

## 双调蛋白及其在气道炎性疾病中作用的研究进展\*

高玲<sup>1</sup> 许昱<sup>1</sup>

[关键词] 双调蛋白;气道炎性疾病

doi:10.13201/j.issn.1001-1781.2018.01.016

[中图分类号] R764 [文献标志码] A

### Research progress of amphiregulin and its role in airway inflammatory disease

**Summary** Amphiregulin is a member of epidermal growth factor family, and is also one of the ligand of epidermal growth factor receptor, it participates in many physiological and pathological process by combining with EGFR. Researches have proved that AREG participates in asthma and airway inflammatory diseases caused by smoking and PM 2.5, and AREG plays an important role in the process of airway remodeling and inflammation. This paper mainly reviews the expression and function of AREG, and focus on it's research status in airway inflammatory disease.

**Key words** amphiregulin; epidermal growth factor receptor; airway inflammation; asthma

1988 年,AREG 被 Shoyab 等在经 12-肉豆蔻酸-13 乙酸佛波醇处理后的人乳腺癌 MCF-7 细胞系上清液中首次发现,由于其既可以促进角质细胞、成纤维细胞的增殖,又可以抑制一些肿瘤细胞系的生长,因此被命名为“双调蛋白”<sup>[1]</sup>。AREG 是表皮生长因子家族中的一员,也是表皮生长因子受体(EGFR)的配体之一,EGFR 是一种广泛表达的酪氨酸激酶受体,有 4 种,分别为 ErbB1、ErbB2、ErbB3 及 ErbB4<sup>[2]</sup>;Areg 则主要与 ErbB1 结合来发挥作用<sup>[3]</sup>。AREG 参与了气道炎性疾病中的气道重塑和炎症反应过程。本文主要对 AREG 的表达、功能及其在气道炎性疾病中的研究现状进行综述。

#### 1 AREG 的表达及主要功能

##### 1.1 AREG 的基因定位及表达

人类 AREG 基因位于 4 号染色体长臂 1 区 3 带 3 亚带(4q13.3),这也是 EGF 家族基因簇所在的区域。人类 AREG 基因存在 2 个拷贝,相距约 160 kb,转录为包含 6 个外显子的 mRNA,其编码一种由 252 个氨基酸组成的糖蛋白,即双调蛋白前体(Pro-Areg)<sup>[4]</sup>。双调蛋白前体的胞外域在蛋白酶的作用下被水解切割,释放出可溶的双调蛋白,在肿瘤坏死因子转化酶(tumor necrosis factor-converting enzyme, TACE)的调控下释放出可溶性的 AREG,即 AREG 的活性成分<sup>[5]</sup>。

##### 1.2 AREG 的作用

AREG 能调节不同细胞的增殖、凋亡和迁移,

包括上皮细胞、成纤维细胞和免疫细胞。其在多种组织器官中均有表达,如生殖系统、泌尿系统、胰腺、循环系统、消化道和呼吸道<sup>[6]</sup>。而近年来大量研究表明,在不同的炎性刺激下,多种免疫细胞均能产生 AREG,如嗜碱性粒细胞、肥大细胞、2 型固有淋巴细胞、树突状细胞、中性粒细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、Treg 细胞、活化的 CD4<sup>+</sup> T 细胞等,这表明 AREG 与免疫相关的抵抗和耐受机制可能有关<sup>[7]</sup>。

**1.2.1 AREG 的生理功能** AREG 在多个组织器官中均有表达,其参与了女性生殖系统发育的多个重要过程<sup>[8]</sup>,肺、肾和前列腺的分支形态的发生,在精子的发生和神经元的发育中也起重要作用<sup>[9]</sup>。

**1.2.2 AREG 在肿瘤疾病中的作用** 大量研究证明,AREG 在肿瘤的发展以及癌细胞的生物学中起了重要作用,AREG 在多种肿瘤中的表达增加,如结肠癌、乳腺癌、肺癌、肝癌、前列腺癌、胃癌、胆囊癌、头颈部肿瘤以及皮肤肿瘤等<sup>[10]</sup>。尽管 AREG 在抗肿瘤免疫和耐受中的作用仍不明确,但是临床上广泛的应用 EGFR 拮抗剂治疗转移性上皮癌表明 AREG 可能在调节肿瘤免疫应答中起到关键作用。

**1.2.3 AREG 在非肿瘤性疾病中的作用** AREG 参与宿主在不同组织器官的炎性疾病中的防御和修复,如慢性气道疾病、肝纤维化以及自身免疫病等<sup>[11]</sup>。AREG 通过与 IGF-1 协同作用,在肺部感染中起着维持组织平衡和上皮完整性的重要作用。AREG 可能参与组织损伤后的修复和动态平衡,以及免疫调节中的促纤维化。另外,AREG 可能通过促进 Treg 细胞功能对局部炎症反应产生抑制作用。本文将重点综述 Areg 在气道炎性疾病中的研究进展。

\* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(No:81770986, No: 81371070);湖北省自然科学基金项目(No: 2015CKB756)

<sup>1</sup> 武汉大学人民医院耳鼻咽喉头颈外科(武汉,430060)  
通信作者:许昱,E-mail:xy37138@163.com

## 2 AREG 在气道炎性疾病中的作用

### 2.1 非变应性气道炎性疾病

**2.1.1 烟雾引起的气道炎性疾病** 吸烟者的气道上皮发生了明显重塑,如基底细胞和黏液细胞的增生、鳞状上皮化生、纤毛细胞分化和屏障完整性下降。研究表明,吸烟能引起人气管上皮的基底细胞发生 EGF 诱导的鳞状分化,产生 AREG,反过来,AREG 通过一种不同于 EGF 的激活方式,激活 EGFR,诱导基底细胞和黏液细胞增生、调节纤毛细胞分化、损伤屏障的完整性。同时,AREG 能促进自身的表达并抑制 EGF 的表达,由此在气道基底细胞的增生中建立了一个自我放大信号环路。气道基底细胞中 EGF-AREG 的相互作用可能与吸烟引起的气道疾病的发病机制<sup>[12]</sup>。

Baginski 等<sup>[13]</sup>研究发现,香烟烟雾提取物可增强人气管上皮 NCI-H292 细胞的黏液素的表达和产生,该过程是由 EGFR 的配体 TGF- $\alpha$  和 AREG 诱导的。Richter 等<sup>[14]</sup>发现,支气管上皮细胞在香烟烟雾刺激下分泌 IL-8,而此过程由 EGFR 的自分泌配体(TGF- $\alpha$ 、HB-EGF、AREG)介导。Parnia 等<sup>[15]</sup>发现原代支气管上皮细胞在柴油机废气颗粒刺激下能活化丝裂原活化蛋白激酶并表达 IL-8,而 EGFR 和 TGF- $\alpha$ 、HB-EGF、AREG 的中和抗体以及 GM6001(EGFR 配体解离阻滞剂)能使 IL-8 的表达显著降低,这表明 AREG 可能参与了气道在空气污染颗粒的刺激下的炎症反应过程。Hall 等<sup>[16]</sup>在雌性小鼠中证明,黄体酮是一个重要的介导上皮细胞和肺组织感染后修复的宿主因子,其通过上调 AREG 的表达,来达到修复肺和提高 IAV 感染后的预后作用。呼吸道上皮细胞暴露在空气污染颗粒中会增强肺局部炎症反应,但不能单独引发系统性炎症反应<sup>[17]</sup>。上述研究表明,AREG 通过与 EGFR 结合,与 EGF 和其他 EGFR 配体相互作用,调控 IL-8 的表达,参与烟雾引起的气道炎症疾病中的气道重塑以及局部炎症反应过程。

**2.1.2 PM2.5 引起的气道炎性疾病** Rumelhard 等<sup>[18]</sup>发现,在支气管上皮细胞系 16HBE 和正常人鼻上皮细胞 NHNE 中,PM2.5 中的有机成分和水溶性成分,都能促进 AREG 的表达和分泌,而 AREG 和其他 EGFR 配体通过促进支气管上皮细胞中的 GM-CSF 分泌,引起气道炎症反应,导致气道重塑<sup>[19]</sup>。这表明 AREG 及其他 EGFR 配体在 PM2.5 引起的气道疾病中起重要作用。

**2.1.3 其他非变应性气道炎性疾病** 二乙酰(diacetyl,DA)是人工黄油调味剂的成分之一,与闭塞性细支气管炎(bronchiolitis obliterans,BO)的发展有关,Kelly 等<sup>[20]</sup>的研究证明,DA 诱导肺上皮细胞系 NCI-H292 的 AREG 表达增加,而 AREG 在 BO 发病机制中的作用仍需进一步研究。

### 2.2 变应性气道炎性疾病

哮喘是一种常见的气道高反应性慢性炎性疾病,与气道重塑,包括气道上皮细胞和气管平滑肌细胞的增生,以及杯状细胞的分化密切相关。

**2.2.1 AREG 与气道重塑** 气道平滑肌(airway smooth muscle,ASM)增生和血管生成是气道重塑的重要特征之一,而 AREG 能促进人 ASM 细胞增殖,其增殖程度与 AREG 的浓度有关<sup>[21]</sup>。人 ASM 细胞通过释放增多的平滑肌物质和细胞因子、趋化因子水平引起哮喘,研究发现缓激肽通过诱导 COX-2 表达、PGE2 增高、激发 ASM 细胞 EP2 和 EP4 受体,促进 AREG 的分泌,人 ASM 细胞又在 AREG 的诱导下产生 CXCL8、VEGF 和 COX-2<sup>[22]</sup>。这表明了 AREG 参与哮喘患者中 ASM 细胞的增殖及炎症反应。

哮喘患者的血清、气道上皮以及外周血嗜碱性粒细胞中的 AREG 水平均显著增高。Okumura 等<sup>[23]</sup>证明,哮喘患者与健康人相比,其鼻黏膜上皮细胞表达更高水平的 AREG 和 EGFR,这与黏液细胞化生、气道重塑有关。哮喘患者的肥大细胞通过释放 AREG,使杯状细胞增生,并上调黏液素基因的表达,从而产生更多的痰液<sup>[24]</sup>。儿童时期感染鼻病毒的人哮喘发病率增高,研究发现,这可能与气道上皮的 AREG、激活素 A 和 VEGF 表达上调,从而引起气道重塑有关<sup>[25]</sup>。又有研究表明,AREG 可能对修复气道时上皮的增殖和分化起重要作用,在非变应性肺疾病如樟脑丸引起的肺损伤中,黏液细胞的化生(mucus cell metaplasia, MCM)与 AREG 密切相关,而在变应原引起的肺损伤中,MCM 则与 AREG 无明显相关性<sup>[26]</sup>。上述研究表明,AREG 可能通过促进 MCM 参与气道重塑过程,而在变应性哮喘中,AREG 对 MCM 的作用仍需进一步研究。

### 2.2.2 AREG 与炎症递质及细胞因子相互作用

在人气道上皮细胞系 NCI-H292 中,人气道胰蛋白酶样蛋白酶(human airway trypsin-like protease, HAT)能诱导 AREG 的表达,其机制是通过蛋白酶活化受体-2 介导细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路,然后以 TACE 依赖的机制促进 AREG 的释放<sup>[27]</sup>。HAT 还能通过 AREG-EGFR 作用增强黏液素基因表达<sup>[28]</sup>。TNF- $\alpha$  诱导 NCI-H292 分泌 IL-8 的过程中,金属蛋白酶介导的 AREG 解离以及 EGFR 的激活起重要作用<sup>[29]</sup>。固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs)在哮喘发病机制中起关键作用,ILC2s 通过产生 AREG 来减轻炎症反应<sup>[30]</sup>。Shinagawa 等<sup>[31]</sup>证明凝血因子 Xa 通过调控 AREG 的表达,刺激黏液素的产生和胶原沉积,参与哮喘的气道重塑过程。Hirota 等<sup>[32]</sup>发现在人正常

支气管上皮细胞(normal human bronchial epithelial cells, NHBE)中,组胺可能通过促进 EGFR 配体(AREG 和 HB-EGF)的释放来诱导气道重塑过程。上述研究表明,AREG 通过与多种细胞、EGF 配体和炎性因子相互作用,参与哮喘的炎症反应和气道重塑。

**2.2.3 哮喘患者中的 AREG 与 EGFR** EGFR 在维持气道上皮的环境屏障功能和激发气道炎症反应中起到重要作用<sup>[33]</sup>,研究表明,在哮喘患者的肺上皮中 EGFR 表达更高,活性更强<sup>[34]</sup>,与正常对照组和哮喘稳定期的患者相比,哮喘发作期患者的痰液中有更高水平的 AREG。EGFR 能诱导人正常支气管上皮细胞 NHBE、支气管平滑肌细胞(bronchial smooth muscle cells, BSMC)、和正常人肺成纤维细胞(normal human lung fibroblasts, NHLF)的增殖,而 AREG 只能诱导 NHBE 的增殖,而且 NHBE 持续暴露于 EGF 和 AREG 能诱导黏液细胞化生<sup>[35]</sup>。Acciani 等<sup>[36]</sup>在人气道上皮细胞(airway epithelial cells, AEC)和哮喘的小鼠模型中证明,AREG-EGFR 相互作用参与了粒细胞巨噬细胞刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)的产生。上述研究表明 AREG 在哮喘中通过与 EGFR 结合发挥作用,而 EGFR 则通过与 AREG 及其他配体结合作用于更多细胞。

### 3 展望

如上所述,大量研究证实,AREG 在变应性哮喘的发生发展中起重要作用,但 Kajiwara 等<sup>[37]</sup>证明,OVA 诱导的气道炎症反应在 AREG 缺陷小鼠和正常小鼠中并无显著差异,即 AREG 对于 OVA 诱导小鼠气道炎症反应并不是必须的。除哮喘外,气道炎性疾病还包括变应性鼻炎、鼻息肉等鼻部炎性疾病,而 AREG 在这些鼻部疾病中的研究尚未见报道。根据 AREG 在其他炎性疾病中对炎症反应和组织重塑的重要作用,研究其在变应性鼻炎、鼻息肉等鼻部炎性疾病中的作用将为我们弄清这些疾病的发病机制提供进一步帮助。因此,在未来的研究中我们将进一步探索 AREG 在变应性鼻炎及鼻息肉等变态反应性疾病中的作用,以求为临床上治疗变应性鼻炎和鼻息肉提供新的靶点。

### 参考文献

- [1] SHOYAB M, MCDONALD V L, BRADLEY J G, et al. Amphiregulin; a bifunctional growth-modulating glycoprotein produced by the phorbol 12-myristate 13-acetate-treated human breast adenocarcinoma cell line MCF-7[J]. *P Natl Acad Sci USA*, 1988, 85: 6528-6532.
- [2] YARDEN Y, SLIWKOWSKI M X. Untangling the ErbB signalling network[J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2001, 2: 127-137.
- [3] CONTI M, HSIEH M, PARK J Y, et al. Role of the Epidermal Growth Factor Network in Ovarian Follicles[J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20: 715-723.
- [4] SEBIO A, PAEZ D, SALAZAR J, et al. Intergenic polymorphisms in the amphiregulin gene region as biomarkers in metastatic colorectal cancer patients treated with anti-EGFR plus irinotecan[J]. *Pharmacogenomics J*, 2014, 14: 256-262.
- [5] LEVANO K S, KENNY P A. Clarification of the C-terminal proteolytic processing site of human Amphiregulin[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586: 3500-3502.
- [6] PLOWMAN G D, GREEN J M, MCDONALD V L, et al. The amphiregulin gene encodes a novel epidermal growth factor-related protein with tumor-inhibitory activity[J]. *Mol Cell Biol*, 1990, 10: 1969-1981.
- [7] ZAISS D M W, GAUSE W C, OSBORNE L C, et al. Emerging functions of amphiregulin in orchestrating immunity, inflammation, and tissue repair[J]. *Immunity*, 2015, 42: 216-226.
- [8] 于医萍,方兰兰,孙莹璞. 双调蛋白在女性生殖系统作用的研究进展[J]. *生殖与避孕*, 2016, 36(2): 142-147.
- [9] 徐源,李凯迪,邴钟兴,等. 双调蛋白的结构、表达及生理功能研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(10): 1455-1459.
- [10] BUSSER B, SANCEY L, BRAMBILLA E, et al. The multiple roles of amphiregulin in human cancer[J]. *BBA-REV Cancer*, 2011, 1816: 119-131.
- [11] BERASAIN C, AVILA M A. Amphiregulin[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 28: 31-41.
- [12] ZUO W L, YANG J, GOMI K, et al. EGF-Amphiregulin Interplay in airway stem/progenitor cells links the pathogenesis of smoking-induced lesions in the human airway epithelium[J]. *Stem Cells*, 2017, 35: 824-837.
- [13] BAGINSKI T K, DABBAGH K, SATJAWATCHARAPHONG C, et al. Cigarette smoke synergistically enhances respiratory mucin induction by proinflammatory stimuli[J]. *Am J Resp Cell Mol*, 2006, 35: 165-174.
- [14] RICHTER A, O'DONNELL R A, POWELL R M, et al. Autocrine ligands for the epidermal growth factor receptor mediate interleukin-8 release from bronchial epithelial cells in response to cigarette smoke[J]. *Am J Resp Cell Mol*, 2002, 27: 85-90.
- [15] PARNIA S, HAMILTON L M, PUDDICOMBE S M, et al. Autocrine ligands of the epithelial growth factor receptor mediate inflammatory responses to diesel exhaust particles[J]. *Resp Res*, 2014, 15: 22-27.
- [16] HALL O J, LIMJUNYAWONG N, VERMILLION M S, et al. Progesterone-based therapy protects against influenza by promoting lung repair and recovery in females[J]. *Plos Pathog*, 2016, 12: e1005840.

- [17] AUGER F, GENDRON M C, CHAMOT C, et al. Responses of well-differentiated nasal epithelial cells exposed to particles: role of the epithelium in airway inflammation[J]. *Toxicol Appl Pharm*, 2006, 215: 285—294.
- [18] RUMELHARD M, RAMGOLAM K, AUGER F, et al. Effects of PM<sub>2.5</sub> components in the release of amphiregulin by human airway epithelial cells[J]. *Toxicol Lett*, 2007, 168:155—164.
- [19] RUMELHARD M, RAMGOLAM K, HAMEL R, et al. Expression and role of EGFR ligands induced in airway cells by PM<sub>2.5</sub> and its components[J]. *Eur Respir J*, 2007, 30:1064—1073.
- [20] KELLY F L, SUN J, FISCHER B M, et al. Diacetyl induces amphiregulin shedding in pulmonary epithelial cells and in experimental bronchiolitis obliterans[J]. *Am J Resp Cell Mol*, 2014, 51:568—574.
- [21] SHIM J Y, PARK S W, KIM D S, et al. The effect of interleukin-4 and amphiregulin on the proliferation of human airway smooth muscle cells and cytokine release[J]. *J KOREAN Med Sci*, 2008, 23:857—863.
- [22] DEACON K, KNOX A J. Human airway smooth muscle cells secrete amphiregulin via bradykinin/COX-2/PGE<sub>2</sub>, inducing COX-2, CXCL8, and VEGF expression in airway epithelial cells[J]. *Am J Physiol-Lung C*, 2015, 309:L237—L249.
- [23] OKUMURA S, SAGARA H, FUKUDA T, et al. FcεRI-mediated amphiregulin production by human mast cells increases mucin gene expression in epithelial cells[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 115: 272—279.
- [24] LEIGH R, OYELUSI W, WIEHLER S, et al. Human rhinovirus infection enhances airway epithelial cell production of growth factors involved in airway remodeling[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121: 1238—1245. e4.
- [25] MANZO N D, FOSTER W M, STRIPP B R. Amphiregulin-dependent mucous cell metaplasia in a model of nonallergic lung injury[J]. *Am J Resp Cell Mol*, 2012, 47:349—357.
- [26] HABIBOVIC A, HRISTOVA M, HEPPNER D E, et al. DUOX1 mediates persistent epithelial EGFR activation, mucous cell metaplasia, and airway remodeling during allergic asthma[J]. *JCI Insight*, 2016, 1: e88811.
- [27] CHOKKI M, EGUCHI H, HAMAMURA I, et al. Human airway trypsin-like protease induces amphiregulin release through a mechanism involving protease-activated receptor-2-mediated ERK activation and TNF alpha-converting enzyme activity in airway epithelial cells[J]. *FEBS J*, 2005, 272:6387—6399.
- [28] CHOKKI M, YAMAMURA S, EGUCHI H, et al. Human airway trypsin-like protease increases mucin gene expression in airway epithelial cells[J]. *Am J Resp Cell Mol*[J], 2004, 30:470—478.
- [29] CHOKKI M, MITSUHASHI H, KAMIMURA T. Metalloprotease-dependent amphiregulin release mediates tumor necrosis factor-α-induced IL-8 secretion in the human airway epithelial cell line NCI-H292[J]. *Life Sci*, 2006, 78:3051—3057.
- [30] KIM H Y, UMETSU D T, DEKRUYFF R H. Innate lymphoid cells in asthma: Will they take your breath away[J]? *Eur J Immunol*, 2016, 46: 795—806.
- [31] SHINAGAWA K, MARTIN J A, PLOPLIS V A, et al. Coagulation factor Xa modulates airway remodeling in a murine model of asthma[J]. *Am J Resp Crit Care*, 2007, 175:136—143.
- [32] HIROTA N, RISSE P A, NOVALI M, et al. Histamine may induce airway remodeling through release of epidermal growth factor receptor ligands from bronchial epithelial cells [J]. *FASEB J*, 2012, 26: 1704—1716.
- [33] BURGEL P R, NADEL J A. Epidermal growth factor receptor-mediated innate immune responses and their roles in airway diseases[J]. *Eur Respir J*, 2008, 32: 1068—1081.
- [34] POLOSA R, PUDDICOMBE S M, KRISHNA M T, et al. Expression of c-erbB receptors and ligands in the bronchial epithelium of asthmatic subjects[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, 109:75—81.
- [35] ENOMOTO Y, ORIHARA K, TAKAMASU T, et al. Tissue remodeling induced by hypersecreted epidermal growth factor and amphiregulin in the airway after an acute asthma attack[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 124:913—920.
- [36] ACCIANI T H, SUZUKI T, TRAPNELL B C, et al. Epidermal growth factor receptor signalling regulates granulocyte-macrophage colony-stimulating factor production by airway epithelial cells and established allergic airway disease[J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46:317—328.
- [37] KAJIWARA N, OBOKI K, OHNO T, et al. Amphiregulin is not essential for ovalbumin-induced acute airway inflammation in mice[J]. *Allergol Int*, 2010, 59:207—211.

(收稿日期:2017-11-10)