

肥大细胞活化及生存

康丽娜 王勇** 韩晓冬 邹翔*

(南京大学医学院 南京 210093 *瑞典乌普萨拉大学病理系 瑞典 乌普萨拉 SE-75185)

摘要 肥大细胞受各种刺激物的激活,脱颗粒释放生物活性介质,并藉此参与多种人类疾病。与其他炎症细胞不同,活化后的肥大细胞可继续生存。目前已知某些因素与肥大细胞的长寿相关,如细胞因子、某些分泌型磷脂酶 A2(sPLA2)、IgE 单体(mIgE)及 Bcl-2 家族基因 A1。深入研究肥大细胞活化后生存的机制将有助于提供治疗肥大细胞相关疾病的有效靶干预。本文综述了肥大细胞的活化及生存的研究动态。

肥大细胞(mast cells)来源于 CD34⁺的骨髓多能造血干细胞^[1],是一种异质性细胞群体。以往人们认为肥大细胞参与速发型超敏反应及变态反应的急性期,近年来肥大细胞在变态反应晚期及非变态反应中的作用逐渐被确认^[2]。脑内肥大细胞的存在,可能对中枢神经系统介质的释放有重大贡献,因此与某些疾病如多发性硬化症相关^[3];肥大细胞通过释放颗粒产物,刺激成纤维细胞及内皮细胞的迁移与增殖,从而促进组织重构,血管发生,进而伤口愈合^[4,5];肥大细胞的产物类胰蛋白酶,作为有效的成纤维细胞生长因子,参与了不育男性生精小管管壁的增厚及睾丸的其他变化^[6];肥大细胞通过释放促炎因子及相关的酶等,在动脉粥样硬化的发病过程中亦发挥一定作用^[7];最近 Lee 等指出,小鼠肥大细胞经由其表面自身抗体及补体等的受体,在关节炎的发病机制中起着细胞桥梁的作用^[8]。肥大细胞在多种疾病中的作用与其活化并释放活性介质密切相关。随着分子生物学的发展,人们对肥大细胞的活化及生存有了进一步的认识。

一、肥大细胞的活化

组织中的肥大细胞可被多种刺激物激活,从而脱颗粒释放生物活性介质。经典的变态反应是由多价抗原被肥大细胞膜 FcεRI 结合的特异性 IgE 捕捉,导致 FcεRI 交联而引起的。肥大细胞也可被一系列能直接致 FcεRI 交联的物质活化,如外源凝集素 PHA 及 ConA。此外,一些生理性刺激物也可促使肥大细胞脱颗粒,其中最重要的当属补体活化产物 C3a 与 C5a。其他的非免疫激动剂如钙离子载体(ionomycin 与 A23187),蜂毒素肽,腺苷, C48/80,神

经肽(P 物质),及某些药物(ACTH,可待因,吗啡)亦可激活肥大细胞。有人指出,许多细胞因子也可直接激活肥大细胞,如干细胞因子(stem cell factor, SCF)^[9]。

1. FcεRI 交联介导的肥大细胞的活化

FcεRI 是 IgE 高亲和力受体,由一条 α 链、一条 β 链和二硫键连接 γ-γ 二聚体组成。当被固定于细胞膜上的 IgE 捕获的多价变应原致肥大细胞膜表面 FcεRI 交联时,引发了磷酸盐转移级联事件,导致其 γ 链 C 端免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM)的磷酸化及 Lyn 和 Syk 蛋白酪氨酸激酶(PTK)活化;后者紧接着调节 Ras 及磷脂酶 Cγ(PLCγ)途径,导致一系列下游事件的发生,如胞浆内 Ca²⁺ 浓度升高,蛋白激酶 C(PKC)的磷酸化;而后调节蛋白亦参与级联,包括核蛋白 c-fos 与 c-jun 及核因子-κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB)。其他肥大细胞刺激物尽管在其作用模式上有所差别,但大部分是通过类似的机制促进 Ca²⁺ 流动,从而激活肥大细胞。Aridor 等^[10]指出碱性促分泌剂如 C48/80,是通过直接激活 G 蛋白而诱导胞裂外排,并未涉及胞浆内 Ca²⁺ 浓度的改变。

近期 Parravicini 等^[11]证实, FcεRI 介导的肥大细胞脱颗粒同时依赖另一种 PTK——Fyn 启动的补充信号途径。Lyn 缺陷的肥大细胞 Fyn 信号途径及脱颗粒均有增强,但 Ca²⁺ 动员受到抑制;Fyn 缺陷的肥大细胞脱颗粒减弱,而 Lyn 介导的信号转导及 Ca²⁺ 动员都是正常的。由此 Parravicini 等推测,

本文受南京大学“985”工程基金及“高等学校骨干教师资助计划”项目资助。

** 通讯作者。E-mail: yongwang@nju.edu.cn

FcεRI 介导的肥大细胞脱颗粒的信号途径包含 Fyn 与 Lyn 的交谈。

2. 脱颗粒释放介质

肥大细胞的激活导致脱颗粒释放介质,并伴随形态特征的一系列变化。levi-Schaffer 等^[12]应用电脑化图像分析仪观测到 C48/80 活化的大鼠肥大细胞面积和周长都有显著增加,而形状系数(shape factor, $sf = 4\pi \times \text{面积}/\text{周长}^2$)减小。大规模颗粒内容物外排及膜脱落后,则可观察到小的几乎无颗粒的不成熟肥大细胞^[13]。

肥大细胞是促炎介质的来源。其释放的生物活性介质可分为三类:(1)颗粒内预先形成的介质,如组胺、5-HT、蛋白酶及酸性水解酶等;(2)新合成的脂类介质,主要是花生四烯酸的代谢产物,包括前列腺素、白三烯、血栓素等;(3)具免疫调节及促炎作用的细胞因子,如 interleukin (IL)-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13, IL-16, interferon

(INF)- γ , transforming growth factor (TGF)- β , tumor necrosis factor (TNF)- α , nerve growth factor (NGF), SCF, macrophage inflammatory protein (MIP)-1 家族等。但是,不同表型的肥大细胞在不同条件下所分泌的细胞因子及颗粒内容物的成分也不尽相同。最近 Coleman^[14]指出,一氧化氮(Nitric oxide, NO)可抑制抗原诱导的肥大细胞脱颗粒,介质释放及细胞因子的表达。NO 的这一作用具有时间依赖性,需几个小时,无须 cGMP 介导,极有可能包含蛋白质的化学修饰。

3. 颗粒再形成

肥大细胞脱颗粒后可由颗粒再形成而复原。曾有报道指出,脱颗粒后的肥大细胞有凝聚的核染色质及较大的核仁。再形成颗粒时,肥大细胞展现活跃的合成功能,重塑为大的未成熟细胞,其胞浆内有小的前体颗粒及脂质体^[13]。

肥大细胞脱颗粒与颗粒再形成不是同步过程。机械刺激后 5 至 10 秒就可观察到肥大细胞颗粒再

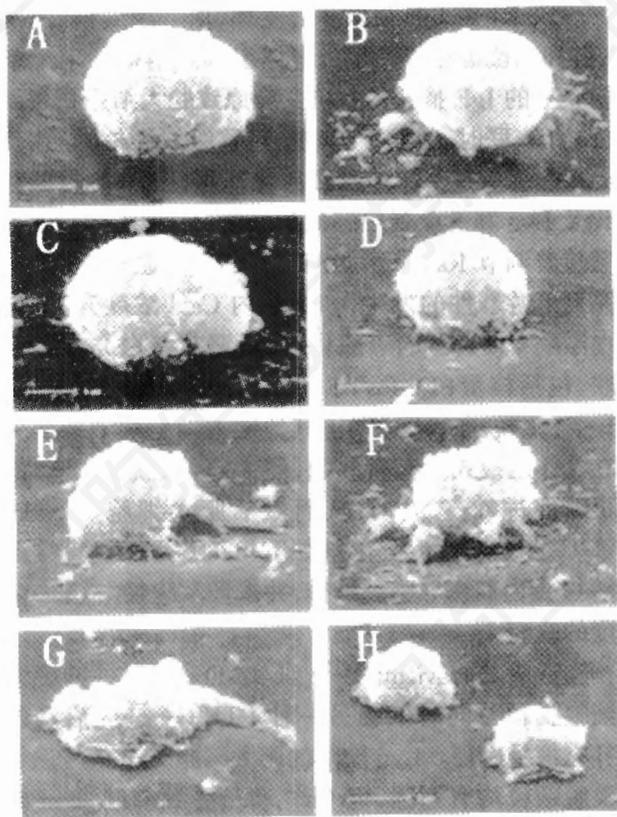


图1 静息期与 FcεRI 介导活化的肥大细胞扫描电镜图

(引自 Zou Xiang et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2001)

- A: 静息期细胞;
B-H: FcεRI 交联后 30 分钟内各种细胞形态;
B: 细胞表面突起几近消失;
H: 两个即将复原的细胞,表面出现大量皱褶。

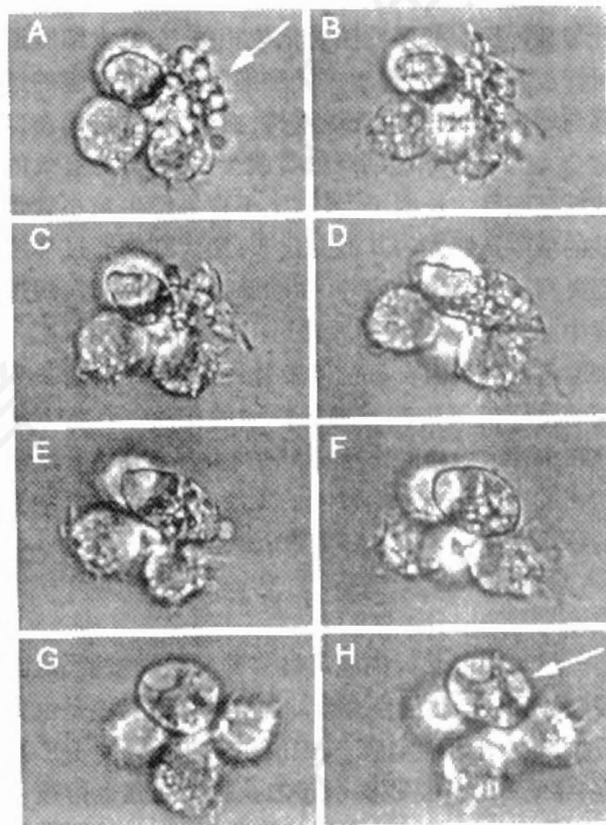


图2 肥大细胞脱颗粒及复原过程微速摄影图

(引自 Zou Xiang et al., J. Allergy Clin. Immunol., 2001)

- 箭头示单个活化细胞;
A-H: 按时间顺序排列的细胞活化后形态;
H: 细胞重新形成完整的膜结构。

形成;而抗 IgE 抗体处理后,肥大细胞晚期恢复可达 3 至 48 小时之久。肥大细胞形态变化周期的描述一直以来依赖于电子显微镜,而 Xiang Z 等^[15]首次应用微速摄影技术连续监视 IgE 介导的单个肥大细胞脱颗粒及复原过程,为单个肥大细胞活化后存活提供了直接证据(图 1,2)。

二、肥大细胞的生存

啮齿动物黏膜肥大细胞(mucosal mast cells, MMCs)半寿期为 40 天^[16],结缔组织肥大细胞(connective tissue mast cells, CTMCs)寿命更长^[17];在人类,组织中的肥大细胞可存活数月^[18]。肥大细胞的长寿与其经历耗竭性的颗粒外排后仍可存活,重新形成颗粒,并能再次被激活密切相关。这一特征引起变态反应的周而复始。然而,导致肥大细胞长寿的确切机制仍不很清楚。近年来,陆续有人发现细胞因子、某些分泌型磷脂酶 A2(sPLA2)、IgE 单体(mIgE)及基因 A1 与肥大细胞的存活有关。

1. 细胞因子与肥大细胞的生存

肥大细胞的增殖与凋亡受支持生存的生长因子与诱导凋亡的细胞因子的调节。SCF 通过与膜受体 c-KIT 相互作用参与肥大细胞的成熟、增殖、分化及介质释放过程。很多细胞都可产生 SCF,90 年代晚期的研究证实肥大细胞可表达并释放 SCF^[19]。肥大细胞的培养通常需依赖 IL-3,当培养基中不添加 IL-3 时,细胞就要凋亡。SCF 可挽救 IL-3 撤退引起的肥大细胞凋亡,但这种挽救效应可被转化生长因子(TGF)- β 抑制^[20]。Itakura 等^[21]提出,生理源性的神经酰胺与神经鞘氨醇是肥大细胞凋亡信号通路上的介质,IL-3 与 SCF 均不能阻断二者下游信号转导。

近年来人们发现,人类及鼠肥大细胞均有神经生长因子(nerve growth factor,NGF)与其功能性高亲和力受体 TrkA 的协同表达^[22]。鉴于 NGF 在神经系统细胞生存、分化、发育及修复中的地位,而肥大细胞在神经周围的分布频率又较高,NGF 对肥大细胞的存活很可能起着自分泌细胞因子的作用。Kawamoto^[23]等证实 NGF 可抑制大鼠腹膜肥大细胞凋亡。Bullock 等^[24]提出 NGF 可能通过诱导某些细胞因子及 Bcl-2 表达而有效地促进肥大细胞存活。近期一研究指出,NGF 与 SCF 能够协同抑制脐带血培养的人类肥大细胞(CBMCs)的凋亡^[25]。

此外,Yeatman^[26]等证实,Th2 细胞因子 IL-4 与 IL-10 可诱导 IL-3 依赖的骨髓培养的小鼠肥大

细胞(BMCMCs)及腹膜肥大细胞(PMCs)的凋亡。这一过程要求 IL-3、IL-4 与 IL-10 的协同刺激,以及信号转导子和转录激活子 6(Stat6)的表达。凋亡伴随着 Bcl-XL 与 Bcl-2 表达的减少。尽管这一过程不依赖 Fas 通路,但 IL-3、IL-4 与 IL-10 的协同刺激明显提高了细胞对 Fas 介导的死亡的敏感性。而且,Fc ϵ RI 交联或 SCF 刺激都会增强 IL-4 与 IL-10 的促凋亡能力。

2. sPLA2 与肥大细胞的生存

Fonteh 等^[27]证实,某些 sPLA2 能够增强肥大细胞的存活力。他们发现,I B 与 III 组的 sPLA2 可阻止细胞因子耗竭所引起的肥大细胞膜不对称性的丧失,IB 还能抑制核小体 DNA 的断裂。sPLA2 水解作用产物不促进肥大细胞存活,接触反应的灭活及 IL-3 中和抗体不改变 sPLA2 抑制凋亡的能力,但蛋白合成抑制剂可逆转这一作用;sPLA2 增强磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3-K)的活性,且 PI3-K 的特异性抑制物可逆转其抗凋亡作用;相似地,sPLA2 增加 NF- κ B 的抑制因子(I- κ B)的降解,NF- κ B 的特异性抑制物可逆转 sPLA2 的抗凋亡作用。这些事实表明,某些 sPLA2 异构体可能是以细胞因子样方式,通过与其受体相互作用,激活抑制凋亡的信号通路而增强肥大细胞的存活力。

3. IgE 单体(mIgE)与肥大细胞的生存

以往人们认为 mIgE 与 Fc ϵ RI 结合致敏肥大细胞是一个消极的过程。然而最近两篇文献^[28,29]指出,在无抗原的情况下,mIgE 与 Fc ϵ RI 结合可促进 IL-3 撤退后 BMCMCs 的存活,这种作用需要 Fc ϵ RI 的介导。

Kalesnikoff 等^[28]指出 IgE 单独存在时并不刺激 BMCMCs 增殖,但却能抑制其凋亡。这一作用可能与 IgE 维持 Bcl-XL 表达水平及刺激某些能够增强肥大细胞存活力的自分泌细胞因子产生有关。Asai 等^[29]发现 mIgE 不促进 DNA 合成,其抑制凋亡的作用与 IgE 诱导的 Fc ϵ RI 表达增加相平行,且要求 IgE 的持续存在。此外,这一过程无 FasL/Fas 死亡通路或者某些 Bcl-2 家族蛋白的参与。尽管如此,双方作者都排除了所观察到的细胞活力增加是由于少量聚合型 IgE 存在而导致受体交联,并且都认为 mIgE 单独与 Fc ϵ RI 结合时,触发与 Fc ϵ RI 交联时不同的信号。

Kalesnikoff 等^[28]还提出一模型,即 mIgE 通过降低受体间的排斥力,使 Fc ϵ RI 在脂筏上聚集,从而触发低强度、长时间的胞内信号。然而,mIgE 能否

增强体内肥大细胞的存活力还有待证明。

4. FcεRI 交联与肥大细胞的生存

Xiang Z 等^[15]从形态学、蛋白酶释放及细胞因子转录表达等方面证实,肥大细胞在经历 FcεRI 介导的活化与脱颗粒后仍可再次被激活,并显示与初次活化时相似的颗粒外排方式。台盼蓝染料排斥实验及 ELISA 均显示, FcεRI 交联可抑制生长因子撤退诱导的细胞凋亡(图 3)。而进一步的实验证实, FcεRI 介导的活化通过诱导 A1 表达抑制肥大细胞

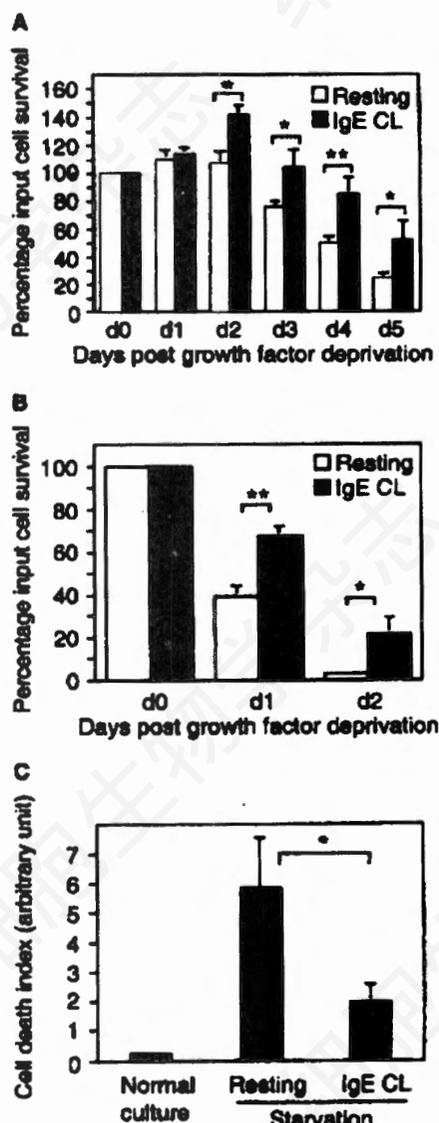


图3 FcεRI 介导的活化提高肥大细胞存活力

(引自 Zou Xiang et al., J. Exp. Med., 2001)

IgE CL: FcεRI 交联活化的 MCP5/L(A 图)及 BMCMCs(B,C 图);

Resting: 未经处理的静息期细胞;

A、B 图: 台盼蓝染料排斥实验确定培养基中存活细胞数, 每 24 小时测定一次;

C 图: ELISA 测定 24 小时后培养基上清液中核小体量以确定凋亡细胞数。

注: 与对照组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

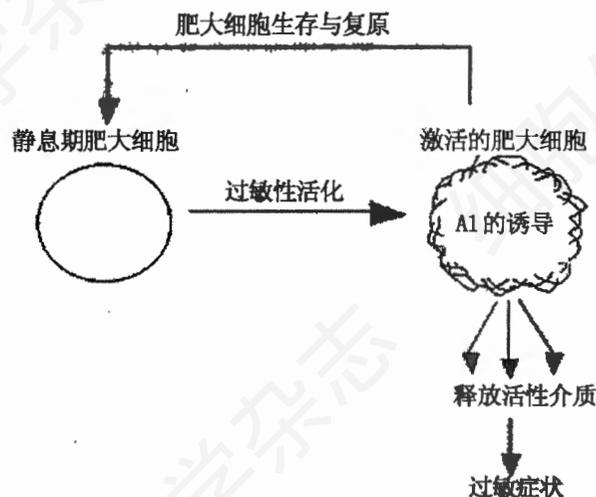


图4 肥大细胞脱颗粒及复原过程示意图(王勇绘制)

凋亡而增强其存活力(图 4)。

小鼠 A1 及其人类同系物 Bfl-1 是 Bcl-2 家族的成员, 具有抑制细胞凋亡、促进生存的作用。静息期肥大细胞不表达 A1, 且 A1 不影响肥大细胞的发育、成熟与分化, 但在 FcεRI 交联后 A1 表达显著提高; FcεRI 交联反复活化肥大细胞的过程伴有 A1 表达的反复诱导; C48/80 不刺激肥大细胞表达 A1, 亦不影响细胞存活力, 而 ionomycin 能诱导细胞表达 A1, 也有助于提高细胞存活力; A1 基因敲除(A1-/-)的 BMCMCs 在 FcεRI 交联后存活力比野生型的细胞要显著降低。上述实验结果证实, A1 的表达在肥大细胞过敏性活化后生存中扮演重要角色^[30]。

进一步实验证实, FcεRI 交联诱导的肥大细胞 A1 表达是由 PI3-K 介导的, 受 NF-κB 的转录调节, 要求 Ca^{2+} 动员, 并依赖于蛋白质的从头合成。RPA 表明, 可分别增强巨噬细胞及内皮细胞 A1/Bfl-1 表达的细胞因子 GM-CSF 和 TNF-α, 以及其他一些与肥大细胞生存、分化和功能维持相关的细胞因子, 如 SCF、NGF 及 IL-4, 均不能上调肥大细胞 A1 转录水平^[30]。FcεRI 交联可引起肥大细胞 NGF 表达增加^[31]。NGF 单独存在时虽然不能上调 A1, 但它可能与其他未知因子有协同作用; 亦有可能体内肥大细胞释放的 NGF 进一步刺激邻近细胞产生一些未知因子, 而后可上调肥大细胞 A1 表达。

Xiang Z 曾提出诱导 A1 表达的两种可能信号通路。其一, FcεRI 交联直接导致下游信号转导及 A1 的转录调节; 其二, A1 的诱导有第二介质的协助作用, 如肥大细胞活化后释放的 SCF 或 NGF。究竟何种途径, 亦或两种途径协同调节 A1 表达还有待

证实。

肥大细胞活化后启动 A1 的表达进而增强细胞的存活力。A1 基因敲除后的小鼠骨髓细胞能在体外经诱导分化发育成肥大细胞,但这些细胞活化后生存力明显降低。由此提示设计一种新型的抑制 A1 的药物,是缓解和治疗过敏反应的理想办法。

5. 其他因素与肥大细胞的生存

Mekori 等^[32]指出, Bcl-2 cDNA 的过度表达可延长 IL-3 撤退后肥大细胞的生存,而肥大细胞白血病患者骨髓肥大细胞就出现了 Bcl-2 的过度表达。肥大细胞表达 Bax^[30],且有报道指出 Bax 可调节肥大细胞的凋亡^[33]。由于 A1 可与 Bax 形成二聚体而抑制其促凋亡作用,在肥大细胞存活机制中, A1 可能还以 Bax 对抗剂的身份发挥作用。

近期一文献^[34]指出,啮齿动物肥大细胞可合成 NO 衍生物,后者能够影响肥大细胞的生存和反应性。然而,人类肥大细胞与 NO 的“串话”还缺乏充分的证据。

参 考 文 献

- [1] Kirshenbaum, A. S. et al., 1991, *J. Immunol.*, **146**: 1410 - 1415.
- [2] Galli, S. J. and Wershil, B. K., 1996, *Nature*, **381**: 21 - 22.
- [3] Silver, R. et al., 1996, *Trends Neurosci.*, **19**: 25 - 31.
- [4] Dayton, E. T. et al., 1989, *J. Immunol.*, **142**: 4307 - 4313.
- [5] Meininger, C. J. and Zetter, B. R., 1992, *Sem. Cancer Biol.*, **3**: 73 - 79.
- [6] Meineke, V. et al., 2000, *Fertility & Sterility*, **74**(2).
- [7] Kelley, J. L. et al., 2000, *Mol. Med. Today*, **6**: 304 - 308.
- [8] Lee, D. et al., 2002, *Science*, **297**: 1689 - 1692.
- [9] Bischoff, S. C. and Dahinden, C. A., 1992, *J. Exp. Med.*, **175**: 237 - 244.
- [10] Aridor, M. et al., 1990, *J. Cell Biol.*, **111**: 909 - 917.
- [11] Parravicini, V. et al., 2002, *Nature Immunology*, **3**: 741 - 748.
- [12] Levi-Schaffer, F. et al., 2000, *Life Sciences*, **66** (21): 283 - 290.
- [13] Dvorak, A. M. et al., 1987, *Cell. Immunol.*, **105**: 199 - 204.
- [14] Coleman, J. W., 2002, *Immunol.*, **129**(1): 4 - 10.
- [15] Xiang, Z. et al., 2001, *J. Allergy Clin. Immunol.*, **108** (1): 116 - 121.
- [16] Enerback, L. and Lowhagen, G. B., 1979, *Cell Tissue Res.*, **198**: 209 - 215.
- [17] Fukuzumi, T. et al., 1990, *Exp. Hematol.*, **18**: 843 - 847.
- [18] Garriga, M. M. et al., 1988, *J. Allergy Clin. Immunol.*, **82**: 425 - 430.
- [19] Zhang, S. et al., 1998, *J. Pathol.*, **186**: 59 - 66.
- [20] Mekori, Y. A. and Metcalfe, D. D., 1994, *J. Immunol.*, **153**: 2194.
- [21] Itakura, A. et al., 2002, *Exp. Hematol.*, **30**: 272 - 278.
- [22] Nilsson, G. et al., 1997, *Eur. J. Immunol.*, **27**: 2295 - 2301.
- [23] Kawamoto, K. et al., 1995, *Blood*, **86**: 4638 - 4644.
- [24] Bullock, E. D. and Johnson, EM. Jr, 1996, *J. Biol. Chem.*, **271**: 27500.
- [25] Kanbe, N. et al., 2000, *Clin. Exp. Allergy*, **30**: 1113 - 1120.
- [26] Yeatman, C. F. et al., 2000, *J. Exp. Med.*, **192** (8): 1093 - 1103.
- [27] Fonteh, A. N. et al., 2001, *J. Immunol.*, **167** (8): 4161 - 4171.
- [28] Kalesnikoff, J. et al., 2001, *Immunity*, **14**: 801 - 811.
- [29] Asai, K. et al., 2001, *Immunity*, **14**: 791 - 800.
- [30] Xiang, Z. et al., 2001, *J. Exp. Med.*, **194**(11): 1561 - 1569.
- [31] Xiang, Z. and Nilsson, G., 2000, *Clin. Exp. Allergy*, **30**: 1379 - 1386.
- [32] Mekori, Y. A. et al., 1997, *Immunology*, **90**: 518 - 525.
- [33] Maurer, M. et al., 2000, *J. Invest Dermatol.*, **114**: 1205 - 1206.
- [34] Bidri, M. et al., 2001, *International Immunopharmacology*, **1**: 1543 - 1558.

gp130 介导的信号转导通路在哺乳动物着床中的作用*

刁红录 徐立滨 杨增明**

(东北农业大学生命科学学院 哈尔滨 150030)

摘 要 IL-6 相关细胞因子家族成员包括 LIF、IL-6、IL-11 以及它们的共同受体 gp130,在哺乳动物的着床过程中起着重要的作用。LIF 敲除的小鼠不能着床。IL-11R α 敲除的小鼠不能完全发生蜕膜化,从而导致妊娠的失败。IL-6 敲除的小鼠着床数和着床胚胎的存活率均降低。这些细胞因子通过与受体结合,激活下游信号分子 STAT,从而形成了 gp130/Jak/STAT 信号转导通路,并且 STAT3 基因敲除的小鼠也不能着床。这些细胞因

* 国家杰出青年科学基金资助项目(39825120)。

** 通讯联系人。E-mail: zmyang@mail.neau.edu.cn