

CXCL10/CXCR3 轴在急性呼吸窘迫综合征中的作用

盛琪, 童瑾*

重庆医科大学附属第二医院 呼吸与危重症医学科, 重庆 400010

摘要: CXC 趋化因子配体 10 (CXCL10) / CXC 趋化因子受体 3 (CXCR3) 信号轴是介导 Th1 型免疫反应的重要通路, 通过放大炎症风暴广泛参与急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的发生发展, 同时促进血管内皮凋亡、抑制修复可增加肺血管血栓形成的可能, 此外也因可调节细胞迁移、限制细胞外基质沉积发挥抗肺纤维化的保护作用。本文系统讨论了 CXCL10/CXCR3 信号轴在 ARDS 发生发展作用中的不同调节机制, 为 ARDS 的诊治提供新思考和潜在可能性。

关键词: CXCL10/CXCR3; 急性呼吸窘迫综合征; 炎症反应; 肺血管栓塞; 肺纤维化

中图分类号: R563.8 **文献标志码:** A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2024.06.0892

The CXCL10/CXCR3 axis in acute respiratory distress syndrome

SHENG Qi, TONG Jin*

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

Abstract: The CXC chemokine ligand-10/CXC receptor-3 (CXCL10/CXCR3) axis, a crucial pathway mediating Th1-type immunity, substantially contributes to the development of acute respiratory distress syndrome (ARDS) by enhancing inflammatory storms. It additionally promotes vascular endothelial apoptosis and impedes vasculature repair, elevating the risk of pulmonary vascular thrombosis. Conversely, this axis plays a protective role in limiting extra-cellular matrix deposition and modulating cell migration, thereby mitigating pulmonary fibrosis. The various mechanisms of the CXCL10/CXCR3 axis in the pathogenesis and progression of ARDS could offer novel insights for the diagnosis and treatment of ARDS.

Key words: CXCL10/CXCR3 axis; acute respiratory distress syndrome; inflammations; pulmonary embolism; pulmonary fibrosis

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是危重症患者常见的并发症和死因, 由于其管理高难度一直是临床的严峻挑战。时至今日, 病死率仍高达 30%~50%^[1]。ARDS 重要的病理改变包括肺部炎症反应^[2]、肺微血管血栓形成^[3]和间质纤维化^[4]。其发生归因于细胞因子系

统的失调, 趋化因子在其中发挥重要作用。临床发现 ARDS 患者血清中 CXC 趋化因子配体 10 (CXC chemokine ligand-10, CXCL10) 水平异常增高, 本文就 CXCL10 及其受体 CXCR3 (CXC receptor-3, CXCR3) 在 ARDS 发病机制中的相关研究进行综述。

收稿日期: 2023-09-15 修回日期: 2023-12-27

基金项目: 重庆市卫生适宜技术推广项目 (2022jstg021)

* 通信作者 (corresponding author): tongjin01234@163.com

1 趋化因子 CXCL10 与其受体 CXCR3 的简要介绍

1.1 CXCL10 的结构及产生

CXCL10 属于趋化因子 CXC 家族,又称 γ -干扰素诱导蛋白 10 (interferon- γ inducible protein-10, IP-10),该蛋白基因定位于染色体 4q21,是一种 10.8 ku 的小分子蛋白,分泌过程中可被肽酶切割成 8.7 ku 的生物活性蛋白。CXCL10 主要由 IFN- γ 诱导单核巨噬细胞、树突细胞、NK 细胞和内皮细胞等产生。但除 IFN- γ 外,脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 及炎性细胞因子如 α -干扰素 (interferon- α , IFN- α)、 β -干扰素 (interferon- β , IFN- β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素 6 (interleukin 6, IL-6) 和白介素 1 β (interleukin 1 β , IL-1 β) 也是 CXCL10 的上游信号^[5]。其主要通过 JAK/STAT 及 PI3K/AKT^[6] 这两条经典信号通路发挥作用,其中 JAK/STAT 是 IFN- γ 的主要作用通路。此外,在抗细菌和抗病毒天然免疫反应中均起重要作用的 TLR4-NF- κ B 信号通路也是介导 CXCL10 产生的重要上游,不仅可以诱导 TNF- α 、IFN- γ 、IL-6 和白介素 8 (interleukin 8, IL-8) 等炎性因子间接促进 CXCL10 产生,还可以不通过其他细胞因子直接释放 CXCL10^[7]。CXC 家族根据是否含有 ELR 结构域 (Glu-Leu-Arg 三肽序列) 进一步细分为两大亚族:ELR(+) 亚族如 CXC 趋化因子配体 1 (CXC chemokine ligand-1, CXCL1)、CXC 趋化因子配体 7 (CXC chemokine ligand-7, CXCL7)、CXC 趋化因子配体 8 (CXC chemokine ligand-8, CXCL8)、和 ELR(-) 亚族如 CXC 趋化因子配体 9 (CXC chemokine ligand-9, CXCL9, 又称 Mig)、CXCL10、CXC 趋化因子配体 11 (CXC chemokine ligand-11, CXCL11, 又称 I-TAC)。ELR(+) CXC 趋化因子被认为对中性粒细胞有强烈的趋化活性,且与促进血管生成作用相关;ELR(-) CXC 趋化因子被认为对单核、淋巴细胞有趋化作用,但不能趋化中性粒细胞,在血管生成中起抑制作用。CXCL10 属于 ELR(-) CXC 趋化因子,但有研究发现 CXCL10 不仅可以趋化中性粒细胞,且肺损伤后肺中 CXCL10 水平的升高很大程度上源于中性粒细胞的浸润^[8]。此外, CXCL10 还在抑制血管生成、调节肿瘤及贴壁细胞增殖和迁移中发挥功能。

1.2 CXCR3 的表达及调控

CXCR3 属于 7 次跨膜的 G 蛋白偶联受体家族 (G protein-coupled receptors, GPCRs), 又称 CD183, 基因定位于染色体 Xp13, 相对分子质量为 41 ku, 是 CXCL10 的唯一受体。由于末端氨基不同, 人体中有 3 种不同剪接变体——CXCR3A、CXCR3B、CXCR3-alt。CXCR3A 和 CXCR3B 可受 CXCL9 (Mig)、CXCL10 (IP-10)、CXCL11 (I-TAC) 调控, 而 CXCL11 是截短变体 CXCR3-alt 的唯一配体。目前 3A 和 3B 研究较多, CXCR3-alt 在体内仅以低水平表达且常与 CXCR3-A 共表达^[9]。CXCR3A 和 CXCR3B 具有两种截然相反的作用。3A 主要存在于免疫细胞如活化的 T 淋巴细胞、NK 细胞、中性粒细胞等表面, 结合异源三聚体 G 蛋白 Gi 或 Gq 将信号传至胞内, 通过激活 PI3K/AKT 或 MAPK (ERK、JNK) 等途径, 诱导细胞迁移、增殖和存活, 这也与 CXCL10 促进免疫细胞迁移、助力细胞因子风暴相符合; 而 3B 主要存在于未成熟的血管内皮细胞和成纤维细胞, 结合 Gs 蛋白传递信号, 通过激活 cAMP/PKA 通路等, 抑制细胞增殖、迁移并激活细胞凋亡^[10], 从而在血管生成、肿瘤的发生发展中起调控作用。

2 CXCL10/CXCR3 轴在 ARDS 发生发展中的新近研究进展

2.1 CXCL10/CXCR3 轴在炎症反应作用中的作用

“破坏性细胞因子风暴”是诱发 ARDS 的根本原因。首先, CXCL10 通过参与细胞因子风暴直接放大炎症反应, 引发肺部损伤。先天免疫细胞通过表达多种模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR), 如 Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR)、维甲酸诱导基因 I 样受体 (rig-I-like receptors, RLR)、NOD 样受体 (nod-like receptors, NLRs) 等识别病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 或损伤相关分子模式 (damage associated molecular patterns, DAMPs), 免疫细胞也可通过吞噬病毒感染的细胞进行识别激活或直接识别病原体产生促炎细胞因子如 TNF- α 、IL-1、IL-6、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 和 IL-8 等以及趋化因子 (如 CXCL10)。其次, CXCL10 可招募免疫细胞 (嗜

中性粒细胞、单核巨噬细胞及活化 T 淋巴细胞)到感染部位,进一步释放促炎因子和趋化因子,从而建立促炎性的正反馈通路,促进 ARDS 的发生发展。

CXCL10 是介导巨噬细胞迁移至肺部感染部位的关键因素,敲除 CXCR3 基因后巨噬细胞迁移能力降低^[11]。此外 CXCL10 还参与促进肺巨噬细胞的 M1 型极化^[12],加强炎性反应。CXCL10 作为 ELR (-)亚族趋化因子,既往被认为不能趋化中性粒细胞,而中性粒细胞是介导爆发性肺部炎性反应的重要免疫细胞。但有发现肺损伤发生后,肺泡浸润的中性粒细胞表面会表达独特的 ELR (-)亚族受体(即 CXCR3, CXCL10 的唯一且特异性受体),说明 CXCL10 可招募 CXCR3⁺的中性粒细胞。CXCL10 还会以自分泌方式作用于活化的中性粒细胞,进一步促进其聚集至发炎部位^[7]。此外, CXCL10 在血管内皮损伤和修复延迟的影响也会有助于促炎细胞的迁移。肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cells, AEC)和血管内皮细胞在 TNF- α 、IL-1 β 、INF- γ 等细胞因子的作用下也可释放 CXCL10 进入炎性反应环^[13],参与免疫细胞的募集和激活。激活状态下的中性粒细胞在 NADPH 氧化酶(reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase)的作用下会产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),从而损伤肺泡上皮-肺泡微血管内皮屏障;中性粒细胞胞外杀菌网络(neutrophil extracellular traps, NETs)的形成也可诱导覆盖肺泡绝大部分面积的 I 型肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cells I, AEC-I)凋亡^[13],造成肺泡上皮受损,进一步放大炎性反应。

2.2 CXCL10/CXCR3 轴在肺微血管血栓形成中的作用

CXCL10 可促进血管内皮凋亡、抑制其修复,增大肺血管血栓形成的可能性^[14]。在 ARDS 早期,巨噬细胞和中性粒细胞被激活,促炎介质(如 TNF- α 、IF-1 β 和 IL-6 等)的大量产生可诱导内皮细胞凋亡和坏死,中性粒细胞趋化累积后释放的细胞毒性介质(活性氧、脂质介质、蛋白水解酶和颗粒酶等)也会引起内皮细胞连接破坏和肺毛细血管膜受损,而血管内皮损伤是血栓形成的必要先决条件。血管内皮损伤的机制为:1) CXCL10 与 CXCR3B 结合后,通过激活腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase, AC)将三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)转化为环磷酸腺苷

(cyclic 3',5'-adenosine monophosphate, cAMP), cAMP 可刺激蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA)磷酸化下游的 p38/MAPK,从而诱导热休克蛋白 27(heat shock proteins-27, HSP-27)表达^[15],促进内皮细胞凋亡;2) CXCL10-CXCR3B 还可诱导细胞周期抑制因子 p21^{cip1}表达进而使得细胞无法进入 S 期^[16],通过抑制 DNA 合成来影响内皮细胞修复;3) CXCL10 可与内皮生长因子竞争性结合内皮细胞表面硫酸乙酰肝素蛋白聚糖,直接阻碍内皮生长因子受体激活^[14],导致内皮修复延迟;4) CXCL10 还可募集周细胞消除未成熟的血管^[9]。

此外, CXCL10-CXCR3 在募集中性粒细胞等免疫细胞时产生的 IL-6 和 TNF- α 均可促进血小板活化^[17],参与凝血过程。CXCL10 还可促进 II 型肺泡上皮细胞(alveolar epithelial cells II, AEC-II)上调组织因子(tissue factor, TF)活性,从而促进肺毛细血管血栓形成;此外用 LPS 刺激 AEC-II 细胞时,不仅 TF 分泌增多,肺泡内 TF 的生理抑制剂组织因子途径抑制剂(tissue factor pathway inhibitor, TFPI)含量也会增加,但 TFPI 大都处于截短的无活性形式,全长 TFPI 的水平不足以阻断肺泡内 TF 的促凝活性,肺血管血栓形成的可能性仍会增加^[18]。

2.3 CXCL10/CXCR3 轴在抗肺纤维化中的作用

由于成纤维细胞(fibroblast, FB)的积累以及胶原蛋白和其他细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肺中的过度和不稳定沉积,肺泡结构遭到破坏和重塑^[17], ARDS 后期面临肺纤维增生的间质性病变。CXCL10/CXCR3 可限制肺纤维化。肺纤维化的发生仍与免疫反应密切相关,1995 年提出的肺纤维化 Th2 优势学说^[19]; Th1/Th2 平衡如果向 Th2 发生偏移,发展为肺纤维化的风险增高。Th2 型细胞分泌 IL-4、IL-6 和 IL-13 等刺激成纤维细胞分泌胶原蛋白发挥促纤维化作用,而 Th1 型细胞分泌的 TNF- α 和 INF- γ 等细胞因子则发挥抗纤维化作用。CXCL10 通过介导 Th 细胞向 Th1 型免疫反应分化,抑制成纤维细胞的增殖和活化、减少胶原蛋白的产生从而限制肺纤维化。CXCL10 还可抑制成纤维细胞迁移,在博来霉素诱导的小鼠肺纤维化模型中 CXCL10 表达减少,抑制 CXCL10 或其受体 CXCR3 会增加肺纤维化^[20],而该研究认为 CXCL10/CXCR3 可通过限制成纤维细胞迁移从而抑制肺纤维化的进程,具体机制为 CXCL10 与

受体 CXCR3 结合后通过抑制钙蛋白酶 2(m-calpain, CAPN2)的激活,阻止生长因子诱导的成纤维细胞迁移至肺部^[9]。CXCL10 还可增加抗纤维化调节性免疫细胞^[21],通过减少细胞外基质沉积从而减少纤维增生。此外,以上针对于血管内皮的机制也会阻碍血管新生,从而影响肺纤维化的进程,已有研究证实 CXCL10 在特发性肺纤维化中因血管抑制作用而有一定的抗纤维化作用^[22]。

3 问题与展望

近年来在 ARDS 中,趋化因子 CXCL10 作为介导 Th1 型免疫反应的主要趋化因子之一,因广泛参与促进炎症反应的发生发展颇受重视,也被认为是预测 ARDS 发生的潜在标志物之一。除此之外,受体 CXCR3 的拮抗剂 AMG487 被证明可缓解急性肺损伤(acute lung injury, ALI)/ARDS 的炎症反应,且目前已进入临床试验阶段^[23];而麻醉广泛使用的镇静剂右美托咪啶,因可抑制 CXCR3 的多种信号通路的激活(如 PI3K、MAPK/P38 等)从而减轻脂多糖诱导的急性肺损伤,现也成为治疗 ARDS 的辅助用药^[24]。

而 CXCL10/CXCR3 轴功能众多,在 ARDS 的发生发展中远不止局限于参与炎症反应,其在血管内皮损伤造成微血管血栓以及抗纤维化发展的双重作用被严重低估:既可促进炎症发生和肺血管血栓形成,又能抑制肺纤维化的发展。由此阻断 CXCL10/CXCR3 可出现以下矛盾的现象:虽能抑制炎症风暴、降低肺血管血栓形成,但可增加 ARDS 后期肺纤维化发展的风险。此后果对患者的预后仍不理想。临床上对患者的治疗应是全方面、长期及持续关注,在致力于通过抑制炎症风暴缓解 ARDS 急性期的同时,是否促进肺纤维化这一远期预后也需引起足够重视。然而值得注意的是,肺纤维化的发生与炎症反应、血栓形成存在一定的时间差:后两者发生于 ARDS 早期,并贯穿全病程,甚至炎症反应可以被认为是 ARDS 发生的始动因素;而纤维化的形成较滞后,多出现在中后期,且早期有力的抗炎治疗一定程度上可减少或避免肺纤维化的发生发展。因此,在治疗上适时的阻断 CXCL10/CXCR3,并关注阻断的具体时间长短,有望达到抑制炎症反应和血栓形成以及不过度增加肺纤维化的效果,为 ARDS 治疗提供新方向和新思考。

参考文献:

- [1] Liu Y, Xiang D, Zhang H, *et al.* Hypoxia-inducible factor-1: a potential target to treat acute lung injury[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8871476. doi: 10.1155/2020/8871476.
- [2] Ragab D, Salah Eldin H, Taeimah M, *et al.* The COVID-19 cytokine storm; what we know so far[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1446. doi:10.3389/fimmu.2020.01446.
- [3] Whyte CS, Morrow GB, Mitchell JL, *et al.* Fibrinolytic abnormalities in acute respiratory distress syndrome (ARDS) and versatility of thrombolytic drugs to treat COVID-19[J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18:1548-1555.
- [4] Ntatsoulis K, Karampitsakos T, Tsitoura E, *et al.* Commonalities between ARDS, pulmonary fibrosis and COVID-19: the potential of autotaxin as a therapeutic target[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 687397. doi: 10.3389/fimmu.2021.687397.
- [5] Caldarale F, Giacomelli M, Garrafa E, *et al.* Plasmacytoid dendritic cells depletion and elevation of IFN- γ dependent chemokines CXCL9 and CXCL10 in children with multisystem inflammatory syndrome[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:654587. doi:10.3389/fimmu.2021.654587.
- [6] Callahan V, Hawks S, Crawford MA, *et al.* The pro-inflammatory chemokines CXCL9, CXCL10 and CXCL11 are upregulated following SARS-CoV-2 infection in an AKT-dependent manner[J]. *Viruses*, 2021, 13: 1062. doi:10.3390/v13061062.
- [7] Wang W, Tan J, Xing Y, *et al.* p43 induces IP-10 expression through the JAK-STAT signaling pathway in HMEC-1 cells[J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38:1217-1224.
- [8] 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, 187:65-77.
- [9] Wells A, Moreno B, Hueso L, *et al.* Association of chemokines IP-10/CXCL10 and I-TAC/CXCL11 with insulin resistance and enhance leukocyte endothelial arrest in obe-

- sity[J]. *Microvasc Res*, 2022, 139:104254. doi:10.1016/j.mvr.2021.104254.
- [10] Boyé K, Billottet C, Pujol N, *et al.* Ligand activation induces different conformational changes in CXCR3 receptor isoforms as evidenced by plasmon waveguide resonance (PWR) [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 10703. doi: 10.1038/s41598-017-11151-x.
- [11] Pandey V, Fleming-Martinez A, Bastea L, *et al.* CXCL10/CXCR3 signaling contributes to an inflammatory microenvironment and its blockade enhances progression of murine pancreatic precancerous lesions[J]. *Elife*, 2021, 10: e60646. doi:10.7554/eLife.60646.
- [12] Zhang J, Liu Y, Chen H, *et al.* MyD88 in hepatic stellate cells enhances liver fibrosis via promoting macrophage M1 polarization[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13:411. doi:10.1038/s41419-022-04802-z.
- [13] Chang YS, Ko BH, Ju JC, *et al.* SARS unique domain (SUD) of severe acute respiratory syndrome coronavirus induces NLRP3 inflammasome-dependent CXCL10-mediated pulmonary inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21:3179. doi:10.3390/ijms21093179.
- [14] Lupieri A, Smirnova NF, Solinhac R, *et al.* Smooth muscle cells-derived CXCL10 prevents endothelial healing through PI3K γ -dependent T cells response[J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116:438-449.
- [15] Petrai I, Rombouts K, Lasagni L, *et al.* Activation of p38 (MAPK) mediates the angiostatic effect of the chemokine receptor CXCR3-B [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40:1764-1774.
- [16] Feldman ED, Weinreich DM, Carroll NM, *et al.* Interferon gamma-inducible protein 10 selectively inhibits proliferation and induces apoptosis in endothelial cells[J]. *Ann Surg Oncol*, 2006, 13:125-133.
- [17] Mariscal A, Zamora C, Díaz-Torné C, *et al.* Increase of circulating monocyte-platelet conjugates in rheumatoid arthritis responders to IL-6 blockade [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23:5748. doi:10.3390/ijms23105748.
- [18] Lou J, Hu Y, Wu MD, *et al.* Endothelial cell-specific anticoagulation reduces inflammation in a mouse model of acute lung injury[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40:769-780.
- [19] Ghonim MA, Boyd DF, Flerlage T, *et al.* Pulmonary inflammation and fibroblast immunoregulation: from bench to bedside[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133:e170499. doi: 10.1172/JCI170499.
- [20] Li LF, Yu CC, Huang CY, *et al.* Attenuation of ventilation-enhanced epithelial-mesenchymal transition through the phosphoinositide 3-Kinase- γ in a murine bleomycin-induced acute lung injury model[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24:5538. doi:10.3390/ijms24065538.
- [21] Jandl K, Marsh LM, Mutgan AC, *et al.* Impairment of the NKT-STAT1-CXCL9 axis contributes to vessel fibrosis in pulmonary hypertension caused by lung fibrosis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2022, 206:981-998.
- [22] Groover MK, Richmond JM. Potential therapeutic manipulations of the CXCR3 chemokine axis for the treatment of inflammatory fibrosing diseases[J]. *F1000Res*, 2020, 9: 1197. doi:10.12688/f1000research.26728.1.
- [23] Dillemans L, De Somer L, Neerinx B, *et al.* A review of the pleiotropic actions of the IFN-inducible CXC chemokine receptor 3 ligands in the synovial microenvironment [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2023, 80: 78. doi: 10.1007/s00018-023-04715-w.
- [24] Cui H, Zhang Q. Dexmedetomidine ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting the PI3K/Akt/FoxO1 signaling pathway[J]. *J Anesth*, 2021, 35:394-404.