

• 综述 •

RANTES 与糖尿病及其血管并发症

张雪松 李会芳 宋滇平

近来认为炎症因子和糖尿病及其并发症的发生发展密切相关。其中,C-C 亚族趋化因子的作用日益受到关注。调节激活正常 T 细胞表达和分泌的细胞趋化因子(regulate up-activation normal T cell expressed and secreted, RANTES)属趋化性细胞因子 C-C 亚族家族成员,本文就其与糖尿病及其血管并发症的关系做一综述。

一、RANTES 的分子生物学特性及生理学作用

编码 RANTES 的基因定位于 17q11 ~ 32 染色体上。其基因长度约为 7.1 kb,由 3 个外显子和 2 个内含子组成。成熟的 RANTES 蛋白为 8 kD,含 68 个氨基酸。RANTES 的活性形式为单体。RANTES 基因上游序列中分布着与启动子活性相关的反应元件,包括 CD28 反应元件(CD28RE)和 4 个与核转录因子 κ B(NF- κ B)的结合位点,分别位于转录起始部位的第 30、44、213 和 519 碱基处,第 519 碱基位点可作为 CD28 反应成分,而另一部分(-213)与 NF- κ B 有弱亲和力和刺激 T 淋巴细胞表面的 CD28 分子可产生强效共刺激信号,激活 RANTES 基因转录。

RANTES 来源广泛,多数组织在炎症因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)或肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的刺激下可释放 RANTES。RANTES 主要在活化的 T 细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、血小板、系膜细胞、上皮细胞、巨核细胞和一些肿瘤细胞中表达,发挥介导 T 细胞、单核细胞、嗜碱粒细胞、嗜酸粒细胞、自然杀伤细胞及树突状细胞聚集和活化的作用。它的转录受 NF- κ B 的调控。参与 RANTES 调控的信号转导途径有^[1]:丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)途径、NF- κ B 途径、Janus 激酶家族(JAK)信号转导子和转录激活子(STAT)途径、蛋白激酶 C(PKC)途径、磷脂酰肌醇 3-激酶(p3K)途径和 CD28 通路等。

RANTES 具有多重生物学作用。具有募集、激活及协同刺激 T 细胞和单核细胞的功能,与免疫调节和炎症过程有关。在 T 细胞增殖的协同刺激和局限于炎症病变的 T 细胞的激活中起重要作用。由于 RANTES 而使 T 细胞的激活,导致 IL-2 受体的表达、细胞因子的释放和 T 细胞增殖。微摩尔浓度的 RANTES 能诱导 T 细胞以不依赖抗原的方式增殖,然而炎症部位升高的 RANTES 水平也许能强化局部的 T 细胞活性和增殖。研究还表明 RANTES 也涉及 T 细胞分化的过程。RANTES 和趋化因子受体 5(chemotactic cytokine receptor

5,CCR5)受体的相互作用影响 T 辅助细胞(Th)对 Th1 相关细胞因子的应答。

二、RANTES 与糖尿病及其并发症

1. RANTES 与糖尿病:许多分子机制能解释 RANTES 和 1 型糖尿病的关联:(1)RANTES 和它的受体 CCR5 的结合导致 JAK 的激活^[2-3]。每天注射 JAK3 抑制剂 JANEX1 的 NOD 小鼠在 25 周时仅有 9% 发生糖尿病,而经过 25 周赋形剂处理的对照 NOD 鼠中 60% 发生糖尿病,说明 JAK3 抑制剂 JANEX1 的给予延迟 NOD 鼠自身免疫性糖尿病的发生^[4]。(2)RANTES 是 MAPK(mitogen activated protein kinase)家族成员中 Erk 和 p38 的激活因素之一,而这些成员与调节细胞增殖和分化有关^[5-6]。Ando 等^[7]的研究发现:连续口服 p38MAPK 途径抑制剂 0.08% FR167653 的能显著减少 NOD 鼠体内 IFN- γ 的产生,而不影响 IL-4 的产生;对 4 ~ 30 周龄 NOD 鼠给予 FR167653 可以阻止其发展为糖尿病;对已发生胰岛炎的 10 ~ 30 周龄 NOD 鼠用 FR167653 治疗也可防止糖尿病的发生。提示 p38 是 1 型糖尿病发生发展中无危险性和有害性胰岛炎之间的关键中介,p38MAPK 的抑制导致 Th1 的抑制,并且阻止 NOD 鼠进展为糖尿病^[7]。可以推测降低的 RANTES 水平可以通过减少这些通路的活化作用而对 1 型糖尿病提供保护作用。

临床和基础研究表明炎症因子与 2 型糖尿病亦有密切的联系^[8],炎症因子可导致胰腺 β 细胞分泌胰岛素功能受损及胰岛素抵抗的产生。在炎症因素中,RANTES 对 T 细胞有趋化性,在募集白细胞到炎症部位起关键作用,在胰岛细胞的破坏中也有致病作用^[9]。RANTES 的表达和胰腺 β 细胞功能负相关。Herder 等^[10]报道糖耐量减低患者 RANTES 的水平是升高的。研究发现血浆 RANTES 水平升高可增加 2 型糖尿病的发病风险。

RANTES 基因多态性被认为是糖尿病的危险因素。Zhemakova 等^[11]报道 RANTES 单核苷酸多态性与 RANTES 的血清浓度和 1 型糖尿病的发展显著相关。韩国的一项研究表明 RANTES 基因的三个单核苷酸多态性(rs2107538、rs2280789、rs3817655)与接受肾移植的韩国患者的移植术后糖尿病的易感性有关^[12]。

2. RANTES 与糖尿病大血管病变:糖尿病大血管病变是糖尿病患者死亡和致残的主要原因,其病理基础是动脉粥样硬化。动脉粥样硬化是一种炎症性病变,涉及血小板、白细胞和内皮细胞等多种因素^[13]。血小板表达 CD40/CD40 配体(CD40 Ligand,CD40L)阳性的 T 细胞与血小板结合,通过 P-选择素激活血小板,血小板释放 RANTES,RANTES 结合到内皮细胞,介导循环的单核细胞和 T 细胞的募集和沉积,参与动脉硬化斑块形成。Harding 等^[14]研究表明:2 型糖尿病患者经氯吡格雷治疗不仅降低了血小板的活性,而且减少了

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.01.028

基金项目:国家自然科学基金资助(30760087);云南省自然科学基金(2004C0066M)

作者单位:650032 昆明医学院第一附属医院糖尿病科

通讯作者:宋滇平,Email:drsongdp@sina.com

血小板-白细胞 (platelet-leucocyte) 间相互作用、单核细胞活化作用以及趋化因子 RANTES 的血清浓度; 氯吡格雷治疗减少了血小板表面 P-选择素, 不降低 CD40L 的表达; 单核细胞表面 CD40 表达经氯吡格雷治疗后减少; 血小板来源的趋化因子的血清浓度大大降低。

Ghanim 等^[15]对肥胖的 2 型糖尿病患者研究发现, 低剂量输注胰岛素能抑制血浆 RANTES 浓度和单核细胞 CCR5 及 RANTES 的表达, 提示对 RANTES 及其受体的抑制对动脉粥样硬化形成可能有阻止作用。而来自糖尿病控制与并发症试验 (DCCT-EDIC) 的资料显示胰岛素强化治疗与颈动脉内膜平均厚度和心血管事件发生率的下降有关^[16]。

3. RANTES 与糖尿病肾病: 糖尿病肾病是导致肾功能不全的一个重要原因。糖尿病肾病时肾组织中 RANTES 基因及蛋白表达明显高于正常肾组织, 并与肾组织损害程度密切相关。许多因素和 RANTES 的表达和活化有关系^[17], 包括高的葡萄糖浓度、AGEs、生长因子诸如 TGF- β 和肝细胞生长因子、NF- κ B 的活化、蛋白激酶 C、活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、系膜细胞的机械牵张等。此外, 尿蛋白负荷过多、RAS 系统激活、细胞因子 TNF 等也可诱导肾脏中 RANTES 的上调。这些因素导致肾脏细胞内的信号转导系统的激活, 产生炎症细胞因子, 例如 IL-1、IL-6、IL-18、TNF 等。这些细胞因子引起肾脏损害的机制^[18], 包括直接对细胞的损害、肾小球蛋白通透性屏障的改变和肾内炎症性损害的发展。被激活的这些肾内细胞也可产生趋化因子单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、RANTES 和细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1) 等, 炎症细胞因子分泌增加可继续作用于肾脏细胞激活细胞内的下游信号通路, 循环中炎症细胞、单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞在趋化因子、黏附分子的作用下浸润、聚集到肾脏, 造成肾损害, 引起糖尿病肾病的发生。蛋白尿是糖尿病肾病进展中的一个关键因素, 和炎症有密切的关系, 当前的试验和临床实践表明蛋白尿的严重程度不仅是潜在的肾小球损害的反应, 而且它通过异常的蛋白的过滤直接造成肾小管和间质的损害。除了对肾脏损害的反应细胞的激活, 蛋白尿诱导肾小管细胞的激活, 导致许多趋化因子、黏附分子和炎症细胞因子的表达。实验证明尿中白蛋白的增加可引起 NF- κ B 在近端肾小管细胞的激活, 导致 NF- κ B 依赖的 RANTES 等的表达增加。

Mezzano 等^[19]在有肾脏病变的 2 型糖尿病患者的肾活检标本, 主要在肾小管细胞中观察到 RANTES 的明显上调; 并且肾小管细胞里 RANTES 的表达和尿蛋白的含量及间质的细胞浸润正相关。Liu 等^[20]研究表明同没有白蛋白尿的糖尿病患者 ($P < 0.05$) 或对照者 ($P < 0.05$) 相比, 存在微量白蛋白尿的糖尿病患者尿 RANTES 水平显著增加。Wong 等^[21]对合并有肾病或没有肾病的 2 型糖尿病患者及健康对照者得观察发现由 TNF- α 诱导产生的 RANTES 在非糖尿病肾病和糖尿病肾病显著高于对照者 ($P < 0.05$)。

RANTES 与 CCR5 的相互作用介导或促使单核/巨噬细胞在肾组织的浸润和活化, 活化的单核/巨噬细胞释放大量的细胞因子和生长因子、反应性氧活性物、蛋白水解酶等中介物质, 促进肾小球细胞增殖、胞外基质积聚, 导致肾小球损伤^[22-23]。此外, 巨噬细胞分泌的促纤维化因子可作用于肾小

管间质纤维细胞, 引起肾脏纤维化^[24]。

许多研究表明炎症参与了糖尿病肾病的发病过程。抗炎策略也许可以给糖尿病肾病提供新的治疗方案。在试验性的糖尿病肾病模型中, 免疫抑制的抗炎药物很大程度阻止蛋白尿和肾小球损害的发展^[25]。此外, 对磷酸二酯酶抑制剂己酮可可碱的研究表明 TNF- α 的抑制在糖尿病肾病的治疗方面也许是有效的^[26]。以前使用肾脏同种异体移植模型的研究表明, 一种趋化因子受体拮抗剂 Met-RANTES, 抑制单核细胞等炎症细胞的募集进入肾脏同种异体移植, 减少蛋白尿, 并且显著改善肾小球硬化症、间质纤维化和肾小管萎缩^[27]。

4. RANTES 与糖尿病视网膜病变: 群体研究证据表明炎症是糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 发病机制中一个重要的事件^[28]。动物实验和临床研究显示炎症有助于糖尿病视网膜病变的发展^[29]。来自视网膜缺血再灌注损伤模型的证据已经证明炎症趋化因子通过白细胞对眼组织的渗透有助于引起视网膜的损害^[30]。NF- κ B、白细胞、细胞间黏附分子 (AMs)、C 反应蛋白 (CRP)、过氧化物酶体增殖体激活受体 (PPAR) 等与炎症有关的这些因素在糖尿病视网膜病变的发病中起到了重要作用, 它们也都与 RANTES 之间有着内在的联系^[31]。Johnsen-Soriano 等^[32]研究结果显示糖尿病鼠视网膜中 RANTES 轻微升高, 同人类研究一致。Meleth 等^[28]对人体样本的研究报道, 与正常对照组相比, DR 患者血清中 RANTES 浓度升高。路春等^[33]对 32 例 2 型糖尿病患者, 其中 16 例合并轻中度非增殖性糖尿病视网膜病变 (NPDR 组), 16 例未合并视网膜病变 (DM 组) 的研究发现, NPDR 组的外周血中 RANTES 表达增加分别是 DM 组的 1.21 倍和正常对照组的 1.63 倍。

RANTES 由炎症细胞、视网膜内皮细胞、视网膜色素上皮细胞产生, 可与 CCR1、CCR3 及 CCR5 结合, 通过趋化炎症因子, 在视网膜局部引起炎症反应、血管损伤, 参与早期的视网膜病变。Bian 等^[34]研究发现与正常对照组相比, DR 患者血清 RANTES 浓度升高, 高浓度葡萄糖 (20 mmol/L) 条件下糖化白蛋白诱导视网膜色素上皮细胞分泌 RANTES 增加, 引起白细胞的浸润、血管的损伤、新血管的生成。

越来越多的证据表明, 包括 RANTES 在内的炎症分子及其信号通路的激活是糖尿病及其血管并发症发病机制中的重要因素, 阻抑相关炎症因子及其通路的表达或许有助于糖尿病及其并发症的防治。

参 考 文 献

- [1] 杨辽. 调控 RANTES 的信号转导途径研究进展. 西部医学, 2009, 21: 1031-1033.
- [2] Rodriguez-Frade JM, Vila-Coro AJ, Martin A, et al. Similarities and differences in RANTES-and (AOP)-RANTES-triggered signals: implications for chemotaxis. Cell Biol, 1999, 144: 755-765.
- [3] Wong M, Uddin S, Majchrzak B, et al. Rantes activates Jak2 and Jak3 to regulate engagement of multiple signaling pathways in T cells. Biol Chem, 2001, 276: 11427-11431.

- [4] Cetkovic-Cvrlje M, Dragt AL, Vassilev A, et al. Targeting JAK3 with JANEX-1 for prevention of autoimmune type 1 diabetes in NOD mice. *Clin Immunol*, 2003, 106:213-225.
- [5] Wong MM, Fish EN. Chemokines: attractive mediators of the immune response. *Semin Immunol*, 2003, 15:5-14.
- [6] Kondon K, Torii S, Nishida E, et al. Control of MAP kinase signaling to the nucleus. *Chromosoma*, 2005, 114:86-91.
- [7] Ando H, Kurita S, Takamura T, et al. The specific p38 mitogen-activated protein kinase pathway inhibitor FR167653 keeps insulinitis benign in nonobese diabetic. *Life Sci*, 2004, 74:1817-1827.
- [8] 高远,唐伟,刘超. 2型糖尿病与炎症的研究进展[J/CD]. *中华临床医师杂志:电子版*, 2010, 4:1635-1638.
- [9] Pflieger C, Kass A, Hansen L, et al. Relation of circulating concentrations of chemokine receptor CCR5 ligands to C-peptide, proinsulin and disease progression in type 1 diabetes. *Clin Immunol*, 2008, 128:57-65.
- [10] Herder C, Peltonen M, Koenig W, et al. Systemic immune mediators and life-style changes in the prevention of type 2 diabetes: results from the Finish Diabetes Prevention Study. *Diabetes*, 2006, 55:2340-2346.
- [11] Zhemakova A, Alizadeh BZ, Eerligh P, et al. Genetic variants of RANTES are associated with serum RANTES level and protection for type 1 diabetes. *Genes Immun*, 2006, 7:544-549.
- [12] Jeong KH, Moon JY, Chung JH, et al. Significant associations between CCL5 gene polymorphisms and post-transplantational diabetes mellitus in Korean renal allograft recipients. *Am J Nephrol*, 2010, 32:356-361.
- [13] Huo Y, Ley KF. Role of platelets in the development of atherosclerosis. *Trends Cardiovasc Med*, 2004, 14:18-22.
- [14] Harding SA, Sarma J, Din JN, et al. Clopidogrel reduces platelet-leucocyte aggregation, monocyte activation and RANTES secretion in type 2 diabetes mellitus. *Heart*, 2006, 92:1335-1337.
- [15] Ghanim H, Lohano T, Korzeniewski K, et al. Suppressive effect of insulin infusion on chemokines and chemokine receptors. *Diabetes Care*, 2010, 33:1103-1108.
- [16] Nathan DM, Lachin J, Cleary P, et al. Diabetes Control and Complications Trial, Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Intensive diabetes therapy and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 2003, 348:2294-2303.
- [17] Navarro-Gonzalez JF, Mora-Fernandez C, Muros de Fuentes M, et al. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol*, 2011, 7:327-340.
- [18] Navarro-Gonzalez JF, Mora-Fernandez C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19:433-442.
- [19] Mezzano S, Aros C, Droguett A, et al. NF-kB activation and overexpression of regulated genes in human diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, 19:2505-2512.
- [20] Liu JF, Zhao ZJ, Willecox MDP, et al. Multiplex bead analysis of urinary cytokine of type 2 diabetic patients with normo- and microalbuminuria. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry*, 2010, 31:279-289.
- [21] Wong CK, Ho Y, Tong PCY, et al. Aberrant activation profile of cytokines and mitogen-activated protein kinases in type 2 diabetic patient with nephropathy. *Clin Exp Immunol*, 2007, 149:123-131.
- [22] Lope-virella MF, Virella G. The role of immune and inflammatory processes in the development macrovascular disease in diabetes. *Front Biosci*, 2003, 8:750-768.
- [23] Kiyici S, Erturk Z, Budak F, et al. Serum monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion molecules in type 1 diabetic patient with nephropathy. *Arch Med Res*, 2006, 37:998-1003.
- [24] Eddy A. Role of cellular infiltrates in response to proteinuria. *Am J Kidney Dis*, 2001, 37:S25-S29.
- [25] Utimura R, Fujihara CK, Mattar AL, et al. Mycophenolatemofetil prevents the development of glomerular injury in experimental diabetes. *Kidney Int*, 2003, 63:209-216.
- [26] McCormick BB, Sydor A, Akbari A, et al. The effect of Pentoxifylline on proteinuria in diabetic kidney disease: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis*, 2008, 52:454-463.
- [27] Song E, Zou H, Yao Y, et al. Early application of Met-RANTES ameliorates chronic allograft nephropathy. *Kidney Int*, 2002, 61:676-685.
- [28] Meleth AD, Agron E, Chan CC, et al. Serum inflammatory markers in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46:4295-4301.
- [29] Kern TS. Contributions of inflammatory processes to the development of the early stages of diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res*, 2007, 2007:95103.
- [30] Jo N, Wu GS, Rao NA. Upregulation of chemokine expression in the retinal vasculature in ischemia-reperfusion injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44:4054-4060.
- [31] 赵娅娟,张学东. 正常 T 细胞表达和分泌的活性调节蛋白与糖尿病视网膜病变. *中华眼底病杂志*, 2007, 23:301-303.
- [32] Johnsen-Soriano S, Sancho-Tello M, Arnal E, et al. IL-2 and IFN-gamma in the retina of diabetic rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2010, 248:985-990.
- [33] 路春,朱鸿,施彩虹. 早期糖尿病视网膜病变患者血清相关细胞因子的检测. *上海交通大学学报:医学版*, 2009, 29:1053-1056.
- [34] Bian ZM, Elner SG, Stricter RM, et al. Glycated serum Albumin induces chemokine gene expression in human retinal pigment epithelial cells. *Leukoc Biol*, 1996, 60:405-414.

(收稿日期:2011-09-07)

(本文编辑:戚红丹)