



CCL28 在粘膜免疫中的作用及相关调控

刘国新¹ 栾冲¹ 宋海峰¹ 代红¹ 张瑜¹ 姜广水²

1 淄博市中心医院 山东淄博 255036 2 山东大学口腔医学院牙体牙髓科 山东济南 250012

【摘要】 CCL28 在人和小鼠的大部分粘膜组织中均有表达, 其中以唾液腺中的表达最丰富, 气管、乳腺、结肠和直肠表达也较丰富, 主要由粘膜组织中的上皮细胞产生。CCL28 可趋化 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、IgA 抗体分泌细胞 (IgA⁺ASC) 和嗜酸性粒细胞到相应的粘膜组织, 参加局部免疫应答反应。CCL28 具有一定的抗微生物活性, 对白色念珠菌、革兰氏阳性菌及阴性菌都表现出强有力的抗微生物活性, 还可有效杀灭牙龈卟啉单胞菌和伴放线放线杆菌两种主要的牙周可疑致病菌, 从而在牙周病的预防中发挥作用。由此可见 CCL28 在粘膜免疫中既能趋化免疫细胞至相应部位又具有广谱抗微生物活性, 在天然免疫和获得性免疫中具有重要作用。

【中图分类号】 R392 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-9561 (2018) 03-192-02

1 概述

趋化性细胞因子是一类具有 20%-70% 氨基酸序列同源性、对不同免疫细胞具有趋化和定向迁移作用的小分子蛋白超家族 (分子量多为 8 ~ 16kDa), 主要由白细胞和造血微环境中的基质细胞分泌, 与相应跨膜 G 蛋白受体相互作用, 调节免疫细胞的迁移活化, 在天然免疫和获得性免疫中起重要作用^[1]。CCL28 是由 Wang 等人于 2000 年发现的一种在基因定位、蛋白质序列上有其独特性的 CC 家族趋化性细胞因子。自被发现以来, 研究者们不断对其表达及功能进行深入细致的研究。

2 CCL28 的定位、组成及表达部位

研究者发现鼠 CCL28 位于 13 号染色体远端区域, 而人 CCL28 位于 5 号染色体长臂上, 这是唯一位于 5 号染色体上的人 CC 类趋化因子^[2]。在结构组成上, 人、鼠、猪和羊的 CCL28 分别由 127、130、127 和 129 个氨基酸组成, 其中 N 端 22 个氨基酸为信号肽, SCY 结构域为 27-88 个氨基酸。人和鼠 CCL28 具有高度保守性, 两者拥有 83% 相同氨基酸, 开放阅读框区域则拥有 76% 相同核苷酸。从蛋白水平上说, CCL28 则有一段含有 6 个半胱氨酸的较长 C 末端 (简称 CCL28-C), 由 28 个氨基酸组成, 在 6 个半胱氨酸中除了保守共有的 4 个之外还有 2 个额外的, 其中一个位于第 2 个和第 3 个半胱氨酸之间, 另一个则位于第 4 个半胱氨酸之后; 在第 19-24 氨基酸残基位置上是与 histatin-5 相似的 HexxxH 锌结合基序^[3]。研究者陆续在鼠、人、猴、猪和羊的体内检测到 CCL28, 主要在机体大部分的粘膜组织中表达, 由其上皮细胞产生, 其中唾液腺和乳腺中表达最为丰富, 在气管、直肠、结肠, 甚至皮肤中均有表达, 只是数量多少不同。最新研究证实, 在人唇腺中 CCL28 的表达量远高于腮腺, 提示在口腔局部免疫中小涎腺中 CCL28 的表达更为重要^[4]。

3 CCL28 的生理学功能

3.1 趋化作用

Transwell 趋化实验发现 CCL28 的受体为 CCR10 和 CCR3, 它们与其配体 CCL28 和 $\alpha 4 \beta 1^{high}$ / 血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1) 相结合, 在稳态运输中发挥重要作用。

实验发现重组的人 CCL28 可以吸引静息的 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞; 亦可吸引正常的 B 细胞; 对 CD3⁺T 细胞却没有趋化作用。CCL28 亦可趋化 CLA⁺T 细胞, 在唾液腺和颊粘膜处 CLA⁺T 细胞都有表达, CCL28 在此处成高表达状态, 因此对局部淋巴细胞的趋化在免疫中起着一定的作用^[5]。CCL28 可通过受体 CCR3 趋化人外周血中的嗜酸性粒细胞, 而鼠 CCL28 无此趋化作用。

CCL28 借由受体 CCR10 可选择性的趋化肠道内外粘膜组织、支气管肺组织以及唾液腺中的 IgA⁺ASC, 对粘膜组织 IgA

免疫浆母细胞的定位起到了重要的作用。以 BALB/c 小鼠为对象的研究发现, 在泌乳的乳腺当中, CCL28 的表达上调, 吸引 IgA⁺ASC 更好地聚集到乳腺中, 使乳汁中的 IgA 增多, 所以可以认为 CCL28 是乳腺中 IgA⁺ASC 聚集的主要因素^[6]。同理, 在腮腺中, sIgA 的分泌量约为每天 80mg, 而小涎腺中有大量合成 IgA 的浆细胞, 其分泌物中 sIgA 的浓度约是腮腺的 4 倍, 这与小涎腺中 CCL28 表达量多可能有一定的关系, CCL28 在腺体局部充分发挥趋化功能, 招募大量的 IgA⁺ASC 归巢于腺体, 促进 sIgA 的分泌。

3.2 广谱抗微生物活性

在唾液腺中 CCL28 与其受体结合能招募大量免疫细胞迁移至唾液腺, 但 CCL28 的表达量与其所招募的表达 CCR10 或 CCR3 的浆细胞数目不成比例, 说明 CCL28 在唾液腺中可能还有其他的生理功能。CCL28-C 端含有 8 个组氨酸残基, 具有与 histatin-5 相似的 HexxxH 锌结合基序, 这就提示 CCL28 可能与 histatin-5 有潜在的相似性, 而 histatin-5 是最近在唾液中发现的、富含组氨酸并有一定的抗微生物活性的多肽^[7]。根据这一结构特性, 研究了人类 CCL28 的抗微生物活性, 证明人和小鼠的 CCL28 都有强有力的抗白色念珠菌、抗革兰氏阳性及阴性菌的活性, 其作用机制是在低盐条件下快速诱导目标微生物细胞膜通透性的改变和穿孔的形成, 使细胞的内容物丢失。另有报道证实, CCL28 可以有效地杀灭牙龈卟啉单胞菌和伴放线放线杆菌两种主要的牙周可疑致病菌, 从而在牙周病的预防中发挥作用^[8]。

4 炎症刺激下 CCL28 的表达变化

在病原微生物及其产物和促炎因子的刺激作用下 CCL28 在结肠上皮细胞的表达增多, 说明 CCL28 参与炎症状态下粘膜免疫反应。HCA-7 细胞经常被用作体外实验研究 CCL28 的表达变化, 实验显示在 IL-1 α 刺激 18h 后 CCL28 的表达量便提高了 10 倍; 丁酸盐是一种短链脂肪酸, 是结肠内细菌消耗碳水化合物时产生的, 用其孵育 HCA-7 细胞后 CCL28 表达量显著增加; 在用 IL-1 刺激之前先用丁酸盐预处理 HCA-7 细胞可以使 CCL28 表达量高出最多 100 倍; 而用都柏林沙门氏菌刺激时 CCL28 最大表达量是 IL-1 刺激下的 2 倍。幽门螺杆菌感染可导致慢性胃炎和十二指肠溃疡等炎症疾病, 在炎症胃肠道粘膜组织中均能检测到 CCL28 的表达量高于正常组织^[9]。体外研究证实人气管上皮样细胞 A549 以较低的水平表达 CCL28, 应用 IL-1 β 或 TNF- α 可以使 CCL28mRNA 和蛋白的表达量显著增加, 但 TNF- α 刺激后 mRNA 的增加量不如应用 IL-1 β 显著。

5 肿瘤组织中 CCL28 的表达变化

研究发现 CCL28 在肿瘤的生长、侵袭和转移中发挥着重



要作用。CCL28 在乳腺中是高水平表达的,但是 Micanin 等人发现相较于临近的正常组织乳腺肿瘤中 CCL28 表达明显的降低,甚至缺如;在正常乳腺导管上皮中 CCL28 表达丰富,但是在多种上皮来源的乳腺肿瘤组织中 CCL28 的表达均减少或缺如^[10]。Jan Dimberg 等人发现结肠癌组织中 CCL28 的表达量较正常组织显著降低,而直肠癌中 CCL28 的表达与正常组织无明显差异,且结肠癌患者血清中 CCL28 的表达量明显高于直肠癌患者,这可能是由于结直肠癌的发病机理不同从而涉及到的信号途径也不同,对 CCL28 的调控机制不同导致其分泌表达量有所差异。结直肠癌中 CCL28 表达受到抑制导致到达肿瘤处的白细胞减少,可能是肿瘤对抗其内部浸润的白细胞、逃避肠道免疫的方式^[11]。

6 CCL28 表达的调控通路

如上所述,在乳腺肿瘤、唾液腺肿瘤和结肠癌组织中 CCL28 的表达均明显减少,而在大多数炎症刺激下相应组织中的 CCL28 表达却增高,说明 CCL28 的表达与机体的免疫状态是分不开的。CCL28 参与调节支气管哮喘的病理过程, Gorman 等在研究 CCL28 的表达时应用 IL-1 β 和 TNF- α 刺激人呼吸道上皮样细胞 A549,能够使 NF- κ B 磷酸化启动 NF- κ B 转导途径,此时发现细胞上清液中 CCL28 的表达量明显升高,但当抑制 NF- κ B 活化时, CCL28 的表达则会迅速降低,说明 IL-1 β 和 TNF- α 均能通过诱导 NF- κ B 活化来提高 CCL28 的表达水平。

综上所述, CCL28 由唾液腺、乳腺、气管和结直肠等粘膜组织上皮细胞分泌产生,在局部粘膜免疫中通过其受体 CCR10 和 CCR3 趋化 CD4⁺、CD8⁺T 细胞、IgA⁺ASC、嗜酸性粒细胞迁移归巢于相应的粘膜组织,在病理生理中发挥重要作用;同时 CCL28 特有的较长 C 端使其具有广谱抗微生物活性,对白色念珠菌、革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌以及牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌等牙周致病菌都有较强的杀菌作用;在唾液腺肿瘤、乳腺肿瘤以及结肠癌组织中 CCL28 表达均明显下降,其在肿瘤的发生发展过程中的作用仍需进一步探讨研究。

参考文献:

- [1] Yoshie O, Imai T, Nomiyama H. Chemokines in immunity[J]. Adv Immunol. 2001;78:57-110.
- [2] Wang W, Soto H, Oldham ER, et al. Identification of a novel chemokine (CCL28), which binds CCR10 (GPR2)[J]. J Biol Chem. Jul 21 2000;275(29):22313-22323.
- [3] 乔新安, 朱彦彩, 都军霞等. CCL25 和 CCL28 及其相应受体 CCR9 和 CCR10[J]. 医学分子生物学杂志, 2007, 4:458-460.
- [4] 刘雪, 卢志山, 姜广水. 人唇腺中 CCL28 表达和分步研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2010, 20(9):514-517.
- [5] Morales J, Homey B, Vicari AP, et al. CTACK, a skin-associated chemokine that preferentially attracts skin-homing memory T cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A. Dec 7 1999;96(25):14470-14475.
- [6] Wilson E, Butcher EC. CCL28 controls immunoglobulin (Ig)A plasma cell accumulation in the lactating mammary gland and IgA antibody transfer to the neonate[J]. J Exp Med. Sep 20 2004;200(6):805-809.
- [7] Schild L, Kellenberger S. Structure function relationships of ENaC and its role in sodium handling[J]. Adv Exp Med Biol. 2001;502:305-314.
- [8] Watkins HR, Lapp CA, Hanes PJ, et al. CCL28 effects on periodontal pathogens[J]. J Periodontol. Dec 2007;78(12):2356-2363.
- [9] Hansson M, Hermansson M, Svensson H, et al. CCL28 is increased in human Helicobacter pylori-induced gastritis and mediates recruitment of gastric immunoglobulin A-secreting cells[J]. Infect Immun. Jul 2008;76(7):3304-3311.
- [10] O' Gorman MT, Jatoti NA, Lane SJ, Mahon BP. IL-1 β and TNF- α induce increased expression of CCL28 by airway epithelial cells via an NF κ B-dependent pathway[J]. Cell Immunol. Dec 2005;238(2):87-96.
- [11] Micanin CS, Bhatia U, Labow M. Identification of a novel beta-chemokine, MEC, down-regulated in primary breast tumors[J]. Int J Oncol. May 2001;18(5):939-944.
- [12] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 298.
- [13] Paul G, Maarten L, Renate SL. Changes in globus pallidus with (Pre)term kernicterus[J]. Pediatrics, 2003, 112(6 Pt 1): 1256-1263.
- [14] Harris MC, Bernbaum JC, Polin JR, et al. Developmental follow-up of breastfed term and near-term infants with marked hyperbilirubinemia[J]. Pediatrics, 2001, 107(5): 1075-1080.
- [15] Voutetakis A, Maniati-Chrisddi M, Kanaka--Gantenhein C, et al. Prolonged jaundice and hypothyroidism as the Presenting symptoms in a neonate with a novel propl gene mutation{[Q83X]}[J]. Endocrinology, 2004, 150(3): 257-264.
- [16] Beal AC, Chou SC, Palmer R H, et al. The changing face of race: risk factors for neonatal hyperbilirubinemia[J]. Pediatrics, 2006, 117: 1618-1625.
- [17] 刘俐. 我国新生儿黄疸诊治现状和面临的挑战[J]. 中华新生儿科杂志, 2009(24):198202.
- [18] D'Apollito M, Marrone A, Servadio V, et al. Seven novel mutations of the UGT1A1 gene in patients with unconjugated hyperbilirubinemia[J]. Haematologica, 2007, 92:133-134.
- [19] Carceller BA, Cousineau J, Delvin EE. Point of care testing; transcutaneous bilirubinometry in neonates[J]. Clin Biochem, 2009, 42(14): 3-9.
- [20] Maisels MJ. Neonatology [M]. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Pub, 1999:765-819.
- [21] 唐述文. 维汉族新生儿高胆红素血症发病情况分析[J]. 中国新生儿科杂志, 2012, 27(1):49-50.
- [22] 王文辉, 王雪莉. 阿克苏地区 1986-2005 年的少数民族新生儿疾病构成及死因分析[J]. 当代医学, 2009, 15: 162-163.
- [23] 马红. 高海拔地区新生儿黄疸的病因特点及评估干预[J]. 高原医学杂志, 2002, 12(4): 48-49.
- [24] Sgro M, Campkll D, Shah V. Incidence and causes of severe neonatal hyperbilirubinemia in Canada[J]. CMAJ. 2006;175: 587-590.
- [25] Maimburg RD, Beeh BH, Bjerre IV, et al. Obstetric outcome in Danish children with a validated diagnosis of kernicterus[J]. Acta Obstet Gynecol Scand. 2009;88: 101 I.1016.