

气道炎症的新标志物——SEC14L3

高尚泽, 单丽华*

天津中医药大学中药学院, 天津 300193

摘要: 气道炎症是许多呼吸系统疾病共同的病理特征, 气道炎症程度是判断病情严重程度和指导临床治疗的基础。SEC14L3 是一个来源于气道上皮的分泌蛋白, 选择性地分布在呼吸器官的气道上皮细胞, 其表达量随着气道炎症的加重而显著减少, 与气道炎症程度成高度负相关。这表明 SEC14L3 很可能成为气道炎症的新标志物及气道炎症治疗的新靶点。通过监测 SEC14L3 表达量的变化, 为呼吸系统疾病的诊断和治疗提供重要的参考价值。

关键词: SEC14L3; 气道上皮细胞; 炎症; 标志物

中图分类号: R562.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2013)02-0142-004

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.02.016

New maker of airway inflammation—SEC14L3

GAO Shang-ze, SHAN Li-hua

Faculty of Pharmacy, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Airway inflammation is the common Pathological characteristics of many respiratory diseases, and the degree of inflammation can be used to judge the severity of the disease. SEC14L3 is a secretory protein in airway and specifically expressed in airway epithelium of respiratory organs. The expression is highly and inversely associated with the progression of airway inflammation. It indicates that SEC14L3 is likely to be a new marker and therapeutic target of airway inflammation, which provides useful information in diagnosis and therapy by monitoring SEC14L3 expression.

Key words: SEC14L3; Airway epithelium; inflammation; maker

气道炎症以气道上皮细胞损伤及脱落, 多种炎性细胞浸润, 气道微血管扩张, 通透性增高和渗出物增多, 气道腔内炎症介质(如组胺、白三烯、血小板活化因子、前列腺素和多种炎性生物趋化因子等)增多为主要表现。是引起支气管上皮损伤、气道阻塞和气道重塑的主要原因。判断气道炎症及其严重程度对于呼吸道疾病病情的诊断, 监测及早期防治有重要意义。目前能够直接反映气道炎症严重程度的指标较少。临床上常用的痰培养及痰液中的炎症细胞计数, 仅有助于炎症程度的辅助判断; 支气管粘膜活检虽然可以对病情直接做出诊断, 但有一定的创伤性, 实际上很难对同一患者反复进行检查。常用的呼气流速检查, 只能反映肺功能状态却难以特异性地反映气道炎症的程度。如果有一种能特异性反映气道炎症的标志物, 对于呼吸系统疾病

的诊断及治疗将有重大的临床意义。Sec14-like protein 3 (SEC14L3) 是一个来源于气道上皮的水溶性分泌蛋白, 选择性地分布在气管和肺组织的上皮细胞, 其表达量和气道炎症之间存在密切关系, 随着气道炎症程度的加剧而显著减少, 呈高度负相关。地塞米松可以预防 SEC14L3 的减少。这表明 SEC14L3 具有反映气道炎症程度的特性, 很可能成为气道炎症的新标志物^[1-2]及气道炎症治疗的新靶点, 为新药研发及药物评价提供重要的参考价值。

1 SEC14L3 的结构及分布特点

SEC14L3 是一个相对分子质量为 4.5×10^4 的水溶性分泌蛋白, 由 400 个氨基酸组成^[3]。其 cDNA 序列全长 2 082 bp, 定位于 22q12, 由 12 个外显子组成, 内含子和外显子序列在染色体上的跨度约 12.8 k。蛋白序列分析显示 SEC14L3 具有 2 个重要的功能结

收稿日期: 2013-01-17

基金项目: 天津市应用基础及前沿技术研究计划资助项目 (10JCYBJC27100)

作者简介: 高尚泽, 女, 硕士研究生, 研究方向为药理学。Tel: 15902254746 E-mail: gaoshangze20@yahoo.cn

*通信作者 单丽华, 女, 研究员, 硕士生导师。Tel: (022)59596221 E-mail: shanlihua2002@hotmail.com

构域: CRAL-TRIO 和 GOLD (Golgi Dynamics domain 高尔基体动力学结构域, 图 1) 可能属于 CRAL-TRIO 蛋白家族。该蛋白家族是一类脂类结合蛋白, 参与细胞内疏水性底物分子的结合转运^[4]。

Sec14-like protein 广泛存在于哺乳动物中, 至少有 3 个亚型: SEC14L2、SEC14L3 和 SEC14L4。SEC14L2 和 SEC14L4 广泛分布在小肠、肾、脾等脏器^[3], 而 SEC14L3 特异性高, 仅选择性分布在呼吸器官。SEC14L3 在大鼠主要脏器的分布为: 几乎全部在肺和气管, 而在睾丸、脾、肠和肾脏仅有及其微量的表达, 在脑、心脏和肝脏无表达。

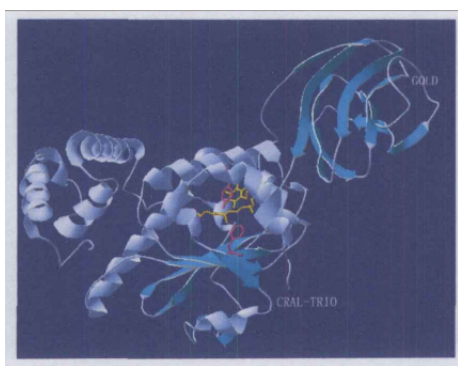


图 1 SEC14L3 的结构示意图

Fig. 1 Structure profile of SEC14L3

2 SEC14L3 的功能及用途

Sec14L3-like proteins 是一个有多种脂质结合能力的蛋白家族^[5-6]。此类蛋白广泛存在于单细胞生物、植物、酵母、无脊椎和哺乳动物中, 参与脂质转运、信息传递、分泌调解及细胞成分之间的相互作用等^[7-10]。

气道上皮层细胞构成气道黏膜表面的保护屏障, 通过纤毛摆动, 黏液运输及分泌免疫活性物质发挥防御作用。气道上皮层包括功能不同的各种细胞: 黏液生成细胞、克拉拉细胞及纤毛细胞等。这些细胞产生不同的防御物, 例如黏液、表面活性物质及多种防御蛋白^[11-13]。已证明表面活性蛋白 (SP-A、SP-B、SP-C、SP-D), 克拉拉细胞分泌蛋白 (CC16 和 CC10) 及黏蛋白相关抗原 (KL6)^[14-15] 可以作为这些细胞的标志物。然而, 这些蛋白并不能作为气道上皮细胞的特定标志物, 因为它们也可以在胃、肠、胰等呼吸组织以外的多种器官中被大量检测到^[16-18]。与此相反, SEC14L3 蛋白仅选择性地分布在气管及肺支气管上皮^[19], 因此, SEC14L3 有望成为气道上皮细胞的新标志物。

Shan 等^[1]研究发现卵白蛋白致敏大鼠哮喘模型中, 在肺泡灌洗液中嗜酸细胞、淋巴细胞和中性粒细胞增加, 肺组织内炎症细胞渗入以及上皮细胞的变性和坏死, 这些指标均在激活后 24 h 达到高峰。相反, 定量的聚合酶链反应证明 SEC14L3 mRNA 随着炎症程度的增加而明显降低, 24 h 后减少至正常水平的 1%, 其表达量与气道炎症的程度呈高度负相关。地塞米松治疗能够显著抑制 SEC14L3 mRNA 的减少和各种炎症性变化。同时, 肺泡灌洗液中上清液的蛋白质组二维凝胶影像实验也同样证实了炎症发生后 SEC14L3 蛋白的显著减少。

有人研究经鼻感染流感病毒的小鼠模型, 感染后出现气道上皮细胞的变性坏死及纤毛细胞的显著减少, 该病理改变在病毒感染后第 10 天最为明显。与此同时, 气道上皮细胞 SEC14L3 mRNA 的表达量进行性减少, 第 10 天减少至感染前的 6%^[2]。

Pround 等^[20]研究表明人肺组织中 SEC14L3 mRNA 的表达水平随着人鼻病毒感染或吸烟而显著减少^[21-23]。小鼠体内 SEC14L3 蛋白水平也会因为蔡诱导的气道损伤以及臭氧氧化所致气道损伤而减少^[24-25]。肺部感染克雷伯菌 24 小时后导致 SEC14L3 蛋白水平下降^[26]。

SEC14L3 mRNA 及其蛋白的表达水平与肺组织炎症之间呈负相关的机制还有待阐明。SEC14L3 向下调节的一个可能的机制是, 表达 SEC14L3 的上皮细胞功能在气道炎症的过程中发生了改变。Shan 等^[1]的研究表明, 地塞米松可以抑制 SEC14L3 的向下调节, 以及炎症细胞浸润和气道上皮损伤。这一结果表明 SEC14L3 在维持气道上皮细胞稳态方面有重要作用。通过新药的研发, 增加 SEC14L3 在气道的表达, 可能对提高气道上皮细胞的稳定性有重要的作用。

现在已证实, 磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸 (phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PIP3) 是 SEC14L3 的特定配体^[27-29], 研究表明 SEC14L3 和 PIP3 共同存在于在细胞外基质的囊泡中^[28]。PIP3 是磷酸肌醇 3-激酶经受体酪氨酸激酶、Ras 或 G 蛋白激活后产生, 从而刺激包括丝氨酸, 苏氨酸蛋白激酶 (Akt)^[30]和蛋白激酶 C (PKC)^[31]在内的下游的若干靶点。而 Akt 和 PKC 在气道炎症的发展过程中起关键作用^[32], 可能会引起气道的炎症细胞浸润, 从而导致上皮细胞变性和坏死。

综上所述, SEC14L3 因气道的炎症性改变而减

少,与气道炎症的程度成高度的负相关,为气道炎症的评价提供了一个定量指标。SEC14L3能够直接地反映气道上皮细胞的功能状态,可以作为气道炎症的标志物,为呼吸系统疾病的诊断及治疗药物评价提供重要的参考价值。同时也可能成为呼吸系统疾病的新的治疗靶点。

3 展望

正常志愿者支气管刷检样本中,可见 SEC14L3 mRNA 的大量表达。支气管刷检是普遍认可的临床方法,可以对患有各种肺部疾病患者的支气管上皮细胞进行形态及功能分析^[33-34]。这些结果表明,也可以通过测量支气管刷检样本中 SEC14L3 mRNA 或蛋白的含量,来监测气道炎症性疾病的进程。由于患者的痰液中可以检测到 SEC14L3 蛋白,因此可以通过测定痰液中 SEC14L3 的蛋白含量来监测气道炎症性疾病的进展。此外,由于 SEC14L3 是水溶性分泌蛋白,血液中也检测到。患者痰液及血液中 SEC14L3 检测方法的开发将为 SEC14L3 的临床应用提供广阔的前景。此外,由于 SEC14L3 的表达量与气道炎症成高度负相关,通过新药研发增加 SEC14L3 的表达,可能对气道炎症的预防和治疗有重要的临床意义。因此 SEC14L3 也可能为呼吸系统药物研发提供一个新的靶点。

参考文献

- [1] Shan L H, Kawakami T, Asano S, *et al.* Inverse relationship between Sec14l3 mRNA protein expression and allergic airway inflammation [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 616(1/3): 293-300.
- [2] Shan L H, Noritake S, Fujiwara M, *et al.* Sec14l3 is specifically expressed in mouse airway ciliated cells [J]. *Inflammation*, 2012, 35: 702-712.
- [3] Merkulova M I, Andreeva S G, Shuvaeva T M, *et al.* A novel 45 kDa secretory protein from rat olfactory epithelium: primary structure and localization [J]. *FEBS Lett*, 1999, 450(1/2): 126-130.
- [4] 叶鑫,毛裕民,谢毅,等. 人类基因 SEC14L3, ACAD10 和 BBS4v2 的克隆与功能研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2005.
- [5] Mousley C J, Tyeryar K R, Vincert-Pope P, *et al.* The Sec14-superfamily and the regulatory interface between phospholipid metabolism and membrane trafficking [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1771(6): 727-736.
- [6] Bankaitis V A, Mousely C J, Schaaf G. The Sec14 superfamily and mechanism for crosstalk between lipid metabolism and lipid signaling [J]. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35(3): 150-160.
- [7] Sha B, Phillips S E, Bankaitis V A, *et al.* Crystal structure of the *Saccharomyces cerevisiae* phosphatidylinositol-transfer protein [J]. *Nature*, 1988, 391(6666): 506-510.
- [8] Crabb J W, Goldflam S, Harris S E, *et al.* Cloning of the cDNAs encoding the cellular retinaldehyde-binding protein from bovine and human retina and comparison of the protein structures [J]. *Biol Chem*, 1988, 263: 18688-18692.
- [9] Bankaitis V A, Aitken J R, Cleves A E *et al.* An essential role for a phospholipid transfer protein in yeast Golgi function [J]. *Nature*, 1990, 347(6293): 561-562.
- [10] Shibata N, Arita M, Misaki Y, *et al.* Supernatant protein factor, which stimulates the conversion of squalene to lanosterol, is a cytosolic squalene transfer protein and enhances cholesterol biosynthesis [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2000, 98(5): 2244-2249.
- [11] Hawgood S, Crystal R G, West J B, *et al.* *Surfactant: composition, structure, and metabolism* [M]. British: Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 557-571.
- [12] Lubman R L, Kim K J, Crandall E D, *et al.* *Alveolar epithelial barrier properties* [M]. British: Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 585-602.
- [13] Shak S, Crystal R G, West J B, *et al.* *Mucins and lung secretions* [M]. British: Lippincott Williams & Wilkins, 1997: 479-483.
- [14] Glasser S W, Korfhagen T R, Wert S E, *et al.* Genetic element from human surfactant protein SP-C gene confers bronchiolar-alveolar cell specificity in transgenic mice [J]. *Am J Physiol*, 1999, 261(4 Pt 1): L349-L356.
- [15] Hermans C, Bernard A. Lung epithelium-specific proteins: Characteristics and potential applications as markers [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 159(2): 646-678.
- [16] Balis J U, Paterson J F, Paciga J E, *et al.* Distribution and subcellular localization of surfactant-associated glycoproteins in human lung [J]. *Lab Invest*, 1985, 52(6): 657-669.
- [17] Crouch E, Parghi D, Kuan S F, *et al.* Surfactant protein D: subcellular localization in nonciliated bronchiolar epithelial cells [J]. *Am J Physiol*, 1992, 263(1): L60-L66.
- [18] Phelps D S, Floros J. Localization of surfactant protein synthesis in human lung by in situ hybridization [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1988, 137(4): 939-942.
- [19] Merkulova M I, Andreeva S G, Shuvaeva T M, *et al.* A novel 45 kDa secretory protein from rat olfactory epithelium: primary structure and localization [J]. *FEBS Lett*, 1999, 450(1/2): 126-130.

- [20] Pround D, Turner R B, Winther B, *et al.* Gene expression profiles during *in vivo* human rhinovirus infection: Insights into the host response [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178(9): 962-968.
- [21] Zhang X, Sebastiani P, Liu G, *et al.* Similarities and differences between smoking-related gene expression in nasal and bronchial epithelium [J]. *Physiol Genomics*, 2010, 41(1): 1-8.
- [22] Strulovici-Barel Y, Omberg L, O'Mahony M, *et al.* Threshold of biologic responses of the small airway epithelium to low levels of tobacco smoke [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182(12): 1524-1532.
- [23] Harvey B G, Heguy A, Leopold P L, *et al.* Modification of gene expression of the small airway epithelium in response to cigarette smoking [J]. *J Mol Med*, 2007, 85(1): 39-53.
- [24] Carvalho-Oliveira I M, Charro N, Aarbiou J, *et al.* Proteomic analysis of naphthalene-induced airway epithelial injury and repair in a cystic fibrosis mouse model [J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(7): 3606-3616.
- [25] Haque R, Umstead T M, Freeman W M, *et al.* The impact of surfactant protein-A on ozone-induced changes in the mouse bronchoalveolar lavage proteome [J]. *Proteome Sci*, 2009, 7: 12.
- [26] Ali M, Umstead T M, Haque R, *et al.* Differences in the BAL proteome after *Klebsiella pneumoniae* infection in wild type and SP-A-/-mice [J]. *Proteome Sci*, 2010, 8: 34.
- [27] Il'nitskaia E V, Shamborant O G, Radchenko V V, *et al.* Binding of phosphatidylinositol-3, 4, 5-triphosphate to 45-kDa sec14-like protein from the rat olfactory epithelium in liposomes [J]. *Bioorg Khim*, 2006, 32(3): 335-336.
- [28] Merkulova M, Huynh H, Radchenko V, *et al.* Secretion of the mammalian Sec14p-like phosphoinositide-binding p45 protein [J]. *FEBS J*, 2005, 272(21): 5595-5605.
- [29] Radchenko V V, Merkulova M I, Shuvaeva T M, *et al.* Functional expression and properties of Sec14p-like protein with molecular mass 45 kD from rat olfactory epithelium [J]. *Biochemistry*, 2005, 70(12): 1341-1347.
- [30] Cantley L C, Neel B G. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1999, 96(8): 4240-4245.
- [31] Kolanus W, Seed B. Integrins and inside-out signal transduction: converging signals from PKC and PIP3 [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, 9(5): 725-731.
- [32] Matsubara M, Ohmori K, Hasegawa K. Histamine H1 receptor-stimulated interleukin 8 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor production by bronchial epithelial cells requires extracellular signal-regulated kinase signaling via protein kinase C [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2006, 139(4): 279-293.
- [33] Lv M, Fan Y B, Zhao Y J, *et al.* Expression and clinical significance of glucose transporter 1 mRNA in bronchial brushing liquid-based cytology specimens from patients with and without lung cancer [M]. British: OUP Oxford, 2011: 108-113.
- [34] Wark P A, Grissell T, Davies B, *et al.* Diversity in the bronchial epithelial cell response to infection with different rhinovirus strains [J]. *Respirology*, 2009, 14(2): 180-186.