

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.13.032

网络首发 [http://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.r.20190327.1131.055.html\(2019-03-28\)](http://kns.cnki.net/KCMS/detail/50.1097.r.20190327.1131.055.html(2019-03-28))

MFG-E8 参与细胞凋亡机制及在慢性阻塞性肺疾病中作用的研究进展*

王秋实 综述,王导新[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院呼吸内科 400010)

[摘要] 在健康个体中,凋亡细胞通过包括巨噬细胞、树突状细胞在内的专业吞噬细胞迅速有效地去除,这一过程称为凋亡细胞清除。通常情况下,细胞凋亡过程受机体内严格调控,但当细胞凋亡调控失衡时,即可引起细胞过度增殖或过度凋亡。现已有越来越充足的证据支持慢性阻塞性肺疾病(COPD)细胞凋亡机制,乳脂球表皮生长因子 8(MFG-E8)可作为桥梁因子参与细胞凋亡过程。MFG-E8 有助于清除凋亡细胞并抑制炎症反应,从而参与维持多种生理系统的平衡。该文就 MFG-E8 参与细胞凋亡的作用机制研究及近年来其在 COPD 中作用的研究进展做一综述。

[关键词] 肺疾病,慢性阻塞性;乳脂球表皮生长因子 8;细胞凋亡

[中图分类号] R563.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)13-2289-03

Research advance on MFG-E8 involving in apoptosis mechanism and its role in chronic obstructive pulmonary disease*

WANG Qiushi, WANG Daoxin[△]

(Department of Respiratory Medicine, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] In healthy individuals, apoptotic cells are rapidly and efficiently removed by specialized phagocytic cells including macrophages and dendritic cells, this process is called as apoptotic cell clearance. Under normal conditions, the process of cellular apoptosis is strictly regulated in the body, but when the regulation of apoptosis is imbalanced, it can cause the cell excessive proliferation or excessive apoptosis. There are more and more sufficient evidences to support the mechanism of apoptosis in chronic obstructive pulmonary disease (COPD), and milk fat globule-EGF factor VIII (MFG-E8) can serve as a bridge factor involving in the process of cellular apoptosis. MFG-E8 helps to clear apoptotic cells and inhibit inflammation reaction, thereby participates in and maintains the balance of multiple physiological systems. The research advances on the mechanism of MFG-E8 involving in cellular apoptosis and its role in COPD during recent years are reviewed.

[Key words] pulmonary disease, chronic obstructive; milk fat globule-EGF factor VIII; cellular apoptosis

细胞凋亡是由基因控制的自主有序的死亡,对维持组织及器官稳定性起至关重要的作用。乳脂球表皮生长因子 8(MFG-E8)因含有特殊的结构域,可将凋亡细胞带入吞噬细胞,同时它可通过一定的途径抑制细胞凋亡及炎症反应,故其在细胞凋亡中起着重要作用。慢性阻塞性肺疾病(COPD)是气道炎细胞浸润积聚导致的一种以小气道阻塞,支气管周围纤维化和气道壁的破坏为特征性疾病,它是世界上最常见的慢性呼吸道疾病,是导致呼吸系统疾病死亡的主要原因。过去几年的研究已经产生了关于 MFG-E8 在多种疾病中的作用的丰富知识,在几种威胁生命的疾病动物模型中,如结肠炎、肾、肝和肠缺血再灌注等, MFG-E8 为减轻炎症和改善预后的重要因素,为治疗

提供了很大的潜力,故 MFG-E8 在 COPD 中的治疗潜力可进一步研究。

1 MFG-E8 及其参与细胞凋亡的作用机制

MFG-E8 是一种外周膜糖蛋白,其命名是因最初发现镶嵌于乳汁脂肪球膜表面^[1]。人体多种器官、细胞和体液中均可分离到 MFG-E8。研究显示,在未成熟树突状细胞和未分化巨噬细胞内有相当数量的 MFG-E8,而其成分在成熟后减少^[2]。MFG-E8 参与多种细胞相互作用,包括对凋亡细胞的吞噬作用,精子与卵子的黏附,肠黏膜的修复,乳腺分支形态发生,血管生成等^[3]。MFG-E8 不仅可加速各种器官中各种凋亡细胞的清除,还包括不需要的碎片、微泡、细胞核和其他分子的清除^[3]。凋亡的过程主要为吞噬细

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81670071)。 作者简介:王秋实(1992—),在读硕士,主要从事呼吸系统相关疾病研究。 △ 通信作者, E-mail: wangdaoxin1@163.com。

胞吞噬凋亡细胞的过程。完整已凋亡细胞的有效吞噬是细胞凋亡的关键终点,防止潜在的有害或免疫原性细胞内物质从垂死细胞中释放,从而保持周围组织的完整性和功能,是防止继发性坏死和炎症所必需的^[4]。MFG-E8 含有 2 个表皮生长因子(EGF)重复序列的 N 末端结构域,在第 2 个 EGF 结构域中具有与整合素结合 RGD 基序(精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸),其与 $\alpha v \beta 3$ 和 $\alpha v \beta 5$ 整合素异二聚体结合,以促进细胞黏附和诱导整合素介导的信号转导。1 个黏蛋白样结构域和 2 个重复的盘状蛋白样结构域(C 结构域)组成,2 个 C 结构域是膜结合所必需的,吞噬细胞在遇到凋亡细胞时会分泌 MFG-E8,其 C-末端结构域介导与凋亡细胞表面暴露的磷脂酰丝氨酸和磷脂酰乙醇胺残基的连接并将其带入吞噬细胞吞噬,因 C 末端 F5/8C 结构域对细胞膜表面磷脂结合的特异性,RGD 基序与吞噬细胞上表达的整合素结合,使 MFG-E8 已被鉴定为许多系统中凋亡细胞去除的关键调节因子^[3,5]。Rho 家族 GTP 酶是介导凋亡细胞吞入的重要蛋白酶,由 Rac1、Cdc42 和 RhoA 组成,已被公认为参与细胞骨架重组的调节因子,MFG-E8 与 $\alpha v \beta 5$ 整合素结合后与 DOCK180 相互作用激活 Rac1,Rac1 在质膜上聚集形成膜突起,有利于参与巨噬细胞的吞噬作用^[6-8]。目前研究发现,MFG-E8 对细胞凋亡及维持机体稳态平衡具有重要作用。ASANO 等^[4]报道了一种名为 D89E 的 MFG-E8 突变体,携带 RGD 基序点突变,抑制了多种吞噬细胞对凋亡细胞的吞噬作用。由于脾脏生发中心的凋亡细胞浸润,MFG-E8 敲除小鼠可自发产生有害的自身免疫疾病^[9]。在细菌脂多糖(LPS)刺激下,MFG-E8 可诱导转录激活因子-3(STAT-3)和细胞因子信号转导抑制因子-3(SOCS3)活化,上调的 SOCS3 又与核因子 κB (NF- κB) p65 相互作用,促进 LPS 诱导的肿瘤坏死因子 α (TNF- α)产生的 TLR4 信号传导的负调节,从而减弱巨噬细胞的促炎刺激^[10]。MFG-E8 以半胱天冬酶-3 依赖性方式从凋亡内皮细胞释放,通过增加信号转导和 STAT-3 的磷酸化介导巨噬细胞重编程,将巨噬细胞重编程为抗炎细胞,这种凋亡微环境诱导巨噬细胞中的表型转换对维持局部组织稳态是重要的^[11]。有研究探讨了在创伤性脑损伤中 MFG-E8 在凋亡中的作用及其潜在机制,认为其是通过整合素- $\beta 3$ /FAK/PI3K/AKT 信号传导途径调节凋亡,可显著增强该通路相关的表达,通过实验证明了人重组 MFG-E8 抑制神经元细胞凋亡并提供神经保护作用^[12]。KOMURA 等^[13]的研究发现在多微生物引起的败血症中 MFG-E8 的下调是通过 LPS-CD14 途径介导的,最终导致凋亡细胞的累积。在急性酒精暴露下,机体通过活性氧化物依赖性机制抑制 MFG-E8 基因表达而损害巨噬细胞的胞葬作用,而用酒精慢性喂养小鼠导致

血清中高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)水平增加。进一步研究显示 HMGB1 与 MFG-E8 竞争结合 $\alpha v \beta 3$,并降低巨噬细胞吞噬凋亡细胞的能力^[14]。MFG-E8 表达的异常导致许多病理状态,目前仍需更多的研究来了解 MFG-E8 在疾病中的功能及其在相关信号通路中的作用。

2 MFG-E8 与 COPD

随着老龄化和吸烟人口的增加,COPD 的病死率居高不下,尽管在症状治疗和预防急性发作方面取得了进展,但很少有情况来改善疾病情况或影响病死率,故需要更好地了解导致 COPD 的复杂疾病机制^[15]。COPD 的发病机制主要包括炎症机制、蛋白酶-抗蛋白酶失衡机制、氧化应激机制。此外,近年来许多研究证明了在 COPD 患者、COPD 动物模型及在离体气道上皮和平滑肌细胞中细胞凋亡机制的存在,无论动物还是人体研究,肺外或是肺内研究,均提示了细胞凋亡在 COPD 发病机制中的重要地位。COPD 与细胞凋亡增加和凋亡细胞清除率降低之间存在关联。凋亡物质的积累可能由于过量的细胞凋亡本身而产生,吞噬功能缺陷和吞噬过程中凋亡细胞的识别障碍所致。对凋亡细胞识别和从肺中去除主要由气道巨噬细胞介导,未成熟的树突状细胞和非专业吞噬细胞也可以显示出这种功能,例如上皮细胞和间充质细胞,有效清除气道中的凋亡细胞对于成功解决炎症和恢复肺内稳态至关重要^[16]。肺泡巨噬细胞是一种多功能的基质细胞,通过释放中性粒细胞趋化因子和蛋白分解酶在炎症中发挥重要作用。肺泡巨噬细胞凋亡减少,增加气道区巨噬细胞的数量,使其相对活化释放过多的炎性介质,最终导致肺组织损伤^[17]。有研究假设 COPD 凋亡气道上皮细胞的累积可能是由于肺泡巨噬细胞的吞噬清除缺陷所致,设计实验分别用健康对照组和 COPD 受试者的支气管肺泡灌洗液中的肺泡巨噬细胞去吞噬体外培养的被紫外线辐射诱导凋亡的气道上皮细胞,发现与对照组相比,COPD 患者肺泡巨噬细胞吞噬凋亡的气道上皮细胞比例明显降低,表明在 COPD 中存在肺泡巨噬细胞摄取凋亡的气道上皮细胞的吞噬能力的特定缺陷^[18]。在肺部富含胶原蛋白的基质取代正常组织结构,异常重塑可以发生纤维化,导致器官功能的破坏。在正常组织中,胶原转换通过细胞外蛋白水解切割和内吞作用随后溶酶体降解发生。通过对成年小鼠肺切片,ATABAI 等^[19]发现 MFG-E8 存在于肺泡间质及肺血管系统中,通过支气管肺泡灌洗(BAL)获得的肺泡巨噬细胞对 MFG-E8 染色呈阳性,MFG-E8 含有 2 个盘状结构域,与胶原受体 DDR1 和 DDR2 中存在的 2 个盘状结构域同源,巨噬细胞通过摄取 MFG-E8 定向结合的胶原蛋白,促进其与胶原蛋白的结合并促进肺泡巨噬细胞的内吞作用,从而减轻小鼠组织纤维化的严

重程度,故在负调节肺组织纤维化中起关键作用。一项研究调查了低剂量的阿奇霉素对肺泡巨噬细胞吞噬凋亡支气管上皮细胞和中性粒细胞的作用影响,发现大环内酯类抗生素阿奇霉素对 COPD 气道巨噬细胞的细胞功能恢复依赖于与其细胞表面磷脂的结合,表明磷脂识别受体或桥接分子的失调可能是 COPD 中凋亡细胞去除缺陷的原因^[20]。在 COPD 患者中凋亡细胞清除是有缺陷的,凋亡细胞的识别和去除由多种分子介导,包括吞噬细胞表面上的受体和可溶性桥接蛋白,如 MFG-E8、生长抑制特异性因子 6(Gas6)、血小板反应蛋白-1 和蛋白 S 等^[21-22]。MFG-E8 可通过 RGD 基序与 $\alpha v\beta 3$ 和 $\alpha v\beta 5$ 整合素相连介导细胞凋亡过程,故推测 MFG-E8 可能与 COPD 相关。有研究检查了 MFG-E8 在 COPD 患者中的表达,COPD 患者的血浆 MFG-E8 水平与健康对照组相比,在慢性阻塞性肺病全球倡议(GOLD) I 和 GOLD IV 期 COPD 之间逐渐降低,研究证明了 MFG-E8 可作为 COPD 疾病严重程度的标志^[23]。胡娜等^[24]探讨了 MFG-E8 凋亡清除相关分子是否和 COPD 有关,实验发现 COPD 组 MFG-E8 血浆浓度与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$),并且随着 COPD 患者病情的加重,MFG-E8 血浆浓度越来越低,MFG-E8 可能参与了 COPD 的发生与发展。有研究者将暴露于香烟烟雾的小鼠用作 COPD 的动物模型,研究 MFG-E8 对巨噬细胞的吞噬能力和炎性反应的影响以了解 MFG-E8 在 COPD 发展中的作用,与暴露于空气的小鼠相比,香烟暴露小鼠的肺组织中 MFG-E8 表达明显降低,香烟暴露小鼠的肺泡灌洗液中 MFG-E8 的浓度远低于空气暴露小鼠,香烟暴露小鼠的血浆 MFG-E8 水平低于空气对照组^[25]。

3 结 语

COPD 患者的病情预后与肺功能水平和急性加重次数密切相关,改善患者肺功能及减少急性加重次数可提高 COPD 患者的生活质量和降低 COPD 患者的死亡风险。MFG-E8 的异常表达与 COPD 的发生及发展可能有相关性,多项研究表明急性加重期患者的因子水平明显低于稳定期及健康人群,但因目前研究数量有限,COPD 细胞凋亡缺陷与存在异常的 MFG-E8 表达是否有关尚不清楚,MFG-E8 在 COPD 中的表达和功能均需进一步阐明。此外,MFG-E8 水平是否与 COPD 严重程度相关也待进一步的明确。积极寻找较特异的生物因子方便预测 COPD 急性发作风险是有意义的,仍需更多的研究来了解 MFG-E8 在 COPD 的生理学、免疫学和病理生理学中的分子功能,充分评估其治疗潜力。

参考文献

[1] STUBBS J D, LEKUTIS C, SINGER K L, et al. cDNA

cloning of a mouse mammary epithelial cell surface protein reveals the existence of epidermal growth factor-like domains linked to factor VIII-like sequences[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990, 87(21): 8417-8421.

- [2] MIKSA M, AMIN D, WU R, et al. Maturation-induced down-regulation of MFG-E8 impairs apoptotic cell clearance and enhances endotoxin response[J]. Int J Mol Med, 2008, 22(6): 743-748.
- [3] RAYMOND A, ENSSLIN M A, SHUR B D. Sed1/Mfg-E8: a bi-motif protein that orchestrates diverse cellular interactions[J]. J Cell Biochem, 2009, 106(6): 957-966.
- [4] ASANO K, MIWA M, MIWA K, et al. Masking Of phosphatidylserine inhibits apoptotic cell engulfment and induces autoantibody production in mice[J]. J Exp Med, 2004, 200(4): 459-467.
- [5] HANAYAMA R, TANAKA M, MIWA K, et al. Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes[J]. Nature, 2002, 417(6885): 182-187.
- [6] AKAKURA S, SINGH S, SPATARO M, et al. The opsonin mfg-e8 is a ligand for the alphavbeta5 integrin and triggers dock180-dependent rac1 activation for the phagocytosis of apoptotic cells[J]. Exp Cell Res, 2004, 292(2): 403-416.
- [7] ONUMA H, KOMATSU T, ARITA M, et al. Rapidly rendering cells phagocytic through a cell surface display technique and concurrent rac activation[J]. Sci Signal, 2014, 7(334): Rs4.
- [8] PETRUSCA D N, GU Y, ADAMOWICZ J J, et al. Sphingolipid-mediated inhibition of apoptotic cell clearance by alveolar macrophages[J]. J Biol Chem, 2010, 285(51): 40322-40332.
- [9] HANAYAMA R, TANAKA M, MIYASAKA K, et al. Autoimmune disease and impaired uptake of apoptotic cells in mfg-e8-deficient mice[J]. Science, 2004, 304(5674): 1147-1150.
- [10] AZIZ M, JACOB A, MATSUDA A, et al. Pre-Treatment of recombinant mouse mfg-e8 downregulates lps-induced tnf-alpha production in macrophages via stat3-mediated socs3 activation[J]. PLoS One, 2011, 6(11): E27685.
- [11] BRISSETTE M J, LEPAGE S, LAMONDE A S, et al. Mfg-E8 released by apoptotic endothelial cells triggers anti-inflammatory macrophage reprogramming[J]. PLoS One, 2012, 7(4): E36368.
- [12] GAO Y Y, ZHANG Z H, ZHUANG Z, et al. Recombinant milk fat globule-egf factor-8 reduces apoptosis via integrin $\beta 3$ /fak/pi3k/akt signaling pathway in rats after traumatic brain injury[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(9): 1024-1030.
- [13] KOMURA H, MIKSA M, WU R, et al. Milk fat globule epidermal growth factor-factor VIII is down-regulated in sepsis via the lipopolysaccharide-cd14 pathway[J]. J Immunol, 2009, 182(1): 581-587.
- [14] WANG X, BU H F, ZHONG W, et al. Mfg-E8 and hmgb1 are involved in the mechanism underlying alcohol-induced impairment of macrophage efferocytosis[J]. Mol Med, 2013(19): 170-182.

- 血管并发症[J]. 中国食物与营养, 2017, 23(7): 76-79.
- [27] 杨丽君. 吡哆胺对高糖“代谢记忆”致糖尿病视网膜膜病变的治疗作用[D]. 福州: 福建医科大学, 2014.
- [28] 黄焱, 郑卫东, 修惠平, 等. 吡哆胺对糖尿病大鼠视网膜 AGE-RAGE 系统的影响[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2014, 23(1): 55-59.
- [29] 吴茜, 陈亨业, 胡贝, 等. 晚期糖基化终末产物的抑制机制及抑制剂的研究进展[J]. 中国实用医药, 2012, 7(11): 237-239.
- [30] 苏文, 李虹伟, 陈晖, 等. 糖基化终末产物损伤冠状动脉平滑肌细胞 Kv 通道[J]. 首都医科大学学报, 2016, 37(6): 725-730.
- [31] TEKABE Y, ANTHONY T, LI Q, et al. Treatment effect with anti-RAGE F(ab)(2) antibody improves hind limb angiogenesis and blood flow in type 1 diabetic mice with left femoral artery ligation[J]. *Vasc Med*, 2015, 20(3): 212-218.
- [32] FERNANDO C D, KARUNARATNE D T, GUNAS-INGHE S D, et al. Inhibitory action on the production of advanced glycation end products (AGEs) and suppression of free radicals in vitro by a Sri Lankan polyherbal formulation Nawarathne Kalka [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16: 197.
- [33] 甄东户, 刘丽娟, 成建国, 等. 二甲双胍对糖基化终末产物诱导的成骨细胞氧化应激和凋亡的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2013, 18(7): 743-748.
- [34] KAMIOKA M, ISHIBASHI T, SUGIMOTO K A, et al. Blockade of Renin-Angiotensin system attenuates advanced glycation end Products-Mediated signaling pathways[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2010, 17(6): 590-600.
- [35] VOZIYAN P A, HUDSON B G. Pyridoxamine as a multi-functional pharmaceutical; targeting pathogenic glycation and oxidative damage[J]. *Life Sci*, 2005, 62(15): 1671-1681.
- [36] 唐丽霞, 朱开梅, 李典鹏, 等. 槲皮素脂质体对糖尿病大鼠肾脏糖基化终产物及其受体表达的影响[J]. 天津医药, 2016, 44(1): 71-74.
- [37] 王文君, 欧阳克蕙, 许文凤, 等. 9 种植物粗多糖体外降脂及抑制非酶糖基化活性的研究[J]. 江西农业大学学报, 2013, 35(3): 593-596.
- [38] 王志强, 赵艳. 白藜芦醇抗蛋白质非酶糖基化和抗氧化活性研究[J]. 首都医药, 2004, 11(20): 16-17.
- [39] 王爱华. 白藜芦醇对血管内皮细胞糖基化损伤的保护作用[D]. 济南: 山东大学, 2014.
- [40] ZHANG Y, LUO Z, MA L, et al. Resveratrol prevents the impairment of advanced glycosylation end products (AGE) on macrophage lipid homeostasis by suppressing the receptor for AGE via peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation[J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(5): 729-734.
- [41] MORIDI H, KARIMI J, SHEIKH N, et al. Resveratrol-dependent down-regulation of receptor for advanced glycation end-products and oxidative stress in kidney of rats with diabetes[J]. *Int J Endocrinol Metab*, 2015, 13(2): e23542.

(收稿日期: 2019-01-11 修回日期: 2019-03-28)

(上接第 2291 页)

- [15] RABE K F, WATZ H. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. *The Lancet*, 2017, 389(10082): 1931-1940.
- [16] GRABIEC A M, HUSSELL T. The role of airway macrophages in apoptotic cell clearance following acute and chronic lung inflammation [J]. *Semin Immunopathol*, 2016, 38(4): 409-423.
- [17] 曾春芳. NE 在 COPD 患者肺组织中的表达及其与巨噬细胞凋亡的相关性研究[J]. 西南医科大学学报, 2016, 40(4): 397-401.
- [18] HODGE S, HODGE G, SCICCHITANO R, et al. Alveolar macrophages from subjects with chronic obstructive pulmonary disease are deficient in their ability to phagocytose apoptotic airway epithelial cells[J]. *Immunol Cell Biol*, 2003, 81(4): 289-296.
- [19] ATABAI K, JAME S, AZHAR N, et al. Mfge8 diminishes the severity of tissue fibrosis in mice by binding and targeting collagen for uptake by macrophages[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(12): 3713-3722.
- [20] HODGE S, HODGE G, BROZYNA S, et al. Azithromycin increases phagocytosis of apoptotic bronchial epithelial cells by alveolar macrophages[J]. *Euro Res J*, 2006, 28(3): 486-495.
- [21] HENSON P M, COSGROVE G P, VANDIVIER R W. State of the art apoptosis and cell homeostasis in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, 3(6): 512-516.
- [22] VANDIVIER R W, HENSON P M, DOUGLAS I S. Burying the dead; the impact of failed apoptotic cell removal (efferocytosis) on chronic inflammatory lung disease[J]. *Chest*, 2006, 129(6): 1673-1682.
- [23] ZHANG S, XIE J G, SU B T, et al. MFG-E8, a clearance glycoprotein of apoptotic cells, as a new marker of disease severity in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2015, 48(11): 1032-1038.
- [24] 胡娜, 崔天益. MFG-E8 和 Tims 与慢性阻塞性肺疾病相关性研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2015.
- [25] WANG Y, LUO G, CHEN J, et al. Cigarette smoke attenuates phagocytic ability of macrophages through down-regulating Milk fat globule-EGF factor 8 (MFG-E8) expressions[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42642.

(收稿日期: 2019-01-18 修回日期: 2019-03-23)