

Research Progress on the Role of Protease/Anti-protease in COPD

Miaoling Yang

Zhangzhou College of Science&Technology, Zhangzhou, Fujian, 363200, China

Abstract

Chronic obstructive pulmonary disease is a chronic disease characterized by incomplete reversible airflow limitation, it is believed that the pathogenesis is related to airway remodeling caused by protease/anti protease imbalance. Based on the molecular structure of protease and its effect on airway remodeling, this paper discusses the Neutrophil elastase, of serine class neutrophil elastase NE and matrix metalloproteinases (Matrix metalloproteinase, MMP), the corresponding protease inhibitors were $\alpha 1$ - antitrypsin ($\alpha 1$ -Antitrypsin,), respectively $\alpha 1$ -AT, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP), and their combined effects, such as NE/ $\alpha 1$ -AT, MMP/TIMP imbalance, on the remodeling of chronic obstructive pulmonary airway.

Keywords

chronic obstructive pulmonary disease; airway remodeling; NE; MMP; $\alpha 1$ -AT; TIMP

蛋白酶 / 抗蛋白酶在 COPD 中的作用研究进展

杨妙玲

漳州科技职业学院, 中国·福建漳州 363200

摘要

慢性阻塞性肺疾病是一种以不完全可逆的气流受限为特征的慢性病, 目前认为其发病机制与蛋白酶 / 抗蛋白酶失衡引起的气道重塑有关。论文主要从蛋白酶的分子结构及其对气道重塑的作用分别论述了丝氨酸属类的中性粒细胞弹性蛋白酶 (Neutrophil elastase, NE) 和基质金属蛋白酶 (Matrix metalloproteinase, MMP), 及与之对应的蛋白酶抑制剂分别为 $\alpha 1$ - 抗胰蛋白酶 ($\alpha 1$ -Antitrypsin, $\alpha 1$ -AT)、基质金属蛋白酶组织抑制剂 (Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP) 以及它们的联合作用如 NE/ $\alpha 1$ -AT、MMP/TIMP 的失衡对慢阻肺气道重塑的影响。

关键词

慢性阻塞性肺疾病; 气道重塑; NE; MMP; $\alpha 1$ -AT; TIMP

1 引言

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种以气流受限为特征的慢性疾病, 这种气流受限的特征呈现出不可逆, 并且呈持续性、进行性发展趋势, 可能跟吸入有害物质后引起气道、肺组织的异常炎症反应有关^[1]。到现在为止, COPD 的发病机制仍然尚未完全清晰, 被认可的与 COPD 有关的机制主要包括炎症反应、氧化 / 抗氧化、蛋白酶 / 抗蛋白酶等。蛋白酶 / 抗蛋白酶的假说于 60 余年前提出, 认为肺结构的破坏是由于维持肺组织形态及功能的蛋白类物质被蛋白酶所溶解所致, 蛋白酶抑制

剂的缺乏促进了这种破坏, 导致肺气肿的形成^[2,3]。

近年来, 科学家们对此进行了深入研究, 发现与 COPD 发生发展关系密切的蛋白酶主要是丝氨酸、金属及半胱氨酸三种蛋白酶类别, 本综述主要论述了丝氨酸属类的中性粒细胞弹性蛋白酶 (Neutrophil elastase, NE) 和基质金属蛋白酶 (Matrix metalloproteinase, MMP) 及与之对应的蛋白酶抑制剂分别为 $\alpha 1$ - 抗胰蛋白酶 ($\alpha 1$ -Antitrypsin, $\alpha 1$ -AT)、基质金属蛋白酶组织抑制剂 (Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP)。

2 NE

NE 是一种嗜中性粒细胞衍生的丝氨酸蛋白酶, 具有 267 个氨基酸的初级翻译产物和可变的糖基化, 分子质量在

【作者简介】杨妙玲 (1993-), 研究生学历, 助教, 现任职于漳州科技职业学院, 从事呼吸系统疾病的中西医诊治研究。

28至31kd之间,主要由中性粒细胞和巨噬细胞释放^[4],具有广泛的底物。NE具有极强的破坏力,是体内与组织破坏修改有关的重要蛋白酶之一,它能分解许多重要蛋白、细胞因子,对构成ECM的蛋白成分几乎能全部降解^[5]。NE不仅有溶解蛋白成分,破坏肺组织结构的作用,还能使局部炎症反应扩大。研究表明NE可通过蛋白水解修饰多种趋化因子和细胞因子,激活潜在形式的细胞因子和生长因子以及裂解特定细胞,对炎症反应起着重要的调节作用^[6]。

NE还是促进气道粘液分泌的机制之一,表皮生长因子受体(EGFR)的刺激是粘液分泌的主要原因^[7],研究表明NE可通过调节膜结合的转化生长因子 α (TGF- α)的裂解,促进粘液细胞增生和MUC5AC mRNA表达,释放一种可溶性形式,结合并激活EGFR,促进气道粘液的分泌^[6]。故NE不仅破坏了肺组织结构完整性,扩大炎症反应,加剧肺组织损伤,还参与促进气道粘液分泌,最终导致COPD患者的小气道狭窄,引起气道阻塞,使气流受限,并促进了肺气肿的形成。

Vignola等^[8]实验研究发现COPD患者肺通气功能及气道结构的改变与痰液中NE的活性与呈明显的相关性。李雪华等^[9]将患者痰液中的NE含量与FEV1%pre和FEV1/FVC进行比较,发现NE水平与肺通气功能指标有着密切关系,NE水平越高,患者肺通气功能越差,表明气流受限越严重。有研究显示有吸烟暴露的肺组织内,NE水平较高,中性粒细胞等炎症细胞在肺内聚集的现象更明显,说明NE可能促进了炎症细胞向肺内聚集^[10]。

3 α 1-AT

α 1-AT是一种52 kDa的急性期糖蛋白,由蛋白酶抑制剂(PI)基因座编码,位于14号染色体的长臂上(14q31-32.3)。它的结构由总共7个外显子,4个编码(II, III, IV和V)和3个非编码(IA, IB和IC)组成。主要在肝脏中产生,并通过循环中的扩散到达肺部,并在巨噬细胞和支气管上皮细胞中局部表达^[11]。 α 1-AT是一种内源性的丝氨酸蛋白酶抑制剂,具有抗蛋白酶和免疫调节活性,其主要结合底物是NE,通过与NE 1:1结合,从而抑制NE的活性,避免肺内蛋白成分免受NE的过度降解,维持肺组织结构的完整性。同时, α 1-AT缺乏症也是一种遗传性常染色体隐性遗传疾病,研究表明 α 1-AT表达基因的缺失跟早期肺气肿有关^[12]。这可能与

由于基因变异缺失导致血清中的 α 1-AT含量减少,不能抑制NE的活性,肺组织暴露于大量活化的NE,使组织结构破坏,促进肺气肿形成。研究表明 α 1-AT缺乏者经静脉AAT增强治疗后,血清中 α 1-AT水平升高,其FEV1的比值下降速度减慢^[13]。因此, α 1-AT作为COPD患者中 α 1-AT缺乏类型的治疗,可改善其进行性的气流受限,稳定病情,延长生存期。

4 MMPs

MMPs是一种需要 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 激活,具有类似结构的金属蛋白酶家族^[14]。其来源较广泛,主要来源于上皮细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、中性粒细胞等。ECM中所有的蛋白成分几乎能被MMPs降解,包括间质胶原蛋白、纤连蛋白、蛋白聚糖和弹性蛋白等等多种蛋白^[15]。构成肺组织结构的主要成分之一是ECM,ECM结构稳定与否决定了肺组织结构稳定性,也是维持正常肺组织功能的重要组成部分。因此,MMPs可通过溶解ECM结构中的蛋白成分,破坏其结构,参与COPD的气道重塑过程。到目前为止,至少已有24种MMPs被发现,根据结构特征和功能的差异可以将它们分为4大类,包括胶原酶(MMP-1, -8和-13)、明胶酶(MMP-2和-9)、溶血素(MMP-3, -10)和-11)和一个异质基因,其中包含了基质溶素(MMP-7)、金属弹性蛋白酶(MMP-12),即溶素(MMP-20)、内切酶(MMP-26)和表溶素(MMP-28),还有单独一类膜锚MMP(MMP-14, -15, -16, -17, -24和-25)等^[16]。

目前,研究发现明胶酶与肺部疾病有着密切关系^[17]。Simonetta Baraldo等^[18]研究表明COPD的进展与MMP-2有密切关系,MMP-2与肺功能呈负相关,MMP-2越高,肺功能越差,患者的肺气肿也越厉害。Calikoglu等^[20]研究结果显示COPD稳定期患者与正常健康对照组相比,MMP-9水平明显较高。有研究结果显示COPD患者MMP-9浓度水平越高,其气道破坏及重塑则越厉害^[21]。孔英君等^[9]通过研究COPD患者血清中MMP-9及TIMP-1的水平特征,发现了在COPD急性期MMP-9浓度显著升高,与FEV1%pre呈负相关。

5 TIMP

TIMP是一个低分子量蛋白质家族,是组织中MMP活性的主要内源性抑制剂,因此是ECM转换,组织重塑和细胞

行为的重要调节剂。巨噬细胞、内皮细胞等均可分泌 TIMP，它们之间具有相同的特异性结构，截至目前共发现有 TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3、TIMP-4 这四种同源 TIMP^[22]；它们在结构、活性和生物学功能方面具有最广泛的特征。TIMP 的结构中具有两个功能区，一个约有 125 个氨基酸残基的 N 端结构域和一个约 65 个残基的 C 端结构域，分别结合 MMPs 的活性部位和羧基端，以 1 : 1 形成复合物，对 MMPs 具有较强的抑制性。TIMP-1 活性是 TIMP 家族中与其他相比较强的抑制剂，可与 MMP-9 酶原特异性结合，共同维持 ECM 结构的平衡。TIMP 除具有对 MMPs 的抑制作用外，还具有促进细胞生长和分化，细胞迁移，抗血管生成，抗凋亡和促凋亡等作用^[23]。

6 蛋白酶 / 抗蛋白酶

6.1 NE/ α 1-AT

根据 NE 及 α 1-AT 的生物学特性可知，两者的比值变化对 COPD 组织结构的稳定有着重要作用，早期蛋白酶 / 抗蛋白酶假说大概也与此有关。研究表明接触香烟烟雾后，烟雾中氧化物可通过氧化修饰作用，降低 α 1-AT 的功能水平，诱使中性粒细胞向肺内炎症部位聚集，释放各种活性蛋白酶到肺组织中，促进早期肺气肿的发生^[24]。故 NE/ α 1-AT 的比例失调，与 COPD 肺气肿的形成有着密切的关系。

6.2 MMPs/TIMP

MMPs/TIMP 比率失衡使构成肺组织结构的胶原与弹性蛋白被溶解破坏，并引发异常修复，这种破坏与修复的异常活跃，最终导致气道重建^[25]。MMPs/TIMPs 具有维持 ECM 结构及功能稳定的作用，也是维持肺组织正常结构的重要机制。在正常的状态下，MMP-9/TIMP-1 比值保持相对稳定，当气道内炎症细胞被炎症因子激活后，炎症细胞大量释放 MMP-9，引起 MMP-9/TIMP-1 比值失衡，使构成肺组织结构的蛋白成分被过度降解，造成这些肺组织结构被破坏，肺弹性丧失。Li Y 等^[26] 研究发现 MMP-9 和 TIMP-1 水平之间的不平衡可能导致 ECM 异常降解或 ECM 蛋白在肺泡和小气道壁中积聚，这可能最终导致 COPD。邓星奇等^[27] 通过对相关文献的研究发现 MMP-9/TIMP-1 比例失衡，会引起 ECM 异常的降解修复，气道结构被损坏，组织重构，使肺功能受损。Uysal 等^[28] 研究发现 MMP-9 浓度和 MMP-9/TIMP-1 比值是 COPD 患者肺气肿的最佳预测指标。

7 结语

综上所述可知，NE/ α 1-AT 及 MMPs/TIMP 均在 COPD 的气道重塑中扮演了重要角色；肺内 NE 及 MMPs 的释放增加， α 1-AT 及 MMPs 的减少或增加，均会导致 NE/ α 1-AT 及 MMPs/TIMP 的比值失衡，使肺组织结构过度的溶解破坏及修复，最终导致气道重塑，形成肺气肿。故维持蛋白酶 / 抗蛋白酶系统平衡，是保护肺组织避免被过度破坏修复的重要机制；这也是研究学者目前及今后在防治 COPD 研究中的重点内容之一。

参考文献

- [1] 陈平. 慢性阻塞性肺疾病气道炎症和气道重塑的中医药干预研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(13): 1474-1476.
- [2] Laurell C-B, Eriksson S. The electrophoretic alpha-1-globulin pattern of serum in alpha-1-antitrypsin deficiency [J]. Scand J Clin Lab Invest, 1963(15): 132-140.
- [3] Gross P, Pfitzer EA, Tolker E, et al. Experimental emphysema. Its production with papain in normal and silicotic rats [J]. Arch Environ Health, 1965(11): 50-58.
- [4] Lacy P. Mechanisms of degranulation in neutrophils [J]. Allergy Asthma Clin Immunol, 2006(03): 98-108.
- [5] Champagne B, Tremblay P, Cantin A, et al. Proteolytic cleavage of ICAM-1 by human neutrophil elastase [J]. Immunol, 1998(16): 6398-6504.
- [6] Pham CT. Neutrophil serine proteases fine-tune the inflammatory response [J]. Biochem Cell Biol, 2008(06): 1317-1333.
- [7] Nadel JA. Innate immune mucin production via epithelial cell surface signaling: relationship to allergic disease [J]. Current opinion in allergy and clinical immunology, 2007(07): 57-62.
- [8] Vignola AM, Paganin F. Airway Remodeling Assessed by Sputum and HRCT in Asthma and COPD [J]. Eur Respir, 2004(24): 910-917.
- [9] 李雪华, 张洪玉, 庞宝森. 慢性阻塞性肺病患者痰中性粒细胞弹性蛋白酶和基质金属蛋白酶-9 的表达及其与气流受限的关系 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30(07): 553-554.
- [10] Steven D, Shapiro, Nir M, et al. Neutrophil elastase contributes to cigarette smoke-induced emphysema in mice [J]. Am J Pathol, 2003(163): 2329-2335.
- [11] Dafforn TR, Mahadeva R, Elliott PR, et al. A kinetic mechanism

- for the polymerization of alpha-1 antitrypsin[J]. *Biol Chem*, 1999(274):9548-9555.
- [12] Mahadeva R, Atkinson C, Li Z, et al. Polymers of Z alpha1-antitrypsin co-localize with neutrophils in emphysematous alveoli and are chemotactic in vivo[J]. *Am J Pathol*, 2005(02):377-386.
- [13] Sclar, D.A., Evans, M.A., Robison, L.M. et al. α 1-Proteinase Inhibitor (Human) in the Treatment of Hereditary Emphysema Secondary to α 1-Antitrypsin Deficiency[J]. *Clin Drug Investig*, 2012(32):353-360.
- [14] Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteinases[J]. *Amino Acids*, 2011(02):271-290.
- [15] Owen CA. Roles for proteinases in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Int[J]. Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2008(02):253-268.
- [16] S.Löffek, O.Schilling, C-W. et, al. Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance[J]. *Eur-ocean Respiratory Journal* Jul, 2011, 38(01)191-208.
- [17] Chakrabarti S, Patel KD. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology[J]. *Exp Lung Res*, 2005(31):599-621.
- [18] Baraldo S, Bazzan E, Zanin M E, et al. Matrix Metalloproteinase - 2 Protein in Lung Periphery is related to COPD Progression[J]. *Chest*, 2007, 132(06):1733-1740.
- [19] 孔英君, 孙文学, 霍建民, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者血清基质金属蛋白酶及其抑制因子与细胞黏附因子和血管内皮黏附因子的关系研究 [J]. *中国实用内科杂志*, 2007(16):1294-1296.
- [20] Calikoglu M, Unln A, Tamer L, et al. MMP-9 and TIMP-1 levels in the sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease and asthma[J]. *Tuberk Toraks*, 2006, 54(02):114-121.
- [21] Cornwell, W., et al., Pathogenesis of Inflammation and Repair in Advanced COPD[J]. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2010(03):257-266.
- [22] Lambert E, Dasse E, Haye B, et al. TIMPs as multifacial pro-teins[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2004(03):187-198.
- [23] Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010(01):55-71.
- [24] Janciauskiene Sabina, Welte Tobias. Well-Known and Less Well-Known Functions of Alpha-1 Antitrypsin. Its Role in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Other Disease Developments.[J]. *Annals of the American Thoracic Society*, 2016(04):13-14.
- [25] Grzela K, Litwiniuk M, Zagorska W, et al. Airway Remodeling in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Asthma: the Role of Matrix Metalloproteinase-9[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016(01):47-55.
- [26] Li Y., Lu Y., Zhao Z., et al. Relationships of MMP-9 and TIMP-1 proteins with chronic obstructive pulmonary disease risk: A systematic review and meta-analysis[J]. *Res Med Sci*, 2016(21):12.
- [27] 邓星奇, 陈吉泉, 修清玉. 基质金属蛋白酶9及其组织抑制剂在慢性阻塞性肺疾病中的作用 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 12(08):725-728.
- [28] Uysal P, Uzun H. Relationship Between Circulating Serpina3g, Matrix Metalloproteinase-9, and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 and -2 with Chronic Obstructive Pulmonary Disease Severity[J]. *Biomolecules*, 2019(02):62.