

# P 物质与角膜病变

张媛 贾卉 郝继龙

**【摘要】** P 物质是脑内重要的神经递质,广泛分布于神经系统和外周组织中,具有多种生物学功能。近年来在角膜病变中的作用日益受到重视。本文主要就其对角膜上皮细胞的迁移及创伤愈合的作用作一综述。

**【关键词】** P 物质;角膜病

P 物质(substance P, SP),是脑内重要的神经递质。它是速激肽家族中的一种,来源于前速激肽原(preprotachykinin, PPT)A 基因编码的三种 PPT,即  $\alpha$ PPT,  $\beta$ PPT 和  $\gamma$ PPT。SP 的化学结构为十一肽,分子量为 1348。SP 广泛分布于神经系统和外周组织中,其作用主要是参与感觉信息传递、痛觉调制、唾液分泌、胃肠活动、心血管活动、神经内分泌、呼吸及行为、造血、神经营养等活动的调节。速激肽的受体分为 NK1、NK2 和 NK3 三型。SP 对 NK1 受体的亲和力较高,对 NK2 受体和 NK3 受体的亲和力较低。SP 的拮抗剂有 sendide、spantide、CP96345、RP67580、SR48968、CP122721 等。

## 一、内源性 SP 在角膜上皮细胞和基质细胞中的表达

在角膜,分泌 SP 的三叉神经末梢分布在角膜上皮<sup>[1]</sup>。近年的研究认为,SP 除了神经组织产生外,别的细胞也可产生。Watanabe 等<sup>[2]</sup>利用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和酶联免疫吸附法在培养的人角膜上皮细胞和培养的人角膜基质细胞中检测出内源性 SP 的 mRNA 的表达,用 RT-PCR 检测出神经激肽受体-1(NK-1R)的 mRNA 在人角膜上皮细胞和基质细胞表达。表明内源性 SP 以自分泌或旁分泌的方式调控人角膜上皮细胞和基质细胞的生物学功能。关于内源性 SP 的特性,有报道人类角质化细胞产生的 SP 量可被外源性 SP 增加,SP 的合成可因加入肾上腺素、乙酰胆碱、降钙素、基因相关肽和组胺而增加<sup>[3]</sup>。

## 二、SP 对角膜上皮迁移和创伤愈合的作用

### (一)SP 与胰岛素样生长因子-1 或表皮生长因

### 子协同刺激角膜上皮迁移

在上皮创伤愈合的过程中,上皮细胞的迁移是创伤愈合的最初阶段。Nakamura 等<sup>[4,5]</sup>利用培养的兔角膜上皮细胞实验证实,在单独使用 SP 或胰岛素样生长因子-1(IGF-1)时不影响角膜上皮的迁移,然而在 SP 与 IGF-1 协同作用时可刺激角膜上皮迁移。单独使用表皮生长因子(EGF)可刺激角膜上皮的迁移,SP 可增强这一作用。其他神经递质(血管活性肠肽、降钙素、氯化乙酰胆碱、5-羟色胺、去甲肾上腺素等)或速激肽(神经激肽 A、神经激肽 B、肛褶肠肽、泡蛙肽等)则不表现出与 IGF-1 或 EGF 对上皮迁移的协同作用。SP 与 IGF-1 或 EGF 协同刺激角膜上皮迁移的作用可被 SP 拮抗剂或脑啡肽酶所阻断。SP 与 IGF-1 的协同作用是通过速激肽受体 NK1 系统完成的<sup>[6]</sup>。NK1 受体兴奋剂代替 SP 与 IGF-1 联合使用时,对角膜上皮细胞迁移可产生相同的协同作用,而 NK2 受体和 NK3 受体兴奋剂无此效应。与此同时,NK1 受体拮抗剂可阻断 SP 与 IGF-1 的协同作用,而 NK2 受体拮抗剂无此作用。这说明在保持角膜完整性和促进角膜上皮损伤修复的过程中,神经因素和体液因素均发挥作用。

辣椒素是一种消耗 SP 的化合物,在许多动物全身给药时可导致神经营养不良性角膜病变。给鼠注射辣椒素后可致角膜上皮屏障功能减退及上皮损伤修复延迟。Nakamura 等<sup>[7]</sup>在给注射辣椒素的小鼠联合应用含有 SP 与 IGF-1 的滴眼液后发现,与仅安慰剂滴眼液相比,角膜上皮屏障功能明显改善,并且上皮损伤修复的速度也明显提高。

角膜的神经支配对维持角膜上皮的完整性和屏障功能起重要作用。对鼠三叉神经眼支采用热凝固术致角膜去神经支配,引起神经营养不良性角膜病

变,如泪液分泌减少、角膜感觉丧失、上皮屏障功能减退、上皮创伤愈合延迟等。对去神经支配眼给予含有 SP 和 IGF-1 的滴眼液后能使角膜上皮荧光素渗透恢复到对照眼的水平,并能加快角膜上皮创伤愈合。此结果亦证实联合应用含有 SP 与 IGF-1 的滴眼液能够改善角膜上皮的屏障功能并刺激角膜上皮创伤愈合<sup>[8]</sup>。

### (二)SP 与 IGF-1 协同作用所必需的最小氨基酸序列

SP 是由 11 个氨基酸组成的速激肽家族中的一员,速激肽家族 C 端有着共同的氨基酸序列,即最后 3 个氨基酸为 G-L-M,第 4 个可以是任意氨基酸,第 5 个是 F,其一般结构为 FXGLM。SP 的 C 端 4 个氨基酸序列为苯丙氨酸-甘氨酸-亮氨酸-蛋氨酸(FGLM)。Chikama 等<sup>[9]</sup>利用培养的 SV40 转化的人角膜上皮细胞研究发现,联合应用 FGLM 与 IGF-1 或 SP 与 IGF-1 均能明显增加与基质纤连蛋白黏附的细胞数和整合素  $\alpha 5$  的表达。表明 SP C 端的 4 个氨基酸序列在与 IGF-1 对上皮细胞与基质纤连蛋白黏附的协同作用是与 SP 分子完全相似的。FGLM 是 SP 与 IGF-1 协同促进角膜上皮迁移和上皮损伤修复所必需的最小氨基酸序列。有报道一例由三叉神经麻痹引起的持续性角膜上皮缺损的神经营养不良性角膜病变患者,用含有 FGLM 和 IGF-1 的滴眼液在 2 周内成功地修复了受损的上皮<sup>[10]</sup>。

Yamada 等<sup>[11]</sup>对 IGF 的相关功能区也进行了研究。IGF-1 和-2 由四个功能区组成,即 A、B、C 和 D,在 FGLM-NH<sub>2</sub> 存在的条件下,IGF-1 或-2 C 区相应的肽在体内促进角膜上皮迁移的程度与分子全长的作用相似。相比,D 区相应的肽则无此作用。IGF-1 C 区的丝氨酸-34 转变成丙氨酸后使其失去了与 FGLM-NH<sub>2</sub> 对角膜上皮的迁移作用。用含有 IGF-1 C 区肽和 FGLM-NH<sub>2</sub> 的滴眼液能够显著促进角膜上皮创口关闭。结果表明 IGF-1 或-2 的 C 区是与 SP 协同促进角膜上皮迁移的必需部分。

### (三)SP 与 IGF-1 协同刺激角膜上皮迁移的机制

有关 SP 与 IGF-1 协同刺激角膜上皮迁移的机制尚不十分清楚,由整合素激活粘着斑激酶(FAK)介导的信号转导可能起重要作用。

整合素是一类重要的多种细胞外基质蛋白的细胞表面受体,主要介导细胞与胞外基质的黏附,有的还可介导细胞间的黏附。近年研究表明,整合素可

作为介导信号传递的膜分子,通过独特的途径转导信号,参与细胞多种生理功能和病理变化,如细胞分化、增殖、伸展和迁移以及肿瘤的侵袭和转移等。在整合素介导的信号转导中酪氨酸磷酸化起着关键性作用。整合素介导的细胞与细胞外基质的粘连引起 FAK、粘着斑和吻蛋白的磷酸化,并可激活促丝裂原活化蛋白(MAP)激酶。FAK 是一种非受体酪氨酸激酶,活化的 FAK 进而通过下游的与信号转导有关的多种分子激活多条信号转导通路。因此 FAK 被认为是整合素依赖性信号转导通路的基础分子,在整合素的信号转导途径中起关键作用。

SP 与 IGF-1 在体内外均能协同刺激角膜上皮细胞迁移。为弄清这一机制,Nakamura 等<sup>[12,13]</sup>分别在兔角膜上皮细胞和培养的 SV40 转化的人角膜上皮细胞中检测整合素  $\alpha 5\beta 1$  的表达和 FAK 及吻蛋白的酪氨酸磷酸化水平。整合素  $\alpha 5\beta 1$  是兔角膜上皮细胞表面纤连蛋白的主要受体,在培养的兔角膜上皮细胞,SP 与 IGF-1 联合作用可明显增加与纤连蛋白黏附的细胞数及整合素  $\alpha 5$  的表达。然而细胞与纤连蛋白的黏附可被 GRGDSP(一种拟纤连蛋白的人工肽)抑制。因此 SP 与 IGF-1 协同增加角膜上皮细胞与纤连蛋白的黏附部分由角膜上皮细胞整合素  $\alpha 5$  的表达上调所致。单独使用 SP 或 IGF-1 不改变 FAK 与吻蛋白的酪氨酸磷酸化,而 SP 与 IGF-1 联合作用则可使 FAK 与吻蛋白的酪氨酸磷酸化上调,FAK 与吻蛋白的酪氨酸磷酸化也是通过整合素介导的细胞与细胞外基质黏附调控的。相比并未观察到 SP 与 IGF-1 联合对 MAP 激酶的活化作用,表明 SP 与 IGF-1 协同促进角膜上皮创伤愈合是通过激活整合素、FAK 及吻蛋白系统表达的。

Yamada 等<sup>[14]</sup>最新研究表明:不仅 IGF-1 来源的肽(C 区肽)而且纤连蛋白或 IL-6 亦能促进角膜上皮迁移,SP 来源的四肽 FGLM-NH<sub>2</sub> 可以改变这种量-效关系来降低浓度。SP 的这种作用可被磷脂酶 C 抑制剂,1、4、5 三磷酸肌醇受体抑制剂和  $Ca^{2+}$  / 钙调素依赖型蛋白激酶 II 抑制剂所阻断。SP 可通过 NK1 受体激活上皮细胞的  $Ca^{2+}$  / 钙调素依赖型蛋白激酶 II,对角膜上皮创伤愈合起重要调节器的作用,因此可通过各种生物制剂致敏他们而引起角膜上皮迁移。这为角膜创伤的治疗提供了新的方法。

SP 与 IGF-1 或 EGF 协同刺激角膜上皮细胞的迁移过程,必须首先将细胞外信号转换成细胞内信号。Ofuji 等<sup>[15]</sup>报道蛋白激酶 C (PKC)在此过程中

发挥重要作用, cAMP 或 cGMP 起次要作用。此后又研究发现 PKC 抑制剂 H-7 和钙感光蛋白 C 均能抑制 SP 与 IGF-1 对角膜上皮的迁移作用, 但不影响 SP 与 EGF-1 的作用。而酪氨酸激酶 (TK) 抑制剂染料黄木酮和除莠霉素 A 对 SP 与 IGF-1 或 EGF 的促进细胞迁移作用均能够抑制。这提示 SP 与 IGF-1 的协同作用可能需要 PKC 和 TK 两个信号转导途径参与, 而 SP 与 EGF 的协同作用可能仅需要 TK 依赖的信号转导途径<sup>[16]</sup>。

#### (四) SP 对糖尿病患者的作用

糖尿病患者角膜上皮的创伤愈合经常被延迟。Nakamura 等<sup>[17]</sup>利用由链尿霉素诱导的糖尿病鼠模型研究 SP 来源的肽 (FGLM-NH<sub>2</sub>) 与 IGF-1 对糖尿病鼠角膜上皮创伤愈合的影响。结果发现加安慰剂的糖尿病鼠角膜上皮创伤愈合的速度较非糖尿病鼠慢, 然而用 FGLM-NH<sub>2</sub> 与 IGF-1 治疗的糖尿病鼠角膜上皮创伤愈合的速度明显较用安慰剂的糖尿病鼠快。正常鼠和用 FGLM-NH<sub>2</sub> 与 IGF-1 治疗的糖尿病鼠角膜上皮创伤愈合的速度几乎相似。FGLM-NH<sub>2</sub> 与 IGF-1 联合促进糖尿病鼠角膜上皮的创伤愈合提示, 该治疗方法可能对糖尿病患者的角膜病变有效。

#### 三、SP 与角膜感觉减退

由外伤、手术或单疱病毒感染引起的角膜去神经支配经常导致神经营养不良性角膜病变, 尽管完整的三叉神经对角膜感觉的营养作用机制尚不十分清楚, 由轴突释放的神经肽包括 SP 和降钙素基因相关肽可能与此机制有关<sup>[18]</sup>。为确定 SP 的含量与角膜感觉减退的关系, Yamada 等<sup>[19]</sup>对 16 例单侧角膜感觉减退患者泪液中 SP 的含量进行了检测, 结果发现较正常眼泪液中 SP 的含量明显减少。但是分析揭示角膜感觉减退的严重程度与患眼泪液中 SP 的浓度无明显关系, 而与临床上支配的持续时间有关。认为泪液中 SP 的浓度反映眼组织中神经肽的水平, 然而泪液中 SP 的来源仍不清楚。SP 及其代谢物是正常人泪液的组成成分, 其浓度与性别或年龄无明显关系, SP 的水平反映眼表去神经支配的状态<sup>[20]</sup>。用双氯芬酸钠眼液点眼能够降低泪液中 SP 的浓度从而促进角膜并发症的发生<sup>[21]</sup>。

#### 四、小结

SP 在角膜病变中作用的研究尽管取得了一定成果, 但很多关键性问题仍有待进一步解决, 如是否角膜上皮细胞和基质细胞在体内产生 SP, SP 与

IGF-1 协同刺激角膜上皮迁移的具体机制等。此外利用动物模型所取得的研究结果是否适用于人类还有待于进一步研究。

#### 参 考 文 献

- 1 Kinoshita S, Keratitis N, Sasaki K, et al. Ganka new insight 5. Cell biology of corneal disorders. Tokyo: Medical View, 1995. 54-64.
- 2 Watanabe M, Nakayasu K, Iwatsu M, et al. Endogenous substance P in corneal epithelial cells and keratocytes. Jpn J Ophthalmol, 2002, 46: 616-620.
- 3 Bae S, Matsunaga Y, Tanaka Y, et al. Autocrine induction of substance P mRNA and peptide in cultured normal human keratinocytes. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 263: 327-333.
- 4 Nishida T, Nakamura M, Ofuji K, et al. Synergistic effect of substance P with insulin-like growth factor-1 on epithelial migration of the cornea. J Cell Physiol, 1996, 169: 159-166.
- 5 Nakamura M, Nishida T, Ofuji K, et al. Synergistic effect of substance P with epidermal growth factor on epithelial migration in rabbit cornea. Exp Eye Res, 1997, 65: 321-329.
- 6 Nakamura M, Ofuji K, Chikama T, et al. The NK1 receptor and its participation in the synergistic enhancement of corneal epithelial migration by substance P and insulin-like growth factor-1. Br J Pharmacol, 1997, 120: 547-552.
- 7 Nakamura M, Kawahara M, Nakata K, et al. Restoration of corneal epithelial barrier function and wound healing by substance P and IGF-1 in rats with capsaicin-induced neurotrophic keratopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44: 2937-2940.
- 8 Nagano T, Nakamura M, Nakata K, et al. Effects of substance P and IGF-1 in corneal epithelial barrier function and wound healing in a rat model of neurotrophic keratopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44: 3810-3815.
- 9 Chikama T, Nakamura M, Nishida T, et al. Up-regulation of integrin  $\alpha 5$  by a C-terminus four-amino-acid sequence of substance P (phenylalanine-glycine-leucine-methionine-amide) synergistically with insulin-like growth factor-1 in SV-40 transformed human corneal epithelial cells. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 255: 692-697.
- 10 Chikama T, Fukuda K, Morishige N, et al. Treatment of neurotrophic keratopathy with substance-P-derived peptide (FGLM) and insulin-like growth factor-1. Lancet, 1998, 351: 1783-1784.
- 11 Yamada N, Yanai R, Nakamura M, et al. Role of the C domain of IGFs in synergistic promotion, with a substance P-derived peptide, of rabbit corneal epithelial wound healing. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45: 1125-1131.
- 12 Nakamura M, Chikama T, Nishida T, et al. Up-regulation of integrin  $\alpha 5$  expression by combination of substance P and insulin-like growth factor-1 in rabbit corneal epithelial cells. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 246: 777-782.
- 13 Nakamura M, Nagano T, Chikama T, et al. Up-regulation of phosphorylation of focal adhesion kinase and paxillin by combination

- of substance P and insulin-like growth factor-1 in SV-40 transformed human corneal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 242:16-20.
- 14 Yamada N, Yanai R, Inui M, et al. Sensitizing effect of substance P on corneal epithelial migration induced by IGF-1, fibronectin, or interleukin-6. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46:833-839.
  - 15 Ofuji K, Nakamura M, Nagano T, et al. Essential role of a protein kinase C (PKC) signal transduction system in corneal epithelial migration. In: Lass JH, ed. *Advances in corneal research*. New York: Plenum Press, 1997. 391-397.
  - 16 Ofuji K, Nakamura M, Nishida T, et al. Signaling regulation for synergistic effects of substance P and insulin-like growth factor-1 or epidermal growth factor on corneal epithelial migration. *Jpn J Ophthalmol*, 2000, 44:1-8.
  - 17 Nakamura M, Kawahara M, Morishige N, et al. Promotion of corneal epithelial wound healing in diabetic rats by the combination of a substance P-derived peptide (FGLM-NH<sub>2</sub>) and insulin-like growth factor-1. *Diabetologia*, 2003, 46:839-842.
  - 18 Stone RA, Kurwayama Y, Laties AM, et al. Regulatory peptides in the eye. *Experientia*, 1987, 43:791-800.
  - 19 Yamada M, Ogata M, Kawai M, et al. Decreased substance P concentrations in tears from patients with corneal hypesthesia. *Am J Ophthalmol*, 2000, 129:671-672.
  - 20 Yamada M, Ogata M, Kawai M, et al. Topical diclofenac sodium decreases the substance P content of tears. *Arch Ophthalmol*, 2002, 120:51-54.
  - 21 Yamada M, Ogata M, Kawai M, et al. Substance P in human tears. *Cornea*, 2003, 22(7 Suppl):S48-54.

(收稿日期: 2005-11-25)

## ·综述·

# 良性淋巴上皮病变的概念及其诊断

汪亮 杨华胜

**【摘要】** 良性淋巴上皮病变是一种慢性特发性炎症,是局限于泪腺、涎腺的自身免疫性疾病,不伴有眼干及全身免疫性疾病,与 Sjögren 综合征有相同的组织病理学改变和类似的临床表现,在临床常常被误诊。本文就良性淋巴上皮病变和 Sjögren 综合征两者的关系及其诊断、鉴别诊断作一综述。

**【关键词】** 良性淋巴上皮病变; Sjögren 综合征; 淋巴瘤

良性淋巴上皮病变(benign lymphoepithelial lesion, BLEL)是指淋巴细胞弥漫性浸润泪腺和涎腺,同时腺体内肌导管上皮细胞反应性增生,即病变组织内同时有淋巴细胞与肌上皮细胞的一种良性病变。BLEL 是一种发病率较低的自身免疫性疾病。临床上多见于单侧或双侧腮腺、颌下腺受累,也可发生在腭腺,少数病例累及泪腺。病变的腺体一般呈弥漫性无痛性肿大,少数也可呈结节状肿大,除出现口干外不伴有全身结缔组织疾病。目前国内外对此病的诊断、归类和治疗还存在许多争议。在文献报道中, BLEL 有众多别名,如泪腺-唾液腺肥大综合征、泪腺涎腺病变综合征、Mikulicz 病、Mikulicz-Sjögren 综合征等。由于该病常被误诊<sup>[1]</sup>且有一定的恶变倾向<sup>[2,3]</sup>,已引起越来越多学者的重视。

### 一、概述

作者单位:510060 广州,中山大学中山眼科中心

BLEL 最早由波兰学者 Mikulicz 在 1888 年报道,主要特点为泪腺、涎腺慢性对称性无痛性肿大。后来多数学者将这类双侧泪腺及涎腺无痛性肿大,同时伴有眼干、口干的疾病称作 Mikulicz 病。若同时伴有一些全身性疾病如网状细胞增多症、类肉瘤病、白血病、流行性腮腺炎、巨球蛋白血症等则称为 Mikulicz 综合征。1952 年 Godwin<sup>[4]</sup>将临床诊断为 Mikulicz 病、慢性炎症、淋巴上皮瘤等病例做了细致的病理观察,发现这些病变的病理改变基本一致,即淋巴细胞浸润并置换腺组织,导管上皮增生成团,从而引入了“良性淋巴上皮病变”一名。Morgan 等(1953)又提出上皮-肌上皮岛概念,描述了 BLEL 病灶中所特有的导管上皮和肌上皮细胞增生所形成的上皮岛组织学形态。并在 1983 年提出 Mikulicz 病不是独立的病变,而是 Sjögren 综合征(SS)全身受累表现的一部分<sup>[5]</sup>。过去一段时间人们一直把泪腺和涎腺的炎性肿大诊断为 Mikulicz 病,因此它必