

- 2007;10:969-971.
- 27 王新月, 杨莉莉, 王雪茜, 等. 溃结饮不同给药途径对溃疡性结肠炎大鼠前炎性细胞因子表达的影响. 中国中西医结合消化杂志 2006;14:351-354.
- 28 Katz Y, Nativ O, Rapoport MJ, et al. IL-17 regulates gene expression and protein synthesis of the complement system, C3 and factor B, in skin fibroblasts. Clin Exp Immunol 2000;120:22-29.
- 29 Nielsen OH, Kirman I, Rüdiger N, et al. Upregulation of interleukin-12 and -17 in active inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol 2003;38:180-185.
- 30 Fujino S, Andoh A, Bamba S, et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. Gut 2003;52:65-70.
- 31 张丁丁, 游自立, 杨明清, 等. 溃疡性结肠炎患者血清 IL-18 的变化及意义. 现代中西医结合杂志 2002;11:586-588.
- 32 丁晓刚. 黄芩汤有效成分对方大鼠实验性溃疡性结肠炎的免疫调节作用. 中医药学刊 2003;21:126-127.
- 33 郭晓东, 关庆. 加味四逆散对溃疡性结肠炎肝郁大鼠模型血清 IL-4 IL-10 的影响研究. 中医药学刊 2004;22:659-660.
- 34 Melgar S, Yeung MM, Bas A, et al. Over-expression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis. Clin Exp Immunol 2003;134:127-137.
- 35 Lindsay JO, Ciesielski CJ, Scheinin T, et al. Local delivery of adenoviral vectors encoding murine interleukin 10 induces colonic interleukin 10 production and is therapeutic for murine colitis. Gut 2003;52:363-366.
- 36 周宇, 叶文桃, 麦海妍, 等. 白介素 13 和一氧化氮在溃疡性结肠炎的作用及意义. 胃肠病学和肝病杂志 2004;13:319-321.
- 37 董文毅, 胡刚正, 郑长青. 补脾清肠活血汤对溃疡性结肠炎患者淋巴细胞功能的影响. 世界华人消化杂志 2006;14:1124-1127.
- 38 Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. J Clin Invest 2004;113:1490-1497.
- 39 Vainer B, Nielsen OH, Hendel J, et al. Colonic expression and synthesis of interleukin 13 and interleukin 15 in inflammatory bowel disease. Cytokine 2000;12:1531-1533.

(收稿日期:2008-03-17)

(本文编辑:肖冰)

·综述·

黏膜防御素与克罗恩病

张迎春 综述 智发朝 审校

对克罗恩病(CD)虽经数十年研究,但至今仍未明确其病因。以往报道该病北欧人发病较高,近年来随着国内临床医生对该病认识的提高以及小肠镜的应用,在我国 CD 检出率有逐渐升高趋势^[1]。阐明 CD 的发病机理,寻求理想的治疗方案始终是对该病研究的重点。既往的研究多集中在潜在的特异性黏膜免疫功能失调以及相关的黏膜细胞群和细胞因子,目前发现该病与肠道黏膜屏障功能缺陷和黏膜特异性免疫功能失调有关,但其确切的发病机制尚不清楚。近年有研究者报道,肠道上皮细胞可合成分泌一组抗微生物多肽-防御素(defensin),组成肠道重要的先天防御系统,其强大的抗菌作用可以有效阻止肠道炎症的发生^[2]。

一、防御素的一般特征

近年来从许多生物体内都相继发现了一系列内源性抗微生物肽,其对革兰阳性和阴性菌、真菌、螺旋体、分枝杆菌及某些包膜病毒等均有强大的杀伤活性,故将其命名为防御素。该物质是自然界每种生物为适应生存的外部环境所形成一套有效的防卫机制,也是天然免疫的重要介质。哺乳动物

(包括人)的防御素是一类阳离子多肽,包括 α -防御素(HNP1-4 和 HD5-6)和 β -防御素(hBD-1、hBD-2、hBD-3 和 hBD-4)两个家族,基因均定位于 8 号染色体上,分子量为 3~5 kD,相距不超过 100~150 kb,它们具有共同的起源^[3]。两种防御素的主要结构特点为分子内含有 3 个由半胱氨酸残基形成的二硫键。 α -防御素由 29~36 个氨基酸组成,富含精氨酸,含有 6 个半胱氨酸残基组成的 3 个二硫键。形成 3 股反向平行的 β 片层结构。HNP1-4 主要分布在中性粒细胞中,称为髓源性防御素。HD5-6 主要由肠道内 Paneth 细胞所合成分泌,称为肠源性防御素^[4]。 α -防御素首先合成无活性的 93~95 个氨基酸残基组成的前体,然后经蛋白水解成为多肽,储存于中性粒细胞的嗜胺蓝颗粒,可对抗多种细菌和真菌。 β -防御素则广泛存在于皮肤、肠道及肺脏的上皮细胞内,是机体重要的内源性生物防御屏障,由 36~42 个氨基酸残基组成,分子内 3 个二硫键组成特征性的 β 片层结构,其表达分为结构型和诱导型,hBD-1 在组织中表达呈结构型,可持续性表达,hBD-2 和 hBD-3 主要出现在病灶区域,在皮肤、肠道及肺等上皮组织受到 TNF- α 、LI-1 β 刺激或直接与细菌荚膜等接触时呈诱导型表达^[5]。 β -防御素不但参于机体的先天性免疫,而且还可刺激未成熟的树突状细胞和记忆性

作者单位:510515 广州南方医科大学南方医院消化疾病研究所

T细胞参与获得性免疫反应。

二、防御素的生物学作用

防御素是机体抵抗病原微生物的第一道防线,可以快速、非特异地杀灭入侵病原体。目前各型防御素的活化机制还不十分清楚,研究较为明确的是 hBD-2、HD-5 和 HD-6 的活化机制。hBD-2 合成可能是细菌成分如脂多糖(LPS)和脂蛋白直接或间接与细胞表面的 Toll 样受体(TLR),尤其是与 TLR2 和 TLR4 结合,通过钙和三磷酸肌醇的第二信号作用诱导 IL-1 的产生,并诱发核转录因子 κ B(NF- κ B)的产生,随后合成 hBD-2。 β 2 防御素具有广谱的抗菌活性,在毫摩尔浓度下对革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌、螺旋体、分枝杆菌及有包膜病毒等均具有杀灭作用,尤其对革兰阴性菌有高效杀菌作用,在约 $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 浓度下就可以达到 90% 的杀菌效果^[9]。 β 2 防御素的直接杀菌机制是由于该分子带正电荷,能够与带负电荷的细菌表面结合,结合后其分子中的疏水区可插入到细菌的胞膜,而其带电区(带正电荷)则与细胞膜上带负电荷的磷脂头部以及水分子相互作用。多个 β 2 防御素分子在细胞膜上聚集形成孔隙或通道,使得正常情况下处于胞外的离子、多肽等流入胞内,而胞内重要的盐类、大分子等则泄漏到胞外,造成物质泄漏,最终导致不可逆性的菌体死亡。 β 2 防御素有免疫激活作用,研究表明树突状细胞(DC)和 T 淋巴细胞是参与机体获得性免疫反应的重要细胞, β 2 防御素能够与这些细胞表面特异性的趋化因子受体 CCR6 相结合,吸引上述细胞向致病微生物侵袭的局部皮肤或黏膜迁移集中,从而提高机体抵抗微生物感染的适应性免疫反应水平^[7,8]。由此可见, β -防御素在机体抗微生物入侵的固有免疫和适应性免疫中具有重要作用。此外,防御素还具有单核细胞趋化活性及上皮细胞生长因子样作用,可能参与损伤的修复过程。一些防御素还可以封闭促肾上腺皮质激素的受体,并且在急性感染时能够阻断具有免疫抑制作用的肾上腺类固醇激素的产生。 α -防御素基因的表达为固有表达,即随髓系白细胞的发育分化而表达其分子,其基因经转录激活、翻译产生防御素前体分子后被转运到初级溶酶体,并以成熟分子形式储存于其中。当中性粒细胞吞噬了微生物后,防御素从初级溶酶体中释放入吞噬溶酶体行使杀菌作用,或释放到胞外与微生物密切接触的微环境中而发挥抗菌作用。小肠 Paneth 细胞表达 α -防御素,存储于胞浆颗粒中,当应激反应时大量防御素从胞浆颗粒中释放入肠腔参与肠腔的天然免疫作用^[9]。

三、防御素功能缺陷与克罗恩病

人的肠腔黏膜是人体与外界接触的最大组织,消化道黏膜不断与病毒、细菌等微生物接触,是外来异物侵入人体的主要入口,肠黏膜为了抵御有害物质的入侵形成了一套独自免疫系统,该免疫系统对食源性抗原、肠内常驻菌群可产生免疫耐受,人体处于一种平衡稳定的免疫系统的保护下,如果该平衡被打破则可致病。近年来,肠道黏膜抗微生物多肽的研究引起了人们的关注,研究人员认为肠黏膜防御素在维持黏膜攻防平衡中发挥重要作用,防御素缺乏或诱导缺陷可以导致细菌入侵,启动炎症过程,降低黏膜耐受能力,导致疾病发生^[9]。使用免疫组化方法检测 IBD 患者肠黏膜中的 α -防

御素时,活动性炎症性肠病患者黏膜上皮表面均有 1~3 型 α -防御素蛋白表达,在小肠 Paneth 细胞内存在 5、6 型 α -防御素蛋白表达,正常对照组无表达^[10];应用 RT-PCR 方法研究 CD 患者和正常对照者 hBD-1 的表达发现,CD 患者炎症黏膜 hBD-1 的表达较正常对照组明显减少;用 RT-PCR 方法对 CD、溃疡性结肠炎(UC)、感染性肠炎患者以及正常对照者结肠组织中 hBD-2 的表达进行研究发现,CD 患者结肠炎症黏膜 hBD-2 低表达,与感染性结肠炎和 UC 患者结肠非炎症黏膜表达量相似,明显低于炎症黏膜的表达,免疫组化研究的结果也证实了 CD 患者 hBD-2 蛋白表达明显低于 UC 和其它炎症肠病。对结肠黏膜 hBD-3 的表达进行研究发现,CD 患者结肠炎症黏膜仅轻微表达,非炎症黏膜则无表达,而 UC 患者炎症和非炎症黏膜表达均明显增强^[11]。以上研究提示,IBD 两种疾病中 hBD-1 降低,CD 患者中 hBD-2、hBD-3 的缺乏可能是导致肠黏膜抗菌功能缺陷,发生肠道慢性炎症的原因。研究已表明,细胞内 *NOD2/CARD15* 基因是诱导 NF- κ B 产生的关键步骤,CD 患者 hBD-2 的缺乏可能是由于 *NOD2* 基因插入性突变,不能在细胞内产生 NF- κ B,导致 hBD-2 的合成减少,造成机体清除细菌的能力下降,从而反复发生肠道慢性炎症^[12]。机体防御素水平将影响机体抵抗微生物入侵的能力与感染者的预后,试验表明,适度的 hBD-2、3 基因表达上调可能有助于预防和治疗由微生物引起的全身炎症反应的发生发展。

四、结论

迄今为止,关于肠源性防御素的生物学活性、结构与功能的关系及表达调节的研究已取得了许多进展。初步的研究结果表明,整个胃肠道的上皮组织均有防御素的表达,但其作用仍不十分明了,肠道防御素表达减少或活性降低可导致肠道对多种条件致病菌的抵抗力下降,从而发生肠道感染。但基因缺陷、发育不良、慢性炎症及全身性疾病时,防御素的表达或活性是否有所变化及其对机体天然免疫的影响和可能的病理生理效应尚有待于进一步研究。开展关于肠源性防御素与肠道天然免疫机制关系的研究,可能有助于进一步阐明消化道疾病及内源性感染的发生机制,并为其防治提供新的措施。

众所周知,传统抗生素对机体均有程度不同的毒副作用,且致病菌几乎可对现有的所有抗生素产生耐药。与之相比,包括防御素在内的各种内源性抗菌肽,大多具广谱抗菌生物活性,可以杀灭包括细菌、真菌、螺旋体、甚至病毒等在内的病原微生物,有的尚可选择性杀伤肿瘤细胞,而对同种属细胞无毒性作用,故有关抗菌肽特别是高等动物包括人类抗菌肽的研究,已成为目前医学领域抗致病微生物感染研究的热点。防御素作为一种先天的抗微生物多肽,抗菌谱广、作用快、特异性小、耐受株少,副作用小,是一种新型的、理想的抗生素。所以利用基因工程大量生产防御素,可能为感染性疾病的预防和治疗提供一个新的方向。

参考文献

- 1 Zhi FC, Xiao B, Jiang B, et al. Double-balloon enteroscopy in de-

- tecting small intestinal bleeding. *Chin Med J (Engl)* 2005;118:1834-1837.
- 2 Bevins CL, Martin-Porter E, Ganz T. Defensins and innate host defence of the gastrointestinal tract. *Gut* 1999;45:911-915.
 - 3 Ganz T, Lehrer RI. Defensins. *Pharmacol Ther* 1995;66:191-205.
 - 4 Cunliffe RN, Mahida YR. Antimicrobial peptides in innate intestinal host defence. *Gut* 2000;47:16-17.
 - 5 Inohara N, Nunez G. The NOD: a signaling module that regulates apoptosis and host defense against pathogens. *Oncogene* 2001;20:6473-6481.
 - 6 Garcia JR, Krause A, Schulz S, et al. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *FASEB J* 2001;15:1819-1821.
 - 7 Harder J, Bartels J, Christophers E, et al. A peptide antibiotic from human skin. *Nature* 1997;387:861.
 - 8 O'Neil DA, Porter EM, Elewaut D, et al. Expression and regulation of the human beta-defensins hBD-1 and hBD-2 in intestinal epithelium. *J Immunol* 1999;163:6718-6724.
 - 9 Ganz T. Immunology. Versatile defensins. *Science* 2002;298:977-979.
 - 10 Duits LA, Ravensbergen B, Rademaker M, et al. Expression of beta-defensin 1 and 2 mRNA by human monocytes, macrophages and dendritic cells. *Immunology* 2002;106:517-525.
 - 11 Harder J, Bartels J, Christophers E, et al. Isolation and characterization of human beta-defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem* 2001;276:5707-5713.
 - 12 Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. A frameshift mutation in *NOD2* associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001;411:537,539.

(收稿日期:2006-09-19)

(本文编辑:陈 烨)

·综述·

肝星状细胞收缩机制的研究进展

张小兰¹ 综述 肖 冰¹ 李 旭² 审校

肝纤维化是指各种致病因素所致的肝脏内纤维结缔组织增生,其特点是大量细胞外基质在窦周间隙沉积。而肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)是肝纤维化细胞外基质的主要细胞,在肝纤维化的发生发展中起关键作用,肝星状细胞活化已成为肝纤维化基础研究的热点。随着对肝星状细胞活化、增殖及收缩研究的逐渐深入,针对抑制 HSC 活化、收缩的治疗有望成为抗肝纤维化,防止门静脉高压的一种重要手段。现近几年来相关文献进行回顾和分析,并对肝星状细胞收缩的影响因素作一综述如下:

一、HSC 的功能

HSC 位于肝窦周的 Disse 间隙内,其紧贴肝窦内皮细胞而构成肝血窦的支架,其立体分布和伸展足以覆盖整个肝窦微循环。在正常状态下,HSC 主要储存和代谢 VitA 和在肝内起支架作用,其伸出的伪足包绕在肝窦的入口处,可控制肝窦的直径和血流,起类似入口括约肌的作用,并且合成与分泌少量的细胞外基质(ECM)。

当肝脏受到慢性损伤时,HSC 在一系列的细胞和细胞因子参与作用下活化。活化后的 HSC 表型转化为移行细胞或肌纤维母细胞样表型,并且获得收缩性,发生强烈收缩,致使肝窦直径缩小,阻力增大,一方面通过挤压肝窦增加肝内血

管阻力,另一方面引起肝组织瘢痕挛缩,进一步增加肝内血管阻力,造成门静脉高压。且 HSC 活化后功能也发生改变,进入增殖期,大量合成分泌纤维组织成分,细胞外基质增多导致肝纤维化和肝内结构的重建,是肝纤维化形成的关键细胞。因此,门静脉高压的发生,除了与肝窦毛细血管化有关外,与肝星状细胞的收缩亦密切相关^[1]。

二、HSC 收缩的机制

由于 HSC 活化后转化为肌成纤维细胞样细胞,具有平滑肌细胞的特征,提示 HSC 收缩和平滑肌细胞收缩的分子机制是类似的^[2,3]。在平滑肌细胞收缩过程中,Ca²⁺信号通路的调节起主要作用,Rho 信号通路在平滑肌细胞的收缩中起着次要作用。当刺激因子与其受体结合后,刺激细胞膜上的磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸脂裂解,从而改变细胞膜的空间结构,使磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸脂更易与磷脂酰肌醇酶接近,该酶继而将磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸脂水解成第二信使脂酰甘油(DG)和肌醇-1,4,5-磷酸酯(IP₃),它们又激活细胞膜上蛋白激酶 C(PKC)等,经过一系列传导反应,导致细胞内[Ca²⁺]_i升高,形成 IP₃-Ca²⁺通路。这样,刺激因子通过受体活化一方面引起细胞外 Ca²⁺内流或通过上述 PLC 通路传递信号使肌浆网 Ca²⁺释放从而使细胞内[Ca²⁺]_i升高,Ca²⁺与钙调蛋白(CaM)结合激活肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK),使肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)磷酸化。另一方面,可通过蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)

作者单位:1 510515 南方医科大学南方医院消化内科;
2 510515 南方医科大学南方医院急诊科