

· 综 述 ·

## 哮喘气道黏液高分泌分子机制研究进展\*

张 云 综述, 李国平 审校

(泸州医学院附属医院呼吸一科, 四川泸州 646000)

关键词: 支气管哮喘; 转化生长因子  $\beta$ ; 表皮生长因子受体

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2014.08.035

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)08-0989-03

支气管哮喘(以下简称哮喘)是由多种细胞及细胞组分参与的慢性气道炎症性疾病,以呼吸道炎症反应、气道高反应性、气道重塑为其主要特征,是当前世界面临的重要健康问题,其发病率 and 病死率在逐年上升。哮喘黏液高分泌与气道重塑有关,是哮喘气道上皮杯状细胞增生和黏膜下腺体肥大等病理生理变化的结果<sup>[1]</sup>。黏液高分泌导致气道阻塞、肺功能下降和感染增加是严重哮喘发作面临的首要问题。尽管目前药物治疗对稳定性哮喘的临床管理有一定效果,但对于重症哮喘及哮喘气道黏液高分泌并无特异的有效的药物治疗方法,因此需要研究发现治疗哮喘气道黏液高分泌新的药物治疗靶点。目前哮喘黏液基础研究主要集中在炎症介质与相关的信号途径如何导致黏液高分泌,并研究是否能通过抑制这些炎症介质及其相关信号通路以减轻黏液高分泌的临床表现,本文就这方面的研究进展作一综述。

### 1 哮喘气道黏液高分泌特点

气道黏液分泌是开放性管状器官管腔的重要保护机制。正常气道上皮分泌少量黏液,具有保护和润滑气道作用,是呼吸系统固有免疫的第一道防线。其主要组成部分是黏蛋白,黏蛋白是一种含糖基化的大分子蛋白质,由气道上皮杯状细胞和黏膜下层的黏液细胞分泌,目前已有 21 种 MUC 在人类基因中被识别,就其特性可分为膜相关性 MUC 和分泌性 MUC,其中分泌性 MUC 主要来源于气道上皮杯状细胞和黏膜下腺体细胞,是构成细胞外黏液层的主要成分,气道黏蛋白主要包括 MUC2、MUC4、MUC5AC 和 MUC5B,其中 MUC5AC 黏蛋白主要表达于气道上皮杯状细胞, MUC5B 主要表达于黏膜下腺体,轻-中度哮喘患者主要产生富含 MUC5AC 黏蛋白的黏液,致死性哮喘明显存在 MUC5AC 和 MUC5B 高表达。支气管哮喘患者气道重塑时黏液腺体病理性增生伴随着黏蛋白表达和分泌的病理生理变化,最终导致气道黏液高分泌和黏膜清除功能下降导致黏液积聚,加重炎症过程,并且加重气道阻塞,导致气流受限<sup>[2-4]</sup>。

### 2 转化生长因子(TGF)- $\beta$ /Smad 信号通路哮喘气道黏液高分泌

哮喘炎症性与 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞活化有关,活化的 CD4<sup>+</sup>T 细胞释放白细胞介素(IL)-4、IL-9、IL-13、粒细胞集落刺激因子(GM-CSF)和 TNF- $\alpha$ ,以及各种趋化因子如 T 细胞活化分泌的 RANTES 和嗜酸性粒细胞趋化因子(MCP-1),调节气道黏液的高分泌<sup>[5]</sup>。Th2 细胞是哮喘与气道黏液高分泌的关键因子。Whittaker 等<sup>[6]</sup>用哮喘抗原驱动模型的方法证明 IL-13 抑制剂能在一定程度上降低黏液的产生。IL-13 调节气道

黏液的产生可能通过错综复杂的机制。首先 IL-13 刺激黏蛋白基因的表达依赖于 IL-4R $\alpha$  受体和 STAT6。IL-13 与 IL-4R $\alpha$  结合导致 STAT6 磷酸化,从而下调 FoxA2。FoxA2 的表达可抑制 MUC5AC 基因的转录,同时阻止黏液细胞的增生。相反,IL-13 刺激后的 p-STAT6 下调 FoxA2 的表达,因此能消除 FoxA2 对 MUC5AC 产生的抑制作用。并且可增加黏液腺细胞的数目<sup>[7]</sup>。

IL-13 调节黏液产生机制可能与 TGF- $\beta$ 2 相关。Tadaki 等<sup>[8]</sup>用 IL-13 刺激哮喘病人和正常受试者原代支气管上皮细胞证明,IL-13 能刺激 TGF- $\beta$ 2 产生。TGF- $\beta$ 2 的中和性抗体能部分抑制黏蛋白基因的表达。

TGF- $\beta$  是一组由单核巨噬细胞、血管内皮细胞、肾小球系膜细胞等多细胞产生的  $25 \times 10^3$  多肽生长因子,具有多种功能,通过自分泌和旁分泌细胞,调节细胞分化、生长与细胞外基质代谢。TGF- $\beta$  亚家族至少由 6 个结构相关的分子组成。在人、鼠等哺乳动物的多种组织中均可检测到 TGF- $\beta$  及其 mRNA,但其各亚单位在不同组织中的表达有很大差异。

启动 TGF- $\beta$  信号途径,需要 TGF- $\beta$  家族配体通过活化的横跨膜的丝-苏氨酸激酶受体 TGF- $\beta$ I 型受体(T $\beta$ RI)和 TGF- $\beta$  II 型受体(T $\beta$ RII)来启动下游的信号通路。TGF- $\beta$  信号要从细胞质转到细胞核内需要 TGF- $\beta$  信号传感器,被称为 Smads。在哺乳动物细胞群有 8 种不同的 Smads(Smad 1~8),被分为 3 种类型:(1)受体调节型 Smads(R-Smads),包括 Smad 1、2、3、5、8;(2)共同型 Smad(Co-Smad),即 Smad 4;(3)抑制型 Smads(I-Smads),包括 Smad 6、7。Smads 的结构大致相同,不同类别的 Smads 结构有一些不同并且影响其各自的功能。R-Smads 直接与活化的 T $\beta$ RI 受体复合物形成交互作用,使其 C-末端丝氨酸基序的磷酸化。Smad 2 和 Smad 3 调节活化素和 TGF- $\beta$  信号转导,而 Smad 1、5、8 调节 BMP 信号转导。当 TGF- $\beta$  受体与配体相结合时,T $\beta$ RII 持续活化,与 T $\beta$ RI 形成异质二聚体并且磷酸化 T $\beta$ RI 的谷氨酸合成酶区域,导致 T $\beta$ RI 活化并磷酸化 R-Smads C-末端的丝氨酸基序,磷酸化的 Smad 2 或 Smad 3 与 Smad 4 形成异质二聚体,定位到细胞核内调节靶基因的转录和翻译,而 Smad 6 和 Smad 7 对 TGF- $\beta$  信号通路有负性调节作用。通过阻止 R-Smads 与 T $\beta$ RI 交互作用,抑制 T $\beta$ RI 磷酸化或者抑制与 Smad 4 形成异质二聚体起作用<sup>[9]</sup>。

Le 等<sup>[10]</sup>用 OVA 致敏 Smad 3 基因缺失小鼠,以研究 Smad 3 在过敏原导致的气道重塑的作用,研究表明 Smad 3 信号分子的缺失能下调哮喘气道重塑的特征性表现,包括减少细支气管周围的细胞外基质沉积,减少平滑肌层厚度,减少黏蛋

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81170032)。 作者简介:张云(1988-),医师,主要从事哮喘、气道高分泌、信号通路方面的研究。

白的产生和成纤维细胞的数量。这可能与直接阻止了 TGF- $\beta$ /Smad 诱导的胶原蛋白合成有关。另有研究表明,革兰阴性杆菌通过活化 TGF- $\beta$ -Smad3/4 信号通路,诱导刺激人上皮细胞 MUC2 基因的转录,用 T $\beta$ RI、T $\beta$ RII、Smad 3 和 Smad 4 的显性负性突变体实验能显著抑制不可分型流感嗜血杆菌(NTHi)诱导的 MUC2 基因的转录,并且 TGF- $\beta$  中和性抗体能降低 MUC2 基因启动子的活化和表达。

### 3 Lyn 激酶与哮喘气道黏液高分泌

蛋白酪氨酸激酶是细胞信号转导的关键信号酶。在免疫应答,炎症反应等过程中起着重要的病理生理作用。Lyn 激酶是非受体型酪氨酸激酶 Src 家族成员之一,Lyn 激酶与多种信号途径有关,参与哮喘炎症反应和气道重塑的发生,但其在哮喘发病中的具体机制不明。部分研究发现 Lyn 激酶抑制多肽能减轻嗜酸性粒细胞气道炎性反应。但是近年来研究发现,Lyn 激酶基因敲除鼠出现严重持续的变态反应性炎症、血清高水平 IgE、Th2 免疫应答,表明 Lyn 激酶是一个重要的阴性调节 Th2 免疫应答的激酶<sup>[11]</sup>。

Lyn 激酶与下游的 PI3K 和 Akt,形成 Lyn/PI3K/Akt 途径,参与哮喘的炎症反应应答。研究发现应用 PI3K 抑制剂 LY294002 能减轻气道炎性反应与气道高反应,PI3K 基因敲除鼠表现为较低的气道嗜酸性细胞炎性和气道重塑,其减低炎症和重塑与其减少的转化生长因子 TGF- $\beta$ /Smad2/3 有关<sup>[12]</sup>。Akt 在哮喘发病中的作用,目前报道相对较少。也有研究血小板源性生长因子通过 PI3K 信号途径,激活 Akt 蛋白,从而激活下游的核因子(NF- $\kappa$ B)和细胞外信号调节激酶,促进气道平滑肌细胞增殖,参与哮喘气道重塑<sup>[13]</sup>。也有研究表明在反流性食管炎中,结合胆汁酸能通过 PI3K/Akt/AP-1 途径调节食道 MUC5AC 黏蛋白表达<sup>[14]</sup>。Lyn 激酶具有广泛的调节作用,Lyn 不仅调节 PI3K/Akt,同时也调节 STAT 信号途径,Lyn 能直接磷酸化 STAT3<sup>[15]</sup>。因此,Lyn 途径在气道黏液高分泌各信号途径中具有重要的调节作用。

### 4 表皮生长因子受体(EGFR)途径与哮喘气道黏液高分泌

表皮生长因子受体(EGFR)是人表皮生长因子受体家族成员,其相对分子质量为  $170 \times 10^3$ ,属于受体酪氨酸激酶家族,主要表达于细胞膜,可被 EGF、TGF- $\alpha$ 、HBEGF、氧化应激、双调蛋白等激活。激活后发生二聚体化并引发胞内段酪氨酸激酶活化,进一步激活下游信号转导,EGFR 活化经过配体依赖性和配体非依赖性 EGFR 酪氨酸磷酸化。EGFR 下游信号通路主要有:Ras/Raf/MEK/ERK 通路,PI3K/Akt 通路。

研究表明 EGFR/EGFR 配体表达于气道上皮,调节其增殖、分化、修复。EGFR 和其配体在慢性气道炎性反应中表达呈增加趋势。EGFR 的表达与气道黏液杯状细胞病理性增生存在正相关性。许多刺激黏液产生的刺激物是通过增加细胞膜表面基质金属蛋白酶裂解 EGFR 前体。因此 EGFR 的活化在黏蛋白的合成调节中起重要作用。PI3K/Akt 和 ERK1/2 通路也是调节黏蛋白的产生必须的。而 PI3K/Akt 和 ERK1/2 的活化受 EGFR 活性的调节。EGFR 特异性抑制剂 AG1478 能完全阻止人嗜中性粒细胞弹性蛋白刺激的 p-ERK1/2、PI3K、p-Akt 蛋白的表达<sup>[16]</sup>。在 EGFR 调节气道 MUC5AC 蛋白表达实验中用 ERK 药理性抑制剂能完全阻止 MUC5AC mRNA 的表达和 MUC5AC 启动子的活化,ERK 通路调节 MUC5AC 基因的转录活化,必须通过 SP-1 和他在 MUC5AC 启动子的作用元件结合而起作用。总而言之,Ras/Raf/ERK/SP-1 信号通路在 EGFR 途径调节 MUC5AC 表达起重要作用,

但不是唯一通路<sup>[17]</sup>。研究表明 Notch 信号通路刺激 MUC5AC 表达与 EGFR 信号通路相关,Notch 在各器官系统的细胞命运中起着决定性作用。至今,在哺乳类的动物中发现有 4 种 Notch 受体(Notch 1~4),5 种配体(Jagged 1、2 和 S-like 1、3、4)。Notch 信号通路刺激 MUC5AC 表达通过活化 EGFR 通路,EGFR 信号通路的活化反过来活化 ERK 通路,最终导致 MUC5AC 表达。有研究显示用 Notch3 小干扰 RNA 沉默 Notch3 基因表达或者用 Notch 抑制剂 GSI 都能抑制 ERK 磷酸化,从而抑制 EGFR 调节的 MUC5AC 表达<sup>[17]</sup>。此外,与 IL-13 调控 MUC5AC 表达相同,FOXA2 在 EGFR 途径调节 MUC5AC 表达中呈负性调节,目前的研究表明 FOXA2 基因敲除鼠能导致气道上皮杯状细胞的化生和 MUC5AC 蛋白过度表达,而抑制 EGFR 通路,FOXA2 转录表达显著提高<sup>[7]</sup>。由此可见 EGFR 在调节气道黏液高分泌各途径中起着交互作用。

### 5 NF- $\kappa$ B 与哮喘气道黏液高分泌

NF- $\kappa$ B 在调节细胞凋亡、病毒复制、瘤发生和许多自身免疫性疾病中起重要作用。NF- $\kappa$ B 可调控许多基因表达,而这些基因编码的分子在炎症反应过程中起重要作用。近年来研究表明在慢性气道炎性反应中,氧化应激和 NF- $\kappa$ B 能增加 MUC5AC 蛋白表达。NF- $\kappa$ B 可与 TGF- $\beta$ -SMAD 信号途径共同促进 MUC2 黏蛋白基因的转录。Song 等<sup>[14]</sup>证实通过柚皮素能抑制 NF- $\kappa$ B 的活化,抑制氧化应激,和相关的 PI3K/Akt 和 ERK MAPKinase 信号通路以减少黏蛋白表达,并认为 PI3K 信号通路和 ERK 信号通路参与慢性气道炎性反应黏液高分泌与 NF- $\kappa$ B 的活化密切相关,但其具体调节机制不明。目前一些研究表明,RV-14 上调 MUC5AC 是通过 Src/MEK/NF- $\kappa$ B,暗含 NF- $\kappa$ B 活化能直接增加 MUC5AC 释放,而 Hewson 等<sup>[18]</sup>证实,如前所述 EGFR-MEK/ERK 信号通路是通过 SP-1 结合到 MUC5AC 启动子而启动转录翻译,RV 刺激 MUC5AC 蛋白表达是 NF- $\kappa$ B 依赖的,但其不是直接结合到 MUC5AC 启动子而起作用,NF- $\kappa$ B 是通过增加基质金属蛋白酶的转录而起作用,并且 NF- $\kappa$ B 活化促进 MUC5AC 蛋白表达是基质金属蛋白酶(MMP)-依赖的 EGFR 配体 TGF- $\alpha$  的释放,MMPS 能裂开 TGF- $\alpha$  前体,活化的 TGF- $\alpha$  被释放于细胞膜表面与 EGFR 结合并活化 EGFR。因此与上述表皮因子受体途径是交互起作用。

### 6 展 望

目前,哮喘的治疗目标是控制症状,糖皮质激素被视为治疗哮喘的一线药物,然而,近期研究显示尽管给予最佳的激素剂量,仍然有 5%~10% 的哮喘患者得不到很好的控制。而气道重塑气道黏液高分泌在哮喘发病中的作用日益受到重视,被认为是引起不可逆性呼吸道阻塞和难治性哮喘的病理基础和重要原因之一。因此,其发病机制及参与这个病理生理过程的相关炎症细胞及细胞因子,炎症介质逐渐成为研究热点,借以寻找哮喘治疗的潜在药物靶点。综上所述,许多细胞因子及其相关的信号通路参与黏蛋白基因的转录及释放,本文从几条重要信号转导途径阐述了哮喘气道黏液高分泌分子机制研究进展,旨在探讨是否可以通过抑制这些炎症介质或者其信号通路的活化成为气道黏液高分泌临床症状治疗的合理选择,但目前更多是在体外及动物实验中找到或者发现某种炎症介质及其相关信号通路与气道重塑气道黏液高分泌有相关性,但其具体作用机制及各机制间的交互作用和评估如何将信号通路作为治疗慢性气道炎症气道黏液高分泌的药物靶点还有待

进一步大量的实验研究。

#### 参考文献:

- [1] Chen M, Lv Z, Jiang S. The effects of triptolide on airway remodelling and transforming growth factor- $\beta$ ? /Smad signalling pathway in ovalbumin-sensitized mice. [J]. Immunology, 2011, 132(3):376-384.
- [2] Jono H, Xu H, Kai H, et al. Transforming growth factor-beta-Smad signaling pathway negatively regulates non-typeable Haemophilus influenzae-induced MUC5AC mucin transcription via mitogen-activated protein kinase (MAPK) phosphatase-1-dependent inhibition of p38 MAPK[J]. J Biol Chem, 2003, 278(30):27811-27819.
- [3] Takami S, Mizuno T, Oyanagi T, et al. Glucocorticoids inhibit MUC5AC production induced by transforming growth factor- $\alpha$  in human respiratory cells. [J]. Allergol Int, 2012, 61(3):451-459.
- [4] Williams OW, Sharafkhaneh A, Kim V, et al. Airway mucus: From production to secretion[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2006, 34(5):527-536.
- [5] Lai H, Rogers DF. New pharmacotherapy for airway mucus hypersecretion in asthma and COPD: targeting intracellular signaling pathways [J]. J Aerosol Med Pulm Drug Deliv, 2009, 23(4):219-231.
- [6] Whittaker L, Niu N, Temann UA, et al. Interleukin-13 mediates a fundamental pathway for airway epithelial mucus induced by CD4 T cells and interleukin-9[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2002, 27(5):593-602.
- [7] Zhen G, Park SW, Nguyenvu LT, et al. IL-13 and epidermal growth factor receptor have critical but distinct roles in epithelial cell mucin production[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2007, 36(2):244-253.
- [8] Tadaki H, Arakawa H, Mizuno T, et al. Transforming growth factor-2 induces Bronchial Epithelial mucin expression in asthma[J]. J Immunol, 2009, 182(1):293-300.
- [9] Singh P, Wig JD, Srinivasan R. The Smad family and its role in pancreatic Cancer[J]. Indian J Cancer, 2011, 48(3):351-360.
- [10] Le AV, Cho JY, Miller M, et al. Inhibition of allergen-induced airway remodeling in Smad 3-deficient mice[J]. J Immunol, 2007, 178(11):7310-7316.
- [11] Beavitt SJ, Harder KW, Kemp JM, et al. Lyn-deficient mice develop severe, persistent asthma; Lyn is a critical negative regulator of Th2 immunity [J]. J Immunol, 2005, 175(3):1867-1875.
- [12] Lim DH, Cho JY, Song DJ, et al. PI3K gamma-deficient mice have reduced levels of allergen-induced eosinophilic inflammation and airway remodeling [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 296(2):L210-L219.
- [13] Chiou YL, Shieh JJ, Lin CY. Blocking of Akt/NF-kappaB signaling by pentoxifylline inhibits platelet-derived growth factor-stimulated proliferation in Brown Norway rat airway smooth muscle cells[J]. Pediatr Res, 2006, 60(6):657-662.
- [14] Song S, Byrd JC, Guha S, et al. Induction of MUC5AC mucin by conjugated bile acids in the esophagus involves the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase C/activator protein-1 pathway [J]. Cancer, 2010, 117(11):25796-25797.
- [15] Wang L, Kurosaki T, Corey SJ. Engagement of the B-cell antigen receptor activates STAT through Lyn in a Jak-independent pathway [J]. Oncogene, 2007, 26(20):2851-2859.
- [16] Yang J, Li Q, Zhou XD, et al. Naringenin attenuates mucous hypersecretion by modulating reactive Oxygen species production and inhibiting NF- $\kappa$ B activity via EGFR-PI3K-Akt/ERK MAPKinase signaling in human airway epithelial cells[J]. Mol Cell Biochem, 2011, 351(1/2):29-40.
- [17] Kang JH, Lee EH, Park SW, et al. MUC5AC expression through bidirectional communication of Notch and epidermal growth factor receptor pathways [J]. J Immunol, 2011, 187(1):222-229.
- [18] Hewson CA, Haas JJ, Bartlett NW, et al. Rhinovirus induces MUC5AC in a human infection model and in vitro via NF- $\kappa$ B and EGFR pathways[J]. Eur Respir J, 2010, 36(6):1425-1435.

(收稿日期:2013-10-08 修回日期:2013-12-02)

· 综 述 ·

## 住院患儿的营养风险筛查工具及其应用

高中敏 综述, 李廷玉<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属儿童医院儿童保健科/儿童营养研究中心 400014)

关键词:营养不良;儿童,住院;营养状况;筛查工具

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.08.036

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)08-0991-03

欧洲临床营养与代谢护理学会将营养不良定义为能量、蛋白质以及其他营养素缺乏或过量的一种营养状态。近 10 年

来,国内外流行病学调查显示,疾病状态下住院患儿的营养不良问题日趋严重,它不仅影响儿童的体格生长和智力发育,也