

· 综述与 Meta 分析 ·

## SPDEF 在气道上皮杯状细胞化生中的作用

仲秀华, 曾晓宁\*

南京医科大学第一附属医院呼吸与危重症医学科, 江苏 南京 210029

**[摘要]** 含SAM尖端结构域的E26转化特异性因子(SAM pointed domain containing E26 transformation-specific transcription factor, SPDEF)是ETS转录因子家族的重要成员。最初认为,作为前列腺上皮特异性转录因子,SPDEF调控了前列腺的发育与前列腺癌的发生发展。然而,新近研究发现呼吸系统也存在SPDEF表达,对气道上皮的分化起核心作用,尤其是杯状细胞的增生与化生。鉴于杯状细胞对于气道内环境的稳定至关重要,深入理解SPDEF如何参与调控杯状细胞化生,不仅有助于深化对气道异常分泌不同机制的认识,还可为相关呼吸系统疾病的诊治提供新思路。本文通过对近年来SPDEF调控杯状细胞功能的系列研究进行综述,为调控气道分泌新药的研发提供新思路。

**[关键词]** 杯状细胞;SPDEF;化生;黏蛋白;异常分泌

**[中图分类号]** R562;R563

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2019)04-614-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20190430

### Role of SPDEF in the regulation of goblet cell metaplasia of airway epithelium

Zhong Xiuhua, Zeng Xiaoning\*

*Department of Pulmonary & Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China*

**[Abstract]** The SAM pointed domain containing ETS transcription factor(SPDEF) is an important member of the E26 transformation-specific transcription factor family. SPDEF is initially identified in prostatic epithelium and considered to be involved in prostate development and prostate cancer progression. However, recent studies revealed that SPDEF is also expressed in the respiratory system. It is pretty crucial for the differentiation of airway epithelium, especially for the proliferation and metaplasia of goblet cells. Due to the importance of goblet cells in respiratory health, extended understanding of SPDEF function not only helps us to illuminate the mechanism of abnormal mucus secretion but also open new perspectives for the management of these related diseases. This review mainly focuses on the recent data which studied the role of SPDEF in goblet cell control, highlighting a novel profile of SPDEF as a new target in mucus secretion moderation.

**[Key words]** goblet cell; SPDEF; metaplasia; mucin; abnormal secretion

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(04):614-618]

含SAM尖端结构域的E26转化特异性(E26 transformation-specific, ETS)因子(SAM pointed domain containing ETS transcription factor, SPDEF)亦被称为前列腺源性ETS因子(prostate-specific ETS, PSE),最初因其在前列腺癌发生过程中发挥作用而被众人了解<sup>[1]</sup>,后又在乳腺癌、结肠癌、膀胱癌等肿

瘤中得到广泛研究<sup>[2-4]</sup>。新近研究表明,SPDEF是气道上皮杯状细胞增生与分化的关键因子,在气道黏液分泌调节中发挥了重要作用<sup>[5]</sup>。有研究证实,靶向沉默SPDEF可显著减少黏液相关基因表达,具有明确的抗黏液分泌潜力<sup>[6]</sup>。

气道上皮屏障是呼吸道接触外环境的第一道防御,上皮细胞正常功能的建立可保护肺组织免受外界感染。气道每天约分泌100~200 mL黏液,可黏附吸入气道内的异物(如尘粒、细菌等),通过纤毛迅速、定向摆动,将含有异物的黏液推至咽部并咳

**[基金项目]** 江苏省青年医学人才项目(QNRC2016599)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: zeng\_xiao\_ning@hotmail.com

出,使气道保持清洁。正常情况下,气道上皮中的杯状细胞(还有少量其他分泌型细胞)合成并分泌多种蛋白(如黏蛋白)覆盖于气道表面,通过阻隔外界侵害、定向纤毛清除等机制参与宿主的气道防御;然而病理条件下,杯状细胞出现过度活化、增生、甚至化生过程,导致黏液分泌量显著增加,造成气道阻塞、呼吸困难、肺功能急剧下降,严重影响了患者的生活质量。因此,如何维持气道黏液数量与成分的稳定,对维护气道健康至关重要。本文重点关注了转录因子SPDEF在杯状细胞化生、黏液分泌调节过程中的新作用,为黏液分泌异常相关性呼吸系统疾病的防治提供了新思路。

### 1 SPDEF的结构与功能

ETS所有家族成员均具有一个高度保守的DNA结合结构域,即ETS结构域,可结合含GGA(A/T)序列的DNA位点,启动相应基因转录、实现多种生物学功能,通过不同机制参与细胞增殖、分化、凋亡及血管生成等生理病理过程的调控。

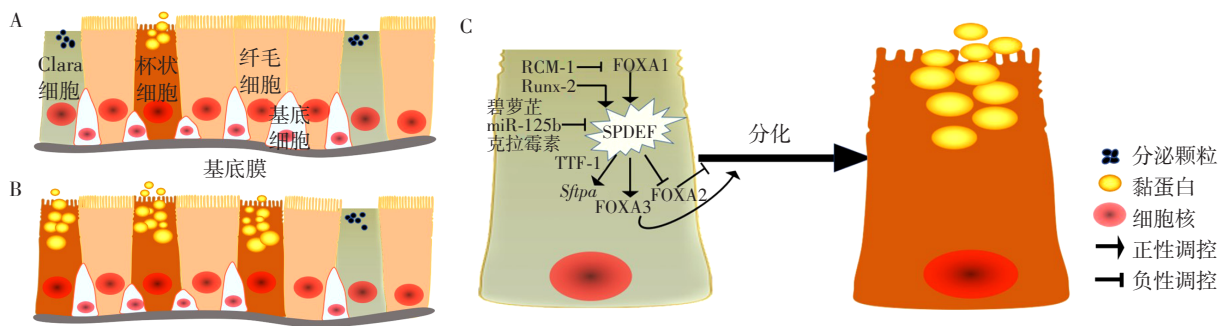
SPDEF属ETS家族,但诸多方面特性独特。①结构上,SPDEF除具有共同ETS域外,还含有尖域,而其他家族成员另一保守结构域一般为抑制结构域、负结构域或转录激活因子结构域。此外,SPDEF中的ETS结构域优先结合GGAT序列而非GGAA序列,而其他ETS蛋白以后者为优选序列。同时,SPDEF还包含2个PEST结构域(即1段富含脯氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸的结构序列,长度约10个氨基酸,具有快速降解特性蛋白的共同特征)和多个磷酸化位点<sup>[7-8]</sup>;②功能上,SPDEF在前列腺肿瘤细胞中高表达,并被证实其可增强前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)启动子活性、上调PSA基因表达,在前列腺癌进展中发挥重要作用<sup>[1]</sup>。

此外,SPDEF除定位在前列腺外,也被证实在上皮中存在表达,如乳房、结肠、卵巢、胃、结膜和气道上皮,参与调控乳腺癌、结肠癌、卵巢癌、肝癌、胃癌的发生发展<sup>[9-11]</sup>。2007年,有研究进一步揭示SPDEF可调控气道杯状细胞的分化成熟,是调节气道黏液分泌的关键因子<sup>[5]</sup>,参与维持黏膜上皮的正常功能。小鼠SPDEF基因敲除后,过敏原无法诱导小鼠气道上皮内杯状细胞表型的产生,表明SPDEF是杯状细胞分化的关键调控者<sup>[9]</sup>。新近研究显示,SPDEF在哮喘、慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、囊性纤维化、巨结肠病等疾病中亦发挥重要作用<sup>[12-14]</sup>。

### 2 杯状细胞化生

气管及支气管上皮层一般由基底细胞、纤毛细胞、杯状细胞、Clara细胞及神经内分泌细胞等多种细胞组成(图1A),它们共同构成气道的第一道防御屏障。人体每天吸入肺部的空气中含有各种颗粒物、化学物质及病原体等异物,气道黏液可捕获异物、溶解有毒气体,通过纤毛的协同摆动将黏液包裹的异物清除,维持肺部稳态。

黏蛋白是构成黏液、维持其功能的重要成分,黏蛋白5AC(mucin 5AC, MUC5AC)和黏蛋白5B(mucin 5B, MUC5B)是气道中最主要的分泌性黏蛋白。其中,MUC5AC主要在上皮表面杯状细胞中合成分泌,而MUC5B主要由黏膜下腺中的黏液细胞分泌。尽管健康个体的气道上皮细胞中杯状细胞数量少于5%,但在致命性哮喘中,具有杯状细胞表型的细胞数则高达20%至25%。有研究显示,哮喘模型小鼠致敏原激发后杯状细胞数量急剧增加,伴随Clara细胞减少75%,纤毛细胞减少25%,而基底层每单位表面积的上皮细胞数量保持不变(图1B),提



A:正常气管及支气管上皮细胞;B:炎性物质刺激诱导的气管及支气管上皮细胞构成比例及黏液分泌变化;C:SPDEF在杯状细胞分化过程中的关键调控作用及SPDEF表达调控药物。

图1 杯状细胞的分化调控

Figure 1 Regulation of goblet cells differentiation

示杯状细胞可能由 Clara 及纤毛细胞转化而来,化生可能是杯状细胞数量猛增的主要机制<sup>[15]</sup>。一般情况下,气道上皮受到各种急、慢性炎性物质刺激时,可出现杯状细胞数量上调、气道内黏液产生增多,通过增加有害物质的清除率,达到尽快排除异物的目的;一旦有害刺激消失,增多的杯状细胞可继发凋亡,并被正常上皮(主要由 Clara 及纤毛细胞构成)替代,呼吸道稳态恢复。然而一些慢性气道疾病中,由于有害刺激的持续存在,可引起持续的杯状细胞化生及黏液分泌过多,成为多种慢性肺病发病的重要原因,如引起哮喘的气道重构、导致小气道阻塞加重肺气肿、加剧肺功能恶化等。因此,抑制杯状细胞持续化生,避免气道黏液过度分泌,可以延缓哮喘、COPD、囊性纤维化等慢性肺病的进展,提高患者生活质量,降低患者住院率、发病率、病死率。

### 3 杯状细胞化生中 SPDEF 的重要作用

气道急性损伤或感染时,往往以杯状细胞过度活化、黏液大量分泌为主要表现;而气道慢性病理过程中(如哮喘、COPD 及囊性纤维化等),则以杯状细胞数量增多(增生与化生)、黏液组分变化为主要特征。目前研究认为,杯状细胞数量增多主要归因于化生这一病理过程<sup>[9,15]</sup>。

健康气道分泌物中,MUC5B(黏膜下腺黏液细胞分泌)水平相对于 MUC5AC(气道上皮杯状细胞分泌)占优势;但在哮喘和 COPD 疾病中,MUC5AC 基因表达被显著诱导<sup>[16]</sup>,提示杯状细胞表型活跃。研究表明,SPDEF 在 MUC5AC 基因转录调控中发挥了关键作用,其表达具有区域特异性(局限于气管、支气管和气管腺体的上皮细胞)<sup>[5]</sup>。肺组织中 SPDEF 阳性区域,细胞 MUC5AC 呈高丰度;而 MUC5B 产生较多的腺体等区域,SPDEF 表达则较少<sup>[17]</sup>。有数据证实,正常小鼠的气管、支气管上皮和气管腺体中均可检测到 SPDEF,在体外其可增强表面活性蛋白 A(surfactant-associated protein A, Sftpa) 基因启动子的活性,与甲状腺转录因子 1(thyroid transcription factor 1, TTF-1) 共转染后可进一步激活 Sftpa 启动子<sup>[5]</sup>,表明 SPDEF 是调节气道上皮合成分泌等相关基因表达的重要调制因子;转基因小鼠气道中 Clara 细胞过表达 SPDEF 后,杯状细胞数目显著增多,MUC5AC 分泌显著增加,进一步提示 SPDEF 是调节气道上皮分化的“主角”<sup>[5]</sup>。

证据显示,一系列相关基因构成的复杂网络介导了杯状细胞的分化,其中 SPDEF 是该事件的核心

一环,其可诱导各种杯状细胞基因的表达,如 MUC5AC、人前梯度蛋白和糖基转移酶等<sup>[5,9,18]</sup>。叉头盒 A2 蛋白(forkhead box A2, FOXA2)已被证实是杯状细胞分化的有效抑制蛋白,IL-13 刺激人支气管上皮细胞后,其表达下调;而转染 SPDEF siRNA 后,该下调被显著逆转<sup>[19]</sup>。有报道发现,SPDEF 还可诱导气道上皮细胞中叉头盒 A3 蛋白(forkhead box A3, FOXA3)产生,后者可引起成年小鼠肺组织中的杯状细胞化生<sup>[20]</sup>。新近研究显示,Runt 相关转录因子 2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)是杯状细胞分化的新型调节剂,可与 SPDEF 启动子结合并致 SPDEF 转录激活,最终通过上调 SPDEF 水平、促进杯状细胞分化<sup>[21]</sup>(图 1C)。

另一方面,近年来发现 MUC5B 对于正常黏膜纤毛清除和先天免疫功能非常重要<sup>[22]</sup>,但 SPDEF 对 MUC5B 的调节作用尚不清楚。SPDEF 可调节气道上皮细胞内 MUC5B 基线水平,但不影响以 MUC5B 为主导的黏液阻塞(由气道脱水引起)模型小鼠气道中 MUC5B 的调节,故 SPDEF 可能并非是具有此类特征疾病的治疗靶点<sup>[23]</sup>。此外,研究发现 SPDEF 除了在杯状细胞化生、黏液分泌调节过程中起关键作用外,还通过结合并抑制接头蛋白髓样分化因子 88(myeloid differentiation primary response protein 88, MyD88)和 Toll 样受体衔接分子 1(toll-interleukin 1 receptor domain-containing adapter molecule 1, TICAM-1),在气道上皮细胞中发挥抗炎作用。该抗炎作用可能在抑制气道感染或抑制气道损伤中不可控炎症等方面起重要作用<sup>[24]</sup>。

### 4 调控 SPDEF 的相关药物研究

研究发现,信号转导和转录激活因子 6(signal transducer and activator of transcription 6, STAT6)的抑制剂可有效抑制 IL-13 诱导的 SPDEF 及 MUC5AC 表达,提示 IL-13 通过 STAT6 介导 MUC5AC 合成的转录网络中,SPDEF 是关键分子<sup>[19]</sup>。有证据显示,松树皮萃取物碧萝芷(pycnogenol)可抑制哮喘小鼠肺中 SPDEF、FOXA3 及 MUC5AC 的表达,并通过抑制 IL-13/JAK/STAT6 通路、阻断乙酰胆碱释放等减少杯状细胞化生<sup>[25]</sup>;克拉霉素可部分抑制氯离子通道辅助蛋白 1 和 SPDEF,并通过减弱细胞外信号调节激酶磷酸化,抑制 IL-13 诱导的杯状细胞化生和 MUC5AC 产生<sup>[26]</sup>。2017 年,一种新的叉头盒 M1 蛋白(forkhead box M1, FOXM1)抑制剂 RCM-1(Robert Costa Memorial drug-1)被首次鉴定,其可下调 SP-



DEF表达,有效预防杯状细胞化生<sup>[27]</sup>。此外双荧光素酶报告实验提示,SPDEF可能还是miR-125b的作用靶标,miR-125b可在转录后水平调节SPDEF表达。鼻内给予miR-125b可降低SPDEF蛋白水平,阻止杯状细胞分化、黏液分泌过多和相关基因表达改变,表明miR-125b可以通过抑制SPDEF表达来调节哮喘中的杯状细胞分化和黏液分泌<sup>[12]</sup>(图1C)。综上所述,上述药物可从转录水平、转录后水平等多方面调控SPDEF的表达,控制杯状细胞化生,避免气道黏液过度分泌,从而延缓哮喘、COPD、囊性纤维化等慢性肺病的进展。

## 5 展 望

生理情况下,杯状细胞对于维持气道黏膜内稳态至关重要,它可以分泌黏蛋白构成气道黏液屏障、参与形成黏膜固有免疫功能。病理情况下,杯状细胞化生会导致黏液分泌过多,干扰正常的黏液纤毛运输系统。SPDEF在调节气道对病原体或有害物质反应的基因网络中起着核心作用,尤其在杯状细胞化生过程中起关键调控作用。由于黏液过度生成是促成急、慢性肺部疾病的重要发病机制之一,系统了解SPDEF在气道中的功能,为多种急、慢性肺部疾病的诊断和治疗提供了新策略,调控气道上皮细胞SPDEF表达的新药研发可能是今后研究关注的热点。

### [参考文献]

[1] Oettgen P, Finger E, Sun Z, et al. PDEF, a novel prostate epithelium-specific ets transcription factor, interacts with the androgen receptor and activates prostate-specific antigen gene expression [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (2) : 1216-1225

[2] Cao L, Xu C, Xiang G, et al. AR-PDEF pathway promotes tumour proliferation and upregulates MYC-mediated gene transcription by promoting MAD1 degradation in ER-negative breast cancer[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1):136

[3] Lo YH, Noah TK, Chen MS, et al. SPDEF induces quiescence of colorectal cancer cells by changing the transcriptional targets of  $\beta$ -catenin [J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(1):205-218

[4] Tsui KH, Lin YH, Chung LC, et al. Prostate-derived ets factor represses tumorigenesis and modulates epithelial-to-mesenchymal transition in bladder carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2016, 375(1):142-151

[5] Park KS, Korfhagen TR, Bruno MD, et al. SPDEF regulates goblet cell hyperplasia in the airway epithelium [J].

*J Clin Invest*, 2007, 117(4):978-988

[6] Song J, Cano-Rodriguez D, Winkle M, et al. Targeted epigenetic editing of SPDEF reduces mucus production in lung epithelial cells [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 312(3):L334-L347

[7] Oikawa T. Molecular biology of the Ets family of transcription factors [J]. *Gene*, 2003, 303:11-34

[8] Wang Y, Feng L, Said M, et al. Analysis of the 20 A crystal structure of the protein-DNA complex of the human PDEF Ets domain bound to the prostate specific antigen regulatory site [J]. *Biochemistry*, 2005, 44 (19) : 7095-7106

[9] Chen G, Korfhagen TR, Xu Y, et al. SPDEF is required for mouse pulmonary goblet cell differentiation and regulates a network of genes associated with mucus production [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(10):2914-2924

[10] Chen EB, Zhou SL, Pang XG, et al. Prostate-derived ETS factor improves prognosis and represses proliferation and invasion in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(32):52488-52500

[11] Wu J, Qin W, Wang Y, et al. SPDEF is overexpressed in gastric cancer and triggers cell proliferation by forming a positive regulation loop with FoxM1 [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11):9042-9054

[12] Liu Z, Chen X, Wu Q, et al. miR-125b inhibits goblet cell differentiation in allergic airway inflammation by targeting SPDEF [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 782:14-20

[13] Song J, Heijink IH, Kistemaker LEM, et al. Aberrant DNA methylation and expression of SPDEF and FOXA2 in airway epithelium of patients with COPD [J]. *Clin Epigenetics*, 2017, 9:42

[14] Nakamura H, Tomuschat C, Coyle D, et al. Altered goblet cell function in Hirschsprung's disease [J]. *Pediatr Surg Int*, 2018, 34(2):121-128

[15] Reader JR, Tepper JS, Schelegle ES, et al. Pathogenesis of mucous cell metaplasia in a murine asthma model [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(6):2069-2078

[16] Evans CM, Raclawska DS, Tofali F, et al. The polymeric mucin Muc5ac is required for allergic airway hyperreactivity [J]. *Nat Commun*, 2015, 6:6281

[17] Plantier L, Crestani B, Wert SE, et al. Ectopic respiratory epithelial cell differentiation in bronchiolised distal airspaces in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Thorax*, 2011, 66(8):651-657

[18] Rajavelu P, Chen G, Xu Y, et al. Airway epithelial SPDEF integrates goblet cell differentiation and pulmonary Th2 inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125 (5) : 2021-2031

[19] Yu H, Li Q, Kolosov VP, et al. Interleukin-13 induces mu-

- cin 5AC production involving STAT6/SPDEF in human airway epithelial cells[J]. *Cell Commun Adhes*, 2010, 17(4-6):83-92
- [20] Chen G, Korfhagen TR, Karp CL, et al. Foxa3 induces goblet cell metaplasia and inhibits innate antiviral immunity [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(3):301-313
- [21] Shi N, Zhang J. Runx2, a novel regulator for goblet cell differentiation and asthma development[J]. *FASEB J*, 2017, 31(1):412-420
- [22] Roy MG, Livraghi-Butrico A, Fletcher AA, et al. Muc5b is required for airway defence [J]. *Nature*, 2014, 505(7483):412-416
- [23] Chen G, Volmer AS, Wilkinson KJ, et al. Role of Spdef in the regulation of Muc5b expression in the airways of naïve and muco-obstructed mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2018, 59:383-396
- [24] Korfhagen TR, Kitzmiller J, Chen G, et al. SAM-pointed domain ETS factor mediates epithelial cell -intrinsic innate immune signaling during airway mucous metaplasia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(41):16630-16635
- [25] Liu Z, Han B, Chen X, et al. Pycnogenol ameliorates asthmatic airway inflammation and inhibits the function of goblet cells[J]. *DNA Cell Biol*, 2016, 35(11):730-739
- [26] Nagashima A, Shinkai M, Shinoda M, et al. Clarithromycin suppresses chloride channel accessory 1 and inhibits interleukin-13-induced goblet cell hyperplasia in human bronchial epithelial cells [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(11):6585-6590
- [27] Sun L, Ren X, Wang IC, et al. The FOXM1 inhibitor RCM-1 suppresses goblet cell metaplasia and prevents IL-13 and STAT6 signaling in allergen -exposed mice [J]. *Sci Signal*, 2017, 10(475):eaai8583

[收稿日期] 2018-10-23

## 诚聘医学杂志编辑

《Journal of Biomedical Research》是由南京医科大学主办,面向全球发行的英文学术双月刊,旨在增进各国生物医学研究者间的交流沟通。本刊现诚聘编辑一名,职责如下:

- 独立完成日常稿件处理工作;
- 协助执行主编处理编辑部日常事务;
- 与作者联络,负责跟进稿件及投稿咨询;
- 邀请专家同行评审,与评审人约定稿件返回日期。向作者反馈同行评审意见,确保作者按要求修改稿件;
- 按排版格式要求及时进行文章的编辑加工;
- 与作者沟通校对稿及修改事宜,确保稿件及时修回;
- 在重点研究领域积极拓展文章选题;
- 协助执行主编与顶尖专家开展视频专访,准备相关问题,安排访谈日程;
- 确保出版内容与预期目标和日程相符;
- 在公开场合(如学术会议)中推广本刊。

应聘人员须具有博士学位,临床医学或生物医学专业为佳;具有良好的英语写作能力;能与同事高效合作,头脑冷静,方法灵活。有编辑经验者优先考虑,无经验亦可,由编辑部提供相关培训。工作地点为《Journal of Biomedical Research》编辑部(南京医科大学江宁校区),享受标准福利待遇,进编。应聘者请提交简历及求职信至邮箱 xihan@njmu.edu.cn,咨询电话 025-86869291。