

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.01.017

◇ 综述 ◇

## 细胞外基质金属蛋白酶诱导因子在动脉粥样硬化核因子 $\kappa$ B 信号通路交叉调控中的研究进展

王志明, 赵嫦清, 杨丽霞

作者单位: 昆明医科大学附属成都军区昆明总医院心内科, 云南 昆明 650032

通信作者: 杨丽霞, 女, 主任医师, 教授, 博士生导师, 研究方向为冠心病的临床与基础, Email: doctorlixia@aliyun.com

**摘要:** 动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是心脑血管疾病发生、发展重要的病理基础。细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer, EMMPRIN),作为一种广泛分布的、细胞表面糖基化的跨膜蛋白,是AS重要的促炎蛋白。然而EMMPRIIN在AS中的细胞信号通路众多且机制繁杂,现着重就EMMPRIIN围绕核因子 $\kappa$ B(Nuclear Factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)及其上下游信号通路交叉调控,诱导动脉粥样硬化形成的研究进展作一综述。

**关键词:** 动脉粥样硬化; 基质金属蛋白酶类,膜相关; NF- $\kappa$ B; 信号传导; 自噬; 综述; 促炎蛋白

## Research progress of EMMPRIN in the cross regulation of NF-kappa B signaling pathway in atherosclerosis

WANG Zhiming, ZHAO Changqing, YANG Lixia

Author Affiliation: Department of Cardiology, Kunming general hospital, Chengdu military area command, Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650032, China

**Abstract:** Atherosclerosis (AS) is an important pathological basis for the occurrence and development of cardiovascular and cerebrovascular diseases. The extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIIN), as a widely distributed, cell surface glycosylated transmembrane protein, is an important proinflammatory protein of AS. However, the cell signaling pathway in AS is numerous and the mechanism is complex. It is focused on the progress of the research on the cross regulation of EMMPRIN around nuclear factor kappa B (NF-kappa B) and its upstream and downstream signaling pathways to induce atherosclerosis.

**Key words:** Atherosclerosis; Matrix metalloproteinases, membrane-associated; NF-kappa B; Signal transduction; Autophagy; Review; Proinflammatory protein

目前AS确切的发病机制尚不明确,普遍认为是复杂病因的慢性炎症性疾病<sup>[1]</sup>。研究发现细胞外基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)1、2、3、7、8、9、12、13、14、15等与AS形成密切相关,特别是在急性冠状动脉综合征(Acute coronary syndrome, ACS)的发生过程中,且MMP-9已经被国外临床用于易损斑块的检测<sup>[2,3]</sup>。由于AS相关的MMPs家族成员众多,因此如何更好地抑制MMPs表达及活性,可能是稳定动脉粥样斑块的新策略;而EMMPRIIN作为一种能够诱导多种MMPs从头合成的细胞膜蛋白,有望成为稳定易损斑块研究的突破口。EMMPRIIN(又叫CD147)业已被证实可通过多种信号通路介导,参与AS的形成、冠心病的进展以及心肌梗死的发病过程。高度糖基化EMMPRIIN(HG-EMMPRIIN)可诱导MMPs生成,进而降解斑块纤维帽的细胞外基质(extracellular matrix, ECM),从

而使得斑块活化、破裂、血栓形成,发展为ACS<sup>[4,5]</sup>。既往关于EMMPRIIN及其信号通路研究众多,而关于EMMPRIIN围绕核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)上下游交叉调控报道较少,且最新研究还揭示了EMMPRIIN—NF- $\kappa$ B—EMMPRIIN反馈环路这一新发现。

### 1 EMMPRIN简介

EMMPRIIN, 1982年Biswas首次在成纤维细胞-肿瘤细胞共培养试验中,将CD147(分化群147)描述作为成纤维细胞基质金属蛋白酶MMP-1生成的刺激因子。人EMMPRIIN编码区由269个氨基酸组成,从N端-C端依次为1个信号肽(21个氨基酸)、2个胞外结构域(185个氨基酸)、1个跨膜结构域(24个氨基酸)和1个胞内结构域(39个氨基酸)。其中胞外结构域与糖基化相关,含有3个天冬酰胺(Asn)N-糖基化位点,分别位于近N端EC1结构域的Asn44和近C端EC2胞外结构域的Asn152、Asn186。

位于 IgC2 型 (EC1) 结构域的 HG-EMMPRIN 可诱导 MMPs 生成进而参与 AS 的形成。而 EMMPRIN 跨膜结构域所包含的典型亮氨酸拉链结构, 与介导和构成信号通路的多肽链、膜转运蛋白密切相关<sup>[6]</sup>, 参与信号通路的形成与交叉调控。而以往研究显示胞内结构域则相对非常保守。见图 1。

## 2 EMMPRIN/MAPK (ERK/p38MAPK/JNK)/NF- $\kappa$ B 信号通路间的交叉调控

细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 是促分裂素原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 重要的亚族信号通路之一, 也是 NF- $\kappa$ B 的上游信号通路之一。研究显示 EMMPRIN 可以与其特异性配体亲环蛋白 A (Cyclophilin A, CyPA) 相结合, 在巨噬细胞中通过 ERK/NF- $\kappa$ B 信号通路介导调节 MMP-9 分泌; 并可被 ERK 抑制剂 (U0126 和 PD98059) 以剂量依赖性方式所阻断<sup>[7]</sup>。为进一步证明 ERK 是否通过 NF- $\kappa$ B 的抑制蛋白 (inhibitor of NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B) 磷酸化降解, 来激活下游 NF- $\kappa$ B 信号通路; Kim 等<sup>[7]</sup> 利用 ERK 抑制剂抑制 ERK 同时, 复测下游 I $\kappa$ B 磷酸化水平和 NF- $\kappa$ B 核移位, 反复多次试验均未能得到 ERK—I $\kappa$ B—NF- $\kappa$ B 三者之间相对应的线性关系。这或许可以说明 ERK 还有可能通过其他途径, 譬如增强 p65 磷酸化来激活 NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[8]</sup>。Ge 等<sup>[9]</sup> 实验也证明了 HG-EMMPRIN 具有出促炎作用, 可以通过 ERK1/2—NF- $\kappa$ B 信号通路介导从而增强 MMP-9 的表达。而 Heidinger 等<sup>[10]</sup> 通过抑制剂来阻断 MAPK 的另外两个亚族信号通路 p38MAPK 和 JNK (c-Jun N-末端激酶), 却出现了 ERK 的基础磷酸化水平升高, 增强了 ERK 介导的细胞信号传导和细胞应答。研究还发现, 氧化型低密度脂蛋白 (ox-LDL) 通过提高 p38MAPK 和 NF- $\kappa$ B 蛋白活性, 增加 EMMPRIN 和 MMP-9 的表达, 诱导 AS 的发生。而姜黄素通过抑制 p38 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路, 使得 ox-LDL 诱导的巨噬细胞中 MMP-9 和 EMMPRIN 的表达显著下降<sup>[11]</sup>, 这或许就是姜黄素抗 AS 作用的分子机制。也有报道称 NF- $\kappa$ B 是 ox-LDL 诱导 EMMPRIN、MMP-9 活化最重要因素<sup>[12]</sup>。急性冠状动脉综合征 (ACS) 病人合并消化道大出血导致 ACS 再发和死亡风险均较未出血者明显升高, 除了抗凝抗栓药物停用所致的血小板聚集风险增加, 缺铁本身也是一个新的叠加的促炎因素。Fan 等<sup>[13]</sup> 研究发现铁缺诱导 THP-1 巨噬细胞和泡沫细胞中 EMMPRIN、MMP-9 的表达水平增加, 通过序贯使用 p38 MAPK、NF- $\kappa$ B 的抑制剂依次抑制 p38 MAPK、NF- $\kappa$ B 信号通路, 证实

EMMPRIN、MMP-9 表达增加需要 p38 MAPK、NF- $\kappa$ B 的连续上游活化。表明 p38 MAPK 为 NF- $\kappa$ B 的上游信号, 即缺铁可通过 p38 MAPK—NF- $\kappa$ B—EMMPRIN/MMP-9 这条信号通路, 诱导斑块活化、破裂、血栓形成, 进而再次发展为 ACS。

## 3 EMMPRIN/PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路间的交叉调控

磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 和丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT, 或蛋白激酶 B, PKB) 信号通路参与细胞增殖、凋亡, 血管生成以及细胞侵袭等系列过程<sup>[14]</sup>; 是细胞内经典信号通路之一。Rac1 蛋白作为细胞内信号传导因子, 在信号通路中起到类似分子开关的作用。Venkatesan 等<sup>[15]</sup> 研究发现 EMMPRIN 可以依赖 Rac1 蛋白, 激活的是 PI3K/Akt 通路而不是 JNK, 然后导致 I $\kappa$ B $\alpha$  磷酸化和降解, 进而 NF- $\kappa$ B 活化诱导 IL-18 的表达; 期间还发现 EMMPRIN 以时间依赖性显著诱导 MMPs-2、8、9、13、14 的表达。有趣的是 EMMPRIN 在上调 MMPs 表达的同时, 也上调了基质金属蛋白酶组织抑制剂 (Tissue inhibitor of metalloproteinases TIMPs) 1 和 3 的表达。其中 MMPs 与 TIMPs 的比例是否失衡或 MMPs 过度表达与否在 ECM 降解过程中起关键作用。Xie 等<sup>[16]</sup> 通过临床对照试验发现急性心肌梗死 (AMI) 组血清 IL-18、MMP-9 水平显著大于稳定性心绞痛 (SA) 组和空白对照组; 并且体外细胞试验也证实了 EMMPRIN 和 IL-18 相互协同扩大了炎症级联反应, 可能在动脉粥样硬化斑块不稳定和随后的 AMI 中起重要作用。在另一项全氟辛烷磺酸 (PFOS) 对星形胶质细胞功能影响的研究<sup>[17]</sup>, 发现 PFOS 可以通过 PI3K/AKT 信号通路活化 NF- $\kappa$ B, 并以剂量和时间依赖方式促进炎症介质白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 的分泌和表达。

另外 PI3K/Akt 还可以激活下游的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR), 形成 PI3K/Akt/mTOR 信号通路参与介导自噬的调节<sup>[18-20]</sup>。研究发现人前列腺癌 PC-3 细胞在饥饿条件下培养时明显增加了 EMMPRIN 的表达水平, 使用 RNA 干扰抑制 EMMPRIN 后, 显著促进了绿色荧光蛋白-微管相关蛋白 1 轻链 3 (GFP-LC3) 斑点形成, 并增强了自噬相关蛋白 LC3-II 的表达; 且 LC3-II 水平与磷酸化 AKT (p-AKT)、磷酸化的哺乳动物雷帕霉素蛋白 mTOR (p-mTOR) 两者水平呈明显负相关。表明 EMMPRIN 可以通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路抑制细胞的自噬调节, 进而阻止了自限性自噬引起的细胞死亡<sup>[21]</sup>; 该过程种饥饿可以被认为是最重要的自噬诱导剂<sup>[22]</sup>。CD147 与肿瘤的发生和转移密切相

关<sup>[23]</sup>, Gou 等<sup>[24]</sup>在对肝细胞癌(HCC)的研究中也发现,在饥饿的早期阶段肝癌细胞系中CD147的蛋白水平显著上调;通过特异性小干扰RNA(siRNA)沉默CD147,可以显著促进饥饿诱导的细胞死亡;与饥饿对照组相比CD147-siRNA转染的肝癌细胞中p-mTOR水平显著下调,同时表现出肝癌细胞凋亡和自噬水平显著增加。表明CD147在饥饿的肝癌细胞中表达水平增加,并且可以通过上调p-mTOR水平来减少肝癌细胞的死亡。研究表明mTOR抑制剂(如雷帕霉素或依维莫司)的哺乳动物靶点具有抑制细胞增殖并引发自噬,能够有效预防及延缓动脉粥样硬化的发病,起到多效抗动脉粥样硬化作用<sup>[25]</sup>;目前雷帕霉素药物洗脱支架已广泛应用于冠心病的介入治疗。

#### 4 EMMPRIN/NF- $\kappa$ B 反馈环路调控与自噬

自噬是一种细胞自我消化过程<sup>[26]</sup>,在抑制炎症、凋亡以及促进泡沫细胞的形成发挥着重要作用<sup>[27]</sup>。基础自噬在动脉粥样硬化中具有保护作用<sup>[28]</sup>,而过度的自噬却会导致细胞死亡<sup>[29]</sup>,不利于斑块的稳定。Liang 等<sup>[30]</sup>新近研究表明,EMMPRIN 激活 NF- $\kappa$ B 信号通路后,又进一步增强了EMMPRIN自身的表达,从而在ox-LDL刺激的巨噬细胞中形成EMMPRIN—NF- $\kappa$ B—EMMPRIN反馈环。该反馈环路通过影响细胞促炎因子的释放来负调节巨噬细胞的自噬,进而可以增加动脉粥样斑块的不稳定性。实验还证实PI3K/Akt/mTOR信号通路在EMMPRIN调节的巨噬细胞自噬中起较少作用。

Wu 等<sup>[31]</sup>使用胆固醇抑制剂M $\beta$ CD阻断肝细胞癌(HCC)细胞中CD147内化之后,流式检测发现CD147在细胞膜上的表达水平下降,而由金属蛋白酶10(ADAM10)介导的对胞外结构域切割作用表达增强;在溶酶体中的CD147胞内结构域进一步加工产生经典的核定位信号序列,并可以通过NF- $\kappa$ B—肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TRAIL)—caspase8—ATG3途径调节HCC细胞自噬。这也表明了原本认为相对非常保守的EMMPRIN胞内结构域,在NF- $\kappa$ B—TRAIL—caspase8—ATG3通路所介导的HCC细胞自噬中起非常重要的作用。研究还发现Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)也可以激活NF- $\kappa$ B信号通路,进而介导细胞自噬与炎症反应<sup>[32-33]</sup>。在将野生型(WT)和TLR4敲除小鼠喂食正常或高脂肪饮食,评价其炎症信号蛋白(TLR4, NF- $\kappa$ B和JNK)和自噬标记(Atg5, Atg12, LC3B和p62)水平的研究中发现,尽管TLR4敲除本身并不影响

Atg5, Atg12, LC3B和p62水平,但它抵消了高脂肪饮食摄入所诱导的自噬变化。研究还提示了TLR4敲除可能通过激活依赖于NF- $\kappa$ B/JNK通路的自噬来抑制炎症和活性氧簇(ROS),进而改善了高脂饮食引发的细胞应激和心脏炎症<sup>[34]</sup>。

#### 5 总结与展望

尽管近些年冠心病的药物和介入治疗都取得了长足的发展,但是冠心病病人病率及致死率依然居高不下,冠心病的综合防治任重而道远。细胞内各种信号通路的调节在动脉粥样硬化的形成过程中扮演着重要的角色,EMMPRIN如何通过各种信号通路介导细胞的炎症与自噬反应,依然是动脉粥样硬化研究的一个重要方向。鉴于细胞信号通路在动脉粥样硬化中交叉调控的繁杂机制,加强对信号通路尤其是信号通路间的交叉调控研究,进而找出适宜的阻断途径,将为动脉粥样硬化、冠心病的防治找到新的突破口。

(本文图1见插图1-1)

#### 参考文献

- [1] LUSIS AJ. Atherosclerosis [J]. Nature, 2000, 407(6801): 233-241.
- [2] BACK M, KETELHUTH D F, AGEWALL S. Matrix metalloproteinases in atherothrombosis [J]. Prog Cardiovasc Dis, 2010, 52(5): 410-428.
- [3] NANNI S, MELANDRI G, HANEMAAIJER R, et al. Matrix metalloproteinases in premature coronary atherosclerosis: influence of inhibitors, inflammation, and genetic polymorphisms [J]. Transl Res, 2007, 149(3): 137-144.
- [4] 杨丽霞, 田祥全, 郭瑞威, 等. 冠心病患者外周血基质金属蛋白酶诱导因子和尿激酶型纤溶酶原激活物水平与动脉粥样硬化斑块形态特征的关系 [J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(9): 740-743.
- [5] 毛郁, 严金川, 王翠平, 等. 急性冠状动脉综合征患者CD147表达水平及其rs8259 T/A基因多态性分析 [J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(7): 566-570.
- [6] FOSSUM S, MALLETT S, BARCLAY AN. The MRC OX-47 antigen is a member of the immunoglobulin superfamily with an unusual transmembrane sequence [J]. Eur J Immunol, 1991, 21(3): 671-679.
- [7] KIM JY, KIM WJ, KIM H, et al. The stimulation of CD147 induces MMP-9 expression through ERK and NF- $\kappa$ B in macrophages: implication for atherosclerosis [J]. Immune Netw, 2009, 9(3): 90-97.
- [8] YANG F, TANG E, GUAN K, et al. IKK beta plays an essential role in the phosphorylation of RelA/p65 on serine 536 induced by lipopolysaccharide [J]. Journal of Immunology, 2003, 170(11): 5630-5635.
- [9] GE H, YUAN W, LIU J, et al. Functional relevance of protein glycosylation to the pro-inflammatory effects of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) on monocytes / macro-

- phages[J].PLoS One, 2015, 10(2):e0117463.DOI:10.1371/journal.pone.0117463.
- [10] HEIDINGER M, KOLB H, KRELL HW, et al. Modulation of autocrine TNF-alpha-stimulated matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) expression by mitogen-activated protein kinases in THP-1 monocytic cells[J]. Biological Chemistry, 2006, 387(1):69-78.
- [11] CAO J, YE B, LIN L, et al. Curcumin alleviates oxLDL induced MMP-9 and EMMPRIN expression through the inhibition of NF-kappaB and MAPK pathways in Macrophages[J]. Front Pharmacol, 2017, 8:62.
- [12] PARK MH, HONG JT. Roles of NF-kappaB in cancer and inflammatory diseases and their therapeutic approaches[J]. Cells, 2016, 5(2)pii:E15.DOI:10.3390/Cells5020015.
- [13] FAN Y, WANG J, WEI L, et al. Iron deficiency activates pro-inflammatory signaling in macrophages and foam cells via the p38 MAPK-NF-kappaB pathway[J]. International Journal of Cardiology, 2011, 152(1):49-55.
- [14] HADDADI N, LIN Y, TRAVIS G, et al. PTEN/PTENP1: 'Regulating the regulator of RTK-dependent PI3K/Akt signalling', new targets for cancer therapy[J]. Molecular Cancer, 2018, 17(1):37.
- [15] VENKATESAN B, VALENTE AJ, PRABHU SD, et al. EMMPRIN activates multiple transcription factors in cardiomyocytes, and induces interleukin-18 expression via Rac1-dependent PI3K/Akt/IKK/NF-kappaB and MKK7/JNK/AP-1 signaling[J]. Journal of Molecular & Cellular Cardiology, 2010, 49(4):655-663.
- [16] XIE SL, CHEN YY, ZHANG HF, et al. Interleukin 18 and extracellular matrix metalloproteinase inducer cross-regulation: implications in acute myocardial infarction[J]. Translational Research, 2015, 165(3):387-395.
- [17] CHEN X, NIE X, MAO J, et al. Perfluorooctane sulfonate mediates secretion of IL-1beta through PI3K/AKT NF-small ka, CyrillicB pathway in astrocytes[J]. Neurotoxicol Teratol, 2018, 67:65-75.
- [18] CHE J, LIANG B, ZHANG Y, et al. Kaempferol alleviates ox-LDL-induced apoptosis by up-regulation of autophagy via inhibiting PI3K/Akt/mTOR pathway in human endothelial cells[J]. Cardiovascular Pathology, 2017, 31:57-62.
- [19] ZHAI C, CHENG J, MUJAHID H, et al. Selective inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway regulates autophagy of macrophage and vulnerability of atherosclerotic plaque[J]. PLoS One, 2014, 9(3):e90563.DOI:10.1371/journal.pone.0090563.
- [20] PAN Y, WANG N, XIA P, et al. Inhibition of Rac1 ameliorates neuronal oxidative stress damage via reducing Bcl-2/Rac1 complex formation in mitochondria through PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. Exp Neurol, 2018, 300:149-166.
- [21] FANG F, WANG L, ZHANG S, et al. CD147 modulates autophagy through the PI3K/Akt/mTOR pathway in human prostate cancer PC-3 cells[J]. Oncol Lett, 2015, 9(3):1439-1443.
- [22] CARAM SB, KIOSSES WB, AKASAKI Y, et al. Glucosamine activates autophagy in vitro and in vivo[J]. Arthritis & Rheumatology, 2013, 65(7):1843-1852.
- [23] FAN H, YI W, WANG C, et al. The clinicopathological significance and prognostic value of EMMPRIN overexpression in cancers: evidence from 39 cohort studies[J]. Oncotarget, 2017, 8(47):82643-82660.
- [24] GOU X, TANG X, KONG DK, et al. CD147 is increased in HCC cells under starvation and reduces cell death through upregulating p-mTOR in vitro[J]. Apoptosis, 2016, 21(1):110-119.
- [25] MARTINET W, DE LH, DE MEYER GR. mTOR inhibition: a promising strategy for stabilization of atherosclerotic plaques[J]. Atherosclerosis, 2014, 233(2):601-607.
- [26] DUTTA D, XU J, KIM JS, et al. Upregulated autophagy protects cardiomyocytes from oxidative stress-induced toxicity[J]. Autophagy, 2013, 9(3):328-344.
- [27] SHAO B, HAN B, ZENG Y, et al. The roles of macrophage autophagy in atherosclerosis[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2016, 37(2):150-156.
- [28] DE MEYER GR, GROOTAERT MO, MICHIELS CF, et al. Autophagy in Vascular Disease[J]. Circulation Research, 2015, 116(3):468-479.
- [29] LIU Y, SHOJI-KAWATA S, JR SR, et al. Autosis is a Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase-regulated form of cell death triggered by autophagy-inducing peptides, starvation, and hypoxia-ischemia[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(51):20364-20371.
- [30] LIANG X, HOU X, YANG Y, et al. The feedback loop of "EMMPRIN/NF-kappaB" worsens atherosclerotic plaque via suppressing autophagy in macrophage[J]. Journal of Molecular & Cellular Cardiology, 2018, 114:129-140.
- [31] WU B, CUI J, YANG XM, et al. Cytoplasmic fragment of CD147 generated by regulated intramembrane proteolysis contributes to HCC by promoting autophagy[J]. Cell Death & Disease, 2017, 8(7):e2925.DOI:10.1038/cddis.2017.251.
- [32] FENG Y, CUI C, LIU X, et al. Protective role of apocynin via suppression of neuronal autophagy and TLR4/NF-kappaB signaling pathway in a rat model of traumatic brain injury[J]. Neurochem Res, 2017, 42(11):3296-3309.
- [33] FENG Y, CUI Y, GAO J, et al. Resveratrol attenuates neuronal autophagy and inflammatory injury by inhibiting the TLR4/NF-kappaB signaling pathway in experimental traumatic brain injury[J]. International Journal of Molecular Medicine, 2016, 37(4):921-930.
- [34] HU N, ZHANG Y. TLR4 knockout attenuated high fat diet-induced cardiac dysfunction via NF-kappaB/JNK-dependent activation of autophagy[J]. Biochim Biophys Acta, 2017, 1863(8):2001-2011.

(收稿日期:2018-07-01, 修回日期:2018-08-01)