

Elafin 与输卵管疾病的研究概述

房高鸽 刘 丽

摘 要 Elafin 是一种弹性蛋白酶特异性抑制剂,广泛存在于人体多种组织,具有抗蛋白酶、抗炎、抗菌、抗病毒、免疫调节等多种作用。既往的文献主要研究了 Elafin 在参与皮肤、肺部、肠道炎症反应以及对肿瘤、癌症等疾病的影响,近年来研究发现 Elafin 在输卵管黏膜表达,与输卵管疾病有关。本文就 Elafin 在输卵管疾病中的作用加以综述。

关键词 Elafin 输卵管炎症 输卵管妊娠

中图分类号 R711.76

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.07.041

Elafin 是乳清酸性蛋白(whey acidic protein, WAP)家族的一个突出的蛋白,是一种人内源性抗菌肽,也被称为弹性蛋白酶特异性抑制剂^[1]。1990 年 Wiedow 等^[2]从人角质层中发现 Elafin。2011 年 Ghosh 等^[3]研究发现,Elafin 广泛存在于女性上下生殖道,检测子宫、输卵管、宫颈和宫颈外的上皮细胞均能够产生 Elafin。在 30 余年的研究中,Elafin 因其能够在炎症过程中抑制中性粒细胞释放的弹性蛋白酶等对机体的过度损伤,在感染时调节免疫发挥保护作用等特征被众多研究者关注。目前研究最广泛的是 Elafin 在人类皮肤、肺部、肠道以及女性生殖道黏膜中的表达。由于 Elafin 已被确定在人类输卵管黏膜表达,具有免疫防御作用,参与输卵管炎性反应,与输卵管妊娠有关,且在临床上补充 Elafin 用于修复炎性损伤已具有可能性。现对 Elafin 与输卵管疾病的相关研究进行综述。

一、Elafin 的基本结构与生物学功能

Elafin 由上皮细胞和免疫细胞产生。基因位于 20q12-13 区,由 PI₃ 基因编码^[4]。PI₃ 基因最开始编码 Elafin 的前体蛋白原,前体蛋白原降解加工得到 pre-elafin/trappin-2,pre-elafin 蛋白水解产生 Elafin。Elafin 有 N 端和 C 端两个结构域。N 端为谷氨酰胺转氨酶底物结构域,能够使 Elafin 通过谷氨酰胺转氨酶固定到细胞外基质(ECM)蛋白上,从而使 ECM 和上皮细胞免受弹性蛋白酶的破坏溶解^[5]。此

结构域对 Elafin 作为免疫调节化合物也具有重要性,可延长细胞外蛋白在局部水平上的活性周期,还能间接抑制磷脂酶 A₂,减少花生四烯酸级联反应,从而产生局部抗炎作用^[6]。C 端为蛋白酶抑制结构域,主要负责对中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)和蛋白酶-3(PR3)的特异性抑制。Elafin 通过一种紧密结合的可逆机制抑制这些蛋白酶。实验发现过量的 NE 会裂解 Elafin 的结构域,导致 Elafin 活性失调,从而减弱其抗蛋白酶和抗炎功能,所以完整的 Elafin 在保护组织免受弹性蛋白酶介导的炎症损伤方面是最有效的^[7]。研究发现,金属蛋白酶抑制剂(EDTA、GM6001 和磷酸酰胺)可以阻止 NE 对 Elafin 的裂解^[8]。

Elafin 目前被发现具有多种功能:抗蛋白酶、抗炎、抗菌、抗病毒、调节免疫、抑制细胞增殖和凋亡、促进组织重塑和细胞分化等^[9,10]。有报道称 Elafin 抑制了 85% 氧气暴露导致的肺弹性蛋白的降解、中性粒细胞内流、TGF- β 1 激活和细胞凋亡^[11]。有实验采用 Western blot 法检测经 Elafin 处理的高氧暴露新生小鼠中参与炎症过程的关键标志物和潜在的信号通路,发现 Elafin 能减少高氧诱导的细胞凋亡,抑制炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α ,改善 NF- κ B 核积累,说明 Elafin 具有抗蛋白酶、抗炎作用^[12]。在女性生殖道中 Elafin 作为黏膜防御的关键分子,被发现对白色念珠菌、沙眼衣原体等病原体有抑制作用,并确定作为一种新型内源性抗 HIV-1 因子^[13]。在其他系统中也发现 Elafin 对革兰阳性和革兰阴性菌具有抗菌活性^[14,15]。在 Elafin 与肿瘤、癌症的研究中,发现 Elafin 能对抗 NE 的有丝分裂作用抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,维持细胞正常的生长控制,还能促进组织重塑和细胞分化^[16,17]。Elafin 最主要的功能是拮抗中性粒细胞来源的弹性蛋白酶

基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(面上项目)(H2015026)

作者单位:150040 哈尔滨,黑龙江中医药大学(房高鸽);150040 哈尔滨,黑龙江中医药大学附属第一医院妇科二科(刘丽)

通信作者:刘丽,博士生导师,教授,电子信箱:Liuliyouxiang2008@163.com

保护机体减轻炎症损害。

二、Elafin 在生理输卵管中的作用

先天免疫系统是抵御病原体的重要组成部分。女性生殖器官感染可发展为输卵管炎,最终导致输卵管因素不孕或异位妊娠。Elafin 是先天免疫系统的一种效应因子,广泛存在于女性上下生殖道,被认为对上下生殖道具有保护作用,还能抵御下生殖道病原体对输卵管的上行感染^[18]。Stock 等^[4]测定了单胎妊娠 20 周以下无并发症患者的宫颈阴道分泌物的 Elafin 水平,发现其中患有细菌性阴道病患者的 Elafin 水平下降。宫颈细胞系体外模型中发现 IL-1 β 刺激了宫颈黏膜细胞中 Elafin 的表达。说明 Elafin 可能是生殖道先天免疫的一个重要组成部分,对生殖道具有保护作用。Draper 等^[19]研究发现,患有性传播疾病和细菌性阴道病的女性阴道 Elafin 水平显著低于未受感染的女性。认为 Elafin 能够抵御性传播病原体感染,与输卵管炎症的发病有着重要的相关性。King 等^[20]检测了 OE-E6/E7 输卵管上皮细胞系沙眼衣原体感染的体外培养模型中 Elafin 对感染沙眼衣原体的调节作用,结果显示,最高剂量的沙眼衣原体在 24h 内增加了 Elafin mRNA 的表达。认为 Elafin 在被感染的输卵管中发挥了先天免疫防御作用。Mukura 等^[21]检测了沙眼衣原体感染的人子宫上皮细胞系(ECC-1 细胞)的抗菌肽及其 mRNA 的表达情况,发现沙眼衣原体感染 ECC-1 细胞时,ECC-1 细胞分泌 IL-8 增加,上皮屏障的完整性受损,而抗菌肽 MCP-1、HBD2 和 trappin-2/Elafin 的分泌随着沙眼衣原体的刺激而减少。说明抗菌肽 MCP-1、HBD2 和 trappin-2/Elafin 能够参与沙眼衣原体刺激的炎症反应来对抗其感染。更多研究发现 Elafin 对革兰阳性和革兰阴性菌和病原体具有抗菌活性,因此可能有助于防止上行感染。Elafin mRNA 的表达增加为抗感染参与免疫应答,Elafin 的降低认为是保护组织被消耗的结果,且 Elafin 水平降低机体更易遭受感染^[3,22,23]。总之,Elafin 参与先天免疫抵御病原体感染对维持女性生殖道免疫平衡具有重要作用。

三、Elafin 与输卵管炎症

输卵管炎常常造成输卵管内膜被破坏,引起输卵管积水、粘连、堵塞、瘢痕形成,Elafin 能够抑制中性粒细胞产生的弹性蛋白酶控制炎症反应,防止过度炎症反应损伤机体,在输卵管炎症的病理生理学中具有重要作用。中性粒细胞活化时释放 NE 和 PR3,它们

负责清除病原体,但 NE 被过度激活或反应时间过长则会损伤组织,使平滑肌细胞增生造成 ECM 的异常沉积,导致动脉狭窄和血流受限,这与输卵管慢性炎症及纤维化发病机制有关^[24]。且有报道发现弹性蛋白酶的释放能诱导促炎性细胞因子的产生,如 IL-6 和 IL-8,激活 MMP-2、MMP-3 和 MMP-9,并降解金属蛋白酶(MMPs)的组织抑制剂(TIMP-1 和 TIMP-2)^[25]。MMPs 的刺激常造成输卵管炎症,MMP-9 能刺激输卵管积水的形成与加重。Elafin 抑制 NE 和 PR3,因此,Elafin 可能降低 MMPs 活性,笔者猜想 Elafin 在一定程度上可以抑制输卵管炎症的发展。在输卵管积水患者中,Elafin mRNA 的表达通过 IL-1 β 和 TNF- α 诱导增加,Elafin 能够通过拮抗蛋白酶致炎作用而发挥其抗炎效能,因此,Elafin 可能被用来治疗输卵管炎症。Guedes 等^[26]研究发现,与正常组比较,输卵管积水组的子宫内膜上皮中性粒细胞浓度更高,Elafin 表达降低。Guedes 等^[26]研究认为,输卵管积水女性的抗菌和抗蛋白酶能力降低,证实 Elafin 参与了抗蛋白酶水解机制。Neto 等^[27]检测了正常输卵管及输卵管积水的输卵管黏膜 Elafin 定位和 Elafin mRNA 的表达。发现两组输卵管均表达 Elafin。与正常组比较,输卵管积水组的 Elafin mRNA 水平降低,但差异无统计学意义。另有研究认为,组织相关蛋白中 Elafin 的低表达可能与产量减少和(或)分泌和降解增加有关^[21,27]。如在其他疾病急性感染期间,Elafin 的表达增高,在慢性期间,Elafin 的表达降低,认为表达和分解代谢的调控是复杂的,可能是组织特异性的结果。另有体外实验通过使用微阵列、定量 RT-PCR 和 ELISA 方法,发现了在粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、TNF 和 IL-4 存在下,培养 48h 后的长寿(LL)中性粒细胞差异表达了与凋亡、MHC II 类、免疫应答和炎症相关的基因^[28]。其中,Elafin mRNA 的表达量最高,认为 Elafin 具有抗炎作用。故 Elafin 可用于输卵管炎症的研究,利用 Elafin 是对 NE 活性制约的重要平衡,在炎症过程中,补充 Elafin 帮助解决炎症反应。

四、Elafin 与输卵管妊娠

输卵管妊娠是异位妊娠的最常见类型,主要由输卵管炎症所致。King 等^[20]研究了输卵管妊娠中 Elafin 的表达,发现与正常组比较,输卵管妊娠组的输卵管中 Elafin 表达增加,对来自输卵管妊娠组的输卵管活检,发现 Elafin 定位于黏膜层内血管中的白细胞。表明 Elafin 在输卵管妊娠的先天免疫防御中发挥了

作用,认为它的作用可能包括调节蛋白酶活性、帮助伤口愈合和组织重塑,这些作用将限制感染或异常植入从而避免组织损伤,King 等^[20]还推测生殖道内弹性蛋白酶抑制剂的异常表达可能易导致感染或异位妊娠。有研究认为,输卵管妊娠是一种存在子宫腔内的中性粒细胞流入输卵管的情况。由于 Elafin 也通常在中性粒细胞中表达,所以目前关于输卵管妊娠的输卵管中 Elafin 表达的数据并不能准确判断输卵管妊娠中 Elafin 的表达。因此,Grudzinski 等^[29]使用激光捕获来分离输卵管的上皮黏膜,认为可能会克服由中性粒细胞流入引起的“污染”问题,研究了输卵管妊娠的输卵管上皮 Elafin 的表达。发现与正常输卵管比较,输卵管妊娠的输卵管上皮细胞中 Elafin 的表达降低。这与 King 等^[20]的结果相反,Grudzinski 等^[29]猜测 Elafin 的表达增加可能是对滋养层组织侵入输卵管的一种生理反应,Elafin 表达的减少可能表明先天免疫系统的异常预先存在,并易发生异位植入。另有病例对照研究,采用 IHC 技术和 qRT-PCR 方法检测了病例组因输卵管妊娠而接受输卵管切除术的患者与对照组包括接受有手术切除输卵管指征的患者输卵管 Elafin 表达情况^[30]。结果发现,与对照组比较,病例组患者妊娠植入部位上皮组织和结缔组织中的 Elafin 表达显著增加,输卵管黏膜中 Elafin mRNA 水平也明显升高。Zakizadeh 等^[30]研究认为,在输卵管妊娠期间 Elafin 表达增加可能是一种增强先天免疫反应的机制,并与感染、异位植入等相关病理条件有关。Elafin 在输卵管妊娠中的表达的作用还需要更多的研究证实。

五、展 望

本文将 Elafin 对输卵管的生理及病理状态的作用及其与相关疾病关系进行研究总结。Elafin 已知可用来限制有害炎症,同时能驱动保护性先天免疫和相关炎症的发展,因此有研究认为它可能用于设计针对细胞内病原体的疫苗方案,作为免疫方案中的内源性佐剂^[6]。Elafin 还是天然的黏膜防御的抗菌辅助剂,其抗菌功能作用在细胞膜上,细胞膜的改变能显著影响菌体生存,因此会罕见出现耐药性,可用于感染的治疗,并可能适合直接给药患者,从而避免体外手术的费用。但 Elafin 通常在炎症分泌物中通过宿主或微生物产物的作用灭活,gdT 细胞克隆已被证明可以产生 Elafin,因此在临床上补充 Elafin 用于修复炎症损伤已具有可能性。Elafin 将可能成为输卵管损伤的潜在治疗靶点,在临床方案中补充 Elafin 用于

输卵管疾病的预防和治疗是合理的。

目前 Elafin 还有许多未知,关于 Elafin 如何影响输卵管疾病发生、发展的分子机制的研究还比较少,Elafin 的真正细胞受体尚未被描述,Elafin 是单个作用还是和其他蛋白酶抑制剂的协同作用还不明确。所以 Elafin 与输卵管炎症、输卵管妊娠之间具体的内在关系仍然需要更深入的探索。今后还应继续关注输卵管炎症、输卵管妊娠患者 Elafin 的表达情况,以及 Elafin 在免疫组学上的研究,并验证使用人重组 Elafin 是否可以用来预防或治疗输卵管疾病。

参考文献

- Verrier T, Solhonne B, Sallenave JM, *et al.* The WAP protein Trappin - 2/Elafin: a handyman in the regulation of inflammatory and immune responses [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44 (8): 1377 - 1380
- Wiedow O, Schröder JM, Gregory H, *et al.* Elafin: an elastase - specific inhibitor of human skin. Purification, characterization, and complete amino acid sequence [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265: 14791 - 14795
- Ghosh MM, Shen Z, Fahey JV, *et al.* Trappin - 2/Elafin: a novel innate anti - human immunodeficiency virus - 1 molecule of the human female reproductive tract [J]. *Immunology*, 2010, 129: 207 - 219
- Stock SJ, Duthie L, Tremaine T, *et al.* Elafin (SKALP/Trappin - 2/proteinase inhibitor - 3) is produced by the cervix in pregnancy and cervicovaginal levels are diminished in bacterial vaginosis [J]. *Reprod Sci*, 2009, 16: 1125 - 1134
- 蒋静, 屈佳肴, 王丽, 等. Elafin 的功能及在肿瘤中的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29 (7): 1275 - 1279
- Williams SE, Brown TI, Roghanian Ali, *et al.* SLPI and elafin: one glove, many fingers [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2006, 110: 21 - 35
- Doucet A, Bouchard D, Janelle MF, *et al.* Characterization of human pre - elafin mutants: full antipeptidase activity is essential to preserve lung tissue integrity in experimental emphysema [J]. *Biochem J*, 2007, 405: 455 - 463
- Guyot N, Butler MW, McNally P, *et al.* Elafin, an elastase - specific inhibitor, is cleaved by its cognate enzyme neutrophil elastase in sputum from individuals with cystic fibrosis [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 32377 - 32385
- Moreau T, Baranger K, Dadé S, *et al.* Multifaceted roles of human elafin and secretory leukocyte proteinase inhibitor (SLPI), two serine protease inhibitors of the chelonianin family [J]. *Biochimie*, 2008, 90: 284 - 295
- 刘峰, 周向东, 余红梅, 等. Elafin 对气道上皮细胞黏蛋白 5AC 的调节作用 [J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2018, 17 (3): 296 - 300
- Han WL, Li XM, Zhang H, *et al.* Recombinant human elafin promotes alveologenesis in newborn mice exposed to chronic hyperoxia [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 92: 173 - 182
- Li KX, Zhang FM, Wei L, *et al.* Recombinant human elafin ameliorates chronic hyperoxia - induced lung injury by inhibiting nuclear

- factor – kappa B signaling in neonatal mice [J]. J Interferon Cytokine Res, 2020, 40: 320 – 330
 - 13 Madanchi H, Shoushtari M, Kashani HH, *et al.* Antimicrobial peptides of the vaginal innate immunity and their role in the fight against sexually transmitted diseases [J]. New Microbes New Infect, 2020, 34: 100627
 - 14 Kheir S, Villeret B, Garcia – Verdugo I, *et al.* IL – 6 – elafin genetically modified macrophages as a lung immunotherapeutic strategy against *Pseudomonas aeruginosa* infections [J]. Mol Ther, 2022, 30(1): 355 – 369
 - 15 Thomassen JC, Trojan T, Walz M, *et al.* *Pseudomonas aeruginosa* Reduced neutrophil elastase inhibitor elafin and elevated transforming growth factor – β are linked to inflammatory response in sputum of cystic fibrosis patients with [J]. ERJ Open Res, 2021: 7
 - 16 Caruso JA, Akli S, Pagon L, *et al.* The serine protease inhibitor elafin maintains normal growth control by opposing the mitogenic effects of neutrophil elastase [J]. Oncogene, 2015, 34: 3556 – 3567
 - 17 Wang CW, Liao YD, He W, *et al.* Elafin promotes tumour metastasis and attenuates the anti – metastatic effects of erlotinib via binding to EGFR in hepatocellular carcinoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40: 113
 - 18 Azkargorta M, Bregón – Villahoz M, Escobes Z, *et al.* In – depth proteomics and natural peptidomics analyses reveal antibacterial peptides in human endometrial fluid [J]. J Proteomics, 2020, 216: 103652
 - 19 Draper DL, Landers DV, Krohn MA, *et al.* Levels of vaginal secretory leukocyte protease inhibitor are decreased in women with lower reproductive tract infections [J]. Am J Obstet Gynecol, 2000, 183: 1243 – 1248
 - 20 King AE, Wheelhouse N, Cameron S, *et al.* Expression of secretory leukocyte protease inhibitor and elafin in human fallopian tube and in an in – vitro model of *Chlamydia trachomatis* infection [J]. Hum Reprod, 2009, 24: 679 – 686
 - 21 Mukura LR, Hickey DK, Rodriguez GM, *et al.* *Chlamydia trachomatis* regulates innate immune barrier integrity and mediates cytokine and antimicrobial responses in human uterine ECC – 1 epithelial cells [J]. Am J Reprod Immunol, 2017, 78: undefined
 - 22 Sallenave JM. Secretory leukocyte protease inhibitor and elafin/trappin – 2: versatile mucosal antimicrobials and regulators of immunity [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2010, 42: 635 – 643
 - 23 Hezelgrave NL, Seed PT, Chin – Smith EC, *et al.* Cervicovaginal natural antimicrobial expression in pregnancy and association with spontaneous preterm birth [J]. Sci Rep, 2020, 10: 12018
 - 24 赵曰霞, 邓莉. 中性粒细胞弹性蛋白酶及与疾病的关系研究进展 [J]. 河北医药, 2020, 42(11): 1729 – 1733
 - 25 King AE, Critchley HOD, Sallenave JM, *et al.* Elafin in human endometrium: an antiprotease and antimicrobial molecule expressed during menstruation [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88: 4426 – 4431
 - 26 Guedes Neto Ede P, Edelweiss MI, de Moraes GS, *et al.* The influence of hydrosalpinx on endometrial elafin expression [J]. Fertil Steril, 2011, 95: 2673 – 2675
 - 27 Neto EP, Fuhrich DG, Carson DD, *et al.* Elafin expression in mucosa of fallopian tubes is altered by hydrosalpinx [J]. Reprod Sci, 2014, 21: 401 – 407
 - 28 Allaeys I, Ribeiro de Vargas F, Bourgoin SG, *et al.* Human inflammatory neutrophils express genes encoding peptidase inhibitors: production of elafin mediated by NF – κ B and CCAAT/enhancer – binding protein β [J]. J Immunol, 2021, 206: 1943 – 1956
 - 29 Grudzinski M, Fuhrich DG, Savaris RF. Expression of elafin in fallopian tubes of ectopic pregnancies is reduced [J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2015, 23: 349 – 354
 - 30 Zakizadeh F, Mahmoudzadeh – Sagheb H, Asemi RA, *et al.* Upregulation of elafin expression in the fallopian tube of ectopic tubal pregnancies compared to the normal tubes [J]. J Reprod Immunol, 2020, 141: 103136
- (收稿日期: 2021 – 12 – 23)
(修回日期: 2021 – 12 – 27)
-
- (上接第 179 页)
- 21 Wang Y, Zhang Z, Zhang L, *et al.* RLIPPostC protects against cerebral ischemia through improved synaptogenesis in rats [J]. Brain Inj, 2018, 32(11): 1429 – 1436
 - 22 Hug A, Dalpke A, Wiczorek N, *et al.* Infarct volume is a major determinant of post – stroke immune cell function and susceptibility to infection [J]. Stroke, 2009, 40(10): 3226 – 3232
 - 23 Liu C, Yang J, Zhang C, *et al.* The changes of systemic immune responses during the neuroprotection induced by remote ischemic postconditioning against focal cerebral ischemia in mice [J]. Neurol Res, 2019, 41(1): 26 – 36
 - 24 Huang Y, Gao X, Zhou X, *et al.* Remote ischemic postconditioning inhibited mitophagy to achieve neuroprotective effects in the rat model of cardiac arrest [J]. Neurochem Res, 2021, 46(3): 573 – 583
 - 25 Zhao W, Che R, Li S, *et al.* Remote ischemic conditioning for acute stroke patients treated with thrombectomy [J]. Ann Clin Transl Neurol, 2018, 5(7): 850 – 856
 - 26 李海霞, 郭倩, 沈月贞, 等. 远隔缺血后适应对老年急性脑梗死患者预后的影响 [J]. 中华老年医学杂志, 2018, 37(11): 1218 – 1222
 - 27 Feng X, Huang L, Wang Z, *et al.* Efficacy of remote limb ischemic conditioning on poststroke cognitive impairment [J]. J Integr Neurosci, 2019, 18(4): 377 – 385
 - 28 Che R, Zhao W, Ma Q, *et al.* rt – PA with remote ischemic postconditioning for acute ischemic stroke [J]. Ann Clin Transl Neurol, 2019, 16, 6(2): 364 – 372
 - 29 An JQ, Cheng YW, Guo YC, *et al.* Safety and efficacy of remote ischemic postconditioning after thrombolysis in patients with stroke [J]. Neurology, 2020, 95(24): e3355 – e3363
 - 30 Wei L, Liang H, Mo M, *et al.* The effect of remote ischemic postconditioning on autonomic function in patients with acute ischemic stroke: a randomized controlled trial [J]. Complement Ther Med, 2020, 54: 102541
- (收稿日期: 2022 – 02 – 24)
(修回日期: 2022 – 02 – 28)