

伤区异常聚集黏附。在缺血1~48 h内出现明显的中性粒细胞浸润和聚集,2~15 d单核细胞浸润明显。缺血再灌注时缺血处血管内皮细胞出现功能障碍,各种趋化因子及炎症介质表达增加,白细胞在缺血处聚集,且与微血管内皮细胞间黏附性增强,白细胞贴壁、嵌塞并游出微血管外,释放大量的氧自由基和炎症因子,导致神经元继发性损伤。除炎症细胞因子和黏附分子外,趋化因子及其受体在白细胞聚集进入缺血性损伤部位中发挥关键作用^[9]。

3.2 FKN作用 在炎症反应所致脑缺血再灌注损伤过程中,FKN可能参与小胶质细胞活化和向梗死组织的趋化,并在白细胞从血管向损伤部位转移中起重要调控作用^[10]。有研究表明,FKN可抑制自杀相关因子介导的细胞凋亡^[11],这可能与FKN浓度有关,在低浓度时其可作为细胞调节因子以旁分泌形式发挥作用,浓度较高时其可能有促炎作用^[4]。

3.2.1 FKN趋化作用 炎症早期,膜结合型FKN可被蛋白水解酶水解为可溶型FKN,特征性发挥趋化功能,进一步引起白细胞迁移^[12]。FKN对T细胞、单核细胞、NK细胞有较强的趋化活性,使浸润的白细胞释放活性氧、自由基、金属蛋白酶及细胞毒性物质,从而导致脑损伤。FKN与受体CX3CR1结合后可引起细胞内钙离子水平升高,磷酸激酶C活化或磷脂酰肌醇-3-激酶活化,启动相应的细胞内信号转导机制,使细胞骨架成分动态组装和解聚,肌动蛋白重整,终致细胞迁移^[3]。Nishimura等^[13]研究发现,除可溶型FKN有原始趋化功能外,膜结合型FKN还能提高其他趋化因子对CX3CR1阳性淋巴细胞的趋化作用。研究证实,短暂性脑缺血中FKN-CX3CR1这一信号通路可能参与小胶质细胞、巨噬细胞趋化和更广泛的白细胞在缺血反应处聚集^[10]。此外,FKN与受体结合后也可使静脉移植的人骨髓间充质干细胞向大鼠脑缺血处迁移^[14]。

3.2.2 FKN黏附作用 白细胞黏附于内皮细胞是白细胞从血管中游出的前提。FKN膜结合型是中枢神经系统中主要存在形式,其趋化因子区域表达在细胞外延伸出的黏蛋白样茎状结构顶部,它本身是一种黏附分子,不需要与蛋白多糖或其他黏附分子相结合,不依赖选择素和整合素的方式捕获或吸引白细胞与其紧密黏附。FKN膜结合型也可与其受体CX3CR1结合,通过耦联G蛋白介导细胞黏附作用^[15]。表达CX3CR1的CD14⁺、CD16⁺单核细胞与FKN表达细胞结合后,引起细胞跨内皮转移^[16]。FKN还可诱导静息的单核细胞、CD8⁺T淋巴细胞,以及白细胞介素(interleukin,IL)-2活化的CD8⁺T淋巴细胞和NK细胞与内皮细胞紧密黏附,也可诱导紧密

黏附的单核细胞和淋巴细胞穿过血管^[17]。

3.2.3 FKN可调节小胶质细胞、星形胶质细胞功能 小胶质细胞是神经系统中的巨噬细胞,可促进机体防御和修复,维持内环境稳态。在脑缺血再灌注损伤过程中扮演着急性免疫防御角色。当神经元受损后,神经元与胶质细胞之间的平衡被打破,神经元可释放毒性物质及一系列细胞因子,产生损伤。而神经胶质细胞立即被激活,转化为吞噬细胞,吞噬清除死亡细胞及坏死物质,刺激组织修复及更新,并可分泌神经营养因子缓冲神经毒性。但同时小胶质细胞亦可分泌毒性细胞因子、氧自由基、一氧化氮和自杀相关因子配体加重脑损伤。脑缺血再灌注损伤后FKN与CX3CR1结合能激活小胶质细胞功能,在早期诱导小胶质细胞激活产生炎症介质IL-1 β 、TNF- α 和氧自由基等参与炎症反应^[17-19]。体外实验表明,FKN与CX3CR1结合可引起细胞内钙水平升高,最终引起小胶质细胞迁移。大量FKN可引起小胶质细胞内丝裂原活化蛋白激酶活化,其作用可能与小胶质细胞迁移有关,此外,FKN可促进小胶质细胞代谢^[3]。CX3CR1基因缺失小鼠在脑缺血中梗死面积和病死率均减少,其可能机制之一是减少了小神经胶质细胞的活化^[20]。另有研究表明,缺乏CX3CR1不会诱发脑缺血后小胶质细胞的神经毒性,而是显著降低了脑缺血的损伤和炎症反应^[21]。

在中枢神经系统,星形胶质细胞能诱导小胶质细胞分化、增殖,增强小胶质细胞和巨噬细胞的吞噬能力。CX3CR1在星形胶质细胞的表达很少,但IL-1 β 、TNF- α 可促进其表达。有研究表明,在炎症条件下FKN可刺激星形胶质细胞表达一种细胞因子,该细胞因子可促进小神经胶质细胞增殖^[3]。

3.2.4 FKN神经保护作用 FKN与CX3CR1结合后发挥神经损伤或(和)神经保护作用,主要取决于中枢神经系统变化的特征^[22]。有报道外源性FKN可减少缺血引发的脑梗死面积、神经功能缺陷和caspase-3的活化,在大鼠大脑中动脉阻塞后直至50 d,均可观察到FKN的神经保护效应^[23]。体外研究显示,FKN可减少促凋亡蛋白BID活化蛋白水平,维持线粒体的完整性,还可活化磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B途径,从而抑制Fas介导的细胞凋亡;FKN还可调节B淋巴细胞瘤-2基因家族蛋白磷酸化状态,使促凋亡蛋白Bax水平下降,在组织修复期发挥神经保护作用^[11]。有证据表明,FKN对体外培养的神经元和小胶质细胞有保护作用^[22]。近期研究表明,腺苷能够通过激活星形胶质细胞释放神经营养及修复因子间接保护和修复受损神经元^[24],然而,腺苷A1受体拮抗剂可消除FKN对兴奋性毒

素引发的神经元死亡的保护作用,而且现已证实,细胞外腺苷是 FKN 发挥神经营养作用必需的物质,在体外海马培养中,减少腺苷可较大程度地削弱 FKN 的神经保护作用^[25]。

4 结语

FKN 在脑缺血再灌注损伤引起的炎症反应早期可迅速促进白细胞黏附与趋化,并可活化和调节小胶质细胞、星形胶质细胞,在组织修复晚期发挥神经保护作用。目前有关脑缺血再灌注损伤中 FKN 的研究主要采用动脉线栓模型,对应的干预手段大多为静脉和侧脑室给药。但 FKN 在全脑缺血再灌注损伤中的作用尚不明确。此外,已开展高位硬膜外阻滞、干细胞移植等对脑缺血再灌注损伤中 FKN 表达的研究,期望能取得突破性进展并应用于临床。

参考文献:

- [1] Wang C X, Shuaib A. Involvement of inflammatory cytokines in central nervous system injury [J]. *Prog Neurobiol* 2002, 67(2): 161-172.
- [2] Tarozzo G, Bortolazzi S, Crochemore C, et al. Fractalkine protein localization and gene expression in mouse brain [J]. *J Neurosci Res*, 2003, 73(1): 81-88.
- [3] Maciejewski-Lenoir D, Chen S, Feng L, et al. Characterization of fractalkine in rat brain cells: migratory and activation signals for CX3CR1-expressing microglia [J]. *J Immunol*, 1999, 163(3): 1628-1635.
- [4] Pan Y, Lloyd C, Zhou H, et al. Neurotactin, a membrane-anchored chemokine upregulated in brain inflammation [J]. *Nature*, 1997, 387(6633): 611-617.
- [5] Bacon K, Harrison J K. Chemokines and their receptors in neurobiology: perspectives in physiology and homeostasis [J]. *J Neuroimmunol* 2000, 104(1): 92-97.
- [6] Stamatovic S M, Shakuji P, Keep R F, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 regulation of blood-brain barrier permeability [J]. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005, 25(5): 593-606.
- [7] 王莹, 管业秋, 李文媛, 等. 神经干细胞移植对脑缺血再灌注损伤大鼠 CX3C 趋化因子 1 和 2 及其趋化因子受体 2 表达的影响 [J]. *新乡医学院学报* 2012, 29(1): 13-17.
- [8] Bazan J F, Bacon K B, Hardiman G, et al. A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif [J]. *Nature*, 1997, 385(6617): 640-644.
- [9] Cartier L, Hartley O, Dubois-Dauphin M, et al. Chemokine receptors in the central nervous system: role in brain inflammation and neurodegenerative diseases [J]. *Brain Res Brain Res Rev* 2005, 48(1): 16-42.
- [10] Tarozzo G, Campanella M, Ghiani M, et al. Expression of fractalkine and its receptor, CX3CR1, in response to ischaemia-reperfusion brain injury in the rat [J]. *Eur J Neurosci* 2002, 15(10): 1663-1668.
- [11] Boehme S A, Lio F M, Maciejewski-Lenoir D, et al. The chemokine fractalkine inhibits Fas-mediated cell death of brain microglia [J]. *J Immunol* 2000, 165(1): 397-403.
- [12] Ancuta P, Rao R, Moses A, et al. Fractalkine preferentially mediates arrest and migration of CD16⁺ monocytes [J]. *J Exp Med*, 2003, 197(12): 1701-1707.
- [13] Nishimura M, Umehara H, Nakayama T, et al. Dual functions of fractalkine/CX3C ligand 1 in trafficking of perforin⁺/granzyme B⁺ cytotoxic effector lymphocytes that are defined by CX3CR1 expression [J]. *J Immunol* 2002, 168(12): 6173-6180.
- [14] Zhu J, Zhou Z, Liu Y, et al. Fractalkine and CX3CR1 are involved in the migration of intravenously grafted human bone marrow stromal cells toward ischemic brain lesion in rats [J]. *Brain Res*, 2009, 1287: 173-183.
- [15] Fong A M, Robinson L A, Steeber D A, et al. Fractalkine and CX3CR1 mediate a novel mechanism of leukocyte capture, firm adhesion, and activation under physiologic flow [J]. *J Exp Med*, 1998, 188(8): 1413-1419.
- [16] Wan Y, Evans R M. Rosiglitazone activation of PPAR γ suppresses fractalkine signaling [J]. *J Mol Endocrinol* 2010, 44(2): 135-142.
- [17] Papadopoulos E J, Sasseti C, Saeki H, et al. Fractalkine, a CX3C chemokine, is expressed by dendritic cells and is up-regulated upon dendritic cell maturation [J]. *Eur J Immunol*, 1999, 29(8): 2551-2559.
- [18] Cardona A E, Piro E P, Sasse M E, et al. Control of microglial neurotoxicity by the fractalkine receptor [J]. *Nat Neurosci* 2006, 9(7): 917-924.
- [19] Davalos D, Grutzendler J, Yang G, et al. ATP mediates rapid microglial response to local brain injury *in vivo* [J]. *Nat Neurosci*, 2005, 8(6): 752-758.
- [20] Soriano S G, Amaravadi L S, Wang Y F, et al. Mice deficient in fractalkine are less susceptible to cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *J Neuroimmunol* 2002, 125(1/2): 59-65.
- [21] Dénes A, Ferenczi S, Halász J, et al. Role of CX3CR1 (fractalkine receptor) in brain damage and inflammation induced by focal cerebral ischemia in mouse [J]. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008, 28(10): 1707-1721.
- [22] Réaux-Le Goazigo A, Van Steenwinckel J, Rostène W, et al. Current status of chemokines in the adult CNS [J]. *Prog Neurobiol* 2013, 104: 67-92.
- [23] Cipriani R, Villa P, Chece G, et al. CX3CL1 is neuroprotective in permanent focal cerebral ischemia in rodents [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(45): 16327-16335.
- [24] 徐建可, 栗延伟, 韩新生, 等. 星形胶质细胞条件培养液对缺氧损伤神经元的影响 [J]. *新乡医学院学报* 2012, 29(10): 750-753.
- [25] Lauro C, Cipriani R, Catalano M, et al. Adenosine A1 receptors and microglial cells mediate CX3CL1-induced protection of hippocampal neurons against Glu-induced death [J]. *Neuropsychopharmacology* 2010, 35(7): 1550-1559.

(本文编辑: 李胜利)