

- 效分析[J]. 上海医药, 2012, 33(20): 38-40.
- [20] Clark CA, Gardiner J, McBurney MI, *et al.* Effects of breakfast meal composition on second meal metabolic responses in adults with Type 2 diabetes mellitus[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2006, 60(9): 1122-1129.
- [21] 周雯, 黄金, 夏杰琼, 等. 饮食干预对 2 型糖尿病患者血糖及炎症因子的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(1): 52-56.
- [22] Rizkalla SW, Taghrid L, Laromiguere M, *et al.* Improved plasma glucose control, whole-body glucose utilization, and lipid profile on a low-glycemic index diet in type 2 diabetic men: a randomized controlled trial[J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(8): 1866-1872.
- [23] Varela N, Vega C, Valenzuela K. Relationship of consumption of high glycemic index food in the diet and levels of HbA1c in type 2 diabetic patients treated with diet and/or metformin[J]. *Arch Latinoam Nutr*, 2012, 62(1): 23-29.
- [24] Fajcsak Z, Gabor A, Kovacs V, *et al.* The effects of 6-week low glycemic load diet based on low glycemic index foods in overweight/obese children—pilot study[J]. *J Am Coll Nutr*, 2008, 27(1): 12-21.
- [25] Jimenez-Cruz A, Bacardi-Gascon M, Turnbull WH, *et al.* A flexible, low-glycemic index mexican-style diet in overweight and

- obese subjects with type 2 diabetes improves metabolic parameters during a 6-week treatment period[J]. *Diabetes Care*, 2003, 26(7): 1967-1970.
- [26] 马豪莉. 低 GI 膳食替代对 2 型糖尿病患者防治应用效果分析[J]. 中国卫生产业, 2012, (25): 126-127.
- [27] 金敬红, 吕探云, 王君俏, 等. 基于血糖负荷概念的食物交换份法用于 2 型糖尿病患者饮食教育的效果分析[J]. 中华护理杂志, 2009, 44(6): 513-516.
- [28] 张风芝, 李庆芳. 基于血糖负荷概念的营养治疗对糖尿病合并高脂血症的影响[J]. 现代预防医学, 2010, 37(6): 1178-1180.
- [29] 王传涓. 低血糖指数膳食用于 2 型糖尿病病人营养治疗的效果评价[J]. 华西医学, 2009, 24(12): 3137-3139.
- [30] 孔桂花, 黄远泉, 龚满英. 血糖指数营养教育对社区糖尿病患者血糖的影响[J]. 天津护理, 2012, 20(6): 404-405.
- [31] 张晴, 周建超, 赵妍娟. 低 GI 糖尿病膳食对 2 型糖尿病患者代谢及营养状况的影响研究[J]. 中国全科医学, 2012, 15(4C): 1319-1321.

(本文编辑 姚仁斌)

[文章编号] 1000-2200(2015)02-0275-03

· 综述 ·

## 病毒巨噬细胞炎性蛋白-II 的研究进展

张 枫<sup>1</sup> 综述, 杨清玲<sup>2</sup> 审校

[关键词] 病毒巨噬细胞炎性蛋白-II; 趋化因子; 趋化因子受体; 受体拮抗剂; 综述

[中图分类号] R 373.9

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.02.049

病毒巨噬细胞炎性蛋白-II(viral macro-phage inflammatory protein-II, vMIP-II)也称 vCCL2,是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者或移植病人用免疫抑制剂后卡波肉瘤的病原体卡波西肉瘤相关疱疹病毒,即人疱疹病毒-8 K4 基因编码的小分子蛋白质,与人 CC 类趋化因子巨噬细胞炎性蛋白 I 在氨基酸序列上有较高的同源性<sup>[1]</sup>,是人趋化因子的类似物。这种蛋白质有其独特性,即使在不同亚科之间,也可广泛结合趋化因子受体;结合 CCR 1、CCR 2、CCR 5、CXC 趋化因子受体(CXCR 4)发挥拮抗作用,结合 CCR3 和 CCR8 则发挥激活效应<sup>[2]</sup>。

### 1 vMIP-II 结构

核磁共振及 X 射线晶体学表明 vMIP-II 通常情况下以单体形式存在<sup>[3]</sup>,结晶条件下以二聚体形式存在<sup>[4]</sup>,有实验<sup>[5]</sup>

通过核磁共振确定了化学合成的 vMIP-II 在溶液中的结构:其 N 端为无结构的 3 个  $\beta$  链反平行排列, C 端为  $\alpha$  螺旋与  $\beta$  链交叉,核磁共振显示 vMIP-II 其 N 端具有较大流动性,可伸入溶液中并形成由 5~8 个残基组成的圈样二级结构,这种结构和其他构象之间能快速转换,提示小片段的趋化因子 N 端肽的结构与它们结合受体的能力间可能有联系。vMIP-II 对不同的受体有不同结合位点,其与 CC 类趋化因子受体结合位点主要在核心骨架,而与 CXCR 结合位点则主要在 N 端<sup>[6]</sup>。

除了 N 末端残基和末尾的 2 个 C 末端残基外, vMIP-II 的结构已明确, vMIP-II 的序列分析及三维结构显示了包含结合 CCR2a 和 CCR5 2 种受体的表位的存在,因而有研究<sup>[7]</sup>提出 vMIP-II 对 CCR5 固有的受体结合具有特异性,而 CCR2 和其它趋化因子是获得性受体结合性。Zhao 等<sup>[7]</sup>利用核磁共振阐述 vMIP-II 与肝素衍生双糖的相互作用的特点,通过诱变实验进一步分析重要结合位点,利用肝素色谱分析法和核磁共振检测葡萄糖胺聚糖结合能力来分析相应的 vMIP-II 突变点。

### 2 vMIP-II 的功能与意义

2.1 vMIP-II 在 HIV 中的作用 HIV 感染和艾滋病严重危

[收稿日期] 2012-10-08

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81071848);安徽省教育厅自然科学研究重点资助项目(KJ2010A240)

[作者单位] 蚌埠医学院 1. 临床检验诊断学实验中心; 2. 生化与分子生物学教研室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 张 枫(1986-),女,硕士研究生。

害着人类的健康。HIV-1 侵入宿主细胞的过程为:外膜 gp120 与靶细胞 T4 淋巴细胞表面的 CD4 特异性结合,导致糖蛋白 gp120 构象改变,HIV-1 吸附于细胞表面。在靶细胞膜上的辅助受体 CXCR4 或 CCR5 的协助下,gp41 构象发生改变,疏水 N-末端肽序列暴露并插入宿主细胞膜,从而与宿主细胞膜融合,最终 HIV-1 侵入宿主细胞。由此可以看出,HIV-1 感染靶细胞的关键是在辅助受体 CCR5 或 CXCR4 协助下 HIV 外壳与靶细胞膜融合,因而阻断 CXCR4 与外膜糖蛋白 gp120 的结合可降低 HIV-1 对靶细胞的感染是药物干预的重要环节。趋化因子基质细胞衍生因子 1(SDF-1)类似物、AMD3100、T22、ALX40-4C 以及 T140 等抗 HIV 药物便是根据这一机制研制的<sup>[8]</sup>。杨清玲等<sup>[9]</sup>研究发现,vMIP-II 能够与 CXCR4 结合,封闭受体,而且还可以使 CXCR4 内化到细胞内,致使细胞表面 CXCR4 量下降,通过下调 CXCR4 在细胞外的表达封闭 HIV 入侵细胞的通道,从而阻断 HIV 对细胞的感染。vMIP-II 通过阻断 HIV 与细胞膜上的趋化因子受体结合使 HIV 不能进入宿主细胞,可以作为一种新型抗 HIV 药物的作用靶点。鉴于 vMIP-II 的广泛受体封闭作用,其在防治 HIV/AIDS 的感染方面有重要的作用,引导了广谱抗艾滋药物的发展,在艾滋病预防及辅助治疗中具有潜在的应用价值。

## 2.2 vMIP-II 在肿瘤中的研究

### 2.2.1 SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 生物学轴与肿瘤的关系

近年来,SDF-1 及其受体 CXCR4 之间的相互作用在肿瘤研究中受到较多关注。不同类型的恶性肿瘤细胞表达 CXCR4,在 SDF-1 的趋化、牵引下,逆浓度梯度转移至 SDF-1 表达丰富的器官,形成器官特异性的转移。基于 SDF-1 与其受体 CXCR4 的高度亲和力和绝对特异性,近年来提出了 SDF-1/CXCR4 生物学轴的概念。趋化因子 SDF-1 与其受体 CXCR4 相互作用而构成的与细胞间信息传递、细胞迁移有密切关系的偶联分子对称称之为 SDF-1/CXCR4 生物学轴。SDF-1/CXCR4 生物学轴在乳腺癌、小细胞肺癌、结直肠癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肾癌、黑色素瘤等多种肿瘤的发生、发展和转移过程中发挥重要作用。通过激活多种信号通路,SDF-1/CXCR4 在肿瘤细胞的黏附、趋化、侵袭、转移、分泌、血管生成以及增殖等生物学行为中发挥重要作用。阻断 SDF-1/CXCR4 生物学轴的活性已成为治疗转移性肿瘤新型的新理念。SDF-1 类似物、AMD3100、T22、T140 可与 SDF-1 竞争性结合 CXCR4,阻断 SDF-1/CXCR4 生物学轴的活性,发挥抗肿瘤转移活性。然而这些药物的毒副作用限制了其在临床上的应用。小分子的蛋白质多肽 vMIP-II 的研究越来越受关注。

通过 X 线晶体衍射对 vMIP-II 的研究<sup>[8]</sup>表明,vMIP-II N 末端是和相应受体 CXCR4 进行高亲和作用的部位,可选择性地阻断 SDF-1/CXCR4 信号传导,vMIP-II 与 CXCR4 结合的活性位点主要位于 vMIP-II N 末端的非结构域。相对于全长蛋白结合 CXCR4 和 CCR5 的特性,vMIP-II N 末端的 21 个氨基酸合成肽有较强的结合 CXCR4 的能力,但不结合 CCR5,同时可选择性的阻断 CXCR4 的信号传导<sup>[10]</sup>。

### 2.2.2 vMIP-II 与乳腺癌

通过对 vMIP-II 序列以及分子结构进行蛋白结构分析,寻找 N 端与 CXCR4 结合相关的高度保守区,利用化学合成法合成来源于 vMIP-II 且具有特异性结合 CXCR4 受体的 N 末端 21 个氨基酸多肽,命名为 NT21MP。研究<sup>[11]</sup>发现,NT21MP 封闭 CXCR4 受体可能会扰乱乳腺癌细胞同它微环境的相互作用,也可能通过与 SDF-1 $\alpha$  竞争性结合 CXCR4 而使信号效应发生改变;同时,有研究<sup>[12]</sup>证实,NT21MP 在体内外药效实验中均表现出高效的 CXCR4 抑制活性及抗乳腺癌转移的生物学活性。由于化学合成技术成本较高,为降低生产成本,通过化学合成法获得编码 vMIP-II N 末端的基因序列,与 pGEX-KG(克隆位点的 N-端有谷胱甘肽转移酶 GST 标签序列)连接构建原核表达载体,重组质粒在大肠埃希菌 *E. coli* BL21 中获得表达,经亲和层析纯化获得高纯度 GST-NT21MP 蛋白,和检测 GST-NT21MP 在体外的生物学活性,证实了重组蛋白 GST-NT21MP 能够抑制人乳腺癌细胞株 SK-BR-3 的趋化活性,可作为治疗乳腺癌转移的潜在性靶向药物<sup>[13]</sup>。通过发酵工艺制备的重组蛋白 GST-NT21MP,大大降低了生产成本,并且为临床药物开发奠定了基础。

### 2.3 vMIP-II 在血管增生、抗炎方面的作用

vMIP-II 可以促进血管再生,且能够明显促进 VEGF 和 PDGF 等多种促血管生成基因的表达。实验<sup>[14]</sup>证实,利用基因载体 vMIP-II 转入细胞内能够发挥促进血管增生,保护小鼠脑缺血损伤的作用。Minami 等<sup>[15]</sup>证实大鼠脑组织局部缺血诱导后,表达 CXCR 成员单核细胞化学诱导蛋白-1 和巨噬细胞炎性蛋白的 mRNA,脑室内注射广谱 CXCR 拮抗剂 vMIP-II 呈剂量依赖性减少梗死范围。这些发现表明在脑组织中,趋化因子与局部脑缺血有关,可以成为脑卒中介入治疗的潜在靶点。Cherqui 等<sup>[16]</sup>首次证明了 vMIP-II 在体内以及内皮细胞的祖细胞和成熟内皮细胞,促血管生成,并可以通过载体介导的基因传递提供这种功能。另外,通过研究 vMIP-II 在体外和体内对 T 细胞功能的影响,已证实了 vMIP-II 是一种很有希望的干扰慢性炎症(皮肤)疾病的因子<sup>[17]</sup>。

### 2.4 vMIP-II 在抑制排斥方面的作用

vMIP-II 还能够抑制肾小球肾炎模型小鼠肾小球内淋巴细胞的浸润并减轻尿蛋白的浓度<sup>[18]</sup>。在异体器官移植中,免疫活性细胞定向迁徙到异体移植体是免疫排斥反应发生的关键,在免疫排斥反应中存在多种趋化因子的参与<sup>[19]</sup>。已有实验证明通过转基因技术将 vMIP-II 基因引入移植供体心脏,行小鼠心脏移植术后,可显著延长供体心脏的存活期<sup>[20]</sup>。vMIP-II 可以改善大鼠同种异体肾移植所造成的急性损害,通过降低白细胞聚集促进体内肾皮质微循环<sup>[21]</sup>。vMIP-II 也可以通过干扰趋化因子的活性防止移植物的排斥,增加小鼠异体角膜移植的耐受性<sup>[22]</sup>。在大肠杆菌中表达重组蛋白 vMIP-II,经纯化获得目的蛋白,纯化的重组 vMIP-II 对小鼠异体皮肤移植免疫排斥反应有明显的抑制作用,能显著延长移植皮的存活时间<sup>[23]</sup>。

### 2.5 vMIP-II 在基因传递、基因治疗方面的作用

通过设计

和描述受体介导的基因传递的 CXCR4 特定肽, Egorova 等<sup>[24]</sup>证实了来自 SDF-1 和 vMIP- II N 末端小的双功能肽在基因传递至表达 CXCR4 的不同肿瘤和基因治疗中起作用。

### 3 展望

基于 vMIP- II 广泛的生物学意义, 特别是在 HIV 感染、肿瘤的转移、血管增生、抗炎抗移植等方面的作用, 使其已成为当今国内外学者研究的热点。然而现阶段对于 vMIP- II 的研究还仅限于在 HIV、乳腺癌等领域, 而对于小细胞肺癌、结直肠癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肾癌、黑色素瘤等多种肿瘤的研究则几乎没有。随着对 vMIP- II 的结构、功能和针对 vMIP-I、vMIP- II 的单克隆抗体<sup>[25]</sup>以及 N 末端合成肽及重组肽的研究不断深入, 有望其研究成果在小细胞肺癌、结直肠癌、前列腺癌、神经胶质瘤、肾癌、黑色素瘤等多种肿瘤转移等方面为肿瘤的治疗带来巨大突破, 并在抗 HIV 感染、抗恶性肿瘤转移、血管增生、移植排斥、抗炎等临床应用方面表现出良好的应用前景。

### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Moore JP, Doms RW. The entry of inhibitors; a fusion of science and medicine[ J ]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100 ( 19 ) : 10598 - 10602.
- [ 2 ] Weber KS, Grone HJ, Rocken M, et al. Selective recruitment of Th2-type cells and evasion from a cytotoxic immune response mediated by viral macrophage inhibitory protein- II [ J ]. Eur J Immunol, 2001, 31 ( 8 ) : 2458 - 2466.
- [ 3 ] Li Y, Liu D, Cao R, et al. Crystal structure of chemically synthesized vMIP- II [ J ]. Proteins, 2007, 67 ( 1 ) : 243 - 246.
- [ 4 ] Fernandez EJ, Wilken J, Thompson DA, et al. Comparison of the structure of vMIP-II with eotaxin-1, RANTES, and MCP-3 suggests a unique mechanism for CCR3 activation [ J ]. Biochemistry, 2000, 39 ( 42 ) : 12837 - 12844.
- [ 5 ] Shao W, Fernandez E, Sachpatzidis A, et al. CCR2 and CCR5 receptor-binding properties of herpesvirus-8 vMIP- II based on sequence analysis and its solution structure [ J ]. Eur J Biochem, 2001, 268 ( 10 ) : 2948 - 2959.
- [ 6 ] 叶石敦, 莫雪梅, 张光, 等. vMIP-II 各受体结合活性位点分析 [ J ]. 中国现代医学杂志, 2006, 16 ( 23 ) : 3546 - 3552.
- [ 7 ] Zhao B, Liwang PJ. Characterization of the interactions of vMIP- II, and a dimeric variant of vMIP- II, with glycosaminoglycans [ J ]. Biochemistry, 2010, 49 ( 33 ) : 7012 - 7022.
- [ 8 ] Khan A, Greenman J, Archibald SJ. Small molecule CXCR4 chemokine receptor antagonists; developing drug candidates [ J ]. Curr Med Chem, 2007, 14 ( 21 ) : 2257 - 2277.
- [ 9 ] 杨清玲, 丁勇兴. vMIP 对细胞膜上趋化因子受体亲和力的结合特性研究 [ J ]. 上海交通大学学报: 医学版, 2006, 26 ( 4 ) : 389 - 392.
- [ 10 ] Zhou N, Luo Z, Luo J, et al. A novel peptide antagonist of CXCR4 derived from the n-terminus of viral chemokine vMIP- II [ J ]. Biochemistry, 2000, 39 ( 13 ) : 3782 - 3787.
- [ 11 ] 杨清玲, 丁勇兴, 张玉心. 病毒巨噬细胞炎性蛋白与趋化因子受体结合的效应研究 [ J ]. 蚌埠医学院学报, 2006, 31 ( 3 ) : 226 - 229.
- [ 12 ] Yang QL, Ding YX, Chen CJ, et al. Suppression of murine breast cancer metastasis by selective inhibition of CXCR4 by synthetic polypeptide derived from viral macrophage inflammatory protein II [ J ]. Chinese Sci Bull, 2010, 20 ( 55 ) : 2152 - 2159.
- [ 13 ] 杨清玲, 杨志峰, 高艳军, 等. vMIP- II N 端重组肽的表达纯化及活性鉴定 [ J ]. 中国生物工程杂志, 2010, 30 ( 9 ) : 80 - 86.
- [ 14 ] Wang HK, Park UJ, Kim SY, et al. Free radical production in CA1 neurons induces MIP-1alpha expression, microglia recruitment, and delayed neuronal death after transient forebrain ischemia [ J ]. J Neurosci, 2008, 28 ( 7 ) : 1721 - 1727.
- [ 15 ] Minami M, Satoh M. Chemokines and their receptors in the brain; pathophysiological roles in ischemic brain injury [ J ]. Life Sci, 2003, 74 ( 2/3 ) : 321 - 327.
- [ 16 ] Cherqui S, Kingdon KM, Thorpe C, et al. Lentiviral gene delivery of vMIP- II to transplanted endothelial cells and endothelial progenitors is proangiogenic *in vivo* [ J ]. Mol Ther, 2007, 15 ( 7 ) : 1264 - 1272.
- [ 17 ] Rubant S, Ludwig RJ, Pfeffer J, et al. Eukaryotic expression of the broad-spectrum chemokine receptor antagonist vMIP- II and its effects on T-cell function *in vitro* and *in vivo* [ J ]. Exp Dermatol, 2006, 15 ( 8 ) : 634 - 642.
- [ 18 ] Chen S, Bacon KB, Li L, et al. *In vitro* inhibition of CC and CX3C chemokine-induced leukocyte infiltration and attenuation of glomerulonephritis in Wistar-Kyoto (WKY) rats by vMIP- II [ J ]. J Exp Med, 1998, 188 ( 1 ) : 193.
- [ 19 ] De Vries ME, Ran L, Kelvin DJ. On the edge: the physiological and pathophysiological role of chemokines during inflammatory and immunological responses [ J ]. Semin Immunol, 1999, 11 ( 2 ) : 95 - 104.
- [ 20 ] De Bruyne LA, Li K, Bishop DK, et al. Gene transfer of virally encoded chemokine antagonists vMIP- II and MC148 prolongs cardiac allograft survival and inhibits donor-specific immunity [ J ]. Gene Ther, 2000, 7 ( 7 ) : 575 - 582.
- [ 21 ] Bedke J, Stojanovic T, Kiss E, et al. Viral macrophage inflammatory protein- II improves acute rejection in allogeneic rat kidney transplants [ J ]. World J Urol, 2010, 28 ( 4 ) : 537 - 542.
- [ 22 ] Pillai RG, Beutelspacher SC, Larkin DFP, et al. Expression of the chemokine antagonist vMIP- II using a non-viral vector can prolong corneal allograft survival [ J ]. Transplantation, 2008, 85 ( 11 ) : 1640 - 1647.
- [ 23 ] 郑红, 苏青和, 孙志成, 等. 重组趋化因子 vMIP- II 对小鼠异体移植皮肤存活时间的影响 [ J ]. 第三军医大学学报, 2002, 24 ( 9 ) : 1013 - 1016.
- [ 24 ] Egorova A, Kiselev A, Hakli M, et al. Chemokine-derived peptides as carriers for gene delivery to CXCR4 expressing cells [ J ]. J Gene Med, 2009, 11 ( 9 ) : 772 - 781.
- [ 25 ] Nakano K, Katano H, Tadagaki K, et al. Novel monoclonal antibodies for identification of multicentric Castleman's disease; Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded vMIP-I and vMIP- II [ J ]. Virology, 2012, 425 ( 2 ) : 95 - 102.