将这一现象描述

△ 通讯作者, E-mail: oliu6688@163. com。