

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.04.026

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2016.04.026>

中性粒细胞迁移与肺部疾病的研究进展

莫磊¹ 综述 朱黎明^{1,2}, 戴爱国^{1,2} 审校

(1. 南华大学附属省马王堆医院, 长沙 410016; 2. 湖南省老年医学研究所呼吸疾病研究所, 长沙 410016)

[摘要] 中性粒细胞迁移(neutrophil migration)是中性粒细胞重要的生物学功能之一, 是中性粒细胞由骨髓或外周血趋化到病变部位活化并履行功能的必经步骤, 近年来研究表明中性粒细胞迁移对肺部疾病的发生发展有着重要的作用, 尤其在支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病、肺癌、急性呼吸窘迫综合征等疾病中起关键作用, 这或许为肺部疾病的诊治提供新的方向。本文对中性粒细胞的产生、释放、黏附、迁移及与肺部疾病的关系进行综述。

[关键词] 中性粒细胞; 迁移; 支气管哮喘; 慢性阻塞性肺疾病; 肺癌; 急性呼吸窘迫综合征

Research progress of neutrophil migration and lung disease

MO Lei¹, ZHU Liming^{1,2}, DAI Aiguo^{1,2}

(1. Provincial Mawangdui Hospital Affiliated to University of South China, Changsha 410016; 2. Respiratory Diseases Institute of Hunan Province Gerontology Research Institute, Changsha 410016, China)

Abstract Neutrophil migration is one of the crucial biological functions of neutrophils, which is the essential step for neutrophils coming from bone marrow or peripheral blood to the lesion to be activated and to execute its functions. Neutrophil migration plays pivotal roles of lung diseases especially in bronchial asthma, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), lung cancer, acute respiratory distress syndrome and other diseases. It may bring to light a new insight for the diagnosis and treatments of lung diseases if neutrophil migration can be regulated moderately. In this paper, the production, release, adhesion, migration of neutrophils and the relationship with lung disease were reviewed.

Keywords neutrophil; migration; bronchial asthma; COPD; lung cancer; ARDS

收稿日期 (Date of reception): 2016-01-09

通信作者 (Corresponding author): 朱黎明, Email: zhuliming3298@sina.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金(81270093); 湖南省科技计划项目(2012FJ3075); 湖南省自然科学基金(12JJ311); 湖南省医药卫生科研计划课题(B2013-064), 湖南省中医药管理局科研项目(2012-90)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81270093); Science and Technology Planning Project of Hunan Province (2012FJ3075); the Natural Science Foundation of Hunan Province (12JJ3111); the Medical Health Research Plan of Hunan Province (B2013-064) and Administration of Traditional Chinese Medicine of Hunan Province (2012-90), P. R. China.

中性粒细胞迁移是指中性粒细胞(neutrophil, NEU)在多种黏附分子(如ICAM-1, CXCR2, VCAM-1, LFA-1)及趋化因子(如IL-8, fMLP, IFN- γ)的作用下,由骨髓或外周血趋化到病变部位,参与机体防御、炎症损伤和组织重塑的过程。既往研究并未明确中性粒细胞迁移对疾病的影响,但现认为中性粒细胞迁移可能与多种疾病密切相关,如支气管哮喘、慢性阻塞性肺疾病、肺癌、急性呼吸窘迫综合症等,而且在不同疾病中,中性粒细胞迁移能力不同,对疾病的影响也不同。

1 中性粒细胞产生与释放

中性粒细胞起源于骨髓造血干细胞,粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)是调节NEU生成的重要因子,与受体G-CSFR结合可促进中性粒细胞在骨髓的产生及成熟。CXCR2通过IL-17/G-CSF通路介导骨髓中成熟的中性粒细胞释放入血^[1],而CXCR4-CXCR12的作用与CXCR2相反,促使成熟中性粒细胞停留在骨髓组织中^[2]。Gro β 和KC、SDF-1分别是CXCR2和CXCR4在骨髓细胞中的配体,粒细胞集落刺激因子(G-CSF)能上调Gro β 和KC的表达,且同时能下调CXCR4的配体SDF-1的表达,导致CXCR2和CXCR4比例失衡引起中性粒细胞从骨髓释放^[3]。

2 中性粒细胞黏附与迁移

中性粒细胞黏附主要依赖 β 2整合素(integrin β 2)(主要包括Mac-1和LFA-1)与血管内皮上的细胞粘附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)和血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)的结合来实现, integrin β 2缺失可导致NEU不能与血管内皮建立牢固黏附。血管内皮上的CD44和PSGL-1信号通路可活化LFA-1,使中性粒细胞停止滚动并与血管内皮牢固黏附^[4]。

中性粒细胞迁移主要以跨内皮迁移(transendothelial migration, TEM)方式进行,TEM主要由ICAM-1、ICAM-2、MMP-9、PECAM-1及CXCR2介导。中性粒细胞的Integrin β 2可与血管内皮细胞上的ICAM-1和ICAM-2结合,ICAM-1介导NEU向细胞连接部位边集滚动,而ICAM-2则介导NEU进入连接部位,如果ICAM-2缺失或被阻断,那么中性粒细胞则不能TEM。NEU跨过内皮细胞

后,分泌MMP-8、MMP-9和弹性蛋白酶破坏血管基层,增强NEU迁移能力。Bradley等^[5]用流感病毒感染MMP9^{-/-}小鼠,发现MMP9^{-/-}小鼠肺部病毒载量显著高于对照组($P < 0.01$),实验表明抑制MMP-9的表达可导致流感病毒的清除减少,而其减少是中性粒细胞肺部迁移降低的结果。

3 中性粒细胞迁移能力的测定

在不同疾病中,中性粒细胞的迁移能力差别很大,对疾病影响也不同,因此中性粒细胞迁移能力的测定则显得尤为重要。通过分析组织切片NEU浸润的数目及测定肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中NEU的比率能间接的反映中性粒细胞的迁移能力,目前已被广泛用于临床。Boyden小室法、琼脂糖下细胞迁移实验及Transwell实验虽能较为精确的测定其迁移能力,但操作繁琐、耗时且只能测定一个方向的迁移能力,并且在某些情况下可能会得出相互矛盾的结果^[6]。而微流芯片(Microfluidic Chip)是目前最新的测定方法,能准确、快速的测定NEU的迁移能力,且同时能测定多个方向的迁移能力^[7]。

4 中性粒细胞迁移对肺部疾病的影响

4.1 中性粒细胞迁移与支气管哮喘

支气管哮喘是多种炎性细胞及炎症介质参与的气道慢性炎症。近年研究^[8]表明NEU也是哮喘的重要效应细胞之一,如职业性哮喘、部分重症哮喘、糖皮质激素不敏感型哮喘则主要由NEU参与,而中性粒细胞迁移增加是哮喘发病的重要机制。IL-8、IL-4与IL-17等是哮喘发病的主要炎性因子。哮喘患者血液及BALF中的IL-8浓度明显增加,而IL-8是NEU最强的趋化因子,能直接促进中性粒细胞迁移。哮喘患者血液IL-4表达显著升高,IL-4不仅能上调VCAM-1的表达,且能通过联合IL-8来影响VCAM-1、ICAM-1与整合素的结合而促进中性粒细胞TEM。哮喘患者血液中的IL-17的表达也显著增高,IL-17不仅能诱导巨噬细胞和成纤维细胞分泌G-CSF促进CD34祖细胞向中性粒细胞分化,且能促进巨噬细胞和成纤维细胞的活化导致气道重塑^[9],同时IL-17也能诱导IL-8的产生,与IL-8协同促进中性粒细胞向支气管迁移,加重小气道炎症及其高反应性^[10]。Nair等^[11]在重症哮喘患者中使用CXCR2抑制剂,发现其痰中中性粒细胞明显减少,且患者气道高反应性得到明显改善,

说明使用CXCR2抑制剂后重症哮喘患者中性粒细胞肺迁移明显减少, 并表明中性粒细胞迁移在重症哮喘的发病具有重要作用。最新研究发现利用中性粒细胞迁移特性, 通过微流体芯片可以用于哮喘临床诊断^[12-13], 提示中性粒细胞迁移微流体芯片将会成为哮喘诊断的新方法。

4.2 中性粒细胞迁移与 COPD

COPD是一种以持续性气流受限为特征的常见呼吸系统疾病, 其中香烟烟雾是慢阻肺最主要的致病因素。中性粒细胞可在肺部释放多种细胞因子及氧化活性产物, 致使气道平滑肌细胞收缩、血管壁通透性增加及气道重塑, 而这三者是COPD重要发病机制^[14]。研究^[15]发现, 吸烟后外周血活化的中性粒细胞显著增加, IL-8、ICAM-1表达亦明显上调, 且中性粒细胞迁移速度显著增快, 表明吸烟不仅能活化中性粒细胞, 也可增加中性粒细胞迁移速度, 从而加重气道炎症。Newton等^[16]在研究小鼠COPD时发现使用ICAM-1阻断剂后, 肺部中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)浓度显著降低, 提示在COPD小鼠中阻断ICAM-1后中性粒细胞肺部迁移减少, 同时分泌的NE也减少。研究^[17]发现中性粒细胞迁移能力增加是COPD早期重要表现, Wu等^[18]在使用微流体芯片研究COPD患者痰中NEU迁移时, 发现迁移速度(the migration speed, CI)与FEV₁/FVC呈负相关, 表明高NEU迁移对肺功能有损伤。近来发现辛伐他汀能降低COPD患者中性粒细胞迁移能力, 减缓COPD患者病情进展, 保护患者肺功能^[19]。综上所述, 通过降低中性粒细胞的迁移能力, 可为COPD患者的治疗及改善肺功能提供新思路。

4.3 中性粒细胞迁移与肺癌

肺癌是起源于支气管上皮的恶性肿瘤, 发病率居恶性肿瘤之首, 由于早期诊断率低, 致使预后极差。研究^[20]发现, 中性粒细胞慢性炎症已成为肿瘤的重要标志之一。Carpagnano等^[21]研究发现非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)痰液中中性粒细胞明显多于健康对照组($P < 0.05$), 而淋巴细胞差别则较小, 且NSCLC患者血液中与中性粒细胞迁移相关分子LTB-4和IL-8的浓度显著高于正常组, 表明中性粒细胞迁移在肺癌的发生中有重要作用。Hattar等^[22]在研究NSCLC与NEU关系时发现, A549与NEU共培养时, A549细胞增殖速率明显增快, 并随着NEU比例增加而加快; Fridlender等^[23]使用LY6G单克隆抗体清除小

鼠体内全部NEU, 发现小鼠体内肿瘤生长明显减缓, 说明NEU能促进肺癌的生长增殖。在A549肿瘤实验中使用CXCR2特异性抑制剂AZ10397767, 发现体内及体外瘤体生长明显受抑制, 实验表明通过抑制NEU迁移分子CXCR2可抑制肿瘤增殖。Zhou等^[24]发现CXCL5通过激活PI3K-Akt和ERK1/2-MAPK通路促进中性粒细胞迁移, 并可导致肿瘤增殖及转移。抑制中性粒细胞在肺癌的迁移, 这将为肺癌的研究提供一个新的方向。

4.4 中性粒细胞迁移与急性肺损伤(acute lung injury, ALI)/急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)

急性肺损伤(ALI)是指在多种致病因素作用下导致急性弥漫性肺泡毛细血管损伤、肺不张和肺水肿, 导致的急性低氧性呼吸功能不全。急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是ALI的严重期或终末阶段, 死亡率高达40%~50%。NEU是ALI/ARDS最主要的效应细胞, ALI/ARDS严重程度与肺泡及肺毛细血管内中性粒细胞数目呈正相关^[25]。ALI/ARDS发病早期BALF中NEU即开始大量增加, 占BALF细胞总数的60%以上, 并伴随TNF- α 、IL-1 β 、CXCL10、CXCR3的增高, 而CXCL10-CXCR3轴可以加重中性粒细胞介导的ARDS的病情进展^[26], NEU大量向肺组织迁移并释放大量炎症因子, 同时激活NF- κ B通路形成炎症瀑布反应。NF- κ B不仅可以调控多种炎症因子参与ALI/ARDS, 亦可以活化更多的NEU从而产生炎症瀑布效应^[27]。研究^[28]发现抑制NEU迁移, 不仅能抑制NF- κ B转录活性, 而且能减轻ALI/ARDS病理改变。

4.5 中性粒细胞迁移与肺炎

肺炎是呼吸系统最常见的感染性疾病, 在病原体作用下, 多种炎症因子(如IL-8、TNF- α)及黏附分子(如ICAM-1、VCAM-1)表达均上调, 这些都能使中性粒细胞迁移能力增强, 并能提高机体清除病原体的能力。肺炎时中性粒细胞迁移主要由肺气道上皮RelA调控, RelA通过上调CXCL5、GM-CSF在气道上皮的表达, 从而促进中性粒细胞向肺的迁移^[29]。Czaikoski等^[30]在肺炎小鼠中使用血红素加氧酶抑制剂抑制CXCR2的下调, 发现中性粒细胞迁移能力增加, 且小鼠生存率较对照组提高20%, 说明提高中性粒细胞迁移, 能增强小鼠对感染的抵抗能力。Patel等^[31]研究发现老年患者肺部感染时NEU迁移能力降低, 而辛伐他汀能提高患者NEU迁移能力并缩短抗感染疗程, 表明提高老年患

者中性粒细胞迁移能力能增强其抗感染能力。

4.6 中性粒细胞迁移与肺囊性纤维化

肺囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)为常染色体隐性遗传性疾病,是囊性纤维化跨膜转运调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductive regulator, CFTR)基因突变导致。中性粒细胞迁移在CF发病中有重要作用。Moss等^[32]发现CF病人使用CXCR2拮抗剂后,病人痰中中性粒细胞及弹性蛋白较对照组减少,表明抑制NEU迁移相关分子可以减轻NEU对CF气道损伤。但亦有研究^[33]表明布洛芬通过提高中性粒细胞迁移而增强中性粒细胞的抗炎能力,提高CF治疗效果,说明中性粒细胞迁移在CF中具有两面性,合理调节中性粒细胞的迁移将是CF治疗的新方向。

5 小结与展望

综上所述,中性粒细胞的迁移是中性粒细胞发挥生物活性的基础,参与多种呼吸系统疾病的病理生理过程。但是从目前的研究来看,大部分还仅限于中性粒细胞迁移与肺部疾病的描述性研究,其中中性粒细胞迁移在疾病中的分子调控机制尚未完全明确。近年来对中性粒细胞迁移抑制剂的研究更加证实了中性粒细胞迁移对肺部疾病的重要性。因此,探索中性粒细胞迁移的潜在分子调控机制,明确其在肺部疾病中的作用,能为我们对肺部疾病的病理生理发生机制提供新的理解,为肺部炎症性疾病及抑制肺癌增殖转移等研究提供新的方向。

参考文献

- Mei J, Liu Y, Dai N, et al. Cxcr2 and Cxcl5 regulate the IL-17/G-CSF axis and neutrophil homeostasis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(3): 974-986.
- Devi S, Wang Y, Chew WK, et al. Neutrophil mobilization via plerixafor-mediated CXCR4 inhibition arises from lung demargination and blockade of neutrophil homing to the bone marrow[J]. *J Exp Med*, 2013, 210(11): 2321-2336.
- Sadik CD, Kim ND, Luster AD. Neutrophils cascading their way to inflammation[J]. *Trends Immunol*, 2011, 32(10): 452-460.
- Lefort CT, Ley K. Neutrophil arrest by LFA-1 activation[J]. *Front Immunol*, 2012, 3(3): 157.
- Bradley LM, Douglass MF, Chatterjee D, et al. Matrix metalloproteinase 9 mediates neutrophil migration into the airways in response to influenza virus-induced toll-like receptor signaling[J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(4): e1002641.
- Yoshikawa T, Dent G, Ward J, et al. Impaired neutrophil chemotaxis in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175(5): 473-479.
- Sackmann EK, Fulton AL, Beebe DJ. The present and future role of microfluidics in biomedical research[J]. *Nature*, 2014, 507(7491): 181-189.
- Mosca T, Menezes MC, Silva AV, et al. Chemotactic and phagocytic activity of blood neutrophils in allergic asthma[J]. *Immunol Invest*, 2015, 44(5): 509-520.
- Newcomb DC, Peebles RS Jr. Th17-mediated inflammation in asthma[J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(6): 755-760.
- Brackett CM, Muhitch JB, Evans SS, et al. IL-17 promotes neutrophil entry into tumor-draining lymph nodes following induction of sterile inflammation[J]. *J Immunol*, 2013, 191(8): 4348-4357.
- Nair P, Gaga M, Zervas E, et al. Safety and efficacy of a CXCR2 antagonist in patients with severe asthma and sputum neutrophils: a randomized, placebo-controlled clinical trial[J]. *Clin Exp Allergy*, 2012, 42(7): 1097-1103.
- Sackmann EK, Casavant BP, Moussavi-Harami SF, et al. Cell-based microfluidic assays in translational medicine//Cai W, editor. *Engineering in translational medicine*[M]. London: Springer London, 2014: 927-956.
- Byrne MB. Microfluidic platforms for studying cell behavior in complex microenvironments[D]. Champaign: University of Illinois, 2015.
- Kennedy PA, Kilpatrick LE. Neutrophil Inflammation in COPD//Rogers T, Criner GJ, Cornwell WD, et al. editors. *Smoking and lung inflammation: basic, pre-clinical and clinical research advances*[M]. New York: Springer New York, 2013:59-79.
- Hoonhorst SJ, Timens W, Koenderman L, et al. Increased activation of blood neutrophils after cigarette smoking in young individuals susceptible to COPD[J]. *Respir Res*, 2014, 15: 121.
- Newton AH, Danahy DB, Chan MA, et al. Timely blockade of ICAM-1/LFA-1 interaction prevents disease onset in a mouse model of emphysema[J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(6): 621-629.
- Sadhra CS, Purvis T, Walton GM, et al. S114 Simvastatin improves neutrophil migratory targeting in COPD: in vitro studies supporting Statin use as a potential adjuvant therapy[J]. *Thorax*, 2013, 68: A59-A60.
- Wu J, Hillier C, Komenda P, et al. A microfluidic platform for evaluating neutrophil chemotaxis induced by sputum from COPD patients[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126523.
- Stockley J. Neutrophil migration and inflammation in chronic obstructive pulmonary disease[D]. Birmingham: University of Birmingham, 2015.

20. Mantovani A. Cancer: Inflaming metastasis[J]. *Nature*, 2009, 457(7225): 36-37.
21. Carpagnano GE, Palladino GP, Lacedonia D, et al. Neutrophilic airways inflammation in lung cancer: the role of exhaled LTB-4 and IL-8[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 226.
22. Hattar K, Franz K, Ludwig M, et al. Interactions between neutrophils and non-small cell lung cancer cells: enhancement of tumor proliferation and inflammatory mediator synthesis[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(12): 1297-1306.
23. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN[J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(3): 183-194.
24. Zhou SL, Dai Z, Zhou ZJ, et al. CXCL5 contributes to tumor metastasis and recurrence of intrahepatic cholangiocarcinoma by recruiting infiltrative intratumoral neutrophils[J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(3): 597-605.
25. Williams AE, Chambers RC. The mercurial nature of neutrophils: still an enigma in ARDS?[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306(3): L217-L230.
26. Ichikawa A, Kuba K, Morita M, et al. CXCL10-CXCR3 enhances the development of neutrophil-mediated fulminant lung injury of viral and nonviral origin[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 187(1): 65-77.
27. Siomek A. NF- κ B signaling pathway and free radical impact[J]. *Acta Biochim Pol*, 2012, 59(3): 323-331.
28. Gao M, Chen L, Yu H, et al. Diosgenin down-regulates NF- κ B p65/p50 and p38MAPK pathways and attenuates acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 15(2): 240-245.
29. Yamamoto K, Ahyi AN, Pepper-Cunningham ZA, et al. Roles of lung epithelium in neutrophil recruitment during pneumococcal pneumonia[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 50(2): 253-262.
30. Czaikoski PG, Nascimento DC, Sónego F, et al. Heme oxygenase inhibition enhances neutrophil migration into the bronchoalveolar spaces and improves the outcome of murine pneumonia-induced sepsis[J]. *Shock*, 2013, 39(4): 389-396.
31. Patel JM, Greenwood H, Walton G, et al. Pre-emptive or early adjuvant simvastatin therapy in elderly patients with infection and sepsis[J]. *Lancet*, 2014, 383: S79.
32. Moss RB, Mistry SJ, Konstan MW, et al. Safety and early treatment effects of the CXCR2 antagonist SB-656933 in patients with cystic fibrosis[J]. *J Cyst Fibros*, 2013, 12(3): 241-248.
33. Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: chronic medications for maintenance of lung health[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 176(10): 957-969.

本文引用: 莫磊, 朱黎明, 戴爱国. 中性粒细胞迁移与肺部疾病的研究进展[J]. *临床与病理杂志*, 2016, 36(4): 481-485. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.04.026

Cite this article as: MO Lei, ZHU Liming, DAI Aiguo. Research progress of neutrophil migration and lung disease[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2016, 36(4): 481-485. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2016.04.026