

儿童原发性纤毛运动障碍、囊性纤维化发病机制及基因诊断进展

刘璇, 舒畅

重庆医科大学附属儿童医院呼吸科; 儿童发育疾病研究教育部重点实验室; 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心; 儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地; 儿科学重庆市重点实验室, 重庆

收稿日期: 2022年3月18日; 录用日期: 2022年4月12日; 发布日期: 2022年4月19日

摘要

在气道中, 纤毛与气道黏液协同作用组成黏液纤毛清除系统清除呼吸道吸入的颗粒和病原体。正常情况下, 纤毛通过有节律的摆动, 将包裹异物或病原体的黏液排到咽喉部。低渗性黏液的主要作用包括屏障病原体入侵, 保证纤毛正常摆动, 并且气道黏液的固有免疫能够直接对病原体进行非特异性清除。本文将总结气道黏液纤毛清除的分子和细胞机制, 并对其功能障碍导致的先天性疾病如原发性纤毛运动障碍、囊性纤维化的发病机制、基因诊断的最新进展进行综述。

关键词

原发性纤毛运动障碍, 囊性纤维化, 基因, 气道黏液纤毛清除系统

Research Progress on Pathogenesis and Gene Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia and Cystic Fibrosis in Children

Xuan Liu, Chang Shu

Department of Respiratory Medicine; Children's Hospital of Chongqing Medical University; Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders; National Clinical Research Center for Child Health and Disorders; China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders; Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing

Received: Mar. 18th, 2022; accepted: Apr. 12th, 2022; published: Apr. 19th, 2022

文章引用: 刘璇, 舒畅. 儿童原发性纤毛运动障碍、囊性纤维化发病机制及基因诊断进展[J]. 临床医学进展, 2022, 12(4): 2912-2917. DOI: 10.12677/acm.2022.124419

Abstract

In the airway, the cilia work together with airway mucus to form a mucociliary clearance that removes particles and pathogens inhaled by the respiratory tract. Normally, the cilia move in rhythmic movements to expel mucus surrounding a foreign body or pathogen to the throat. The main effects of hypotonic mucus include barrier pathogen invasion, ensuring normal cilia movement, and innate immunity of airway mucus to directly and non-specifically eliminate pathogens. In this review, we will summarize the molecular and cellular mechanisms of ciliary clearance of airway mucus, and review the latest advances in genetic diagnosis of congenital diseases such as primary ciliary movement disorder, and cystic fibrosis caused by its dysfunction.

Keywords

Primary Ciliary Dyskinesia, Cystic Fibrosis, Genes, Pulmonary Mucociliary Clearance

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

黏液纤毛清除系统(mucociliary clearance, MCC)是呼吸道抵御吸入空气中的病原体、污染物和过敏原的重要的清除防御机制之一[1]。这个系统主要由两个组成部分组成: 1) 杯状细胞和粘膜下腺体分泌的黏液, 可以捕获微生物和碎片; 2) 排列在气道上的毛发状的运动纤毛, 通过向前有效划动和向后回复性划动, 最后产生有效的推进力运输粘液[2]。任何一种组成成分的缺陷都会损害肺清除吸入颗粒物的能力, 使呼吸道容易受到病原微生物的定植和感染[3]。MCC 的疾病与慢性气道疾病有关, 如以粘液过度增厚为特征的囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)和以纤毛功能直接受损为特征的原发性纤毛运动障碍(Primary Ciliary Dyskinesia, PCD)。复发性肺部感染是 CF 和 PCD 患者的常见症状[2]。在这篇综述中, 我们总结了目前 MCC 的组成部分的知识, 描述了原发性纤毛运动障碍、囊性纤维化致病机制及相关基因研究的进展。

2. PCD

原发性纤毛运动障碍(Primary Ciliary Dyskinesia, PCD)是一种少见的、高度异质性的常染色体隐性遗传疾病或 X 连锁相关的双等位基因突变遗传疾病[4]。对于儿童来说, 主要导致支气管纤毛清除障碍、反复的胸部感染和肺部结构的进行性破坏[5], 常造成慢性、反复呼吸道感染, 主要临床表现为慢性湿咳、鼻窦炎、支气管扩张、中耳炎和新生儿呼吸窘迫[6]。约 50% 患儿合并内脏转位, 为 PCD 的一个特殊亚群, 也称为 Kartagener 综合征(KS) [7]。

2.1. PCD 与气道运动纤毛

气道上皮细胞约有 200 根运动纤毛, 这些纤毛从上皮细胞的顶端表面延伸到细胞外空间, 主要由轴丝、基质和纤毛膜组成[8]。运动纤毛是复杂的、特化的杆状细胞器, 有节奏地搏动, 产生同步协调波, 使流体和黏液从气管、副鼻窦和咽鼓管向矢量方向移动, 可产生功能性纤毛运动[9]。呼吸道的运动纤毛

具有复杂的轴突结构, 每根纤毛都含有一组由 α 和 β 微管蛋白单体组成的螺旋状原丝, 这些原丝构成了 α 和 β 微管, 在正常的运动纤毛中, 由 9 对整齐顺时针排列的二联体外周微管所包围, 创造了在透射电子显微照片上观察到的横断面上的特征“9 + 2”结构[10]。运动纤毛的外周微管有明显的内臂(inner dynein arm, IDA)和外臂(outer dynein arm, ODA), 由若干重链、中链和轻链组成, 分别以 96 和 24 nm 的间隔重复连接[11]。外动力蛋白臂上的轴突动力蛋白是多头运动蛋白, 通过腺苷三磷酸酶活性产生动力, 转化为两个相邻小管的受控滑动运动。内动力蛋白臂通过动力蛋白调节复合物调节微管滑动和纤毛运动, 该复合物由多种蛋白质组成, 协调多种动力蛋白的活动, 控制纤毛搏动。动力蛋白调节复合物位于连接蛋白链(N-DRC)内, 连接蛋白链是一种弹性元件, 将相邻的外周微管连接起来, 限制微管的滑动。径向辐条(Radial spokes, RS)连接中央微管和外部双峰, 也调节动力蛋白的活动, 可能是通过与动力蛋白调节复合物和内动力蛋白臂的相互作用[12]。除了构成纤毛结构成分的蛋白质外, 还有一组预组装因子, 它们对纤毛的正常组装至关重要, 但它们存在于细胞质中, 而不是纤毛本身[13]。这一庞大的群体被认为在纤毛组件的组装中发挥关键作用, 基部体是新纤毛生长过程中另外一个重要的结构。基底体由过渡纤维组成, 过渡纤维是鞭毛内运输所必需的, 并形成基底足以帮助固定生长的纤毛。基底足必须保持一个方向以产生协调的运动, 而与基底足相互作用的蛋白质变异可以改变这个方向并产生 PCD 表型[14]。细胞内和细胞间对纤毛运动的调节尚不完全清楚, 但有几种信号机制调节纤毛搏动频率, 如气道一氧化氮。人的运动纤毛的正常搏动频率在 8~14 拍/秒之间, 但运动可以被上皮表面环境的变化、各种污染物和感染性损伤所改变。

2.2. PCD 相关基因

PCD 是一种遗传异质性疾病, 在大多数情况下, PCD 是通过常染色体隐性遗传模式遗传的, 但也有 X 染色体连锁遗传[15]。已知的 PCD 致病基因已经增加到 51 个[16], 而且这个数字还在增长, >70% 的患者在这些基因中有一个有双等位基因突变[17]。大多特定基因的突变可预测纤毛超微结构的变化, 比如编码外动力蛋白臂或内动力蛋白臂的蛋白质成分的基因突变可导致这些结构的缺陷; 而编码参与纤毛装配相关的细胞质蛋白的基因突变导致外动力蛋白臂和内动力蛋白臂的缺陷, 由于动力蛋白臂作为 ATP 依赖的纤毛运动马达, 这些结构的缺陷会导致纤毛运动障碍; 编码中央微管和径向辐条组成部分的基因突变导致这些结构的缺陷, 从而导致纤毛搏动频率和搏动协调的异常; 编码 N-DRC 复合体的基因突变导致该结构和功能缺陷, 使纤毛摆动形式的异常, 但纤毛超微结构的改变不易发现; FOXJ1 [14]、CCNO 与 MCIDAS 基因编码蛋白都与中心粒的生成及位置有关, 参与多种运动纤毛的早期分化过程, 此类基因缺陷患者纤毛上皮细胞纤毛数量明显减少[5] [8]。

原发性纤毛运动障碍相关基因可根据纤毛超微结构表型分为六大类。一为基本正常的超微结构: DNAH11、CCDC164、CCDC65、RPGR、OFD1; 二为外动力臂缺陷: DNAH5、DNAI1、DNAI2、TXNDC3、DNAL1、CCDC103、CCDC114、CCDC151、ARMC4、DNAH1、TTC25; 三为内外动力臂缺陷: DNAAF1、DNAAF2、DNAAF3、HEATR2、LRRC6、SPAG1、ZMYND10、DYX1C1、CCDC103、PIH1D3、CFAP300、CFAP298; 四为内动力蛋白臂缺陷伴轴突紊乱: CCDC39、CCDC40、GAS8、TTC12; 五为中央微管、辐射轮缺陷: RSPH1、RSPH3、RSPH9、RSPH4A、HYDIN、DNAJB13; 六为纤毛减少或缺失: FOXJ1、CCNO、MCIDAS [14] [17]。约 90% 的 PCD 患者发现纤毛超微结构缺陷, 累及外动力蛋白臂、内动力蛋白臂或两者[18]。

3. CF

囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)是由于囊性纤维化跨膜传导调节子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)基因变异引起 CFTR 蛋白功能缺陷[19], 从而导致外分泌腺功能障碍, 并累及肺、

胰腺、生殖腺等多个脏器的一种常染色体隐性遗传病[20]。CF 最常见的症状包括进行性肺病和慢性消化疾病[21], 慢性肺部细菌感染是患者死亡的主要原因[22]。

3.1. CF 与气道粘液

气道表面顶端为一层复杂排列的气道表面液体(airway surface layer, ASL), 由顶端的一层捕获吸入病原体 and 碎片的胶状粘液层, 下面一层起润滑作用的低粘度 periciliary 液层(Pericellular fluid layer, PCL)组成 [1] [23]。其主要作用包括屏障病原体入侵, 保证纤毛正常摆动, 并且气道黏液的固有免疫能够直接对病原体进行非特异性清除[3]。离子通道活性是维持气道表面液层(ASL)在适当高度有效 MCC 的关键。这主要是通过氯通道、囊性纤维化跨膜电导调节(CFTR)和钠通道、上皮钠通道(ENaC)分别调控 Cl^- 分泌和 Na^+ 吸收实现的[24]。囊性纤维化跨膜电导调节蛋白(CFTR)突变导致氯离子和碳酸氢盐进入 ASL 的分泌受损, HCO_3^- 分泌的减少可能导致上皮表面 pH 值的降低, 这已被证明会阻碍细菌的杀灭; 并且导致液体高吸收和随后的上皮表面脱水, 黏液成分发生了根本性改变, 产生了高浓度黏液层。超过 5% 固体的临界浓度, 黏液层的渗透压超过 PCL 的渗透压, 使纤毛受压、扁平, 致纤毛跳动受损, 黏液清除率降低。这些导致粘液淤积, 粘液斑块和粘液堵塞在气道腔内形成, 最终导致气道堵塞、慢性细菌感染、炎症和气道组织损伤(支气管扩张) [21]。

3.2. CF 突变基因

囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)是一种常染色体隐性遗传性疾病, 主要由囊性纤维化跨膜转导调节蛋白(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)基因突变所致[25]。CFTR 基因最早于 1989 年由 Riordan 等发现, 该基因位于 7 号染色体长臂, 全长约 250 kb [26], CFTR 基因编码在各种上皮细胞的顶膜中表达的环磷酸腺苷(cAMP)调节氯离子通道[27], 除了控制氯的分泌外, 该通道还调节其他膜蛋白的功能, 包括上皮钠通道(ENaC), CFTR 和 ENaC 通过控制水通过上皮细胞的运动在维持体内平衡中发挥着重要作用, 这对粘膜尤其重要。目前已报道 2000 多个 CFTR 基因突变位点, 根据突变对 CFTR 功能的影响可分为 6 型: I 型: CFTR 蛋白合成受阻, 多引起无义突变或移码突变; II 型: 影响 CFTR 正常加工或转运过程, 使蛋白不能正常地折叠及成熟, 在内质网中发生降解, 多发生错义突变, 如在欧美人群中最常见的突变 Phe508del; 国外文献报道约 50% 的 CF 患者为 Phe508del 纯合子, 另有 40% 为复合杂合子, 伴有一个 Phe508del 突变和另一个 CF 致病突变[28]。III 型: 又称为“门控突变”, CFTR 的调节区受到破坏, 使之不能正常开启, 进而丧失离子通道功能; IV 型: 改变通道的传导性或对离子的选择性, 降低氯离子的转运; V 型: 影响 RNA 剪接, 阻碍 mRNA 合成, 同时产生正常和异常的转录因子, 使正常功能的 CFTR 蛋白质减少; VI 型: 细胞表面 CFTR 蛋白稳定性降低。在我国 CF 患者中出现频率最高的为 c.2909G>A/G970D 位点。

4. 总结

原发性纤毛运动障碍(PCD)和囊性纤维化(CF)是遗传决定的疾病, 涉及不同的基本缺陷, 但两者都表现出黏液纤毛清除受损, 导致生命早期的慢性感染和肺破坏[29]。随着基因研究的迅速发展, 对于其病因及发病机制的认识更加深入, 也得以更好地了解基因型与表型的关系, 基因测序技术的成熟与成本的降低, 也使得基因检测在临床实践中得以应用, 可弥补传统诊断方法的不足。

参考文献

- [1] Bustamante-Marin, X.M. and Ostrowski, L.E. (2017) Cilia and Mucociliary Clearance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9, a028241. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028241>

- [2] Kuek, L. and Lee, R. (2020) First Contact: The Role of Respiratory Cilia in Host-Pathogen Interactions in the Airways. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology*, **319**, L603-L619. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00283.2020>
- [3] 卢燕鸣, 周文静. 儿童气道黏液高分泌及清除机制[J]. 中国实用儿科杂志, 2018, 33(3): 175-179.
- [4] 徐保平, 蔡栩栩, 朱春梅, 等. 儿童原发性纤毛运动障碍诊断与治疗专家共识[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(2): 94-99.
- [5] Tilley, A., Walters, M., Shaykhiev, R., et al. (2015) Cilia Dysfunction in Lung Disease. *Annual Review of Physiology*, **77**, 379-406. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021014-071931>
- [6] Guan, Y., Yang, H., Yao, X., et al. (2021) Clinical and Genetic Spectrum of Children with Primary Ciliary Dyskinesia in China. *Chest*, **159**, 1768-1781. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2021.02.006>
- [7] Guo, Z., Chen, W., Wang, L., et al. (2020) Clinical and Genetic Spectrum of Children with Primary Ciliary Dyskinesia in China. *The Journal of Pediatrics*, **225**, 157-165.e5. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2020.05.052>
- [8] 王昊, 徐保平. 儿童原发性纤毛运动障碍遗传发病机制与基因诊断研究进展[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2021, 36(10): 786-789.
- [9] Knowles, M., Daniels, L., Davis, S., et al. (2013) Primary Ciliary Dyskinesia. Recent Advances in Diagnostics, Genetics, and Characterization of Clinical Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **188**, 913-922. <https://doi.org/10.1164/rccm.201301-0059CI>
- [10] Antony, D., Brunner, H.G. and Schmidts, M. (2021) Ciliary Dyneins and Dynein Related Ciliopathies. *Cells*, **10**, 1885. <https://doi.org/10.3390/cells10081885>
- [11] Pazour, G.J., Quarmby, L.M., Smith, A.O., et al. (2019) Cilia in Cystic Kidney and Other Diseases. *Cellular Signalling*, **69**, Article ID: 109519. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2019.109519>
- [12] Bustamante-Marin, X.M., Horani, A., Stoyanova, M., et al. (2020) Mutation of CFAP57, a Protein Required for the Asymmetric Targeting of a Subset of Inner Dynein Arms in Chlamydomonas, Causes Primary Ciliary Dyskinesia. *PLoS Genetics*, **16**, e1008691. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008691>
- [13] Lee, C., Cox, R., Papoulas, O., et al. (2020) Functional Partitioning of a Liquid-Like Organelle during Assembly of Axonemal Dyneins. *eLife*, **9**, e58662. <https://doi.org/10.7554/eLife.58662>
- [14] Brennan, S., Ferkol, T. and Davis, S. (2021) Emerging Genotype-Phenotype Relationships in Primary Ciliary Dyskinesia. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 8272. <https://doi.org/10.3390/ijms22158272>
- [15] Wheway, G., et al. (2019) Opportunities and Challenges for Molecular Understanding of Ciliopathies—The 100,000 Genomes Project. *Frontiers in Genetics*, **10**, Article No. 127. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00127>
- [16] Zhao, X., Bian, C., Liu, K., et al. (2021) Clinical Characteristics and Genetic Spectrum of 26 Individuals of Chinese Origin with Primary Ciliary Dyskinesia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, **16**, 293. <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01840-2>
- [17] Horani, A. and Ferkol, T. (2018) Advances in the Genetics of Primary Ciliary Dyskinesia: Clinical Implications. *Chest*, **154**, 645-652. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.05.007>
- [18] Zariwala, M., Knowles, M. and Omran, H. (2007) Genetic Defects in Ciliary Structure and Function. *Annual Review of Physiology*, **69**, 423-450. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.69.040705.141301>
- [19] Farrell, P., White, T., Ren, C., et al. (2017) Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *The Journal of Pediatrics*, **181S**, S4-S15.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.09.064>
- [20] 郭伟. 囊性纤维化的诊断与治疗进展[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(14): 1118-1120.
- [21] Ehre, C., Ridley, C. and Thornton, D.J. (2014) Cystic Fibrosis: An Inherited Disease Affecting Mucin-Producing Organs. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **52**, 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2014.03.011>
- [22] Choi, S.H. and Engelhardt, J.F. (2021) Gene Therapy for Cystic Fibrosis: Lessons Learned and Paths Forward. *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*, **29**, 428-430. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.01.010>
- [23] Mckelvey, M.C., Brown, R., Ryan, S.A.M., et al. (2021) Proteases, Mucus, and Mucosal Immunity in Chronic Lung Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 5018. <https://doi.org/10.3390/ijms22095018>
- [24] 王琳, 聂宏光. 离子转运参与肺纤维化发病机制的研究进展[J]. 生理科学进展, 2020, 51(1): 33-35.
- [25] Raraigh, K.S., Aksit, M.A., Hetrick, K., Pace, R.G., Ling, H., O'Neal, W., Blue, E., Zhou, Y.H., Bamshad, M.J., Blackman, S.M., Gibson, R.L., Knowles, M.R. and Cutting, G.R. (2021) Complete CFTR Gene Sequencing in 5,058 Individuals with Cystic Fibrosis Informs Variant-Specific Treatment. *Journal of Cystic Fibrosis*. (Epub Ahead of Print) <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2021.10.011>
- [26] Lee, J., Cho, A., Huang, E., et al. (2021) Gene Therapy for Cystic Fibrosis: New Tools for Precision Medicine. *Journal*

of Translational Medicine, **19**, 452. <https://doi.org/10.1186/s12967-021-03099-4>

- [27] 高立伟, 徐保平. 关注儿童囊性纤维化[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2018, 33(4): 309-312.
- [28] Ren, C., Morgan, R., Oermann, C., *et al.* (2018) Cystic Fibrosis Foundation Pulmonary Guidelines. Use of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Modulator Therapy in Patients with Cystic Fibrosis. *Annals of the American Thoracic Society*, **15**, 271-280. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201707-539OT>
- [29] Ring, A.M., Buchvald, F., Holgersen, M.G., *et al.* (2018) Fitness and Lung Function in Children with Primary Ciliary Dyskinesia and Cystic Fibrosis. *Respiratory Medicine*, **139**, 79-85. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2018.05.001>