

肺表面活性物质相关蛋白 D 研究进展

何建综述,戴晓天[△]审校

(第三军医大学西南医院呼吸科,重庆 400038)

关键词:肺表面活性物质相关蛋白 D;分子结构;功能

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.26.038

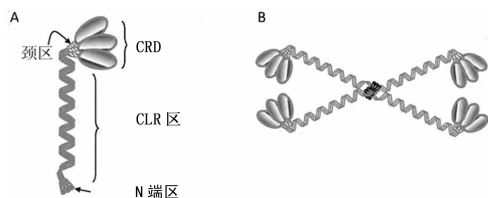
文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)26-2770-03

肺表面活性物质(pulmonary surfactant, PS)是由肺泡Ⅱ型上皮细胞和克拉拉(clara)细胞合成、分泌的脂质和蛋白质的复合物,其中大约 90%是磷脂,10%是与脂质结合的蛋白质,即肺表面活性物质相关蛋白(pulmonary surfactant-associated protein, SP)。目前已发现的 SP 有 4 种,根据发现的顺序命名为 SP-A、SP-B、SP-C 和 SP-D;根据生物化学特性分为小分子疏水性蛋白(SP-B 和 SP-C)和大分子亲水性蛋白(SP-A 和 SP-D)。SP-B 和 SP-C 主要发挥维持 PS 的结构和降低肺泡表面张力的功能。SP-A 和 SP-D 一起共同发挥免疫防御和免疫调节功能,它们的结构和功能相似,但也存在一定差异。SP-D 是近年来的研究热点,特别是 SP-D 与某些疾病的联系。本文主要对 SP-D 的结构、功能、与疾病联系的研究进展进行综述。

1 SP-D 的分子结构

SP-D 和 SP-A 都属于 C 型凝素家族成员,基因都位于 10q22~23,它们具有高度的进化保守性,在不同种类的脊椎动物中有交叉反应性。SP-D 和 SP-A 的分子结构相似,一级结构(图 1)分为 4 部分,从 N 端到 C 端依次为:氨基端区(N 端区)、胶原样区(CLR 区)、颈区和糖识别域(CRD)^[1]。N 端区含半胱氨酸,连接亚单位中各肽链;CLR 区缠绕形成三联螺旋体结构;颈区参与蛋白质的折叠;CRD 上有钙离子依赖识别位点,在钙离子参与下识别结合病原体表面的碳水化合物的羟基。SP-D 的三级结构(图 1A)是由 3 条相同肽链组成的三聚体,四级结构(图 1B)一般由 4 个三聚体构成十二聚体,排列成“十字”形^[1]。SP-A 四级结构一般由 6 个三聚体构成十八聚体,排列成花瓣样。SP-D 和 SP-A 都是通过 C-型 CRD 和病原微生物表面的碳水化合物的羟基相结合,由于 SP-A 和 SP-D 的 C-型 CRD 空间距离不同,扩大了 PS 对病原体的识别范围。



A:SP-D 的三级结构;B:SP-D 的四级结构。

图 1 SP-D 的分子结构

2 SP-D 的双重免疫功能

SP-D 和 SP-A 都具有双重免疫调节功能,既可以促进炎症反应,有助于病原体等的清除,也可以抑制炎症反应,以维持肺泡内环境的稳定,这与它们的分子结构密不可分。Gardai 等^[2]首先提出 SP-D 和 SP-A 的双重免疫功能的调控主要是靠头端与信号抑制肽(signal inhibitory regulatory protein- α ,

SIRP- α)结合,或尾端与钙网质蛋白/CD91 结合,而决定最终是否走促进或抑制炎症反应的路径。在正常状况下,SP-D 以十二聚体形式存在,胶原尾隐藏在寡聚体的核心,SP-D 的 CRD 和免疫细胞表面上的 SIRP- α 结合,进而活化磷酸酶-1、磷酸酶-2 等,抑制与 P38 和 NF- κ B 相关的信号转导,阻止炎症反应的发生^[3-4]。相反,在感染等炎症状态下,SP-D 的 CRD 和病原体结合;SP-D 尾端的半胱氨酸残基在氧化损伤的作用下被亚硝基化;SP-D 解聚,以三聚体形式存在;胶原尾暴露,和吞噬细胞表面的钙网质蛋白/CD91 复合体结合,活化 P38 和 NF- κ B 信号分子;从而促进炎症反应^[5-6]。

2.1 清除病原体 SP-D 通过 CRD 可以结合多种病原体表面的糖基,如绿脓杆菌^[7]、肺炎克雷伯菌^[8]、流感嗜血杆菌、新型隐球菌、卡氏肺孢子虫、烟曲霉等,然后通过 CLR 区和吞噬细胞表面的受体(钙网质蛋白/CD91 复合体)结合,调理吞噬作用。SP-D 的这种结合作用与 SP-D 的寡聚化程度和 CLR 区的结构也是有关的。CD14 和 TOLL 样受体(TLR)是吞噬细胞表面重要的模式识别分子,SP-D 的 CRD 区还可以和 CD14、TLR-2、TLR-4 结合,促进吞噬细胞清除病原体,但这种结合机制有别于和糖基的结合^[9]。另外,SP-D 还可以通过调节模式识别受体的表达、刺激炎症因子的产生、诱导趋化、影响细胞信号转导等途径,促进病原体的清除。SP-D 和 SP-A 的糖结合专一性不相同,例如,脂多糖由脂质 A、核心多糖、O 特异性链三部分组成,SP-D 主要结合核心多糖,而 SP-A 主要结合脂质 A。SP-D 和 SP-A 都能结合烟曲霉的糖基,SP-D 的结合被麦芽糖抑制,而 SP-A 的结合被甘露糖抑制^[10]。

2.2 结合变应原、抑制过敏反应 除了真菌,SP-D 的 CRD 可以结合其他多种过敏原,如花粉、尘螨等,促进过敏原的清除。Malherbe 等^[11]研究发现 SP-D 可以抑制 IgE 和花粉结合,抑制肥大细胞脱颗粒、释放组胺。Liu 等^[12]研究也发现 SP-D 可以有效抑制过敏原致敏小鼠的嗜酸细胞炎症,减少特异性 IgE 的产生。

2.3 清除凋亡细胞 SP-D 可以和细胞碎片、裂解细胞以及凋亡细胞的核酸结合,然后和吞噬细胞表面的受体(CD91/钙网质蛋白)结合,促进它们的清除。但不确定的是 SP-D 的什么部位和核酸相结合,Palaniyar 等^[13]认为是通过 CLR 区,但也有研究者认为是通过 CRD 或其他区域。Litvack 等^[14]研究发现,SP-D 和 IgM 一起在迟发性凋亡细胞的清除上发挥重要作用。

2.4 调节免疫细胞的功能 SP-D 对非特异性和特异性免疫细胞的功能都有调节作用。和正常小鼠比,SP-D^{-/-}小鼠,非特异性和特异性免疫细胞的形态都会发生改变,同时会释放更多的细胞因子、趋化因子和氧化剂,发生过度的炎症反应,但防御

病原体的能力减弱^[15]。(1)SP-D 对单核-吞噬细胞的作用:SP-D 是单核-吞噬细胞的趋化因子。SP-D 还调节单核-吞噬细胞释放某些细胞因子和氧自由基。Takeda 等^[16]的体外研究发现,SP-D 促进肺泡巨噬细胞(卵清蛋白致敏的 C57BL/6 小鼠)产生细胞因子 IL-10、IL-12 和 IFN- γ ,抑制 Th2 型细胞因子的产生。Haczku^[17]体外研究也发现,SP-D 可以直接抑制烟曲霉致敏的脾单核细胞释放 Th2 型细胞因子。Liu 等^[18]体外研究发现,SP-D 可以抑制过敏原或脂多糖刺激后的肺泡巨噬细胞释放 NO。(2)SP-D 对树突状细胞的作用:树突状细胞是机体功能最强的专职抗原提呈细胞。Hortobagyi 等^[19]研究发现,SP-D-/-小鼠骨髓树突状细胞为髓系表型,分泌促炎细胞因子,表达 TNF- α ,而在骨髓树突状细胞培养基中加入 SP-D 则可抑制其活化和 TNF- α 的表达,这表明 SP-D 可以抑制前炎症树突状细胞的成熟和活化。SP-D 可以增强树突状细胞的抗原提呈功能。另外,SP-D 与树突状细胞的迁移相关。在病原体入侵的情况下,树突状细胞活化迁移到区域淋巴结,发挥抗原提呈功能,以减轻肺部炎症反应,有研究发现,在 SP-D-/-小鼠,树突状细胞不能迁移到区域淋巴结,而是在气道黏膜下异常聚集^[20]。(3)SP-D 对 T 淋巴细胞的作用:和外周血淋巴细胞相比,肺淋巴细胞对许多过敏原刺激反应低下,这可能是因为 SP-D 可以抑制 T 淋巴细胞的增生和活化^[21]。Fisher 等^[22]研究发现,在 SP-D-/-小鼠肺泡灌洗液中 CD4 和 CD8 阳性的 T 细胞均增加,同时活化标记 CD69 和 CD25 的表达增加。

3 SP-D 与疾病的联系

由于 SP-D 在清除病原体和免疫调节方面发挥重要作用,因此不难理解,如果 SP-D 缺乏或减少,机体就很容易受到病原体的感染、产生更严重的炎症反应。Kongchanagul 等^[23]研究发现 SP-D 减少可能是 H5N1 禽流感感染致死的一个重要因素。(1)SP-D 与慢性阻塞性肺疾病的发病相关。有研究表明,SP-D 缺乏,容易导致肺气肿的发生。在吸烟人群中,SP-D 的水平是下降的,在慢性阻塞性肺疾病患者中,SP-D 的水平和肺功能具有正相关性^[24]。(2)SP-D 和 SP-A 都具有双重免疫功能。但研究发现,在基础状况下,SP-A-/-小鼠未出现明显异常,而 SP-D-/-小鼠出现明显的免疫系统活化,这提示在维持免疫平衡方面,SP-D 比 SP-A 更重要,SP-D 可能和某些免疫疾病相关。(3)SP-D 减少可能是类风湿关节炎的一个发病因素。Christensen 等^[25]研究发现,早期未治疗的类风湿关节炎患者血浆 SP-D 较健康人明显减少,并且血浆 SP-D 水平和类风湿关节炎的严重程度具有负相关性。该研究还发现,类风湿关节炎关节液中 SP-D 只以三聚体的形式存在。(4)SP-D 升高可能是特发性肺间质纤维化患者预后的一个独立危险因素。Barlo 等^[26]通过测量 72 例特发性肺间质纤维化患者和 305 例健康志愿者的血浆 SP-D 值,发现患者的血浆 SP-D 值较健康志愿者明显升高,并且患者血浆 SP-D 值的水平和预后具有明显相关性,大于 460 ng/mL 的中位生存期为 13 个月,而小于 460 ng/mL 的中位生存期为 67 个月。(5)SP-D 可以作为心血管疾病的观测指标。Hill 等^[27]研究发现,SP-D 的高低,与心血管疾病的发病率和病死率相关。

综上所述,SP-D 具有双重免疫功能,一方面通过调理吞噬,促进吞噬细胞清除病原微生物;另一方面通过抑制细胞因子、氧化自由基等炎性介质的释放,抑制淋巴细胞增生和树突状细胞的成熟、活化,避免过度炎症反应,维持机体的免疫平衡。由于 SP-D 具有双重免疫功能,因此和其他药物相比,它在治疗感染性疾病或免疫疾病中具有天然的优势。SP-D 还可

以作为类风湿关节炎、特发性肺间质纤维化等免疫疾病,以及心力衰竭等心血管疾病的观察指标。SP-D 的双重免疫功能是如何调节的,SP-D 和免疫疾病发病机制的联系,以及 SP-D 对感染性疾病和免疫疾病的潜在治疗作用有待更广泛的研究。

参考文献:

- [1] Orgeig S, Hiemstra PS, Veldhuizen EJ, et al. Recent advances in alveolar biology: evolution and function of alveolar proteins[J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2010, 173 Suppl: S43-54.
- [2] Gardai SJ, Xiao YQ, Dickinson M, et al. By binding SIRPalpha or calreticulin/CD91, lung collectins act as dual function surveillance molecules to suppress or enhance inflammation[J]. *Cell*, 2003, 115(1): 13-23.
- [3] Matozaki T, Murata Y, Okazawa H, et al. Functions and molecular mechanisms of the CD47-SIRPalpha signalling pathway[J]. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(2): 72-80.
- [4] Janssen WJ, McPhillips KA, Dickinson MG, et al. Surfactant proteins A and D suppress alveolar macrophage phagocytosis via interaction with SIRP alpha[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178(2): 158-167.
- [5] Guo CJ, Atochina-Vasserman EN, Abramova E, et al. S-nitrosylation of surfactant protein-D controls inflammatory function[J]. *PLoS one*, 2008, 6(11): e266.
- [6] Matalon S, Shrestha K, Kirk M, et al. Modification of surfactant protein D by reactive oxygen-nitrogen intermediates is accompanied by loss of aggregating activity, in vitro and in vivo[J]. *Faseb J*, 2009, 23(5): 1415-1430.
- [7] Restrepo CI, Dong Q, Savov J, et al. Surfactant protein D stimulates phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa* by alveolar macrophages[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1999, 21(5): 576-585.
- [8] Sahly H, Ofek I, Podschun R, et al. Surfactant protein D binds selectively to *Klebsiella pneumoniae* lipopolysaccharides containing mannose-rich O-antigens[J]. *J Immunol*, 2002, 169(6): 3267-3274.
- [9] Ohya M, Nishitani C, Sano H, et al. Human pulmonary surfactant protein D binds the extracellular domains of toll-like receptors 2 and 4 through the carbohydrate recognition domain by a mechanism different from its binding to phosphatidylinositol and lipopolysaccharide[J]. *Biochem*, 2006, 45(28): 8657-8664.
- [10] Madan T, Eggleton P, Kishore U, et al. Binding of pulmonary surfactant proteins A and D to *Aspergillus fumigatus* conidia enhances phagocytosis and killing by human neutrophils and alveolar macrophages[J]. *Infect Immun*, 1997, 65(8): 3171-3179.
- [11] Malherbe DC, Erpenbeck VJ, Abraham SN, et al. Surfactant protein D decreases pollen-induced IgE-dependent mast cell degranulation[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289(5): L856-866.
- [12] Liu CF, Chen YL, Shieh CC, et al. Therapeutic effect of surfactant protein D in allergic inflammation of mite-sensitized mice[J]. *Clin Exp Allergy*, 2005, 35(4): 515-521.

- [13] Palaniyar N, Clark H, Nadesalingam J, et al. Surfactant protein D binds genomic DNA and apoptotic cells, and enhances their clearance, in vivo[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2003(1010):471-475.
- [14] Litvack ML, Djiadeu P, Renganathan SD, et al. Natural IgM and innate immune collectin SP-D bind to late apoptotic cells and enhance their clearance by alveolar macrophages in vivo[J]. *Mol Immunol*, 2010, 48(1/3):37-47.
- [15] Atochina EN, Gow AJ, Beck JM, et al. Delayed clearance of pneumocystis carinii infection, increased inflammation, and altered nitric oxide metabolism in lungs of surfactant protein-D knockout mice[J]. *J Infect Dis*, 2004, 189(8):1528-1539.
- [16] Takeda K, Miyahara N, Rha YH, et al. Surfactant protein D regulates airway function and allergic inflammation through modulation of macrophage function[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 168(7):783-789.
- [17] Haczk A. Role and regulation of lung collectins in allergic airway sensitization[J]. *Pharmacol Ther*, 2006, 110(1):14-34.
- [18] Liu CF, Chen YL, Shieh CC, et al. Therapeutic effect of surfactant protein D in allergic inflammation of mite-sensitized mice[J]. *Clin Exp Allergy*, 2005, 35(4):515-521.
- [19] Hortobagyi L, Kierstein S, Krytska K, et al. Surfactant protein D inhibits TNF-alpha production by macrophages and dendritic cells in mice[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 122(3):521-528.
- [20] Haczk A, Cao Y, Vass G, et al. IL-4 and IL-13 form a negative feedback circuit with surfactant protein-D in the allergic airway response[J]. *Allergy Clin Immunol*, 2006, 176(6):3557-3565.
- [21] Haczk A. Protective role of the lung collectins surfactant protein A and surfactant protein D in airway inflammation[J]. *Allergy Clin Immunol*, 2008, 122(5):861-879.
- [22] Fisher JH, Larson J, Cool C, et al. Lymphocyte activation in the lungs of SP-D null mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2002, 27(1):24-33.
- [23] Kongchanagul A, Suptawiwat O, Boonarkart C, et al. Decreased Expression of Surfactant Protein D mRNA in Human Lungs in Fatal Cases of H5N1 Avian Influenza[J]. *J Med Virol*, 2011, 83(8):1410-1417.
- [24] Moré JM, Voelker DR, Silveira LJ, et al. Smoking reduces surfactant protein D and phospholipids in patients with and without chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Pulm Med*, 2010(10):53-60.
- [25] Christensen AF, Sørensen GL, Hørslev-Petersen K, et al. Circulating surfactant protein-D is low and correlates negatively with systemic inflammation in early, untreated rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(2):R39.
- [26] Barlo NP, van Moorsel CH, Ruven HJ, et al. Surfactant protein-D predicts survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*, 2009, 26(2):155-161.
- [27] Hill J, Heslop C, Man SF, et al. Circulating surfactant protein-D and the risk of cardiovascular morbidity and mortality[J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(15):1918-1925.

(收稿日期:2012-02-09 修回日期:2012-05-22)

• 综 述 •

外周阿片受体拮抗剂的研究进展

陈 博 综述, 刘红亮 审校

(重庆市肿瘤研究所麻醉科 400030)

关键词: 镇痛药, 阿片类; 纳曲酮; 投药途径; 肿瘤; 拮抗剂

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.26.039

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)26-2772-03

自 Serturmer 在 1803 年从阿片中提取得到吗啡以来^[1], 阿片类镇痛药在急性或慢性疼痛治疗方面都起着主导性作用。其中, 吗啡被 WHO 推荐为治疗重度癌痛的金标准。研究证实阿片类物质的镇痛作用是通过中枢和外周两种机制^[2], 而阿片类镇痛药产生的某些不良反应如便秘、胃肠蠕动缓慢、胃排空延迟及影响肿瘤细胞生长则依赖于外周阿片受体。因此, 人们开始探索合成外周阿片受体拮抗剂并应用于临床。该类物质包括 methylnaltrexone(MNTX)和 alvimopan, 它们能选择性阻断外周阿片受体引起的不良反应而不会影响阿片类药物的中枢镇痛作用^[3]。本文将对 MNTX 近年来的研究进展综述如下。

1 MNTX 的药理学

MNTX 是第一个用于临床的外周阿片受体拮抗剂, 并在 2008 年通过了美国食品和药物管理局(FDA)批准, 用于中、晚

期癌症患者因阿片类药物引起便秘的姑息治疗。

1.1 MNTX 的化学结构 MNTX(相对分子质量 436.3)为阿片受体拮抗剂纳曲酮的季胺衍生物^[4], 为纳曲酮分子结构的环氮上增加了一个甲基基团。这种合成的新带电化合物 MNTX 极性大、脂溶性小, 不易透过血脑屏障^[5-6], 可选择性地拮抗外周 μ 受体发挥作用。

1.2 MNTX 的药代动力学 MNTX 经皮下注射后迅速吸收并在体内分布, 稳态分布容积为 1.1 L/kg^[7], 在 30 min 左右达到血浆峰浓度^[8]。在 0.15~0.5 mg/kg 剂量范围内, MNTX 的血浆峰浓度及血药浓度-时间曲线下面积(AUC)与其给药剂量之间呈线性关系^[9]。MNTX 的血浆蛋白结合率为 11%~15%^[7]。少部分经过肝脏代谢, MNTX 在体内有 5 种代谢产物, 其中 6-甲基纳曲酮同分异构体和硫酸甲基纳曲酮是主要的代谢产物, 未发现 MNTX 经 N-脱甲基代谢途径代谢为纳曲