DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.18.032
第26卷第18期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 18
2004年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2004

文章编号:1000-5404(2004)18-1693-02

综述

CFTR基因在鼻息肉发病机制中的研究进展

Advances in relationship between cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene and the pathogenesis of nasal polyp

周亚光 综述,张学渊 审校 (第三军医大学西南医院耳鼻咽喉科,重庆 400038)

有关鼻息肉发病机制的研究已由过去感染、变态反应延续为以鼻腔外侧壁微环境(或称诱发空间)为基础,从基因水平上研究单个细胞肥厚,某些细胞不同于恶性肿瘤的有限性增殖,腺上皮囊性纤维化,神经缺如,血管活动失调控等。越来越多的学者认为它可能是一种由诱发空间中各种免疫分子在不同水平上诱导单个或多个基因表达调控失调的一种基因病。CFTR(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)是由CFTR基因编码的一种氯(Cl^-)通道蛋白,对上皮细胞水、电解质的运输等方面起重要作用;近年来,关于Cl^-通道的研究表明,人类的多种疾病与Cl^-通道的功能改变或缺失有关,现就近10年来国外学者对CFTR功能、CFTR基因的表达调控及CFTR基因突变或多态性与鼻息肉发生的研究作一综述。

近10多年来,许多学者对呼吸道上皮中的Cl^-通道做了大量的研究。目前已经发现了6种不同的Cl^-电流,包括:AC-cAMP-PKA调节的$I_{Cl,PKA}$,PKC调节的$I_{Cl,PKC}$,与细胞容积调节有关的$I_{Cl,vol}$,细胞内钙调节的$I_{Cl,Ca}$,嘌呤受体激活的$I_{Cl,ATP}$和基础$I_{Cl,b}$。其中$I_{Cl,PKA}$,$I_{Cl,PKC}$,$I_{Cl,ATP}$可能是由CFTR基因所编码的蛋白介导。CFTR Cl^-通道单通道电导约6~10 pS,与32 pS无关。CFTR中F337和T338附近的区域是产生离子选择性的关键区域,F337和T338可使与之结合的离子顺利通过离子孔[1],其离子通透的选择性是由水合作用的大小决定,而并不是由对离子的亲合力大小决定,在细胞内外等Cl^-浓度下具有线性的I-V关系,其离子选择顺序为:I^- > Br^- > Cl^- > F^- > 羟乙基$^-$(ISE$^-$)。

1 CFTR的结构和功能

CFTR基因编码的CFTR蛋白主要位于上皮顶侧膜。它由1 480个氨基酸组成,约有12个跨膜片段(M1~M12),其中M1~M6、M7~M12各自构成一个跨膜区域(membrane-spanning domain, MSD)MSD1和MSD2,并依次和一个核苷酸结合域(nucleotide-binding domain, NBD)NBD1和NBD2相连,组成两个规则的结构域MSD1-NBD1和MSD2-NBD2。两个结构域由一个调节结构域(regulatory domain, RD)相接;RD上具有多个共有的PKA和PKC磷酸化位点;NBD-1是从P432到G646,NBD-2是从A1225到E1417,羧基端是从E1484到L1480[2];CFTR是一种门控氯通道,由CFTR RD和NBD间协调性相互作用进行门控,PKA、PKC对丝氨酸残基的磷酸化作用可使RD由抑制状态变为活化状态,从而使位于NBD的ATP能与RD结合,并被水解,引起Cl^-通道的开放和关闭[3]。另外,PDZ结合基序是CFTR定位于顶膜的不可或缺的羧基端序列,人CFTR中1370—1394和1404—1425间氨基酸的羧基端也是CFTR定位于顶膜的重要区域[4]。

CFTR在人体组织中分布广泛,如:胆管上皮、呼吸道、消化道、生殖道及尿道等具有排泌功能的组织中,对于维护其正常的生理功能具有重要作用。CFTR参与肾集合管中cAMP介导的氯离子分泌;在精子的形成过程中,它可能与水通道蛋白(AQP)相互协调作用,引起精细胞胞浆容量减少,从而导致胞浆皱缩—精细胞形成中的一个不可缺少的特征[5];乳腺上皮细胞通过CFTR、上皮钠通道和胞间紧密连接的相互作用控制乳腺基质中的钠离子和氯离子的浓度和电解质的中性;胰管上皮细胞顶膜上的CFTR经尿鸟苷酸、鸟苷酸等肠肽与其受体相互作用而活化后,调控胰腺水,电解质的分泌。

CFTR在正常鼻腔粘膜细胞的分布为典型的顶膜分布,其病理生理意义主要表现在:通过顶膜上的Na^+-Cl^-交换,调节细胞内水钠的容量;参与谷胱苷肽的运输,通过GSH的抗氧化作用,维持细胞生命[6];调节NO的生成,维持鼻粘膜纤毛上皮的收缩功能[6];维持鼻腔粘膜微环境正常的酸碱度、粘蛋白粘性及对细胞的粘附力,防止鼻粘膜腺上皮囊性纤维化[7]。CFTR的过度活化可降低胞外的酸化作用,提高胞外pH值,可能使细胞中碳酸氢根(HCO_3^-)依赖性上皮细胞的分泌减少,引起组织中成分变化,从而引发细胞囊性纤维化改变;内源性核苷酸与受体P2Y2相与作用后,可能经CFTR介导对粘液纤毛清除率起调节作用[8];CFTR可吸收胞外鞘磷酯1磷酸盐(SPP),减少胞外SPP经EDG受体产生的生物效应,从而调控细胞的生长,分化和凋亡;在细胞的免疫应答、细胞迁移中也发挥一定作用。

2 CFTR基因的表达调控

CFTR基因的表达调控是一个多因素的复杂过程。CFTRmRNA和蛋白表达不仅与上皮的重建程度有关,还与粘膜局部炎症程度有关;CFTR的异常表达不仅与CF基因突变有关,还与上皮去分化有关。

Buratti等[9]发现,CFTR基因外显子9的选择性转录受顺式作用元件在外显子中的分布和两个内含子(IVS8,9)的共同调控;另外,在IVS8内含子3′端的(TG)m(T)n多态性重复序列也是一种调控元件。核因子(热致死点)是一种新的剪接调控因子,能结合前CFTRmRNA中的外显子9,并能抑制邻近外显子的识别,从而促进外显子9的转录,增加CFTR和△F508 CFTR的表达,进一步的研究发现,TDP-43有两个功能齐全的RRM区,其中RRM1苯丙氨酸残在差异性地识别RNA和DNA时起重要作用,能结合六个UG或TG的二核苷酸单链,且其结合力随重

作者简介:周亚光(1971—),男,湖北省蒲圻市人,硕士,主治医师,主要从事鼻息肉发病机制方面的研究。现在成都军区昆明总医院耳鼻咽喉科。电话:(0871)4074697

收稿日期:2003-03-03;修回日期:2003-11-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

复序列的增加而增加；4-PBA 是一种转录调节因子，可促进△F508CFTR成熟，变成大片段的△F508CFTR，从而避免被蛋白酶分解并在细胞表面表达，体外实验已经证实：4-PBA 可纠正由△F508 突变所致的囊性纤维化鼻息肉某些临床表现；内源性 S-nitrosoglutathione（GSNO）可在转录后水平促进 wt-CFTR 和△F508 CFTR 的表达和成熟，与蛋白酶体不一样的是 GSNO 还可促进 CFTR的成熟，维持 CFTR 的正常功能，并可被二硫苏糖醇、阿西维辛和λ-谷氨酰胺转肽酶抑制[10]。

另外，人 CK18表达盒使上皮特异性逆四环素反式作用子活化，在强力霉素、蒽环霉素、阿霉素、丝裂霉素 C 和 Tet 诱导引物的存在下可促进 CFTR 和△F508CFTR 在功能性细胞中的表达[11～13]。

3 CFTR 基因突变与鼻息肉

CFTR 基因突变或多态性可增加我们对许多疾病的认识[14,15]，如：伴鼻息肉的鼻窦炎、慢性支气管炎，哮喘，播散性支气管炎，慢性阻塞性肺炎，胰腺炎和男性不育症、先天性双侧无输精管。目前发现 CFTR 基因有 1 300 多种突变形式可导致囊性纤维化，其中△F508 突变是 CFTR 基因突变的一种常见形式，可引起翻译后 CFTR 蛋白糖基化和膜插入障碍，使其编码的蛋白在胞浆内质网中潴留，并被蛋白酶分解，导致其功能降低（氯离子电流下调），从而引发多种疾病[16]。CFTR 基因突变引起的囊性纤维化的生理特征是上皮细胞氯离子分泌障碍，钠离子重吸收增加，导致粘性粘液和细胞水肿，引起细菌感染和上皮受损。另外，CFTR 基因突变还有一些特殊效应，如：HCO_3^- 分泌减少、谷胱苷肽运输障碍及细胞因子（IL1，6，8 和 TNF）产生失调，结果导致：粘液粘性增加；炎症调控失衡，炎症持久存在；囊性纤维化气道上皮细胞的增生，细胞凋亡减少；药物聚积减少，生物利用度降低等，这样进一步促进囊性纤维化的发生[6,17]。

囊性纤维化常发生鼻息肉，鼻息肉是否是囊性纤维化的唯一表现，尚不清楚。Beck 等[18] 报道 CFTR 基因突变可引起鼻息肉上皮细胞囊性纤维变性，其 3272～26A→G 突变可使 CFTR 基因转录和翻译抑制。经测序来自内含子 17a 的 25 个核苷酸也参与选择性转录，据推测这可能是由于框移和前阻遏子的作用。选择性剪接可使具有这种突变的等位基因转录和翻译功能降低。Bucholtz 等[19] 利用无 CF 家族史、多嗜酸性粒细胞水肿性息肉成年患者外周血 DNA 对 CFTR 基因外显子进行测序，未发现突变、缺失，A 和 G 的多态性存在于外显子 10（1 540 nt）。这种多态性在嗜酸性粒细胞水肿性鼻息肉中检出率为 69%，在非囊性纤维化中检出率为 47.6%，二者间无显著差异，表明 CFTR编码区突变可能并非多嗜酸性粒细胞水肿性息肉形成的前提条件，另外，CFTR基因 G551D 突变可能与非囊性纤维化息肉形成有关。

4 问题与展望

综上所述，CFTR 基因在鼻息肉发病机制中的研究刚刚起步，有些问题需作进一步的研究，如 CFTR 基因通过何种机制诱发鼻息肉的免疫微环境的变化；CFTR 基因的表达产物通过何种信号转导途径来调控 Cl^- 通道等。随着 CFTR 基因研究的深入，人们会越来越重视 CFTR 基因及所编码的蛋白在防治鼻息肉及鼻粘膜上皮囊性纤维化，减小 CF 上皮细胞的耐药性及 FESS 术后鼻息肉的复发率等方面的重要作用。

关键词：CFTR；鼻息肉；囊性纤维化
中图法分类号：R765.250.2 文献标识码：A

参考文献：

[1] Linsdell P. Relationship between anion binding and anion permeability revealed by mutagenesis within the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator chloride channel pore[J]. J Physiol, 2001, 531(Pt1): 51—66.
[2] Chen J M, Cutler C, Jacques C. A combined analysis of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: implications for structure and diease models[J]. Mol Biol Evol, 2001, 18(9): 1771—1788.
[3] Ma J. Stimulatory and inhibitory function of the R domin on CFTR chloride channel[J]. News Physiol Sci, 2000, 15: 154—158.
[4] Milewski M I, Mickle J E, Forrest J K, *et al*. A PDZ-binding motif is essential but not sufficient to localize the C terminus of CFTR to the apical membrane[J]. J Cell Sci, 2001, 114(Pt 4): 719—726.
[5] Gong X D, Li J C, Cheung K H, *et al*. Expression of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in rat spermatids: implication for the site of antispermatogenic agents[J]. Mol Hum Reprod, 2001, 7(8): 705—713.
[6] Hudson V M. Rethinking cystic fibrosis pathology: the critical role of abnormal reduced glutathione (GSH) transport caused by CFTR mutation[J]. Free Radic Biol Med, 2001, 30(12): 1440—1461.
[7] Luckie D B, Singh C N, Wine J J, *et al*. CFTR activation raises extracellular pH of NIH/3T3 mouse fibroblasts and C127 epithelial cells[J]. J Membr Biol, 2001, 179(3): 275—284.
[8] Donaldson S H, Lazarowski E R, Picher M, *et al*. Basal nucleotide levels, release, and metabolism in normal and cystic fibrosis airways. Mol Med, 2000, 6(11): 969—982.
[9] Buratti E, Dork T, Zuccato E, *et al*. Nuclear factor TDP-43 and SR proteins promote *in vitro* and *in vivo* CFTR exon 9 skipping, EMBO J, 2001, 20(7): 1774—1778.
[10] Donaldson S H, Lazarowski E R, Picher M, *et al*. Basal nucleotide levels, release, and metabolism in normal and cystic fibrosis airways[J]. Mol Med, 2000, 6(11): 969—982.
[11] Buratti E, Dork T, Zuccato E, *et al*. Nuclear factor TDP-43 and SR proteins promote *in vitro* and *in vivo* CFTR exon 9 skipping[J]. EMBO J, 2001, 20(7): 1774—1778.
[12] Zaman K, McPherson M, Vaughan J, *et al*. S-nitrosoglutathione increases cystic fibrosis transmembrane regulator maturation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 284(1): 65—70.
[13] Ye L, Chan S, Chow Y H, *et al*. Regulated expression of the human CFTR gene in epithelial cells[J]. Mol Ther, 2001, 3(5 Pt1): 723—733.
[14] Cafferata E G, Guerrico A M, Pivetta O H, *et al*. NF-kappaB activation is involved in regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) by interleukin-1beta[J]. J Biol Chem, 2001, 276(18): 15441—15444.
[15] Barthellemy S, Maurin N, Roussey M, *et al*. Evaluation of 47, 213 infants in neonatal screening for cystic fibrosis, using pancreatitis-associated protein and immunoreactive trysinogen assays[J]. Arch Pediatr, 2001, 8(3): 275—281.
[16] Quesnel L B, Jaran A S, Braganza J M. Antibiotic accumulation and membrane trafficking in cystic fibrosis cells[J]. J Antimicrob Chemother, 1998, 41(2): 215—221.
[17] Stecenko A A, King G, Torii K, *et al*. Dysregulated cytokine production in human cystic fibrosis bronchial epithelial cells[J]. Inflammation, 2001, 25(3): 145—155.
[18] Beck S, Penque D, Garcia S, *et al*. Cystic fibrosis patients with the 3272-26A→G mutation have mild disease, leaky alternation mRNA splicing, and CFTR protein at the cell membrane[J]. Hum Mutat, 1999, 14(2): 133—144.
[19] Bucholtz G A, Ejercitko V S, Burmester J K. The cystic fibrkosis conductance regulator gene exon sequence is normal in a patient with edematous eosinophilic nasal polyps[J]. Am J Rhinol, 1999, 13(3): 221—223.

（编辑 薛国文）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net