

# 肺泡表面活性物质特点及功能研究进展

王 璞 姚晓光 李南方 努尔古丽

**摘 要** 肺泡表面活性物质是由Ⅱ型肺泡细胞产生,表面活性物质的缺乏或减少会影响肺泡表面活性池导致呼吸障碍。另一方面,表面活性物质缺乏或功能障碍可能是与物质合成有关的基因突变或由于影响表面活性物质的非遗传因素造成的结果。本文就肺泡表面活性物质的特点及功能进展进行综述。

**关键词** 肺泡表面活性物质 生物特点 蛋白

**中图分类号** R35

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.11.041

## 一、肺泡表面活性物质的组成

在生物化学上,肺泡表面活性物质由大约 90% 的脂质和 10% 的蛋白质组成。主要的磷脂是完全饱和的二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC),还包含不饱和的磷脂酰胆碱(PC)、阴离子磷脂酰甘油(PG)和磷脂酰肌醇(PI)。天然肺表面活性剂还具有 4 种表面活性剂蛋白 SP-A、SP-B、SP-C 和 SP-D。大分子亲水性蛋白质 SP-A 和 SP-D 是宿主防御蛋白质的钙依赖性碳水化合物结合聚集蛋白家族的成员<sup>[1]</sup>。又同属于 C 型凝集素家族成员,称为胶原样凝集素家族。两种疏水蛋白 SP-B 和 SP-C 在 DPPC 的吸附和扩散中起关键作用,并有助于维持肺的稳定性。SP-A 和 SP-D 一级结构从 N 端到 C 端依次为富含半胱氨酸的 N 末端交联结构域、重复表达 Gly-X-Y 的胶原结构域、 $\alpha$  螺旋状的颈结构域及碳水化合物识别结构域。SPD 的胶原样结构域比 SP-A 的胶原样结构域大得多,并且直接连接到 CRD 结构域额外区域。它们编码在人类第 10 号染色体上。SP-A(SFTPA1 和 SFTPA2)有两个基因,SP-D(SFTPD)有 1 个基因。SP-B 和 SP-C 分别在人染色体 2 和 8 上编码,并作为大的前体蛋白 proSP-B 和 proSP-C,随后在空气被蛋白水解加工成 SP-B 和 SP-C 的成熟形式。SP-B 和 SP-C 对于调节表面活性物质膜的形成和稳定性至关重要,而 SP-A 和 SP-D 则与先天

免疫和炎症反应密切相关。SP-D 也可能参与维持表面活性物质代谢和肺内稳态<sup>[2]</sup>。SP-A、SP-B 和 SP-D 都已经在胃肠道中检测到。相反,SP-C 似乎是一种独特的极端蛋白质结构和稳定性,并且完全存在于肺中。

## 二、正常肺泡中表面活性物质的生产和再循环

在正常肺泡中,肺表面活性物质在Ⅱ型肺泡上皮细胞的内质网中合成,然后被运输并储存在细胞质内的层状体。这些层状体迁移与质膜融合,然后释放到肺泡内的空气-液体界面,一旦从Ⅱ型肺泡细胞中分泌出来,层状体内的磷脂细胞外池就会转变成排列在肺泡表面的薄膜<sup>[3]</sup>。层状体随后形成称为管状髓磷脂的表面活性剂中间管状阶段,磷脂吸附并在空气和液体之间的界面形成晶格结构,其最终产生功能性涂层,表面活性剂蛋白也参与涂覆过程。表面活性剂的循环通过小囊泡的内吞作用发生,重新结合在层状体中,然后再重新分泌。表面活性剂代谢的改变可以在以上任何步骤中发生。肺泡表面活性剂水平受到Ⅱ型肺细胞分泌(产生和释放)和Ⅱ型细胞与巨噬细胞清除(重新摄取、切断或降解)两者之间的严格平衡调控<sup>[4]</sup>。

## 三、肺泡表面活性物质的功能特点

1. SP-A 与 SP-D: SP-A 和 SP-D 是凝集素蛋白并赋予先天免疫,因为它们具有碳水化合物识别结构域,允许它们覆盖细菌和病毒,促进巨噬细胞的吞噬作用,这有助于维持肺部的发育<sup>[5]</sup>。SP-A 是 SP 中含量最丰富的一种,有助于形成水性表面活性剂聚集体,包括管状髓磷脂,从而调节表面活性剂的回收和分泌<sup>[6]</sup>。一些体外研究已经确定了 SP-A 在肺部中的重要功能,例如管状髓鞘的形成,脂质表面吸附速率的提高,防止表面活性剂的生物物理特性的

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金联合基金资助项目(2017D01C129)

作者单位:830001 乌鲁木齐,新疆维吾尔自治区人民医院高血压中心、新疆高血压研究所、国家卫生健康委员会高血压诊疗研究重点实验室

通讯作者:李南方,教授,博士生导师,电子信箱:lnanfang2016@sina.com

失活,血浆和表面活性剂的各种免疫功能的调节<sup>[7]</sup>。SP-A 增强了肺泡巨噬细胞对细菌和病毒的吞噬作用,其中内吞摄取主要通过网格蛋白包被的凹坑途径,并且需要肌动蛋白的参与来帮助 SP-A 转移<sup>[8]</sup>。

SP-D 的一个主要作用是聚集和增强微生物和濒死宿主细胞的吞噬作用。SP-D 与微生物表面上的寡糖或脂质结构结合,从而通过调理作用和吞噬作用促进微生物消除。此外,SP-D 通过增强凋亡细胞和 DNA 的清除以及诱导 T 细胞增殖来发挥抗炎活性<sup>[9]</sup>。SP-D 主要由肺 II 型肺泡细胞和 Clara 细胞表达和分泌,但也有报道在其他黏膜表面,如呼吸道、消化道、生殖道、泌尿和血管上皮及腺体的外表面或腔表面<sup>[10]</sup>。体外研究的大量数据表明 SP-D 调节免疫细胞、上皮细胞、纤维细胞和光滑肌细胞的功能。在没有炎症的情况下,SP-A 和 D 可通过与 SIRP $\alpha$  结合抑制肺泡巨噬细胞的吞噬功能,从而改变其下游信号效应物的活性<sup>[11]</sup>。此外,髓过氧化物酶(MPO)作为 SP-D 的配体在晚期凋亡嗜中性粒细胞上被结合<sup>[12]</sup>。

2. SP-B 与 SP-C:在 4 种 SP 中,两种疏水蛋白 SP-B 和 SP-C 在 DPPC 的吸附和扩散中起关键作用,并有助于维持肺的稳定性。SP-B 所属的鞘脂激活蛋白样蛋白家族(SAPLIP)是一组高度同源的膜相互作用蛋白,具有显著的  $\alpha$ -螺旋构象与脂质相互作用。激活可调节表面活性物质分泌的受体和通道,从而在肺泡空域建立高度传导的膜网络<sup>[13]</sup>。进一步稳定管状髓磷脂。其中,在  $\text{Ca}^{2+}$  的存在下,SP-B 可提高吸附率来加速在空气-水界面形成由磷脂组成的表面活性膜,使得磷脂和 SP-B 的混合物显示与全肺表面活性剂几乎相同的生物物理性质<sup>[5]</sup>。SP-C 的主要功能是保持脂质的生物物理表面活性。层状体(LB)与 AT II 细胞通过吸气期间肺泡的机械拉伸分别促使胞质钙浓度和胞外 ATP 浓度升高,随后 SP-B 通过 AT II 细胞释放的 ATP 来介导 P2Y2 嘌呤能受体,从而促使  $\text{Ca}^{2+}$  依赖性表面活性剂分泌。而 SP-A 通过激活 AT II 细胞中的  $\text{PI}_3\text{K}$  来抑制表面活性剂特异性受体 SPAR 的分泌。上述表明肺表面活性剂通过 SP-B 诱导和 SP-A 抑制活性的协同作用调节其自身分泌。另外,编码内质网膜复合物亚基的基因-EMC3 缺失会破坏 SP-B 和 SP-C 以及磷脂转运蛋白(ABCA3)的合成和包装、层状体的形成,并导致错误折叠膜蛋白的积累和未折叠蛋白反应(UPR)的诱导。其中 SFTPB 缺乏抑制磷脂包装到

LB 中并导致 proSP-C 的错误加工。SFTPB 和 SFT-PC 突变产生错误折叠的蛋白质并诱导 UPR,引起 AT II 细胞损伤<sup>[14]</sup>。因此,稳定 SP-B、SP-C 和 ABCA3 蛋白的正常加工和运输需要 EMC3,这是表面活性剂功能所必需的物质。

SP-B 的转录部分由两部分重要的转录因子决定,甲状腺转录因子-1(TTF-1)和肝核因子-3(HNF-3),SP-A 增加了 II 型细胞中的 SP-B 基因转录。研究发现 SP-A 增加了核 TTF-1 的酪氨酸磷酸化与丝氨酸磷酸化,TTF-1 磷酸化被发现是重要的转录激活因子,TTF-1 和 SP-B 启动子活性的增加以及同源识别元件的结合,表明这些转录因子的蛋白激酶活性可能被 SP-A 处理激活<sup>[6]</sup>。转录因子和类固醇可以调节表面活性物质的合成。并且 SP-A 诱导的 HNF-3b 磷酸化与细胞凋亡有关,笔者发现 SP-A 对磷酸化的 TTF-1、HNF-3a 和 HNF-3b 的定位具有明显的影响。

3. 脂质:表面活性剂脂质主要抑制免疫功能。在正常条件下大量存在的磷脂成分已被证明可抑制各种淋巴细胞和巨噬细胞的免疫功能,但表面活性剂多不饱和磷脂很容易受到氧化改变<sup>[15]</sup>。肺表面活性物质中棕榈酰-油酰磷脂酰甘油(POPG)和磷脂酰肌醇(PI),拮抗 TLR2 和 4 的同源配体激活,因此在促炎信号转导途径的起始步骤起到了关键作用。ABCA3 可以将多种磷脂物质向内转运到 AT2 细胞的 LB 中,并且还可能与胆固醇摄入其他区域相关<sup>[16]</sup>。

#### 四、肺泡表面活性物质与疾病

1. SP-A、SP-D 与疾病联系:SP-A 和 SP-D 与包括呼吸窘迫综合征、支气管肺发育不良、过敏性哮喘和慢性阻塞性肺病在内的呼吸系统疾病有关。SP-A 缺乏会增加细菌和病毒对肺部感染的易感性。有研究发现 SP-A 和 Toll 样受体(TLR)4 之间的相互作用区域称为 SPA4 肽,在宿主防御中起关键作用。有研究证明 SPA4 肽的治疗性给药减少了细菌负荷,炎性细胞因子和趋化因子(MCP-1、MIP-2 和 KC),细胞内信号转导(MYD88 和 TRIF),并减轻了铜绿假单胞菌感染小鼠的肺水肿和组织损伤<sup>[17]</sup>。同样的,SP-D 缺乏可导致自发性肺气肿改变和肺泡纤维化的发展,尤其在控制肺部炎症方面具有至关重要的作用。过敏性哮喘患者肺泡灌洗液中 SP-D 水平升高,而在重度哮喘患者中血清 SP-D 增加并且富含 SP-D 分解产物。基础研究已经证明了介于 SP-D 和 T 辅助细胞(Th2)介导的炎症之间的关系<sup>[18]</sup>。

在 COPD 中恶化期间相比于稳定期循环 SP-D 水平升高<sup>[19]</sup>。同时,SP-D 已被证明在各种非肺部器官中发挥抗菌和抗炎作用,并且对血管壁中的脂质代谢和促炎作用具有影响,这种现象增加了动脉粥样硬化的风险<sup>[10]</sup>。此外,SP-D 也被认为能够结合多种吸入性病原体,并且可以结合糖类以及脂质和核酸,具有广泛的特异性,以启动吞噬作用。有研究发现,肺损伤是晚期糖尿病并发症的新靶点,而血清 SP-D 浓度可以作为检测 2 型糖尿病合并肺损伤的有用标志物<sup>[20]</sup>。

2. SP-B、SP-C 与疾病联系:关于 SP-B 缺陷的研究揭示了严重的肺部疾病,其中,高度多态的 SFTPB 的内含子 4 区域的重组变异与肺癌、ARDS、COPD 的风险以及新生儿 RDS 风险的增加和降低都有关联<sup>[21]</sup>。而在 SP-C 蛋白中,SFTPC 突变被认为会导致 II 型肺泡细胞中细胞质量控制通路(内质网和高尔基体)内积累错误折叠的 proSP-C 从而激活细胞应激反应和随后的细胞损伤和细胞凋亡,这主要是因为内质网应激是多种器官纤维化发病机制中公认的途径<sup>[22]</sup>。因此,SFTPC 突变患者的肺组织病理学属于间质性肺炎范畴,各种诊断主要基于成人间质性肺病的分类。最近的一项研究报道了 OSA 的严重程度与血清表面活性蛋白 B 呈负相关,其中缺氧和通气不足影响血清 SP-B 水平,这种现象可能的原因是夜间频繁肺换气不足继发呼吸泵肌肉(隔膜)活动减弱从而抑制了 II 型肺泡细胞分泌<sup>[23]</sup>。在 COPD 患者中,编码 SP-B 的基因多态性以及修饰的蛋白 SP-B 与 COPD 的易感性以及 COPD 急性加重的频率相关<sup>[19]</sup>。与表面张力密切相关的物质可能对于肺泡功能作用的发挥更加重要,结合上述研究可见,SP 物质在多种疾病中都具有不同的改变,因此,在往后的肺部及其他相关肺损伤疾病研究中,应该进一步考虑肺泡表面活性物质与疾病程度及改善之间的相关联系。

3. ABCA3 与疾病联系:ABCA3 突变是婴幼儿急性和慢性肺病最常见的单基因原因,新生儿肺部疾病也可能由于编码 ABCA3 基因的突变而发生,从而影响表面活性物质脂质向层状体的转运<sup>[24]</sup>。ABCA3 位于层状体的限制性膜中,介导磷脂(主要是 PC 和 PG)向细胞器中的转运,ABCA3 缺失后,肺泡 PC 和 PG 降低。ABCA3 相关的肺功能障碍与表面活性物质缺乏,炎症和肺泡毛细血管渗漏有关。广泛并完全缺失的 ABCA3 引起肺泡损伤和炎症,在再生过程中,

M2 样巨噬细胞被募集到 II 型肺泡细胞增殖部位,并存在于由 ABCA3 突变引起的严重肺部疾病患者的肺组织中<sup>[25]</sup>。常见的 ABCA3 包括: I 型突变,导致蛋白质错误折叠和转运蛋白的异常细胞内运输; II 型突变位于转运蛋白的催化结构域内或附近,通常被转运到 LB 或溶酶体,并因此导致 ATP 水解的功能缺陷使得脂质转移受损; III 型突变是复合杂合子(具有 I 型和 II 型突变)并且经常表现出更严重的表型<sup>[16]</sup>; ABCA3 中的常染色体突变导致婴儿和儿童严重的肺部疾病,并且它们是新生儿呼吸衰竭最常见的遗传原因。因此,在一些确切疾病病因中未来纳入靶向治疗或者基因敲除也许是一种更有效的治疗办法。

## 五、展 望

综上所述,表面活性物质的病理生理学作用首先在患有呼吸窘迫综合征和透明膜病的早产儿中得到了体现,现在这种情况通常用外源性表面活性物质替代物来进行治疗。从动物实验到临床研究,肺泡表面活性物质在肺损伤后的恢复发挥着至关重要的作用。随着对表面活性物质的深入研究,多种肺部疾病的相关发病机制也有了新的进展,但是在临床研究中对于慢性肺部损伤、肺泡表面活性物质的应用途径与临床价值方面尚存在一些争议。随着进一步探索,在往后肺部慢性损伤及其他相关肺损伤疾病的治疗探索研究中,肺部表面活性物质替代疗法也许会是一种有效的针对性治疗方法。同时,针对遗传和环境因素导致的许多疾病(包括 ABCA3 相关疾病)表型变异的现象。笔者应进一步探讨这是以何种特异性方式引起细胞/肺损伤以及这些物质对于维持细胞稳态的相关机制,从而增强理解疾病病因学和发展治疗策略。

## 参考文献

- 1 Han S, Mallampalli RK. The role of surfactant in lung disease and host defense against pulmonary infections [J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2015, 12(5):765-774
- 2 Kieffmann M, Tank S, Tritt MO, et al. Dead space ventilation promotes alveolar hypocapnia reducing surfactant secretion by altering mitochondrial function[J]. *Thorax*, 2019, 74(3):219-288
- 3 Aihara K, Oga T, Harada Y, et al. Comparison of biomarkers of sub-clinical lung injury in obstructive sleep apnea[J]. *Respir Med*, 2011, 105(6):939-945
- 4 Liang S, Li N, Heizhati M, et al. What do changes in concentrations of serum surfactant proteins A and D in OSA mean? [J]. *Sleep Breath*, 2015, 19(3):955-62
- 5 Sardesai S, Biniwale M, Wertheimer F, et al. Evolution of surfactant therapy for respiratory distress syndrome: past, present, and future [J]. *Pediatr Res*, 2017, 81(1-2):240-248

- 6 Strayer DS, Korutla L. Activation of surfactant protein – B transcription: signaling through the SP – A receptor utilizing the PI3 kinase pathway[J]. J Cell Physiol, 2000, 184(2):229 – 238
- 7 Dodd CE, Pyle CJ, Glowinski R, *et al.* CD36 – Mediated uptake of surfactant lipids by human macrophages promotes intracellular growth of mycobacterium tuberculosis [J]. J Immunol, 2016, 197(12):4727 – 4735
- 8 Bae CW, Chung SH, Choi YS. Development of a synthetic surfactant using a surfactant protein – C peptide analog: in vitro studies of surface physical Properties[J]. Yonsei Med J, 2016, 57(1):203 – 208
- 9 Munk HL, Fakh D, Christiansen L, *et al.* Surfactant protein – D, a potential mediator of inflammation in axial spondyloarthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2018, 57(10):1861 – 1865
- 10 Sorensen GL. Surfactant protein D in respiratory and non – respiratory diseases[J]. Front Med, 2018, 5:18
- 11 Guo CJ, Atochina – Vasserman EN, Abramova E, *et al.* S – nitrosylation of surfactant protein – D controls inflammatory function [J]. PLoS Biol, 2008, 6(11):2414 – 2423
- 12 Djiadeu P, Farmakovski N, Azzouz D, *et al.* Surfactant protein D regulates caspase – 8 – mediated cascade of the intrinsic pathway of apoptosis while promoting bleb formation [J]. Mol Immunol, 2017, 92:190 – 198
- 13 Martínez – Calle M, Olmeda B, Dietl P, *et al.* Pulmonary surfactant protein SP – B promotes exocytosis of lamellar bodies in alveolar type II cells [J]. FASEB J, 2018, 32(8):4600 – 4611
- 14 Tang X, Snowball JM, Xu Y, *et al.* EMC3 coordinates surfactant protein and lipid homeostasis required for respiration [J]. J Clin Invest, 2017, 127(12):4314 – 4325
- 15 Mikolka P, Kopincová J, Košťátová P, *et al.* Lung inflammatory and oxidative alterations after exogenous surfactant therapy fortified with budesonide in rabbit model of meconium aspiration syndrome [J]. Physiol Res, 2016, 65(5):S653 – S662
- 16 Beers MF, Mulugeta S. The biology of the ABCA3 lipid transporter in lung health and disease [J]. Cell Tissue Res, 2017, 367(3):481 – 493
- 17 Awasthi S, Singh B, Ramani V, *et al.* TLR4 – interacting SPA4 peptide improves host defense and alleviates tissue injury in a mouse model of Pseudomonas aeruginosa lung infection[J]. PLoS One, 2019, 14(1):e0210979
- 18 Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma[J]. Nat Immunol, 2015, 16(1):45 – 56
- 19 Atul Gupta, Zheng SL. Genetic disorders of surfactant protein dysfunction: when to consider and how to investigate [J]. Arch Dis Child, 2017, 102(1):84 – 90
- 20 López – Cano C, Lecube A, García – Ramírez M, *et al.* Serum surfactant protein D as a biomarker for measuring lung involvement in obese patients with type 2 diabetes [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2017, 102(11):4109 – 4116
- 21 Choi YS, Chung SH, Bae CW. A combination of short and simple surfactant protein B and C analogues as a new synthetic surfactant: in vitro and animal experiments [J]. Yonsei Med J, 2017, 58(4):823 – 828
- 22 Blackwell TS. Lung injury and fibrosis induced by a mutant form of surfactant protein C [J]. J Clin Invest, 2018, 128(9):3745 – 3746
- 23 Dongmei Lu, Nanfang Li, *et al.* Potential inflammatory markers in obstructive sleep apnea – hypopnea syndrome[J]. Bosn J Basic Med Sci, 2017, 17(1):47 – 53
- 24 Schindlbeck U, Wittmann T, Höppner S, *et al.* ABCA3 missense mutations causing surfactant dysfunction disorders have distinct cellular phenotypes[J]. Hum Mutat, 2018, 39(6):1 – 10
- 25 Rindler TN, Stockman CA, Filuta AL, *et al.* Alveolar injury and regeneration following deletion of ABCA3 [J]. JCI Insight, 2017, 2(24):1 – 14  
(收稿日期:2019 – 02 – 20)  
(修回日期:2019 – 03 – 12)

(上接第 179 页)

- 19 Chow CW, Herrera AM, Suzuki T, *et al.* Oxidative stress and acute lung injury[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2003, 29(4):427 – 431
- 20 White LE, Santora RJ, Cui Y, *et al.* TNFR1 – dependent pulmonary apoptosis during ischemic acute kidney injury[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2012, 303(5):L449 – L459
- 21 Hassoun HT, Lie ML, Grigoryev DN, *et al.* Kidney ischemia – reperfusion injury induces caspase – dependent pulmonary apoptosis[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 297(1):F125 – F137
- 22 Malek M, Hassanshahi J, Fartootzadeh R, *et al.* Nephrogenic acute respiratory distress syndrome: a narrative review on pathophysiology and treatment[J]. Chin J Traumatol, 2018, 21(1):4 – 10
- 23 Brower RG, Matthay MA, Morris A, *et al.* Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome[J]. N Engl J Med, 2000, 342(18):1301 – 1308
- 24 Brower RG, Lanken PN, MacIntyre N, *et al.* Higher versus lower positive end – expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome[J]. N Engl J Med, 2004, 351(4):327 – 336
- 25 Ismaiel NM, Henzler D. Effects of hypercapnia and hypercapnic acidosis on attenuation of ventilator – associated lung injury[J]. Minerva Anesthesiol, 2011, 77(7):723 – 733
- 26 Wiedemann HP, Wheeler AP, Bernard GR, *et al.* Comparison of two fluid – management strategies in acute lung injury[J]. N Engl J Med, 2006, 354(24):2564 – 2575
- 27 Ishii T, Doi K, Okamoto K, *et al.* Neutrophil elastase contributes to acute lung injury induced by bilateral nephrectomy[J]. Am J Pathol, 2010, 177(4):1665 – 1673
- 28 Koekkoek WA, van Zanten AR. Antioxidant vitamins and trace elements in critical illness[J]. Nutr Clin Pract, 2016, 31(4):457 – 474  
(收稿日期:2019 – 02 – 27)  
(修回日期:2019 – 03 – 28)