

网络出版时间: 2018-4-27 9:41 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180426.1411.034.html>

◇ 综 述 ◇

肠黏膜屏障损伤在溃疡性结肠炎的作用研究进展

倪杰明¹ 综述 刘维新² 审校

摘要 溃疡性结肠炎是一类炎症性肠病,以肠黏膜屏障的完整性受损为特征,与肠道内菌群失调、T细胞过度活化、Treg细胞的功能缺陷相关。肠黏膜免疫屏障则主要由肠相关淋巴组织(GALT)发挥功能,GALT是肠黏膜内诱导免疫耐受及免疫反应启动的场所;肠黏膜机械屏障、化学屏障、微生物屏障三者形成抵抗外来抗原的第一道防线;以上共同构成肠黏膜屏障的完整性。自噬是一项进化保守的生命活动,参与肠道稳态平衡和蛋白降解以及肠黏膜免疫屏障的调节,自噬的调节失控同样也是溃疡性结肠炎的致病因素之一。通过对肠黏膜屏障损伤在溃疡性结肠炎发生的作用机制的分析,为进一步改善临床治疗效果提供依据。

关键词 肠黏膜屏障;肠相关淋巴组织;肠黏膜免疫系统;溃疡性结肠炎;T细胞活化;Treg/Th1/Th17失衡;自噬

中图分类号 R 392.32; R 365; R 363

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)05-0815-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.05.034

肠黏膜机械屏障由黏液层和上皮层共同构成;黏膜上皮细胞所分泌的多种物质,如溶菌酶和防御素等构成了黏膜的化学屏障;肠黏膜所定植的共生菌群形成的微生物屏障共同构成了肠黏膜抵抗外来

抗原的第一道防线^[1]。肠相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)在肠黏膜内参与抗原识别、免疫发生及诱导免疫耐受,维持肠道稳态和肠道炎症性疾病的发生^[2]。溃疡性结肠炎是一类以糜烂、溃疡为特征的炎症性肠病,肠黏膜完整性受损、通透性增强,肠道内菌群失调、T细胞过度活化, Th1、Th17细胞失衡及炎症介质大量产生、Treg细胞的功能缺陷等均为致病因素^[3]。自噬是一项进化保守的生命活动,是细胞内自我降解的过程,与泛素-蛋白酶体途径共同构成人体蛋白降解系统,参与肠道稳态平衡,自噬也参与免疫系统的调节和完善,自噬的调节失控也同样与溃疡性结肠炎的发生相关^[4]。因此,治疗溃疡性结肠炎关键在于修复损伤的肠黏膜、下调过度活化的免疫系统。通过对肠黏膜屏障损伤的作用机制及其在溃疡性结肠炎发生角色的分析,为进一步改善临床治疗效果提供了依据。

1 肠黏膜屏障功能特点及 GALT 的构成

肠道上皮细胞以紧密连接的方式排列,包括杯状细胞、潘氏细胞等;杯状细胞分泌的黏液形成黏液层,黏膜的上皮层和黏液层共同构成了肠黏膜机械屏障。表皮层的炎症症状可能是溃疡性结肠炎下肠道黏膜部继发改变的预兆^[5]。磷脂酶 D2(PLD2)通过磷酸化 occludin 并引发 c-Src 依赖的蛋白酶体途径降解紧密连接,破坏黏膜完整性^[6]。实验^[7]表

2018-01-18 接收

基金项目:辽宁省科学技术计划项目(编号:2013225303)

作者单位:¹ 中国医科大学临床医学 2014 级七年制,沈阳 110122

² 中国医科大学附属第一医院消化内科,沈阳 110001

作者简介:倪杰明 本科在读;

刘维新 女,教授,博士,责任作者, E-mail: cmu1995@qq.com

com

valve and when occluder released, the aortic valve was compressed, leading to aortic regurgitation. 1 intracristal ventricular septal defect patient failed because RT-3D-TEE showed that there was no side of aortic side, the occluder was pulled into the right ventricle when setting the occluder and doing the traction test. VSD maximum diameter measured by RT-3D-TEE, RT-3D-TTE, 2D-TEE and 2D-TTE had good relation to VSDO model (diameter correlation coefficient r was 0.923, 0.894, 0.851, 0.782 respectively). The correlation coefficient of VSD area comparing RT-3D-TEE, RT-3D-TTE measurement to VSDO model were 0.967, 0.951 respectively. The study suggests that the correlation of area measurement is higher in comparison with the maximum diameter measurement, and RT-3D-TEE is better than others both in VSD area and VSD maximum diameter measurements.

Key words real-time 3D transesophageal echocardiography; ventricular septal defect; transcatheter closure

明,使用磷脂酰胆碱(phosphocholine)可恢复肠黏膜上皮细胞紧密连接,修复缺损以阻滞内容物渗出和病原微生物侵袭,达到治疗溃疡性结肠炎的目的。同时黏膜上皮细胞所分泌的多种免疫分子,如 Pan-eth 细胞分泌的防御素、溶菌酶、凝集素以及上皮细胞分泌的 SIgA 等构成了黏膜的化学屏障^[8]。肠黏膜所定植的共生菌群由于能同外来病原微生物竞争营养和空间,并产生抑制性物质如大肠菌素以及启动交叉反应以抑制具有共同抗原的病原微生物,而形成微生物屏障。物理、化学、微生物防线共同构成抵抗外来抗原的第一道防线。

GALT 在肠黏膜免疫屏障发挥了重要作用。GALT 由位于肠黏膜的孤立淋巴滤泡、Peyer's patch 和上皮间淋巴细胞等构成,是肠黏膜内抗原识别、诱导免疫耐受及免疫反应启动的场所,在维持肠道内稳态和炎症性肠道疾病的发生起重要作用。其中,微褶皱细胞(M 细胞)存在于派尔淋巴结的滤泡相关上皮(FAE),具有转吞作用并呈递抗原的上皮细胞,基底面毗邻树突状细胞、B 细胞等,抗原经囊泡转运至淋巴结,从而诱导黏膜免疫和耐受^[9]。与其它肠黏膜细胞相比,M 细胞组织学上无微绒毛,常与病原微生物等外来抗原接触,并吸附、定植于 M 细胞,从而感染上皮层以及固有层^[10]。病原微生物表面抗原(PAMP)被巨噬细胞、树突状细胞的 Toll 样受体(toll like receptor,TLR)和经细胞内的 Notch 样受体(NLR)所识别;进而磷酸化 I κ B 等促炎症因子,从而启动包含 NF- κ B 在内的炎症途径,转入核内启动炎症介质的基因表达,如 IL-1、IL-6 和 IFN 共同参与局部组织的炎症反应;同时,使用 β -glucan 可以阻断介导炎症的 MAPK 通道和 JNK、ERK 及 p38 的磷酸化^[11]。研究^[7]显示,使用 JNK 抑制剂和反义寡链 RNA 可限制炎症发生。另外,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase,MMP)可以降解基质蛋白和细胞外基质,参与炎症、肿瘤等发生,同样在溃疡性结肠炎中表达水平上调,其中 MMP-2、MMP-7 和 MMP-9 可作为溃疡性结肠炎的治疗靶点^[12]。

生理情况下在食物等外来抗原以及肠道共生菌的刺激,固有层呈现记忆 T 细胞以及一部分分化为 IgA⁺型的 B 细胞,并在肠黏膜处释放 SIgA,起到中和病原微生物毒素以及免疫防御作用^[13]。上皮间淋巴细胞(IEL)有 a、b 分型,多数呈 CD8⁺T 表达,一方面可识别 MHC-I,通过分泌穿孔素、颗粒酶或者表达 TNF 样分子如 FasL 来杀灭感染的上皮细胞;另一方面可通过表达 CD103 和 CD122 并与肠上

皮细胞的 E-cadherin 结合并引发 CTL 效应使肠黏膜受损^[14];同时炎症细胞 Th17 被诱导更多表达 CD4⁺ α E β 7⁺整合素分型,并分泌 IFN,导致肠上皮细胞 E-cadherin 水平下调,表征黏膜完整性受损^[15-16]。此外,细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule,ICAM-1)聚集于上皮细胞顶端和中性粒细胞边集游出相关,同时 ICAM-1 和巨噬细胞的多态性与炎症性肠病相关,使用 α 4 β 7/MAdCAM-1 阻断剂被认为是富有成效的炎症性肠病治疗方案^[17]。

2 溃疡性结肠炎及其发生机制

溃疡性结肠炎属于炎症性肠病,主要表现为瘢痕、溃疡、炎症等病理特征,发生机制与肠黏膜屏障内环境稳态失衡密切相关。肠道内菌群失调,这可能与遗传因素、食物、病原微生物感染、服用抗生素过多等有关,导致肠黏膜屏障功能失调和完整性受损。正常情况下由于树突状细胞、巨噬细胞、Treg 等免疫负调节作用,肠黏膜免疫系统呈现低水平状态;随着外来抗原刺激,炎性介质大量产生,Th1、Th2、Th17 等细胞分化,参与局部炎症反应,免疫低应答被打破。抗原的 TLR 识别,树突状细胞呈递诱导防御素生成并诱导黏膜细胞分化为杯状细胞和 TLR4 以及 TRAF-6 和下游 MyD66、MyD88 的表达,导致炎性因子 IL-1、TNF、NF- κ B 增多,黏膜液化、片段化,加之炎症反应使黏膜破坏更为严重、通透性显著增强;通过使用雷公藤多苷(Tripterygium wilfordii polycoride,TWP)或阿伐他汀(atorvastatin)可以阻断该途径并取得临床效果^[18-19]。Th1/Th17 细胞是免疫反应的重要组成部分,但由于 Th1/Th17 细胞过度活化、比例失衡,导致正常组织损伤和溃疡性结肠炎发生,有研究^[20]指出,CD14⁺ CD163^{low} 细胞和 CD14⁺ CD163^{high} 细胞是一类树突状细胞,生理状态下诱导 Th17 细胞活化信号,其功能在溃疡性结肠炎中失调。同时,CD103⁺ CD11b⁺ 和 CD103⁻ CD11b⁺ 树突状细胞在诱导 IL-17,促进 Th1、Th17 细胞增殖而导致病理状态的 T 细胞大规模攻击具有相同抗原的共生菌群和黏膜^[21]。研究^[7,22]表明,进行抗 TNF- α 和抗 α 4 β 7 整合素治疗有助于抑制白细胞游集,限制炎症,恢复正常黏膜。另外,Treg 细胞作为诱导免疫负调节的细胞在溃疡性结肠炎中存在功能失衡,CD4⁺ CD45RA⁻ FoxP3^{low} 细胞增多可以导致结肠固有层上 Treg 细胞和效应 T 细胞如 Th17 细胞比例失调^[23]。正常情况下,Treg 细胞归巢于肠黏

膜淋巴组织,分泌 IL-10,并与树突状细胞等,抑制 T 细胞活化。IL-10 与 MAPK/ p38 途径协同改善因 TNF- α 造成的黏膜损伤,并增进桥粒的韧性^[24]。在溃疡性结肠炎中,IL-10 和 CD5⁺ Breg 水平大为下降^[25]。其中,黏膜的恢复是溃疡性结肠炎预后和判断其是否复发的重要指标,粪便钙卫蛋白(fecal calprotectin)可作为该检查的指示物^[26]。

自噬是一项进化保守的生命活动,是细胞内自我降解的过程,与泛素-蛋白酶体途径共同构成人体蛋白降解系统,在体内一般以低水平存在,实现蛋白质精细而复杂的调节;自噬也参与免疫系统的调节和完善。自噬是一种应激反应,与固有性免疫、适应性免疫、抗病毒和肿瘤等相关,在维持肠黏膜屏障稳态方面发挥重要作用。一方面,有研究^[27]指出,炎症性肠病基因座位中包含相关自噬基因,对自噬蛋白 Atg7 实施基因敲除的实验显示炎症介质如凝集素等水平下降,说明自噬对维持黏膜完整性和对抗溃疡性结肠炎发挥重要作用;另一方面,免疫调节的重要因子 TNF- α 可以部分上调 claudin-2 的水平,使上皮处紧密连接受损,引发炎症性肠病,这可能是由于自噬降解被抑制所致^[28]。自噬的调节失控被认为是许多慢性炎症的致病因素,炎症性肠病如溃疡性结肠炎等多为潘氏细胞内多肽、巨噬细胞细胞因子分泌、内质网应激性反应的综合作用。Atg16、LRRK2 以及 IRGM 等有关自噬的基因被指出与炎症性肠病有关并诱导潘氏细胞功能失调^[29]。miRNA 在自噬调节中起关键性作用,自噬基因 Atg7、Beclin-1、LC3-II 在外周血和小肠检查都可以清晰地对炎症性肠病进行分级和控制^[30]。

3 展望

黏膜机械屏障、化学屏障、肠黏膜共生菌群共同构成了肠黏膜的防线;GALT 及肠黏膜免疫系统识别抗原、参与免疫反应及诱导耐受。自噬是一项进化保守的生命活动,参与肠道稳态平衡和蛋白降解以及免疫系统的调节和完善。溃疡性结肠炎是一类炎症性肠病,肠道内菌群失调、T 细胞过度活化、Treg 细胞的功能缺陷,以及自噬的调节失控是溃疡性结肠炎的致病因素。根据以上分析,治疗溃疡性结肠炎就目前来说关键在于恢复损伤的肠黏膜,可以通过采取以自噬或抑制炎症发生的关键途径和分子为有效针对性的靶点来达到修复损伤、下调过度活化的免疫系统的目的。通过对溃疡性结肠炎发生机制及其致病因素的分析,为更好的改进治疗方案

提供了依据,可以预见的是更多有关肠黏膜屏障在溃疡性结肠炎发生的作用机制研究会进一步应用于临床治疗。

参考文献

- [1] Sankaran-Walters S, Hart R, Dills C. Guardians of the gut: enteric defensins[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 647.
- [2] 薛永举,梅 俏,丁 浩,等. 溃疡性结肠炎患者外周血中 MMP-2、MMP-9 与肠黏膜通透性关系的临床研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2014, 49(4): 495-8.
- [3] Fujii H, Shinzaki S, Iijima H, et al. Core fucosylation on T cells, required for activation of T-cell receptor signaling and induction of colitis in mice, is increased in patients with inflammatory bowel disease[J]. *Gastroenterology* 2016, 150(7): 1620-32.
- [4] 周海新,方健松,张 涛,等. miR-21 介导肠上皮细胞凋亡维持肠道稳态参与溃疡性结肠炎相关癌变研究[J]. *安徽医科大学学报* 2017, 52(4): 523-7.
- [5] Richter L, Rappersberger K. Cutaneous involvement in chronic inflammatory bowel disease: Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. *Hautarzt* 2016, 67(12): 940-7.
- [6] Chelakkot C, Ghim J, Rajasekaran N, et al. Intestinal epithelial cell-specific deletion of PLD2 alleviates DSS-induced colitis by regulating occludin[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1573.
- [7] Bamias G, Pizarro T T, Cominelli F. Pathway-based approaches to the treatment of inflammatory bowel disease[J]. *Transl Res* 2016, 67(1): 104-15.
- [8] Chairatana P, Nolan E M. Defensins, lectins, mucins, and secretory immunoglobulin A: microbe-binding biomolecules that contribute to mucosal immunity in the human gut[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2017, 52(1): 45-56.
- [9] Ahmad T, Gogarty M, Walsh E G, et al. A comparison of three Peyer's patch "M-like" cell culture models: particle uptake, bacterial interaction, and epithelial histology[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2017, 119: 426-36.
- [10] Mikulic J, Boley G, Corthesy B. SigA-shigella immune complexes interact with dectin-1 and SIGNR3 to differentially regulate mouse peyer's patch and mesenteric lymph node dendritic cell's responsiveness[J]. *J Mol Biol* 2017, 429(15): 2387-400.
- [11] Bennett K M, Parnell E A, Sanscartier C, et al. Induction of colonic M cells during intestinal inflammation[J]. *Am J Pathol* 2016, 186(5): 1166-79.
- [12] Jakubowska K, Pryczynicz A, Januszewska J, et al. Expressions of matrix metalloproteinases 2, 7, and 9 in carcinogenesis of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Dis Markers*, 2016, 2016: 9895721.
- [13] Magri G, Comerma L, Pybus M, et al. Human secretory IgM emerges from plasma cells clonally related to gut memory B cells and targets highly diverse commensals[J]. *Immunity* 2017, 47(1): 118-34. e8.
- [14] Golec D P, Hoeppli R E, Henao Caviedes L M, et al. Thymic progenitors of TCR α beta⁺ CD8 α alpha intestinal intraepithelial lymphocytes require RasGRP1 for development[J]. *J Exp Med*, 2017, 214(8): 2421-35.
- [15] Zhang C, Liu L W, Sun W J, et al. Expressions of E-cadherin, p120ctn, β -catenin and NF- κ B in ulcerative colitis[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2015, 35(3): 368-73.

网络出版时间: 2018-4-27 9:41 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180426.1411.035.html>

PKM2 在肿瘤代谢及进展中的作用

李玉环¹ 综述 孙国平¹ 李俊² 审校

摘要 葡萄糖代谢方式的改变是肿瘤细胞的一大重要特征。在氧气充足的情况下正常哺乳动物细胞依靠线粒体有氧呼吸产生能量,而肿瘤细胞即使在氧气充足的条件下也主要利用糖酵解这种低效的产能方式维持细胞能量需求。糖酵解消耗葡萄糖产生乳酸,该代谢过程的中间产物可以转变为支撑肿瘤细胞生长所必需的物质如氨基酸、核苷酸、脂质等,因此糖酵解可以为肿瘤细胞生存提供重要的物质基础。丙酮酸激酶是糖酵解途径的关键酶,催化磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸。研究显示在哺乳动物体内共有 4 种丙酮酸激酶的同工酶,M2 型丙酮酸激酶(PKM2)在肿瘤细胞中表达增

多,大量的研究也证实了 PKM2 在肿瘤进展中扮演着极其重要的角色,近年来 PKM2 相关的研究也成为肿瘤研究的热点之一。本文对近二十年 PKM2 的相关研究进行了总结,从其结构、酶活性的调节、对肿瘤生长的影响、在肿瘤诊断治疗中的价值以及该领域可能的发展方向等多方面作一综述。

关键词 PKM2; 糖酵解; 肿瘤

中图分类号 R 730.23

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)05-0818-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.05.035

丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)是葡萄糖代谢的关键酶之一,其催化磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸,同时产生腺嘌呤核苷三磷酸。在哺乳动物细胞中,PK 由 PKLR 和 PKM 两种基因编码,共产生四种亚型,分别是 PKL、PKR、M1 型丙酮酸激酶(pyruvate kinase M1, PKM1)和 PKM2^[1]。PKL 和 PKR 来源于基因 PKLR, PKLR 基因在组织特异性启动子的作用下表达于不同的组织细胞内,其中 PKR 表达于红细胞, PKL 表达于肝脏; PKM1 和 PKM2 来自于同

2017-11-21 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81572430, 81473268)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科, 合肥 230022

² 安徽医科大学药学院, 合肥 230032

作者简介: 李玉环, 女, 硕士研究生;

孙国平, 男, 教授, 博士生导师, 主任医师, 责任作者, E-mail: sunguoping@ahmu.edu.cn;

李俊, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lj@ahmu.edu.cn

- [16] Lamb C A, Mansfield J C, Tew G W, et al. AlphaEbeta7 integrin identifies subsets of pro-inflammatory colonic CD4⁺ T lymphocytes in ulcerative colitis[J]. *J Crohns Colitis* 2017, 11(5): 610-20.
- [17] Zundler S, Becker E, Weidinger C, et al. Anti-adhesion therapies in inflammatory bowel disease-molecular and clinical aspects[J]. *Front Immunol* 2017, 8: 891.
- [18] Stange E F. Improvement of a 'Leaky' Intestinal Barrier[J]. *Dig Dis* 2017, 35(1-2): 21-4.
- [19] 钦丹萍, 孙佩娜, 周毅骏, 等. 雷公藤多苷对溃疡性结肠炎大鼠模型炎症及 TLR4/MyD88 信号通路的作用[J]. *中华医学杂志*, 2016, 96(18): 1444-9.
- [20] Kayama H, Takeda K. Regulation of the human gut homeostasis by anti-inflammatory CD14⁺ CD163^{high} CD160^{high} myeloid cells[J]. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2016, 39(5): 441-7.
- [21] Wenzel U A, Jonstrand C, Hansson G C, et al. CD103⁺ CD11b⁺ dendritic cells induce Th17 T cells in muc2-deficient mice with extensively Spread Colitis[J]. *PLoS One* 2015, 10(6): e0130750.
- [22] Cholapranee A, Hazlewood G S, Kaplan G G, et al. Systematic review with meta-analysis: comparative efficacy of biologics for induction and maintenance of mucosal healing in Crohn's disease and ulcerative colitis controlled trials[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2017, 45(10): 1291-302.
- [23] Ma Y H, Zhang J, Chen X, et al. Increased CD4⁺ CD45RA⁻ FoxP3^{low} cells alter the balance between Treg and Th17 cells in colitis mice[J]. *World J Gastroenterol* 2016, 22(42): 9356-67.
- [24] Loren V, Cabre E, Ojanguren I, et al. Interleukin-10 enhances the intestinal epithelial barrier in the presence of corticosteroids through p38 MAPK activity in Caco-2 monolayers: a possible mechanism for steroid responsiveness in ulcerative colitis[J]. *PLoS One* 2015, 10(6): e0130921.
- [25] Wang X, Zhu Y, Zhang M, et al. Ulcerative colitis is characterized by a decrease in regulatory B cells[J]. *J Crohns Colitis* 2016, 10(10): 1212-23.
- [26] Theede K, Holck S, Ibsen P, et al. Fecal calprotectin predicts relapse and histological mucosal healing in ulcerative colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis* 2016, 22(5): 1042-8.
- [27] Tsuboi K, Nishitani M, Takakura A, et al. Autophagy protects against colitis by the maintenance of normal gut microflora and secretion of Mucus[J]. *J Biol Chem* 2015, 290(33): 20511-26.
- [28] Zhang C, Yan J, Xiao Y, et al. Inhibition of autophagic degradation process contributes to claudin-2 expression increase and epithelial tight junction dysfunction in TNF-alpha treated cell monolayers[J]. *Int J Mol Sci* 2017, 18(1): 157.
- [29] Hooper K M, Barlow P G, Stevens C, et al. Inflammatory bowel disease drugs: a focus on autophagy[J]. *J Crohns Colitis* 2017, 11(1): 118-27.
- [30] Comincini S, Manai F, Meazza C, et al. Identification of autophagy-related genes and their regulatory miRNAs associated with celiac disease in children[J]. *Int J Mol Sci* 2017, 18(2): 391.