

血管活性肠肽的免疫调节作用

王 伟 李伟毅*

(上海第二医科大学, 上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要 血管活性肠肽作为神经和内分泌系统中一种多功能的神经递质和神经调节因子, 在上述两个生理系统中发挥重要的调节作用; 同时也对机体免疫系统起着重要的作用, 尤其是在局部黏膜免疫中起着一定的调节作用。血管活性肠肽通过它的两个受体 VPAC1 和 VPAC2 发挥生物效应。

关键词 血管活性肠肽; 免疫调节; VPAC1; VPAC2

血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP) 是中枢和外周神经系统的重要递质, 能引起平滑肌舒张和血管扩张以及神经的去极化; 调节水盐代谢, 促进某些酶类和激素的释放, 增强破骨细胞活性; 还可促进或抑制某些肿瘤细胞或正常细胞的增殖^[1]。VIP 作为神经和内分泌系统中一种多功能的神经递质和神经调节因子, 在免疫的微环境中发挥着复杂的作用^[2], 尤其是在局部黏膜免疫中起着一定的调节作用。

1 VIP 分子和 VIP 受体

1.1 VIP 分子

神经肽在联接免疫与神经两大系统中起重要作用。VIP 分子为一直链肽, 由 28 个氨基酸残基构成, 分子量 3323 Da, 属胰高血糖素-胰泌素家族。VIP 在体内的分布极其广泛, 可表达在不同的部位。VIP 主要由中枢和外周神经系统产生^[3]。许多免疫细胞也产生少量 VIP, 如肥大细胞、嗜酸性粒细胞以及多形核细胞等, 尤其是活化的淋巴细胞可表达和分泌 VIP^[4,5]。此外, 某些肿瘤细胞, 如胃癌、结肠癌细胞也自行分泌一定量的 VIP。不同部位 VIP 的含量差异明显, 以中枢神经系统和外周神经末梢周围的 VIP 含量最高, 外周血中的含量最低^[1]。近年来发现 VIP 在胃肠道、上呼吸道和生殖道黏膜表面广泛分布, 并有重要的免疫调节作用^[1]。

VIP 可由抗原刺激的 Th2 细胞产生, 主要在获得性免疫中发挥抗炎效应^[6]。在特异性抗原刺激下, 来源于 TCR 转基因小鼠的 Th2 和 T2 (根据默克诊疗手册第 17 版注, CD8⁺T 细胞分两型 T1 和 T2) 细胞表达 VIP mRNA, 并分泌 VIP, 且 VIP 不同程度地

影响着 Th1 和 Th2 细胞。原先认为 VIP 是 T 细胞和巨噬细胞的负调性因子, 现在认为 VIP 亦是一种有利的抗炎因子^[7]。

1.2 VIP 受体

VIP 受体(VIP-R)是一种与 G 蛋白偶联的 7 次跨膜糖蛋白, 含有 362 个氨基酸, 与 IL-8 受体属同一家族。VIP-R 中含有 4 个有效的 N-糖基化部位, 连续 3~4 条唾液酸化的 N-型复合寡糖链, 形成与 VIP 相结合的位点。VIP 受体因所含糖基量不同, 与 VIP 的亲合力也因此而不同, 表现出一定的异质性。按其亲合程度, 大致分为高亲合力和低亲合力受体两种, 同一细胞往往同时存在这两类受体^[1]。这两种不同的 VIP 受体已经被克隆和定性, 第 1 个受体 VPAC1 [由 VIP 的首字母 V 和垂体腺苷酸环化酶活性肽 pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) 的前 3 个字母合并得到的] 即高亲和性 VIP-R。VPAC1 表达在中枢神经系统、肺组织和其他的组织中表面。第 2 个受体 VPAC2 为低亲和性 VIP-R, 与 VIP 和 PACAP 有相对的亲合性, 也已经在小鼠、大鼠和人类组织中发现^[6]。高或低亲和性的 VIP-R 与 VIP 结合后, 受体蛋白构象发生改变而活化, 经鸟苷酸结合蛋白介导激活腺苷酸环化酶, 引起细胞内 cAMP 水平增高, 从而激活 cAMP 依赖的蛋白激酶, 导致细胞产生一系列代谢变化, 介导 VIP 的生物效应。VIP-R 在体内的分布非常广泛, 在正常胃肠道上皮、腺体细胞、胰腺的腺泡

收稿日期: 2004-07-28 接受日期: 2004-11-24

上海市教育委员会科研项目资助 (No.04BB21)

* 通讯作者。Tel: 021-63846590-776442, Fax: 021-63846383,

E-mail: liweiyi@shsmu.edu.cn

上皮、肺组织的上皮细胞、单核、淋巴细胞等以及来源于内胚层的肿瘤细胞, 如胃癌、结肠癌细胞都表达 VIP-R。有人推测 VIP 与 VIP-R 结合后进入细胞内与核受体结合可引起肿瘤细胞生物学行为发生改变^[1]。近几年发现许多免疫活性细胞不仅能释放少量 VIP, 且在其表面也表达高亲和性 VIP-R。

小鼠转入人的 VPAC2 基因后, 能选择性地使 CD4⁺T 细胞上组成性表达 VPAC2, 且引起血液中 IgE、IgG1 的浓度与嗜酸性粒细胞的数量增加, 加强速发型超敏反应, 抑制迟发型超敏反应。这些差异和 Th2/Th1 型细胞因子的相对平衡有关。来源于转基因鼠 T 细胞产生的 VIP 能够使 CD4⁺T 细胞分泌的已经升高的 IL-4 量趋于正常、减少 IL-4 和 IL-10 的分泌、提高 IFN- γ 的分泌。外源性的 VIP 作用于野生型鼠和 VPAC2 基因剔除鼠的 CD4⁺T 细胞 (VPAC2 的模型是通过用标准的方法破坏 VPAC2 的第 1 个编码的外显子, 然后与 C57BL/6 进行回交得到), 可促进激活的 CD4⁺T 细胞进一步分泌 IL-4 和 IL-10, 抑制 IFN- γ 的分泌量。此外 VIP 水平在介导 Th 细胞亚群的活化中也起主要作用^[6]。

VIP 的受体在转基因鼠的免疫调节中发挥关键性作用。通过对特异性皮炎与对照组织以及人肥大细胞系 1 中 VPAC2 表达情况的观察, 发现 VPAC2 mRNA 和蛋白质高水平地在外周环绕 VIP 阴性神经纤维的肥大细胞上表达。在变应性皮炎的急性损伤中, 人肥大细胞 VPAC2 的下调则暗示着这种 G 蛋白偶联的受体在疾病的病理生理过程中的作用^[6]。

在免疫功能中 VIP 发挥着有效的抗增殖和抗炎作用, VPAC1 和 VPAC2 则调节 VIP 的生物效应。VIP 对于 T 细胞选择性的作用是由 VPAC1 和 VPAC2 在 T 细胞和单核细胞上选择性表达所决定。VPAC1 组成性地在静止 T 细胞和单核细胞上表达; 单核细胞和 CD4⁺T 细胞的表达水平要显著地高于 CD8⁺T 细胞; 相对于 VPAC2 来说, VPAC1 mRNA 在静止的 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞中的表达更高。在一定的刺激条件下, T 细胞表面 VPAC1 表达下调。因此 VPAC1 在 CD4⁺T 细胞亚群表达的下调与 T 细胞的活化程度相关^[8]。

VPAC1 和 VPAC2 在 T 细胞亚群的分化中起调节作用。VPAC1 组成性高表达在 T 细胞表面, 尤其是 Th 细胞, VPAC2 则表达在初始 Th 细胞表面。在 Th 细胞受刺激的过程中, VPAC2 的表达上调, VPAC1 则下调^[9]。这种现象暗示着 VPAC2 是 VIP 影

响活化 Th 细胞的重要转换器。过度表达 VPAC2 的转基因鼠出现明显的 Th2 型反应, 比如表现为血中 IgG1、IgE 升高和嗜酸性粒细胞增多, 从而导致迟发性超敏反应的减弱和皮肤过敏反应的增强^[10]。VPAC2 基因剔除鼠则表现出明显的 Th1 型反应, 特征是促进迟发性超敏反应和抑制皮肤过敏反应^[11]。

2 VIP 的生物学功能

2.1 VIP 对细胞因子产生的调节

VIP 是一种表达在淋巴微环境中的神经肽, 它作为一种有效的抗炎因子能抑制活化的巨噬细胞或单核细胞。已证明 VIP 能抑制 IL-6、TNF- α 、IL-12 和趋化因子的产生, 并且能抑制由内毒素激活的巨噬细胞产生 NO。此外以剂量和时间依赖的方式, 在 mRNA 的水平上 VIP 能抑制 IL-8 的产生, 这种抑制效应是由特异 VPAC1 受体介导的^[12]。

VIP 可能通过抑制 NF- κ B 依赖的 IL-8 基因的活化而发挥作用。特异性 VPAC1 受体介导的抑制效应涉及两条信号转导途径: 主要的一条是 cAMP 非依赖途径, 它优先阻断了 NF- κ B 参与的蛋白质翻译过程以及 NF- κ B 与 IL-8 基因启动区 κ B 位点的结合; 另一条是 cAMP 依赖途径, 通过抑制 cAMP 反应元件结合蛋白的结合蛋白 (cAMP response element binding protein-binding protein, CREB-binding protein, CBP) 和 TATA 结合蛋白 (TATA-binding protein, TBP), 从而抑制两者的 IL-8 启动子的活化和结合。两条信号转导途径的辅助因子都必须依赖 NF- κ B 的活化。上述发现支持了 VIP 作为内源性抗炎因子的作用, 并且描述了一种新的机制, 即通过抑制单核细胞产生 IL-8 发挥作用, 它的生理意义是极其明显的。因为 VIP 通过抑制 IL-8 的产生能够减少单核细胞诱导的中性粒细胞的趋化和浸润, 这是多种炎症与自身免疫疾病发病机制中的一个重要事件^[13]。

VIP 对肠上皮有重要的调节功能, 例如黏液和氯化物的分泌, 旁细胞的渗透以及细胞的增殖。但是, 它对肠上皮趋化因子产生的调节作用尚不清楚。一项旨在确定 VIP 能否调节肠上皮 IL-8 的产生及细胞内发挥效应的研究显示: 对于人类结肠上皮细胞系 HT29-C1.16E, VIP 能以剂量依赖的方式调节 IL-8 的分泌。而蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 的抑制剂 PKI 则不能清除 VIP 的效应。然而通过抑制胞外信号反应性激酶 1/2 (extracellular signal response kinase 1/2, ERK1/2) 和 p38 促分裂原活化蛋白激酶

(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导途径, 则能够减少由VIP刺激而引起的IL-8的分泌及其mRNA水平的表达。同时也有结果表明VIP能够通过PKA非依赖的途径和MAPK依赖的途径来刺激肠上皮细胞产生IL-8。这些结果表明VIP能经PKA非依赖途径和MAPK依赖途径, 通过调节肠上皮IL-8的分泌来发挥其重要的免疫调节作用^[14]。

VIP能诱导体外培养的巨噬细胞产生Th2型细胞因子(IL-4, IL-5)、抑制其产生Th1型细胞因子(IFN- γ 和IL-2)。经抗原免疫的小鼠用VIP处理后, 产生IFN- γ 的Th1细胞数量下降, 产生IL-4的Th2细胞数量则升高^[13]。同时, VIP能抑制Th1型细胞因子例如IL-2和增强Th2型细胞因子如IL-5的分泌。

2.2 VIP对T细胞的调节

为了观察P物质(SP)、血管活性肠肽(VIP)和神经肽Y(NPY)在大鼠胸腺的分布及与T细胞发育的关系, 用免疫组织化学ABC法对大鼠胸腺内所含SP、VIP、NPY神经纤维进行定位观察, 结果发现具有免疫反应性的胸腺肽能神经主要位于髓质, 在皮、髓质交界区的血管平滑肌上也有表达。这说明胸腺内有丰富的肽能神经分布, VIP、SP可能参与成熟T淋巴细胞的功能调节, VIP、NPY可能参与调控T淋巴细胞迁移^[15]。

最近的研究表明, 淋巴细胞来源的VIP作为一种重要的内源性T细胞分化辅助因子, 能促进Th2型免疫应答, 抑制Th1型免疫应答。其调控是通过几种机制进行的, 如优先维持Th2效应细胞存活和记忆性Th2细胞产生。上述结果表明在风湿性关节炎和Crohn's等Th1型自身免疫性疾病的模型中, VIP发挥了一定的作用^[16]。

VIP与Th2细胞间的联系涉及到一个正反馈环路。内源性和外源性的VIP都能够促进体内Th2型免疫应答, 淋巴细胞来源的VIP在Th1和Th2的平衡上的作用已经被证实。Vassiliou等^[17]报道, 在稳定的VPAC1的转染子中, 在抗原刺激下, Th2细胞分泌的功能性VIP的作用是由cAMP(它是T细胞中VIP的第二信使)介导的。进一步的研究证实, 在Th2型免疫应答的效应中, VPAC2基因剔除鼠无法展现VPAC2所涉及的作用, 这说明VPAC2的缺失并不影响内源性的VIP在免疫应答中的作用^[11]。最近证实, 转基因鼠中Th2来源的内源性VIP能介导、维持Th2的极化^[6]。在慢性炎症性肉芽肿中, Th2效应细胞IL-4分泌的减少, 抑制了VIP在巨噬

细胞中的表达^[18]以及VPAC2在Th2细胞中的表达^[19]。

这些发现表明在抗原刺激下, Th2细胞产生和分泌的VIP参与了Th2的自身调节环路; VIP引起的Th2极化包括在Th1和Th2发育水平上的作用, 或者作用于APC, 亦或是在已经发育好的效应细胞水平上的作用; 通过选择性地促进Th2的增殖、存活以及扩增^[2]。另外, VIP促进Th2细胞的发育和长期存活也与免疫豁免有关^[16]。

VIP至少通过两条与Th1和Th2效应细胞有关的途径作用于APC。第一条是VIP抑制活化巨噬细胞分泌IL-12^[20], 因为Th1细胞的分化主要是由IL-12驱动的; APC表面上的B7-1和B7-2对于Th2的进一步发生显然是重要的^[21], 故在另一条途径中VIP能够诱导B7-2在静止巨噬细胞和未成熟树突状细胞的表达, 从而促进Th2型的免疫应答^[22,23]。

此外, VIP能够通过作用于正在分化的CD4⁺T细胞直接地促进Th2细胞的发生^[22]。同时, VIP对于已经活化的Th1和Th2效应细胞亦有作用。VIP支持Th2细胞的存活, 可能也能促使其增殖, 这种效应可能是通过Th2(而非Th1)效应细胞的VIP从而阻止其凋亡^[24]。VIP系通过抑制FasL的表达而使Th2细胞免遭克隆清除^[25]。而VPAC2转基因鼠的T细胞和鼠的血吸虫病模型的研究已经表明, 受体的差异表达也可能是一个合理的解释^[26], 在不同部位, T细胞表达的VIP-R的亚型是不同的, VPAC1和VPAC2在炎症中有着不同的生理作用。在Th1和Th2效应细胞上尚未发现VIP受体密度存在差异^[24]。

VIP能否影响在炎症和抗原活化位点Th效应细胞的选择性招募, 主要是由趋化因子和其受体的表达来控制的^[27]。实验表明, VIP能够刺激脾脏和树突状来源的MDC(巨噬细胞来源的趋化因子, CCL22)的产生、抑制IP-10(IFN- γ 诱导的蛋白质10, CXCL10)的产生, 从而促进Th2细胞的特异性招募^[23,28]。

VIP和PACAP能抑制抗原诱导的CD4⁺T细胞的凋亡, 同时在记忆性T细胞的产生中发挥了重要的作用^[25]。

细胞因子是指由免疫细胞分泌的蛋白质或多肽, 主要在局部以自分泌或旁分泌的方式通过多重作用发挥免疫调节和免疫效应等生物学功能。据此, 则VIP能否根据其特征被视为Th2型细胞因子? 假如当时Said和Mutt最初是在免疫系统中而非

小肠中描述 VIP, 那么, 就有可能把 VIP 作为一种细胞因子(例如 IL-X)而不是神经肽来讨论^[2]。

2.3 VIP 对树突状细胞的调节

树突状细胞(dendritic cell, DC)是最重要的专职抗原递呈细胞, 在启动初次免疫应答中起关键作用; 同时也是天然免疫和获得性免疫之间的纽带和桥梁。VIP 或 PAPCP 在树突状细胞发育和功能方面的作用远未被人所知。已知骨髓来源的 DC 表达 VIP 或 PAPCP 的受体, VIP 和 PAPCP 能上调未成熟 DC (IDC)表面 CD86 分子的表达, 介导 IDC 在体内和体外刺激 T 细胞增殖和分化为 Th2 效应细胞。作为对照, 对于经 LPS 刺激的 DC 来说, VIP 或 PAPCP 通过下调 CD80 或 CD86 的表达, 能明显降低它们刺激 T 细胞增殖和分泌 Th1 和 Th2 型细胞因子的能力。VIP 或 PAPCP 对于 IDC 和经 LPS 刺激的 DC 的效应主要是通过 VPAC1 介导的。这些结果表明 VIP 和 PAPCP 能不同程度地影响着 IDC 和成熟 DC 及其功能。在较弱的病理反应状态下, VIP/PAPCP 能促进 Th2 型免疫应答, 它是通过促进抗体产生而不引起急性炎症起到保护作用的, 这尤其适用于一些免疫豁免部位。由 VIP/PAPCP 诱导的 Th2 型的偏向性应答可能是由一些联合效应介导的, 包括 DC, 巨噬细胞或直接作用于 Th2 效应细胞。然而在明显的病理反应状态下, 在体外通过 LPS 刺激, VIP、PAPCP 这些免疫功能神经肽则表现出抗炎效应^[29]。

3 VIP 与临床疾病的关系

3.1 VIP 与肿瘤

有报道称 VIP 能抑制某些肿瘤如结肠癌的生长; 同时, 亦有报道某些肿瘤能分泌一定量的 VIP, 影响周围免疫细胞的增殖和活化, 如能抑制 Th1 细胞的活化, 增殖, 推测 VIP 在某些情况下能促进肿瘤的免疫逃避。

3.2 VIP 与特应性皮炎

在人的特应性皮炎(atopic dermatitis, AD)疾病的模型中, 发现 G 蛋白偶联的 VIP 受体在人类疾病中能起一定作用。VIP 广泛表达于皮肤组织中, 它作为一种具有多种生物功能的介质包括神经传递, 控制局部血流和免疫应答, 可能参与了变应性皮炎的发生^[6]。

3.3 VIP 与炎症

白介素 8 (IL-8)在炎症反应、造血以及血管生

成方面发挥着有利的和主要的作用, 但 IL-8 的过量产生对宿主又是有利的。VIP 选择性抑制 IL-8 的作用带来了治疗前景^[12]。

3.4 VIP 与自身免疫性疾病

从病理的角度来看, 一些最近的研究开辟了一条可能的途径: 用 VIP 以及它的类似物来治疗自身免疫性疾病。VIP 被应用于胶原诱导的关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)的开始及形成阶段^[31], 这也部分解释了 VIP 在风湿性关节炎和 Crohn's 的模型中 VIP 所显示的疗效^[16,17]。

总之, VIP 是体内一种具有广泛生物活性的分子, 它在免疫系统的作用还刚刚被人们发现。其它在免疫系统中的作用以及在免疫调节、黏膜免疫、自身免疫性疾病、慢性炎症以及肿瘤治疗方面的作用还有待进一步研究。

参考文献 (References)

- [1] 喻召才等. 国外医学免疫学分册, 1999, 22: 99
- [2] Delgado M et al. *Trends Immunol*, 2003, 24: 221
- [3] Bellinger DL et al. *Ann N Y Acad Sci*, 1990, 594: 17
- [4] Gomariz RP et al. *Regul Pept*, 1994, 50: 177
- [5] Martinez C et al. *J Neuroimmunol*, 1999, 93: 126
- [6] Voice JK et al. *J Immunol*, 2003, 170: 308
- [7] Delgado M et al. *J Immunol*, 2001, 166: 2907
- [8] Lara-Marquez M et al. *J Immunol*, 2001, 166: 2522
- [9] Gomariz RP et al. *Curr Pharm Des*, 2001, 7: 89
- [10] Voice JK et al. *FASEB J*, 2001, 15: 2489
- [11] Goetzl EJ et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 13854
- [12] Delgado M et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 301: 825
- [13] Delgado M et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302: 275
- [14] Toumi F et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 317: 187
- [15] 张莲香等. *陕西医学杂志*, 2004, 33: 14
- [16] Delgado M et al. *Nat Med*, 2001, 7: 563
- [17] Vassiliou E et al. *Arch Physiol Biochem*, 2001, 109: 365
- [18] Metwali A et al. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 283: G115
- [19] Metwali A et al. *FASEB J*, 2000, 14: 948
- [20] Delgado M et al. *J Neuroimmunol*, 1999, 96: 167
- [21] Ranger AM et al. *Int Immunol*, 1996, 8: 1549
- [22] Delgado M et al. *J Immunol*, 1999, 163: 3629
- [23] Ganea D et al. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2003, 49: 127
- [24] Delgado M et al. *FASEB J*, 2002, 16: 1844
- [25] Delgado M et al. *J Immunol*, 2000, 164: 1200
- [26] Metwali A et al. *J Immunol*, 1996, 157: 265
- [27] Sallusto F et al. *Immunol Today*, 1998, 19: 568
- [28] Jiang X et al. *J Neuroimmunol*, 2002, 133: 81
- [29] Delgado M et al. *J Leukoc Biol*, 2004, 75: 1122
- [30] Hejblum G et al. *Cancer Res*, 1988, 48: 6201
- [31] Zafirova Y et al. *Int Immunol*, 2004, 16: 1125

The Role of Vasoactive Intestinal Peptide in Immunomodulation

Wei Wang, Wei-Yi Li*

(Shanghai Institute of Immunology, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025, China)

Abstract Vasoactive intestinal peptide (VIP) is a neurotransmitter and neuroregulation factor that has multifunction in the neural system and the endocrine system, it plays an important role of the regulation; at the same time, it also plays important role in the immune system, especially it plays a definite role in the local mucous membrane immunity. VIP exerts biological effect through its two receptors VAPC1 and VAPC2.

Key words vasoactive intestinal peptide; immunomodulation; VAPC1; VAPC2

Received: July 28, 2004 Accepted: November 24, 2004

This work was supported by the Project of the Shanghai Education Committee (No.04BB21)

*Corresponding author. Tel: 86-21-63846590-776442, Fax: 86-21-63846383, E-mail: liweiyi@shsmu.edu.cn