

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.15.043

颗粒蛋白前体在呼吸系统疾病中的研究进展*

周利航 综述,王导新[△] 审校

重庆医科大学附属第二医院呼吸与危重症科,重庆 400010

关键词:颗粒蛋白前体; 呼吸系统疾病; 炎症反应; 肿瘤坏死因子 α

中图分类号:R446.62

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)15-2245-04

由于空气污染、吸烟、老龄化进程的加快,以及耐药病原菌不断产生,呼吸系统疾病的防控形势愈发严峻。如何提高呼吸系统疾病的诊治水平,改善呼吸系统疾病造成的社会、经济负担,已成为刻不容缓的问题。颗粒蛋白前体(PGRN)是一种多功能蛋白,在上皮细胞和髓样细胞中高度表达,在组织发育、增殖、再生和宿主防御反应的动态平衡中发挥维持和调节作用。现阶段对 PGRN 的研究主要集中于慢性炎症性疾病和神经退行性疾病,对于呼吸系统疾病的研究较少。本文将近年来国内外 PGRN 与呼吸系统疾病的研究进行归纳,对 PGRN 的结构分布、生物学功能及与呼吸系统疾病的相关性做如下综述。

1 PGRN 的结构及基因定位

PGRN 是一种多功能分泌型糖蛋白,也被称为颗粒蛋白-上皮蛋白前体,原上皮蛋白或前列腺癌细胞衍生的生长因子^[1]。颗粒蛋白(GRN)基因编码人类 PGRN,定位于染色体 17q21.32,含有 12 个外显子,可以产生 3 种异构体^[2]。全长的 PGRN 具有独特的串珠结构,由 7.5 个富含半胱氨酸的 GRN 结构域(CX5-6CX5CCX8CCX6CCXDX2HCCPX4CX5-6C)串联重复组成。PGRN 内部包含较多二硫键,这对于保持适当的蛋白质折叠和独特构象至关重要,如每个 GRN 结构域在空间结构上均通过 6 个二硫键紧密连接,由 4 个 β “发夹”结构成梯形排列^[1,3]。PGRN 的相对分子质量为 68.5×10^3 ,可以被多种蛋白水解酶在 GRN 结构域之间的连接区裂解,裂解后可以释放相对分子质量约为 6×10^3 的单体 GRN 多肽片段^[3]。

2 PGRN 的分布及生物学功能

PGRN 在多种细胞中表达,如造血细胞、上皮细胞、免疫细胞、巨噬细胞、神经元细胞等,还在多种组织中表达,包括软骨、骨骼肌、肺实质与脂肪组织^[1]。多个研究已经证实 PGRN 在免疫、炎症、感染调节、伤口愈合、血管生成、肿瘤发生、神经保护等过程中发挥关键作用^[2-3]。值得注意的是,完整的 PGRN 可以被基质金属蛋白酶(MMP)9、MMP12、MMP14、蛋白酶 3、中性粒细胞弹性蛋白酶裂解形成 PGRN 和 GRN,在组织细胞中发挥不同的作用^[1]。已有研究证明,局部给予重组 PGRN 可以有效抑制体内中性粒细胞炎

性因子的生成,表明 PGRN 是一种重要的抗炎介质^[4]。与之相反的是在裂解过程中形成的 GRN 具有促炎的特性,可以中和 PGRN 的抗炎作用。GRN 可以刺激上皮细胞分泌白细胞介素(IL)-8,导致中性粒细胞的吞噬和杀菌作用增加^[4]。同样也存在一些分子抑制 PGRN 的水解,分泌性白细胞蛋白酶抑制剂和载脂蛋白 A1 可以直接与 PGRN 结合并阻断其被中性粒细胞弹性蛋白酶裂解^[5]。因此,PGRN 和 GRN 之间的平衡是 PGRN 在炎症反应中发挥抗炎作用的重要影响因素。

2.1 PGRN 的神经保护作用 在中枢神经系统中,PGRN 参与神经保护和神经炎症的调节。额颞叶痴呆(FTD)已被证实与 GRN 基因的功能缺失密切相关^[6]。ARRANT 等^[7]报道,提高神经元 PGRN 水平可以纠正 FTD 小鼠模型的行为缺陷,而耗尽神经元 PGRN 可以造成 FTD 小鼠模型的行为缺陷。亦有研究报道,测定脑脊液和血清 PGRN 水平可以用于 FTD 患者的早期诊断和治疗^[8]。这表明 PGRN 不仅是治疗因 GRN 突变引起的 FTD 的一个重要靶点,还是一个预测病情的临床标志物。

2.2 PGRN 的抗炎作用 在类风湿关节炎、炎症性肠病、脓毒血症、急性肺损伤等多种疾病中,PGRN 可发挥抗炎作用。TANG 等^[9]发现在胶原诱导的小鼠类风湿关节炎模型中,PGRN 基因敲除小鼠表现出更严重的关节炎表型,而局部注射重组 PGRN 抑制了这些 PGRN 基因缺陷小鼠的疾病进展,同时证实了 PGRN 通过与肿瘤坏死因子受体(TNFR)结合,从而阻断肿瘤坏死因子(TNF)- α 与 TNFR 的结合,抑制下游信号通路活化而发挥抗炎作用^[9]。WEI 等^[10]通过在小鼠结肠炎模型应用重组 PGRN 试验,发现重组 PGRN 通过 IL-10 和 TNFR2 途径在结肠炎中发挥保护作用,充分抑制炎症。亦有研究证实,PGRN 可以与 Toll 样受体 9 在巨噬细胞中结合,协助聚集 CpG 寡核苷酸从而加强天然免疫反应,消除炎症^[11]。

2.3 PGRN 的促炎作用 在急性皮肤损伤后,PGRN 在真皮成纤维细胞和内皮细胞中表达增加,外源性 PGRN 可以通过促进中性粒细胞和巨噬细胞聚集,来参与动物伤口模型中真皮成纤维细胞和内皮细

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81670071)。

[△] 通信作者,E-mail:wangdaoxin1@163.com。

胞的迁移和血管生成^[12]。说明 PGRN 是一种在伤口愈合中起促炎作用的生长因子。近年来, PGRN 还被认为是一种重要的脂肪因子在各种代谢性疾病中起促炎作用, 有研究者发现肥胖患者内脏脂肪组织中 PGRN 的水平及血液中 PGRN 的水平升高, 且 IL-6 是 PGRN 的独立影响因素, 提示 PGRN 可能通过与 IL-6 相互作用参与肥胖相关的胰岛素抵抗^[13]。

3 PGRN 与呼吸系统疾病

PGRN 作为一种多功能免疫调节因子, 与多种疾病紧密联系, 在临床上可以预测病情的严重程度, 更好地指导治疗。PGRN 通过参与炎症调控和肿瘤的发生、发展, 提示其在呼吸系统疾病中可能具有重要作用。

3.1 PGRN 与哮喘 哮喘是我国重点监测、防治的慢性病之一, 气道高反应性是哮喘最主要的特点。TNF- α 在哮喘患者体内大量产生, 可以直接改变气道平滑肌的特性, 促进炎性介质释放而表现为气道高反应性^[14]。有研究发现, 哮喘患者的血清 PGRN 水平与健康对照组比较明显降低, 且与中性粒细胞水平呈负相关, 提示高水平的 PGRN 可能对中性粒细胞导致的气道炎症有抑制作用; 另外, 通过相关性分析还发现, 血清 PGRN 水平与肺功能呈正相关, 表明血清 PGRN 可作为哮喘气流阻塞的指标^[15]。

LIN 等^[16]报道, 将小鼠给予 TNF- α 灌胃治疗后, 在氨气刺激下的小鼠咳嗽的频率较治疗前增加, 且具有持续性效应, 提示咳嗽反应的增加是由 TNF- α 诱导的超敏反应引起的; 同时, TNFR 通过双纯合子突变小鼠的气道炎症和 TNF- α 灌胃治疗后引起的支气管病变和肺部感觉神经元超敏反应均被消除, 表明 TNFR 与 TNF- α 结合激活相关下游路径改善气道炎症。前文已经论述 PGRN 可以选择性通过与 TNFR1/2 结合而发挥抗炎效应, 均提示 PGRN 在哮喘中可能改善气道高反应性, 提示外源性应用 PGRN 可能成为哮喘的治疗方法。

3.2 PGRN 与慢性阻塞性肺疾病(COPD) 随着人口老龄化进程的加快和环境恶化, COPD 已经成为严重影响人类健康的慢性疾病。对 COPD 发病机制的深入探索, 有助于提高对疾病的认识及评估。有研究报道, PGRN 在香烟诱导的肺气肿小鼠模型肺泡上皮细胞中表达明显升高, 通过敲除或过表达 PGRN 基因, 观察香烟诱导的肺泡上皮细胞凋亡情况, 发现 PGRN 可以通过调节内质网应激保护肺泡上皮细胞, 减少细胞凋亡^[17], 提示 PGRN 在 COPD 的发生、发展中具有关键作用。UNGURS 等^[18]通过检测 COPD 患者痰液中的 PGRN 水平, 发现 PGRN 与痰液中细菌负荷及中性粒细胞液中炎性标志物水平呈负相关, 还证实 PGRN 作为中性粒细胞弹性蛋白酶和蛋白酶 3 等蛋白水解酶的底物, 被消化后释放 GRN 多肽, 增加炎性因子的表达, 阻止 PGRN 发挥其抗炎作用而导致慢性炎症。

COPD 患者体内炎症反应的特征是炎性细胞数

量和促炎性细胞因子释放增加, 其中发挥重要作用的是中性粒细胞^[19]。PGRN 在中性粒细胞中高表达。有研究报道, 与 COPD 稳定期患者及对照组患者比较, COPD 急性加重期(AECOPD)患者血浆 PGRN 水平升高, 且与第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比呈负相关^[20]。提示 PGRN 是评价气道阻塞的一个潜在标志物。AECOPD 患者发生细菌感染时气道上皮中性粒细胞活化, 从而使 PGRN 基因表达上调^[21], 提示 PGRN 可能通过干扰炎症反应参与 AECOPD 的发病过程。有研究报道, COPD 患者治疗后血浆 PGRN 水平下降, 通过相关性分析发现血浆 PGRN 水平与超敏 C 反应蛋白呈正相关^[20]。以上研究证实血清 PGRN 也可以作为评估 COPD 病情严重程度的重要指标, 监测其水平变化可以更好地指导治疗。上述研究均为小样本的单中心研究, 尚未能阐明 PGRN 参与 COPD 慢性炎症的明确机制, 需要进一步扩大样本量研究 PGRN 在痰液、肺泡灌洗液、气道上皮细胞和肺组织中的表达差异, 深入探讨 PGRN 在 COPD 发病机制中所起的作用。

3.3 PGRN 与非小细胞肺癌(NSCLC) 肿瘤的发生、发展过程包括持续促进细胞增殖、转移和侵袭, 逃避肿瘤抑制因子, 刺激新生血管生成及避免细胞死亡等。整个过程可能受到正常或恶性细胞产生的生长因子的调节。PGRN 在不同类型的癌症中具有显著的生物学效应, 目前已被证实 PGRN 通过上皮-间质转化过程和磷酸化黏着斑激酶促进癌细胞的迁移和侵袭^[22]。

有研究报道, 在 NSCLC 患者切除的局部肿瘤组织中, PGRN 的表达水平与生存期呈负相关; 此外, III b/IV 期 NSCLC 患者血清 PGRN 水平较对照组升高^[23], 证明 PGRN 在 NSCLC 患者组织和血清中的表达可以作为预测疾病预后情况的生物标志物。NAUMNIK 等^[24]研究发现, 化疗前 NSCLC 患者支气管肺泡灌洗液的 PGRN 水平较健康对照者升高, 且与肿瘤进展时间呈正相关。但与先前的研究不同的是, 没有发现支气管肺泡灌洗液中 PGRN 水平与肿瘤分期和化疗效果的相关性, 仅提示 NSCLC 患者支气管肺泡灌洗液中 PGRN 水平可能是肿瘤进展情况的预后因素。PGRN 在肺部肿瘤细胞代谢中的确切机制及其成为肺癌进展预后因子的潜力仍然存在争议, 需深入研究, 进一步探讨 PGRN 在 NSCLC 中的重要作用。

3.4 PGRN 与急性肺损伤(ALI) ALI 和急性呼吸窘迫综合征是世界各地危重患者高病死率的重要原因, 给人类带来了巨大的社会经济负担。ALI 是一种肺部急性炎症性疾病, 其特征是促炎介质的过度产生和肺泡上皮细胞的凋亡, 控制异常炎症和细胞凋亡有助于改善 ALI 患者的预后。

有研究指出, 在脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠肺泡灌洗液中, 存在大量中性粒细胞浸润及炎性因子聚集, PGRN 的半衰期约为 40 h, 以 40 h 的时间间隔给

ALI 小鼠注射 PGRN, PGRN 可以明显阻止小鼠体重减轻和死亡, 并呈剂量依赖性地阻止促炎因子的释放^[25]。有研究表明, 支气管肺泡灌洗液中可溶性 TNFR 水平增加与 ALI 患者预后不良有关^[26]。通过阻断 PGRN 与 TNFR2 的结合可以抑制其对 ALI 的保护作用, 证明 PGRN 在 ALI 中发挥抗炎作用, 且具有潜在的治疗价值。

miR-34b-5p 属于微小 RNA 家族, 主要在肺中表达。这些非编码的单链 RNA 分子主要是通过阻断信使 RNA 的翻译或抑制蛋白质的合成来调控基因表达, 从而在细胞生长发育和凋亡过程中发挥重要作用^[27]。有研究报道, 抑制 miR-34b-5p 翻译 mRNA 可以靶向上调 PGRN 表达水平, 从而减轻 ALI 小鼠模型中的肺部炎症和细胞凋亡^[28]。以上研究提示, miR-34b-5p 和 PGRN 可能是 ALI 治疗的潜在靶点。

4 小结与展望

Atsttrin 蛋白是一种由 3 个 PGRN 片段组成的工程蛋白, 与 TNFR2 亲和力更高, 并且比天然 PGRN 更有活性。除了在炎症性疾病中阻断 TNF 与 TNFR 的结合外, Atsttrin 蛋白还可以通过与 PGRN 竞争结合 TNFR 来抑制 PGRN 介导的癌细胞增殖, 为进一步探索 PGRN 单克隆抗体的制备及 PGRN 对 RNA 的干扰作用的研究提供了基础。

综上所述, PGRN 在呼吸系统相关疾病中发挥重要作用, 其在炎性反应中的机制作用复杂, 随着对炎症调控机制的深入研究, PGRN 会随着不同的炎症部位、炎性介质及所处不同的炎症阶段, 通过不同的关键信号通路, 在多种疾病中发挥抗炎或促炎作用。目前, PGRN 在呼吸系统疾病中的基础研究较少, 需要进一步扩大研究, 以期对呼吸系统疾病带来新的治疗靶点。

参考文献

[1] JIAN J, KONOPKA J, LIU C. Insights into the role of progranulin in immunity, infection, and inflammation[J]. *J Leukoc Biol*, 2013, 93(2): 199-208.

[2] DANIEL R, HE Z, CARMICHAEL K P, et al. Cellular localization of gene expression for progranulin[J]. *J Histochem Cytochem*, 2000, 48(7): 999-1009.

[3] TOLKATCHEV D, MALIK S, VINOGRADOVA A, et al. Structure dissection of human progranulin identifies well-folded granulin/epithelin modules with unique functional activities[J]. *Protein Sci*, 2008, 17(4): 711-724.

[4] KESSENBROCK K, FROHLICH L, SIXT M, et al. Proteinase 3 and neutrophil elastase enhance inflammation in mice by inactivating antiinflammatory progranulin[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(7): 2438-2447.

[5] BATEMAN A, CHEUNG S T, BENNETT H. A Brief overview of progranulin in health and disease[J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1806: 3-15.

[6] GALIMBERTI D, FENOGLIO C, SCARPINI E. Progranulin as a therapeutic target for dementia[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2018, 22(7): 579-585.

[7] ARRANT A E, FILIANO A J, UNGER D E, et al. Restoring neuronal progranulin reverses deficits in a mouse model of frontotemporal dementia[J]. *Brain*, 2017, 140(5): 1447-1465.

[8] WILKE C, GILLARDON F, DEUSCHLE C, et al. Cerebrospinal fluid progranulin, but not serum progranulin, is reduced in GRN-negative frontotemporal dementia[J]. *Neurodegener Dis*, 2017, 17(2/3): 83-88.

[9] TANG W, LU Y, TIAN Q Y, et al. The growth factor progranulin binds to TNF receptors and is therapeutic against inflammatory arthritis in mice[J]. *Science*, 2011, 332(6028): 478-484.

[10] WEI F, ZHANG Y, JIAN J, et al. PGRN protects against colitis progression in mice in an IL-10 and TNFR2 dependent manner[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 7023.

[11] PARK B, BUTI L, LEE S, et al. Granulin is a soluble cofactor for toll-like receptor 9 signaling[J]. *Immunity*, 2011, 34(4): 505-513.

[12] HE Z, ONG C H, HALPER J, et al. Progranulin is a mediator of the wound response[J]. *Nat Med*, 2003, 9(2): 225-229.

[13] QU H, DENG H, HU Z. Plasma progranulin concentrations are increased in patients with type 2 diabetes and obesity and correlated with insulin resistance[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013(2): 360190.

[14] CHIBA Y, DANNO S, SUTO R, et al. Intranasal administration of recombinant progranulin inhibits bronchial smooth muscle hyperresponsiveness in mouse allergic asthma[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 314(1): L215-L223.

[15] PARK S Y, HONG G H, PARK S, et al. Serum progranulin as an indicator of neutrophilic airway inflammation and asthma severity[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2016, 117(6): 646-650.

[16] LIN R L, GU Q, KHOSRAVI M, et al. Sustained sensitizing effects of tumor necrosis factor alpha on sensory nerves in lung and airways[J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2017, 47: 29-37.

[17] LEE K Y, PARK S Y, PARK S, et al. Progranulin protects lung epithelial cells from cigarette smoking-induced apoptosis[J]. *Respirology*, 2017, 22(6): 1140-1148.

[18] UNGURS-MICHAEL J, SINDEN-NICOLA J, STOCKLEY-ROBERT A. Progranulin is a substrate for neutrophil-elastase and proteinase-3 in the airway and its concentration correlates with mediators of airway inflammation in COPD[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306(1): L80-L87.

[19] BARNES P J. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(1): 16-27.

[20] CHEN X, LIU J, ZHU M, et al. Progranulin is a novel biomarker for predicting an acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Clin Respir J*, 2018, 12(10): 2525-2533.

[21] SUBRAHMANYAM Y V, YAMAGA S, PRASHAR Y, et al. RNA expression patterns change dramatically in hu-

- man neutrophils exposed to bacteria[J]. Blood, 2001, 97(8):2457-2468.
- [22] ARECHAVALETA-VELASCO F, PEREZ-JUAREZ C E, GERTON G L, et al. Progranulin and its biological effects in cancer[J]. Med Oncol, 2017, 34(12):194-213.
- [23] EDELMAN M J, FELICIANO J, YUE B, et al. GP88 (progranulin): a novel tissue and circulating biomarker for non-small cell lung carcinoma[J]. Hum Pathol, 2014, 45(9):1893-1899.
- [24] NAUMNIK W, PANEK B, OSSOLINSKA M, et al. B cell-attracting chemokine-1 and progranulin in bronchoalveolar lavage fluid of patients with advanced non-small cell lung cancer: new prognostic factors[J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1150:11-16.
- [25] GUO Z, LI Q, HAN Y, et al. Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by progranulin[J]. Mediators Inflamm, 2012, 2012:540794.
- [26] ANTHONY D D, MICHAEL R W, KENJI W, et al. Sources of alveolar soluble TNF receptors during acute lung injury of different etiologies[J]. J Appl Physiol, 2011, 111(1):177-184.
- [27] DUA K, HANSBRO N G, FOSTER P S, et al. microRNAs as therapeutics for future drug delivery systems in treatment of lung diseases[J]. Drug Deliv Transl Res, 2017, 7(1):168-178.
- [28] WANG X, QINGCHUN L, KAILING W, et al. miR-34b-5p inhibition attenuates lung inflammation and apoptosis in an LPS-induced acute lung injury mouse model by targeting progranulin[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(9):6615-6631.

(收稿日期:2020-01-14 修回日期:2020-04-06)

· 综述 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.15.044

微小 RNA 与肾移植的相关研究进展*

覃晓虹, 刘志昂 综述, 李锦宏 审校

中国人民解放军联勤保障部队第九二三医院检验科, 广西南宁 530021

关键词:微小 RNA; 肾脏疾病; 肾移植

中图分类号:R699.2

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)15-2248-04

近几年来,随着现代医疗技术的不断发展,移植肾的短期存活率已明显增长,但移植肾长期、稳定的存活与功能的维持效果仍不理想。微小 RNA(miRNA)为一类能够调控基因表达的非编码小分子 RNA,其与肾移植的相关过程存在密切联系。本文就肾移植相关 miRNA 进行综述。

1 移植肾功能监测的现状及其问题

目前,临床上治疗终末期肾病最有效的手段依然是肾移植。新型免疫方案的应用极大地降低了肾移植术后急性排斥反应的发生率,移植肾短期存活率也明显上升^[1],但移植肾的长期存活率低依然是目前医学界面临的严峻挑战之一。临床上对移植术后肾功能的监测和评价主要是经由血清肌酐及移植肾组织活检来实现,其中组织活检被医学界公认为是移植肾评估的“金标准”,但上述 2 种方法均存在各自的缺点。血清肌酐水平通常在肾脏损伤后期才表现出明显的异常,同时对不同的损伤类型,血清肌酐水平是非特异性的。此外,肌酐水平无法有效预测或评价慢性损伤的进展情况,因此,对移植肾远期预测也并不理想。肾组织活检无法被应用于检测损伤进展,属于有创性检查,且存在较大的不良反应,临床实际应用中也无法做到对患者进行频繁穿刺。同时,在对标本进行评估的过程中容易受到医生主观因素的影响,且对于部分并发症的干扰也无法做到完全排除。美国

国立卫生研究院的一项名为“儿童肾移植中使用类固醇免疫抑制剂与基于类固醇的免疫抑制”的临床试验中,研究者发现采用肾组织活检的方法无法对肾移植稳定受者“隐藏”的组织损伤进行检测^[2]。从组织学上来看,在移植肾表现出功能异常之前,可通过检测相关基因的表达观察到机体的固有免疫反应发生异常,同时,还能用此方法对适应性免疫反应进行监测。所以,寻找有效的、非侵入性、特异度和灵敏度高、预测性好的生物标志物,对临床上移植肾功能状态的早期诊断及监测具有十分重要的临床意义。

2 miRNA 的生物学效应和功能

miRNA 为一类长度为 19~23 个核苷酸的小分子非编码 RNA,其合成是在一系列酶的作用下完成的。首先,miRNA 基因在 RNA 聚合酶 II 的作用下转录生成 pri-miRNA,随后 pri-miRNA 在细胞核中受到 Drosha 酶的影响,被加工形成 pre-miRNA,长度约为 65 个核苷酸,为一个发卡结构。pre-miRNA 在输出蛋白 5 的作用下由细胞核运送至细胞质,在 Dicer 酶的作用下被进一步剪切成长度为 19~23 个核苷酸的成熟 miRNA,为双链结构^[3]。解旋酶与双链 miRNA 发生作用,促使后者转变为成熟的单链 miRNA。成熟的 miRNA 与 RNA 诱导沉默复合体发生特异性结合,从而发挥一系列生物学效应。

目前的研究已经证实,miRNA 5'端第 2~8 个核

* 基金项目:广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研课题(Z20191028)。