

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.13.046

## P2X7 受体与感染性疾病\*

部绍晋 综述, 闵 苏<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第一医院麻醉科 400016)

[关键词] P2X7 受体;受体结构;分枝杆菌;衣原体;寄生虫

[中图分类号] R631

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)13-1854-03

P2X7 受体是以三磷酸腺苷(ATP)为配体的离子门控通道,是 P2X 受体家族中最独特的成员,因其具有广泛的病理生理作用而备受关注。近年研究表明 P2X7 受体是机体对抗病原体入侵的重要组成部分,参与了机体的防御启动,以去除病原体,尤其是可被巨噬细胞吞噬的病原体。此外,P2X7 受体基因的多态性与机体对细菌和寄生虫的易感性明确相关,显示了 P2X7 受体在感染性疾病中发挥着重要作用。本文就 P2X7 受体与感染性疾病的关系做一综述。

### 1 P2X7 受体的结构、功能特点及其在体内的分布

P2X7 受体由 3~6 个同质的亚单位组成,而这些亚单位由 595 个氨基酸组成,为二次跨膜蛋白,N 端和 C 端都在细胞内,与其他 6 种 P2X 受体亚型具有 35%~40% 的同源性。P2X1~P2X7 受体的相似之处在于都具有两个跨膜区(transmembrane, TM1、TM2) 和一个胞外环,ATP 结合位点位于 M1 和 M2 跨膜区之间富集半胱氨酸的胞外反向平行的 6 条链的  $\beta$  折叠片中。不同的是 P2X7 受体的 C 端更长,由 239 个氨基酸残基构成,这可能是其独特功能的分子学基础<sup>[1]</sup>。P2X7 受体具有其独特的功能特性:(1) ATP 是 P2X7 受体的唯一天然激动剂,但与受体的亲和力较低,激活 P2X7 受体需要高浓度的 ATP;(2) 较高浓度 ATP 长时间或反复刺激时,激活的 P2X7 受体可在细胞膜上形成质膜孔道,能允许相对分子质量达  $90 \times 10^3$  的大分子物质进入细胞,诱发细胞死亡。最新的研究表明,P2X7 受体上的质膜孔道可允许尺寸达 1.4 纳米的分子通过<sup>[2]</sup>。P2X7 受体在体内的分布极为广泛,在血液中表达最为显著,如巨噬细胞、肥大细胞和淋巴细胞。在神经系统内 P2X7 受体首先在小胶质细胞与星形胶质细胞中发现,并且在鼠大脑中被克隆。P2X7 受体在人的胰腺、肝脏、心脏和胸腺中高表达,在脑、肌肉、脾脏、肠、前列腺、胎盘表达中等或较低。

### 2 P2X7 受体参与免疫反应的细胞内信号通路

P2X7 受体激活后打开一个特定的阳离子通道, $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  内流和  $\text{K}^+$  外流,在高浓度 ATP 或长时间刺激下,细胞膜上将形成孔通道,从而允许大分子物质进入细胞内,并进一步增加细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度。细胞离子环境的改变将继而激活下游信号通路,引发一系列级联反应,包括:(1) 外流的  $\text{K}^+$  刺激炎症体的形成,从而激活半胱天冬酶-1,半胱天冬酶-1 裂解 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的前体,导致 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的产生和释放<sup>[2]</sup>;(2)  $\text{K}^+$  外流和  $\text{Na}^+$  的内流也可激活应激活化蛋白激酶(stress-activated protein kinase, SAPK)/氨基末端激酶(Jun N-Terminal kinase, JNK)信号通路,从而诱导细胞凋亡;(3) 内流的  $\text{Ca}^{2+}$  还可以激

活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, APKs)p38,p38 的磷酸化导致质膜上还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶的组装,促进超氧阴离子等活性氧物质生成增多,并上调核因子  $\kappa\text{B}$  (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- $\kappa\text{B}$ ) 的表达,促进诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、一氧化氮(nitric oxide, NO)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和 IL-6 的生成<sup>[3-4]</sup>;(4) 内流的  $\text{Ca}^{2+}$  还能激活磷脂酶 D,导致吞噬小体/溶酶体融合继而杀死细胞内的病原体。

### 3 P2X7 受体与感染性疾病

ATP 是一种免疫系统的细胞外信号,特别是在炎症反应过程中。P2X7 受体感受炎症,且促炎细胞因子能使它表达上调。P2X7 受体可以作为有效的杀灭巨噬细胞内微生物(包括结核分枝杆菌、衣原体和利什曼原虫等)的触发受体,可以启动机体防御机制,从而有效去除细胞内的细菌和病原体,尤其是可被巨噬细胞吞噬的病原体<sup>[5]</sup>。近来研究显示,P2X7 受体基因多态性与机体对细菌和寄生虫的易感性有关,表明 P2X7 受体在感染性疾病中发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。

### 4 P2X7 受体与细菌

**4.1 P2X7 受体与分枝杆菌** 研究显示,人类 P2X7 受体基因的多态性与机体对结核分枝杆菌的易感性有关,表明 P2X7 受体在杀灭结核分枝杆菌上发挥着重要作用。对两个独立的东南亚族群进行 1513A>C 多态性流行病学调查,结果发现 1513A>C 多态性与肺外结核密切相关。随后的研究发现,在其他众多民族群体中,1513C 等位基因多态性是结核病发病的一个重要危险因素<sup>[7-8]</sup>。Sambasivan 等<sup>[9]</sup> 研究表明,除 1513C 之外,其他等位基因包括 P2X7-762C 和 P2X7-1729T 的基因多态性也与肺结核的发病相关联,并进一步证明了携带-762C 位点的 P2X7 受体对肺结核患者是一个保护因素。其他研究者进一步评估了其他 P2X7 受体基因多态性的影响,结果表明几个 P2X7 受体多态性(946G>A,1729T>A,155+1 g>t) 导致巨噬细胞凋亡减少和杀灭分枝杆菌的效能降低,这种效应在复合杂合子捐助者身上进一步放大(复合杂合子捐助者指在 P2X7 受体基因上多于一个以上位点的杂合子丧失了功能多态性)。对于 P2X7 受体基因多态性与我国汉族人群肺结核发病之间的关联,Xiao 等<sup>[10]</sup> 研究结果提示,P2X7 受体基因 1513C 和-762C 多态性与汉族人群结核易感性都不相关。不过,总的来说,最近的一项荟萃分析揭示 1513A>C 多态性与结核易感性之间存在很强相关性<sup>[11]</sup>。

\* 基金项目:重庆市医学重点学科建设项目[渝卫科教[2007]2号];卫生部国家临床重点专科项目[财社[2011]170号]。 作者简介:部绍晋(1978-),在读硕士,主要从事临床麻醉方面的研究。 <sup>△</sup> 通讯作者,E-mail:1059659576@qq.com。

遗传易感基因的表征研究可以帮助更好地了解结核病发病,在体外研究中的证据解释了人 P2X7 受体基因多态性与结核病易感性之间关联的潜在机制。对感染卡介苗野生型和纯合子 1513C 的巨噬细胞分析发现,P2X7 受体活化后,野生型巨噬细胞发生了凋亡,细胞内细菌被杀死。然而,在加入 ATP 的情况下,丧失 1513A>C 功能的纯合子巨噬细胞并未发生凋亡,分枝杆菌继续存活<sup>[12]</sup>。最近证实自噬作用有控制分枝杆菌感染的作用,结核分枝杆菌通过抑制巨噬细胞吞噬体与溶酶体的融合,从而能够在吞噬体内生存和复制。Santos 等<sup>[13]</sup>研究表明,ATP 通过结合 P2X7 受体,引起人类单核巨噬细胞快速自溶,可以克服吞噬体与溶酶体融合的障碍,使巨噬细胞内的结核分枝杆菌噬菌体活性增强,从而杀灭细胞内分枝杆菌。对于 P2X7 受体缺失的巨噬细胞,其杀菌活性明显降低,表明 P2X7 受体激动剂对结核病具有潜在的治疗作用。这一过程依赖于 P2X7 受体的激活和  $Ca^{2+}$  内流,同时还涉及磷脂酶 D 的活化,磷脂酶 D 受体阻滞剂也能抑制 ATP 对细胞内分枝杆菌的杀灭作用<sup>[14]</sup>。另外,自噬已经被证实控制在分枝杆菌感染方面发挥着重要作用,ATP 治疗能够迅速的诱导自噬并杀死细胞内的分枝杆菌,这一过程需要 P2X7 受体的激活和  $Ca^{2+}$  内流<sup>[15]</sup>。

**4.2 P2X7 受体与衣原体** 巨噬细胞是衣原体的一种重要宿主和传染源,与巨噬细胞内的分枝杆菌相似,衣原体对 ATP 治疗敏感。这似乎与 P2X7 受体依赖性激活磷脂酶 D 和随后吞噬溶酶体融合有关。对于巨噬细胞 P2X7 受体基因敲除的小鼠,没有显示磷脂酶 D 的活化,在接受 ATP 治疗后,也无法引起 ATP 依赖的衣原体死亡。对于正常小鼠,抑制巨噬细胞磷脂酶 D 的活化,衣原体属细菌的感染水平将上升约 50%。另外,用 P2X7 受体激动剂治疗感染衣原体的上皮细胞,也有显著的疗效,同样与激活磷脂酶 D 有关。虽然衣原体对 P2X7 受体依赖性杀伤敏感,但它会对这种杀伤逐步形成抵抗,未受感染的细胞可通过 P2X7 受体依赖的途径发生凋亡,而感染衣原体的 J774 小鼠巨噬细胞则对 ATP 治疗不敏感<sup>[16]</sup>。对于衣原体感染将导致 P2X7 受体活性降低的现象,其机制目前尚不清楚,需要进一步的研究。

**4.3 P2X7 受体与其他细菌** 链球菌和军团菌主要通过促进宿主细胞凋亡,从而减少循环免疫细胞的数量来增加生存机会。与衣原体类似,军团菌能够阻止吞噬溶酶体的融合,这可能与 P2X7 受体活性相关<sup>[17]</sup>。细胞外病原体,包括铜绿假单胞菌以及霍乱弧菌,能够分泌多种 ATP 调节酶,如腺苷酸激酶、ATP 酶等,这些酶通过参与调控细胞外 ATP 水平,从而影响 P2X7 受体功能。有研究证实,胞外细菌介导的巨噬细胞凋亡,如金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌,与 P2X7 受体依赖的半胱天冬酶-1 的激活和随后的 IL-1 $\beta$  分泌有关<sup>[18]</sup>。

**4.4 P2X7 受体与细胞内寄生虫** 在清除细胞内的寄生虫方面,P2X7 受体可能也发挥了一定作用。感染利什曼原虫的小鼠,皮肤病灶细胞对 P2X7 受体介导的膜孔道形成更敏感,从而能抑制细胞内寄生虫生长,这与宿主细胞凋亡相关<sup>[19-20]</sup>。新近研究显示 P2X7 受体与感染弓形虫介导的免疫反应也相关,“野生型”人或鼠的巨噬细胞受 ATP 激活后,能够杀灭弓形虫的强毒菌株和弱毒菌株速殖子。对缺失巨噬细胞 1513A>C 功能的人类或敲除巨噬细胞 P2X7 受体基因的小鼠,ATP 治疗对寄生虫生长发育没有影响。对弓形虫的杀伤与 P2X7 受体介导的吞噬溶酶体的形成,以及伴随的氧自由基产生或宿主细胞凋亡有关<sup>[21]</sup>。因此,P2X7 受体介导的对弓形虫、分枝杆

菌、衣原体和利什曼原虫的杀伤有许多共同之处。对于眼弓形虫病的易感性与 P2X7 受体基因多态性,以及 P2X7 受体是否对弓形虫感染具有调控作用尚存争议<sup>[22-23]</sup>。在一项研究中,用无毒弓形虫 ME49 株 2 型速殖子感染不同品系的小鼠,其小鼠感染寄生虫的比例与 P2X7 受体的活性呈负相关。然而,使用相同的寄生虫和感染途径,观察到 P2X7 受体基因敲除小鼠与亲本株在体内感染寄生虫的情况无差异<sup>[22-24]</sup>。有趣的是,弓形虫既能诱导又可以抑制细胞的凋亡,这取决于这些细胞是否允许它持续性感染<sup>[25]</sup>。

## 5 小 结

P2X7 受体是机体对抗病原体入侵的重要组成部分,许多细菌和寄生虫可以通过破坏 P2X7 受体途径来求得生存,研究不同病原体的免疫逃避策略中是否都有 P2X7 受体的参与将是一件很有意义的事情。同时,进一步揭示 P2X7 受体在各种感染性疾病中的调节机制,寻找相应的干预和治疗措施,将有助于临床感染性疾病的控制。目前在这方面已进行了许多体外研究,但采用基因敲除小鼠研究病原体感染中 P2X7 受体在体内如何发挥作用将尤为重要。

## 参考文献

- [1] Gunosewoyo H, Coster MJ, Kassiou M. Molecular probes for P2X7 receptor studies [J]. *Curr Med Chem*, 2007, 14 (14): 1505-1523.
- [2] Browne LE, Compan V, Bragg L, et al. P2X7 receptor channels allow direct permeation of nanometer-sized dyes [J]. *J Neurosci*, 2013, 33 (8): 3557-3566.
- [3] Gavala ML, Pfeiffer ZA, Bertics PJ. The nucleotide receptor P2RX7 mediates ATP-induced CREB activation in human and murine monocytic cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 84 (4): 1159-1171.
- [4] Ruffell D, Mourkioti F, Gambardella A, et al. A CREB-C/EBPbeta cascade induces M2 macrophage-specific gene expression and promotes muscle injury repair [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106 (41): 17475-17480.
- [5] Marques-da-Silva C, Chaves MM, Rodrigues JC, et al. Differential modulation of ATP-induced P2X7-associated permeabilities to cations and anions of macrophages by infection with leishmania amazonensis [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (9): e25356.
- [6] Meuser-Batista M, Corrêa JR, Carvalho VF, et al. Mast cell function and death in *Trypanosoma cruzi* infection [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179 (4): 1894-1904.
- [7] Sharma S, Kumar V, Khosla R, et al. Association of P2X7 receptor + 1513 (A->C) polymorphism with tuberculosis in a Punjabi population [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2010, 14 (9): 1159-1163.
- [8] Tekin D, Kayaalti Z, Dalgic N, et al. Polymorphism in the P2X7 gene increases susceptibility to extrapulmonary tuberculosis in Turkish children [J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2010, 29 (8): 779-782.
- [9] Sambasivan V, Murthy KJ, Reddy R, et al. P2X7 gene polymorphisms and risk assessment for pulmonary tuberculosis in Asian Indian [J]. *Dis Markers*, 2010, 28 (1): 43-48.
- [10] Xiao J, Sun L, Jiao W, et al. Lack of association between

- polymorphisms in the P2X7 gene and tuberculosis in a Chinese Han population [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2009, 55(1): 107-111.
- [11] Xiao J, Sun L, Yan H, et al. Metaanalysis of P2X7 gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2010, 60(2): 165-170.
- [12] Bahari G, Hashemi M, Taheri M, et al. Association of P2X7 gene polymorphisms with susceptibility to pulmonary tuberculosis in Zahedan Southeast Iran [J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12(1): 160-166.
- [13] Santos AA Jr, Rodrigues-Junior V, Zanin RF, et al. Implication of purinergic P2X7 receptor in *M. tuberculosis* infection and host interaction mechanisms: a mouse model study [J]. *Immunobiology*, 2013, 218(8): 1104-1112.
- [14] Seto S, Tsujimura K, Horii T, et al. Autophagy adaptor protein p62/SQSTM1 and autophagy-related gene Atg5 mediate autophagosome formation in response to *Mycobacterium tuberculosis* infection in dendritic cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e86017.
- [15] Biswas D, Qureshi OS, Lee WY, et al. ATP-induced autophagy is associated with rapid killing of intracellular mycobacteria within human monocytes/macrophages [J]. *BMC Immunology*, 2008, 9: 35.
- [16] Takamatsu R, Takeshima E, Ishikawa C, et al. Inhibition of Akt/GSK3beta signalling pathway by *Legionella pneumophila* is involved in induction of T-cell apoptosis [J]. *Biochem J*, 2010, 427(1): 57-67.
- [17] Pettengill MA, Marques-da-Silva C, Avila ML, et al. Reversible inhibition of chlamydia trachomatis infection in epithelial cells due to stimulation of P2X(4) receptors [J]. *Infect Immun*, 2012, 80(12): 4232-4238.
- [18] Clemens DL, Lee BY, Horwitz MA. Francisella tularensis phagosomal escape does not require acidification of the phagosome [J]. *Infect Immun*, 2009, 77(5): 1757-1773.
- [19] Chaves SP, Torres-Santos EC, Marques C, et al. Modulation of P2X(7) purinergic receptor in macrophages by *Leishmania amazonensis* and its role in parasite elimination [J]. *Microbes Infect*, 2009, 11(10/11): 842-849.
- [20] Sarkar A, Aga E, Bussmeyer U, et al. Infection of neutrophil granulocytes with *Leishmania major* activates ERK 1/2 and modulates multiple apoptotic pathways to inhibit apoptosis [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2013, 202(1): 25-35.
- [21] Correa G, Marques da Silva C, de Abreu Moreira-Souza AC, et al. Activation of the P2X(7) receptor triggers the elimination of *Toxoplasma gondii* tachyzoites from infected macrophages [J]. *Microbes Infect*, 2010, 12(6): 497-504.
- [22] Lees MP, Fuller SJ, McLeod R, et al. P2X7 receptor-mediated killing of an intracellular parasite, *Toxoplasma gondii*, by human and mouse macrophages [J]. *J Immunol*, 2010, 184(12): 7040-7046.
- [23] Jamieson SE, Peixoto-Rangel AL, Hargrave AC, et al. Evidence for associations between the purinergic receptor P2X(7) (P2RX7) and toxoplasmosis [J]. *Genes Immun*, 2010, 11(5): 374-383.
- [24] Miller CM, Zakrzewski AM, Ikin RJ, et al. Dysregulation of the inflammatory response to the parasite, *Toxoplasma gondii*, in P2X7 receptor-deficient mice [J]. *Int J Parasitol*, 2011, 41(3/4): 301-308.
- [25] Ni Nyoman AD, Lüder CG. Apoptosis-like cell death pathways in the unicellular parasite *Toxoplasma gondii* following treatment with apoptosis inducers and chemotherapeutic agents: a proof-of-concept study [J]. *Apoptosis*, 2013, 18(6): 664-680.

(收稿日期: 2014-12-21 修回日期: 2015-02-11)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.13.047

## 磁敏感加权成像在体部疾病中的研究进展\*

龚静波 综述, 韩福刚<sup>△</sup> 审校

(泸州医学院附属医院放射科, 四川泸州 646000)

【关键词】 磁敏感加权成像; 磁共振成像; 体部疾病

【中图分类号】 R482.53+2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-8348(2015)13-1856-03

磁敏感加权成像(susceptibility weighted imaging, SWI)是一种新兴 MRI 对比增强技术, 目前已被广泛应用于中枢神经系统疾病的诊断。由于 SWI 对病变内血红蛋白代谢物(如含铁血黄素、铁蛋白)、铁沉积及出血、钙化等的检测非常敏感, 其在体部疾病中的应用也得到不断的扩展并显示出极大的潜力。

### 1 SWI 序列的基本原理

SWI 不同于其他质子密度加权成像及 T1WI、T2WI 等常规序列, 它是 X、Y、Z 轴 3 个方向施加完全流动补偿、毫米薄层扫描的高分辨率 3D 梯度回波成像技术。血红蛋白氧合、脱氧转换是血氧水平依赖成像(blood oxygenation level dependent,

\* 基金项目: 2012 年四川省卫生厅科研课题基金资助项目(120323)。 作者简介: 龚静波(1985-), 硕士研究生, 主要从事功能磁共振影像诊断工作。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: 8311hfg@163.com。