

• 综述 •

表皮生长因子在气道上皮组织修复中作用的研究进展

陈兴(综述) 刘群(审校)

【关键词】 表皮生长因子; 气道上皮细胞; 修复

已知表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)的基本功能是促进上皮细胞增殖与分化,因此它在气道上皮组织修复中起着不可忽视的作用。多种疾病及创伤或吸入性损伤等都会导致气道上皮组织的破坏,影响肺功能,严重时会导致急性肺损伤(ALI)甚至急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。因此,上皮组织的修复成为恢复肺功能的主要环节。现就 EGF 在气道上皮组织修复中的作用进行综述。

1 EGF 的生物学效应

EGF 最初由 Cohen^[1]在 1962 年发现,从而开辟了关于 EGF 的研究领域。EGF 由唾液腺分泌的促有丝分裂肽,是相对分子质量为 6 000 的多肽生长因子,在小鼠下颌腺被首次分离出来^[2]。随后从尿中又分离出人表皮生长因子(hEGF),最初基于它可以抑制胃分泌的功能而被称为尿抑胃素。随着研究的深入,发现 EGF 具有广泛的生物学效应,包括促进间质细胞和上皮细胞的增殖与分化等。

2 EGF 对气道上皮组织的修复

2.1 气道上皮细胞:肺实质即肺内支气管的各级分支及其终端的大量肺泡,在形态学上是由许多不同类型的上皮细胞组成,如鳞状上皮细胞、杯状上皮细胞、基底细胞、纤毛细胞、Clara 细胞等。人的支气管(第 1 级)至肺泡约有 24 级分支。支气管经肺门入肺,分为叶支气管(第 2 级,右肺 3 支,左肺 2 支),叶支气管又分为段支气管(第 3~4 级,左右肺各 10 支),段支气管反复分支为小支气管(第 5~10 级),继而再次分为细支气管(第 11~13 级),细支气管又分为终末

细支气管(第 14~16 级)。从叶支气管至终末支气管为肺的导气部,终末支气管以下的分支为肺的呼吸部,包括呼吸细支气管(第 17~19 级)、肺泡管(第 20~22 级)、肺泡囊(第 23 级)以及肺泡(第 24 级)。肺泡管和肺泡囊都是由许多肺泡组成,肺泡区主要为 I 型上皮细胞和 II 型上皮细胞,终末支气管区主要为 Clara 细胞和纤毛细胞,其中肺泡 I 型上皮细胞和 Clara 细胞对上皮细胞的修复最为重要。因为肺泡 II 型上皮细胞可增殖分化为肺泡 I 型上皮细胞,而 Clara 细胞可增殖分化为纤毛细胞^[3]。肺泡 I 型上皮细胞承担主要的机械性支持,在肺泡表面的覆盖达 90%,参与构成血气屏障。肺泡 II 型上皮细胞被认为是肺泡上皮的干细胞,具有增殖、合成、分泌肺表面活性物质,维持肺泡内外液体平衡,在肺功能单位进行离子交换以及免疫调节等多种作用^[4]。Clara 细胞可以起到修复肺泡的作用。

由此可见,气道上皮组织损伤的患者通气及换气功能必将受到影响,导致肺功能受损,严重时会导致 ALI,甚至 ARDS。因此,修复气道上皮组织是改善患者通气和换气功能的重要环节,能否尽早、尽快修复气道上皮组织将是治疗的关键。

2.2 EGF 对气道上皮细胞的作用机制

2.2.1 促进有丝分裂作用:Puddicombe 等^[5-6]的体外研究显示,EGF 为支气管上皮细胞的促有丝分裂剂,伤后支气管上皮堆积的表皮生长因子受体(EGFR)被激活是一个重要机制,但机械性损伤导致的 EGFR 快速磷酸化与外源性配体存在无关。外界刺激使 EGFR 在上皮细胞中表达,EGF 作为 EGFR 的配体是影响上皮细胞结局的决定因素,它与 EGFR 结合,使 EGFR 被激活,从而促使细胞进入分裂周期^[7-9]。

2.2.2 抗凋亡作用:Wang 等^[10]研究发现,EGF 刺激可以通过激活细胞外信号调节激酶(ERK)通路而减少细胞的凋

亡。Allan 等^[11]后来又证实,EGF 通过 ERK 通路使苏氨酸磷酸化,从而抑制了天冬氨酸半胱氨酸蛋白酶-9(caspase-9)的激活,而 caspase-9 是细胞凋亡蛋白酶及胱蛋白酶等启动细胞凋亡酶的激酶,EGF 通过此通路产生抗凋亡作用。

2.2.3 EGF 对气道上皮细胞的作用机制:EGFR 作为一种受体酪氨酸蛋白激酶^[12],是一种跨膜蛋白,在细胞外域结合 EGF,并在胞浆域通过内在酪氨酸激酶的激活启动信号^[13]。EGF 的刺激导致 EGFR 上 Y1068、Y1086 和 Y1173 3 个位点磷酸化,其信号转导通路有 3 种途径:EGF 使 EGFR 上 Y1173 位点磷酸化,激活 EGFR-Shc-Grb2-Sos-Ras/Raf 途径;使 EGFR 上的 Y1086 位点磷酸化,从而激活 EGFR-Grb2-Sos-Ras/Raf 途径;使 EGFR 上 Y1068 位点磷酸化,激活 EGFR-Grb2-MEKK1 途径。3 种途径最终通过激活 MEK/ERK 产生“级联瀑布”效应,最终将 EGF 信号转导至细胞内^[14]。MEK 是促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)的激酶,因此也有一部分学者将此通路称为 MAPK 通路^[15-16]。目前比较一致的观点认为,这条通路最终控制了细胞的增殖、分化以及抗凋亡。近年来也有学者提出其他的通路,包括 c-Jun 氨基末端激酶/应激活活蛋白激酶(JNK/SAPK)通路、p38 MAPK/PAK 通路等^[17]。

2.3 EGF 在气道上皮修复中的作用

2.3.1 促上皮细胞移行:Kim 等^[18]认为 EGF 可以加速气道上皮细胞的移行,使创面闭合而不依赖于细胞增殖。在伤后豚鼠气管上皮细胞趋化性与移行实验中显示,EGF 可引起气道上皮细胞的移行,使融合的单层上皮细胞中的小创面加速闭合。White 等^[19]对人体气道上皮细胞进行培养,发现在 18 h 内 EGF 即可诱导上皮细胞的移行,而此时细胞增殖并未发生。

2.3.2 促上皮细胞增殖:柳琪林等^[20]

基金项目:天津市医药卫生科技基金资助项目(06-KG-06)

作者单位:300070 天津医科大学硕士研究生(陈兴);天津市第四医院,天津市烧伤研究所(刘群)

通讯作者:刘群,硕士生导师,主任医师

作者简介:陈兴(1981-),男(汉族),天津市人,硕士研究生。

在大鼠吸入性损伤的动物实验中发现,外源性 EGF 经气管吸入能有效刺激肺泡Ⅱ型上皮细胞的增殖,提高肺泡液体转运能力,有助于修复吸入性损伤大鼠的肺泡组织,减轻或消除肺水肿。

2.3.3 促上皮细胞分化:Nielsen 等^[21]对小鼠胎肺组织进行培养,72 h 后检测肺组织二硬脂酰磷脂酰胆碱的胆碱标记物,发现 EGF 处理组标记物较对照组增加了 3.43 倍,肺泡表面活性物质相关蛋白 C 增加了 6 倍,分化作用明显增加。Plopper 等^[22]在动物实验中发现,EGF 可加速肺泡Ⅱ型上皮细胞的分化,并且使肺泡表面活性物质相关蛋白 A 明显增加。Casalino-Matsuda 等^[23]研究表明,EGF 可以促进杯状细胞的分化。杯状细胞又称为黏蛋白生成细胞,正常情况下数量很少,具有将黏液释放到气管腔中、并辅助黏膜纤毛清除刺激物的作用。通过释放黏液清除异物进行修复,随后杯状细胞逐渐消失,上皮细胞结构重建,回归正常状态^[8]。

3 EGF 在气道上皮组织修复中的临床应用

3.1 重组人表皮生长因子(rhEGF)应用的基础:随着基因重组技术的发展,目前已经成功生产出高纯度的 EGF,为 EGF 在临床的广泛应用提供了现实基础。提纯后的 rhEGF 不含致热源、内毒素和酵母染色体 DNA,其纯度可达 98%,并且有合适的分子质量、N 端氨基酸序列、肽图、紫外线光谱,以及良好的生物学活性,适用于动物实验以及临床研究^[24]。

3.2 rhEGF 与 EGF 的比较:rhEGF 的活性和结构与 EGF 具有高度的一致性,因此,理论上应该与 EGF 具有同样的生理过程和相同的生物学活性。国内外一些学者的研究证明,rhEGF 可促进多种上皮细胞增生,包括肾脏、皮肤(表皮、真皮及附件)、肠黏膜、肺脏气道等,尤其以肾脏、肺脏最为敏感^[25-28],Fu 等^[29]发现,应用 rhEGF 的患者,其再生上皮组织的棘突层以及颗粒层出现了新生的干细胞,这些干细胞可将已分化的干细胞修复为未分化的干细胞。当静脉以超药理剂量给予 rhEGF 后,可广泛促进上皮细胞的有丝分裂^[27,30]。

3.3 rhEGF 修复气道上皮组织的临床应用:国内学者对 rhEGF 治疗吸入性损伤、修复气道黏膜做了临床观察。赵永健

等^[31]对 40 例吸入性损伤患者随机给予 rhEGF,借助纤维支气管镜经患者口腔、气管切开处将 rhEGF 直接用于呼吸道,2~4 h 1 次,每次 2 kU,经形态学证实,患者气管黏膜溃疡愈合时间明显提前,证实了 rhEGF 修复气道上皮组织的有效性。汪涛^[32]对 70 例中、重度吸入性损伤患者进行支气管肺泡灌洗,在治疗组支气管肺泡灌洗液中加入外源性 EGF 并予以雾化吸入,结果治疗组支气管肺泡灌洗液中的蛋白总量、白蛋白及胶体渗透压降低,提示 EGF 通过促进气道黏膜及肺泡上皮细胞增殖,降低了伤后肺泡毛细血管通透性。

EGF 作用广泛,它会与多种因子产生交互作用,因此临床应用时应进行综合考虑。近年已有一些学者的研究提示,不同的治疗方案会对加入的生物学制剂产生不同的影响。因此,治疗方案要谨慎选择^[33]。国外学者 Shih 等^[34]最近进行的有关细胞增殖研究显示,甲状腺素通过参与了 Ras 通路,可增强 EGF 的作用;Huang 等^[13]的研究发现,生长激素会降低 EGF 的结合力,但同时又可减慢 EGFR 的降解与衰减调节,这说明生长激素对 EGF 发挥作用会产生正负两方面的影响。

综上所述,自 rhEGF 合成成功并获得临床使用的批准以来,其促进上皮细胞增殖与分化的功能越来越受到重视。由于 rhEGF 的安全性和易获得性,其在临床应用的适应证不断扩大。随着临床研究的逐渐深入,相信对 rhEGF 的长期疗效、给药的最佳时机、最佳剂量、使用方法及其确切的机制等问题将会得到更深刻的认识。

参考文献

- [1] Cohen S. Nobel lecture, epidermal growth factor[J]. Biosci Rep, 1986, 6(12):1017-1028.
- [2] Sinha A, Nightingale J, West K P, et al. Epidermal growth factor enemas with oral mesalamine for mild-to-moderate left-sided ulcerative colitis or proctitis[J]. N Engl J Med, 2003, 349(4):350-357.
- [3] Clegg G R, Tyrrell C, McKechnie S R, et al. Coexpression of RT140 with alveolar epithelial type I cell proteins in lungs following injury: identification of alveolar intermediate cell types[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 289(3):L382-390.

- [4] Guazzi M. Alveolar-capillary membrane dysfunction in heart failure: evidence of a pathophysiologic role [J]. Chest, 2003, 124(3):1090-1102.
- [5] Puddicombe S M, Torres-Lozano C, Richter A, et al. Increased expression of p21(waf) cyclin-dependent kinase inhibitor in asthmatic bronchial epithelium[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2003, 28(1):61-68.
- [6] Puddicombe S M, Polosa R, Richter A, et al. Involvement of the epidermal growth factor receptor in epithelial repair in asthma[J]. FASEB J, 2000, 14(10):1362-1374.
- [7] Jost M, Kari C, Rodeck U. The EGF receptor an essential regulator of multiple epidermal functions[J]. Eur J Dermatol, 2000, 10(7):505-510.
- [8] Burgel P R, Nadel J A. Roles of epidermal growth factor receptor activation in epithelial cell repair and mucin production in airway epithelium [J]. Thorax, 2004, 59(11):992-996.
- [9] Tyner J W, Kim E Y, Ide K, et al. Blocking airway mucous cell metaplasia by inhibiting EGFR antiapoptosis and IL-13 transdifferentiation signals [J]. J Clin Invest, 2006, 116(2):309-321.
- [10] Wang H Q, Quan T, He T, et al. Epidermal growth factor receptor dependent, NF-kappaB-independent activation of the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt pathway inhibits ultraviolet irradiation-induced caspases-3, -8, and -9 in human keratinocytes[J]. J Biol Chem, 2003, 278(46):45737-45745.
- [11] Allan L A, Morrice N, Brady S, et al. Inhibition of caspase-9 through phosphorylation at Thr 125 by ERK MAPK [J]. Nat Cell Biol, 2003, 5(7):647-654.
- [12] Abe K, Saito H. The mitogen-activated protein kinase cascade mediates neurotrophic effect of epidermal growth factor in cultured rat hippocampal neurons[J]. Neurosci Lett, 2000, 282(1-2):89-92.
- [13] Huang Y, Chang Y, Wang X, et al. Growth hormone alters epidermal growth factor receptor binding affinity via activation of extracellular signal regulated kinases in 3T3-F442A cells [J]. Endocrinology, 2004, 145(7):3297-3306.
- [14] Saito T, Okada S, Ohshima K, et al. Differential activation of epidermal

- growth factor (EGF) receptor downstream signaling pathways by beta-cellulin and EGF[J]. *Endocrinology*, 2004, 145(9):4232-4243.
- [15] Khan S M, Oliver R H, Yeh J. Epidermal growth factor receptor inhibition by tyrphostin 51 induces apoptosis in luteinized granulosa cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90(1):469-473.
- [16] Sheng G, Bernabe K Q, Guo J, et al. Epidermal growth factor receptor-mediated proliferation of enterocytes requires p21waf1/cip1 expression[J]. *Gastroenterology*, 2006, 131(1):153-164.
- [17] Second Annual Pittsburgh International Lung Conference. Functional genomics of lung disease[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 31(2 Suppl):S1-81.
- [18] Kim J S, McKinnis V S, Nawrocki A, et al. Stimulation of migration and wound repair of guinea-pig airway epithelial cells in response to epidermal growth factor[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998, 18(1):66-74.
- [19] White S R, Dorscheid D R, Rabe K F, et al. Role of very late adhesion integrins in mediating repair of human airway epithelial cell monolayers after mechanical injury[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1999, 20(4):787-796.
- [20] 柳琪林, 胡森, 陆江阳, 等. 表皮细胞生长因子对吸入性损伤大鼠肺泡Ⅱ型细胞增殖和肺水转运的作用[J]. *中国危重病急救医学*, 2002, 14(12):719-722.
- [21] Nielsen H C, Martin A, Volpe M V, et al. Growth factor control of growth and epithelial differentiation in embryonic lungs[J]. *Biochem Mol Med*, 1997, 60(1):38-48.
- [22] Plopper C G, St George J A, Read L C, et al. Acceleration of alveolar type I cell differentiation in fetal rhesus monkey lung by administration of EGF[J]. *Am J Physiol*, 1992, 262(3 Pt 1):L313-321.
- [23] Casalino-Matsuda S M, Monzón M E, Forteza R M. Epidermal growth factor receptor activation by epidermal growth factor mediates oxidant induced goblet cell metaplasia in human airway epithelium[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2006, 34(5):581-591.
- [24] 黄秉仁, 蔡良婉, 王欣, 等. 甲基营养型酵母系统表达的重组人表皮生长因子的纯化及其性质[J]. *中国医学科学院学报*, 2001, 23(2):106-110.
- [25] 陈伟, 付小兵, 孙同柱, 等. 表皮细胞生长因子及其受体在难愈性溃疡组织中的表达特征[J]. *中国危重病急救医学*, 2003, 15(10):600-602.
- [26] 付小兵, 孙同柱, 孙晓庆, 等. EGF 和 bFGF 在大鼠不同发育阶段肠道定位和表达特征的比较研究[J]. *中国危重病急救医学*, 2001, 13(7):407-409.
- [27] Reindel J F, Gough A W, Pilcher G D, et al. Systemic proliferative changes and clinical signs in cynomolgus monkeys administered a recombinant derivative of human epidermal growth factor[J]. *Toxicol Pathol*, 2001, 29(2):159-173.
- [28] Xia L, Yuan Y Z, Xu C D, et al. Effects of epidermal growth factor on the growth of human gastric cancer cell and the implanted tumor of nude mice[J]. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(3):455-458.
- [29] Fu X, Sun X, Li X, et al. Dedifferentiation of epidermal cells to stem cells in vivo[J]. *Lancet*, 2001, 358(9287):1067-1068.
- [30] Sirisathien S, Hernandez-Fonseca H J, Brackett B G. Influences of epidermal growth factor and insulin like growth factor- I on bovine blastocyst development in vitro[J]. *Anim Reprod Sci*, 2003, 77(1-2):21-32.
- [31] 赵永健, 刘群. 重组人表皮生长因子治疗吸入性损伤的临床观察[J]. *中华烧伤杂志*, 2004, 20(1):47.
- [32] 汪涛. 表皮细胞生长因子治疗吸入性损伤的临床观察[J]. *中华烧伤杂志*, 2003, 19(5):303-304.
- [33] 李金玺, 刘旭盛, 唐辉, 等. 部分创面外用抗菌药物与成纤维细胞生长因子 2, 表皮生长因子、重组人生长激素对成纤维细胞生物学特性影响的实验研究[J]. *中华烧伤杂志*, 2006, 22(1):33-37.
- [34] Shih A, Zhang S, Cao H J, et al. Disparate effects of thyroid hormone on actions of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha are mediated by 3', 5'-cyclic adenosine 5'-monophosphate dependent protein kinase I[J]. *Endocrinology*, 2004, 145(4):1708-1717.

(收稿日期:2007-10-19)

修回日期:2008-01-10)

(本文编辑:李银平)

• 启事 •

全国神经内科主任诊疗技能及管理论坛暨新进展学习班将举办

由中国医院协会主办、四川大学华西医院神经内科协办的全国神经内科主任诊疗技能及管理论坛暨新进展学习班拟于 2008 年 4 月中下旬在成都举办, 学习期满授予学员国家 I 类继续教育学分。

1 综合班: 缺血性卒中的诊断策略; 神经科疾病的重症监护; 短暂性脑缺血发作; 高脂血症; 糖尿病与脑血管疾病; 癫痫; 帕金森病; 痴呆; 头痛; 卒中单元; 综合医院抑郁障碍; 意识障碍; 急性脑出血; 后循环缺血专家共识; 脑卒中的康复等。

2 微创颅内血肿清除术专题班: 微创颅内穿刺技术治疗常规; 高血压脑出血的简易血肿穿刺定位方法; 立体定向硬通道引流治疗脑深部小血肿; 高血压脑出血穿刺引流并发症的处理; 硬通道微创穿刺双腔冲洗治疗脑脓肿; 持续腰大池引流脑脊液的临床安全性探讨; 蛛网膜下腔出血诊断与治疗; 介入结合血肿治疗颅内出血性脑血管病等。

3 教师: 周东、罗祖明、顾征、孙永全等四川、北京、上海著名专家。

4 报名方式: 可来函、来电或电子邮件索取正式通知(请注明“神内综合班或颅内班”)。我部 6 月中下旬还将举办内分泌、糖尿病学习班, 欢迎来电咨询。

5 通信地址: 北京市东城区东四西大街 46 号 5406 室中国医院协会科技发展部周新静收, 邮编: 100711; 电话: 010-85416788, 13391780975; 传真: 010-65238282; Email: chapx@sina.com。

(中国医院协会)