

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.19.046

# 人音猬因子相互作用蛋白基因与慢性阻塞性肺疾病

王 晶 于方飞 刘雅欣 吴德臣 于百全 邵玉霞<sup>△</sup>

(哈尔滨医科大学附属第二医院 呼吸科 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**慢性阻塞性肺疾病是呼吸系统常见慢性疾病。该疾病的发病与环境及多基因变异有关。近年的研究显示,人音猬因子相互作用蛋白基因参与多个系统疾病的发生发展,尤其对于呼吸系统该基因与慢性阻塞性肺疾病发病密切相关,该基因上某些单核苷酸多态性与慢性阻塞性肺疾病易感性相关,且在慢性阻塞性肺疾病患者肺组织内存在该基因低表达。另外,该基因与 FEV1 和 FEV1 / FVC 关系密切,对肺功能有保护作用。目前的研究提示该基因和音猬信号通路在肺胚胎发育、基因表达调控、细胞增殖、细胞凋亡和平滑肌修复等方面发挥着重要调控作用,为慢性阻塞性肺疾病发病机制的研究指明了方向。本文就人音猬因子相互作用蛋白基因与慢性阻塞性肺疾病相关性的研究进展作一综述。

**关键词:**慢性阻塞性肺疾病;人音猬因子相互作用蛋白基因;音猬信号通路;肺功能;单核苷酸多态性

**中图分类号:**R563 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)19-3770-03

## The Role of HHIP in COPD

WANG Jing, YU Fang-fei, LIU Ya-xin, WU De-chen, YU Bai-quan, SHAO Yu-xia<sup>△</sup>

(Department of Respiration, the second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

**ABSTRACT:** Chronic obstructive pulmonary disease is a common chronic respiratory diseases. Pathogenesis of COPD related to environmental and genetic variations. The present study confirms HHIP gene is associated with the occurrence and development of multiple system disease. Especially, HHIP gene is associated with COPD. In the current study, SNPs near HHIP were found to be associated with susceptibility of COPD. Genetic variants in HHIP are associated with FEV1 and FEV1 / FVC in subjects with COPD. HHIP protect pulmonary function. The genes and the Hh signaling pathway has been implicated in regulating gene expression in the lung, embryonic development, cell proliferation, apoptosis and smooth muscle repair. HHIP plays a role in development of COPD.

**Key words:** COPD; HHIP; Hh pathway; Lung function; Single nucleotide polymorphisms

**Chinese Library Classification(CLC):** R563 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2015)19-3770-03

### 前言

慢性阻塞性肺疾病(Chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是普通人群中常见慢性疾病。到 2030 年,慢性阻塞性肺疾病将成为世界第三大致死性疾病。COPD 是以不完全可逆气流受限为特征的复杂疾病,重度吸烟是 COPD 重要危险因素,但仅有 10-20%重度吸烟者发病,少数不吸烟者也会患 COPD<sup>[1]</sup>。另外,COPD 起病隐匿,一部分患者发病十几年后才被诊断,但已错过最佳治疗时间。因此,该病的早期诊断、早期干预是研究重点,需要建立能预测 COPD 发病风险的评估工具。研究发现,COPD 的发病机制不仅与环境因素有关,多基因变异也是其发病的重要原因<sup>[2]</sup>。近几年,全基因组关联分析(Genome-wide association study, GWAS)成为调查基因与复杂疾病关系的普遍研究方法, GWAS 发现了重要的 COPD 和肺气肿相关基因位点<sup>[3-5]</sup>,尤其是 4q31 上的人音猬因子相互作用蛋白(Human hedgehog interacting protein, HHIP)基因在肺的形态

形成和肺损伤调控中占有重要地位。另外,表达数量性状座位(eQTL)的方法<sup>[6-7]</sup>被应用于基因研究,用该方法观察到 COPD 患者被切除肺组织中有调控 HHIP 基因的表达数量性状座位。本文着重就 HHIP 与 COPD 的关系作一综述。

### 1 HHIP 与 Hh 信号通路

HHIP 基因位于染色体 4q31.21-31.3 上,编码跨膜糖蛋白-HHIP,该蛋白最初是在研究鼠类 cDNA 时被发现,其主要功能是负反馈调节 Hedgehog(Hh)信号通路活性。Hh 信号系统广泛存在于从低等动物到高等动物中,是细胞生长、发育和细胞分化等方面所必须的一个信号系统。脊椎动物的 Hh 信号通路由 3 个配体[Shh(Sonic hedgehog),Dhh(Desert hedgehog),Ihh(Indian hedgehog)],2 个跨膜受体[Ptc(Patched),Smo(Smoothen)],3 个转录因子[Gli1, Gli2, Gli3]及其下游的目标基因等组成。3 个配体中的一个与跨膜蛋白受体 Ptc 结合后可以启动该信号通路,该结合体可以抑制跨膜受体 Smo 的活性, Smo 负责管理转录因子 Gli1, Gli2 和 Gli3, Gli 家族被激活后可以调控 Hh 目标基因转录,其中包括 Ptc 和 Gli 的转录。HHIP 可以在所有 Hh 靶组织中表达,同时可以降解 Hh 配体,因此 HHIP 可以被称为 Hh 通路的天然拮抗者。对于呼吸系统,HHIP 对肺形态的形成至关重要,特别是在肺形成早期。小鼠胚胎时期 HHIP 功能缺失导致小鼠肺组织发育受抑制,致使新生小鼠呼吸衰竭和死亡。

作者简介:王晶(1976-),女,硕士,住院医师,主要研究方向:慢性阻塞性肺疾病,电话:13351288357, E-mail:jingwang20@163.com

△通讯作者:邵玉霞(1952-),女,硕士,主任医师,

E-mail:shaoyuxia45@163.com

(收稿日期:2015-01-25 接受日期:2015-02-18)

在人类胚胎时期,Hh 通路功能障碍可导致严重的肺畸形。

## 2 HHIP 单核苷酸多态性位点与 COPD:

HHIP 基因单核苷酸位点与 COPD 发病相关性研究日益受到各国研究者的重视。Pillai 等人在 2009 年的研究中发现 HHIP 基因中 rs10519717 与 COPD 急性发作的频率有密切关系<sup>[8]</sup>。在波兰,315 例严重 COPD 患者和 330 例吸烟者对照分析发现 HHIP 基因的 rs1542725 多态性可增加 COPD 发病易感性<sup>[9]</sup>。

HHIP 基因对肺功能的影响已经得到证实,不同国家不同种族的研究者就这一课题进行了研究。Pillai 等人首次对挪威 823 例 COPD 患者及 810 例吸烟者对照分析,发现了 4 号染色体上 HHIP 基因与 FEV1 /FVC 相关,可能是慢性阻塞性肺疾病重要风险基因<sup>[8,10]</sup>。Hancock 等人的研究<sup>[11]</sup>和弗雷明汉心脏研究<sup>[12]</sup>也确定了 HHIP 基因和 FEV1 /FVC 之间的联系。以上研究主要是针对白种人的相关性研究。另一项部分针对非洲裔美国人的研究也得出了相同的结果<sup>[13]</sup>。最近,针对亚洲人群的研究也取得了进展,以韩国人为对象的研究证明 HHIP 附近 rs11938704 和 rs10013495 多态性与 FEV1 有关,但与 FEV1 /FVC 无相关性<sup>[14]</sup>。而在中国,BO 等人在汉族人群中,调查了 COPD 易感性是否与 HHIP 有关,研究了 680 位 COPD 患者和 687 位健康对照者,选择了 6 个单核苷酸多态性位点(rs1828591,rs13118928, rs6817273, rs10519717, rs12504628, rs13147758),结果显示 rs12504628 与 FEV1/FVC 有相关性,这与 Pillai 和 Wilk 等人报道的非亚洲人群的研究结果相同,同时还发现 HHIP SNP rs10519717 与重到极重度 COPD 有关,rs10519717 是 COPD 保护性因素<sup>[15]</sup>。另外,COPD 严重度通常由 FEV1 为标准分为轻度、中度、重度和极重度,研究者们对不同严重程度 COPD 患者分别进行了试验。一个关于波兰白人的研究显示,HHIP 基因单核苷酸多态性与重到极重度 COPD 有关,其潜在遗传因素的影响比中度 COPD 更有意义<sup>[16]</sup>。Pillai 等人揭示了人 4 号染色体上 HHIP 基因单核苷酸多态性与中重度慢性阻塞性肺疾病的肺功能水平密切相关<sup>[15]</sup>。最近,轻度肺气肿的易感性被揭示与 HHIP 的单核苷酸多态性显著相关<sup>[9]</sup>。另外,有证据显示 HHIP 基因 rs1980057 多态性与 GOLD 1 的 COPD 患者 FEV1%预计值有关<sup>[17]</sup>,这说明轻度 COPD 也受 HHIP 基因影响,进一步证实了 HHIP 对 COPD 肺功能的重要调控作用。

吸烟是 COPD 发病重要的环境因素,长期吸烟导致支气管上皮损伤,基因的研究也得到证实,但是这样的结果并不能在其他研究中被完全重复。一项以母亲妊娠期间吸烟的儿童为对象的研究揭示,香烟暴露儿童 HHIP 基因的 rs1828591 多态性与肺功能减低有关,可增加 COPD 发病风险<sup>[18]</sup>。鹿特丹研究包括 742 例 COPD 受试者,结论为 HHIP 基因的 rs1828591 and rs13118928 与 COPD 风险显著有关。值得注意的是,在这项研究中,吸烟的数量与 COPD 易感性有显著的关联,这在高吸烟组最为明显<sup>[19]</sup>。然而,Dr Sreekumar 在全基因组关联研究中没有得出相同的结论。在针对中国汉族的研究也没有得出与 Dr Durme 一致的结果。不同研究就同一课题得出矛盾的结果,可以用种族,基因异质性,统计因素等来解释。HHIP 基因与 COPD 相关性可能存在种族差异。上述研究结果矛盾也提示我们关于这一课题的研究还不够充分,还需要进一步的研究论证。

## 3 HHIP 参与 COPD 发病的机制探寻

### 3.1 增强子

距 HHIP 基因 85 kb 位置发现一个具有增强子功能的染色体循环区域。带有增强子区域的 COPD 风险单体型 HHIP 表达减少,该单体型中的 rs1542725 C 等位基因可增加与转录因子 Sp3 的结合,Sp3 抑制翻译后修饰,导致 HHIP 水平降低。COPD 风险单体型通过降低增强子活性调控 HHIP 基因启动,较低的 HHIP 表达可能增加吸烟所致 COPD 的发病率<sup>[9]</sup>。

### 3.2 细胞生长通路

在肺上皮细胞中,HHIP 基因沉默后 296 个基因表达水平有重大改变。这其中大多数基因与细胞增殖和细胞外基质有着直接或间接的联系,其中最有意義的差异表达基因是细胞周期和增殖相关基因,如 G0S2, CCND1, FGF2, BIRC5 和 TGM2 表达减少,而抗增殖基因 BTG2 表达增加<sup>[20]</sup>。针对小鼠的研究“发现 HHIP 缺失导致小鼠小肠上皮过度增生。相似的规律在人正常肺上皮细胞中也可见到。此外,Hh 信号通路转录因子 Gli2 可通过调节细胞周期调节蛋白 D1 的表达,调控肺上皮细胞的生长<sup>[21]</sup>可想而知,HHIP 在上皮细胞的修复和增殖过程中起到重要调节作用。

### 3.3 细胞外基质

Syndecan-1(SDC1)编码类肝素硫酸蛋白聚糖跨膜蛋白,该蛋白既是细胞外基质的一个重要组成部分,也可调节基质组成<sup>[22]</sup>,同时增加细胞骨架的稳定性,进一步实现了对细胞-细胞外基质的粘附作用。肺部感染时它还通过移除 C-X-C 趋化因子防止肺上皮细胞损伤<sup>[23]</sup>。HHIP 作为细胞的膜蛋白,可以直接与 SDC1 结合。HHIP 缺失后,人类支气管上皮细胞和肺组织中 SDC1 基因表达显著减少。这可能是 HHIP 影响细胞外基质的机制之一。另外,HHIP 缺失影响膜结合蛋白 RECK 的基因表达,RECK 可以抑制基质金属蛋白酶,包括 MMP2、MMP7、MMP9<sup>[24]</sup>的转录,合成和激活。MMP-9 是调节细胞外基质代谢的主要限速酶,对气道有炎症破坏作用。研究发现诱导痰中 MMP-9、TIMP-1 的比值失调与哮喘、COPD 气道炎症和气流受限相关,MMP-9、TIMP-1 在细胞外基质重塑和气流限制中起作用<sup>[25]</sup>。因此,HHIP 对 SDC1 和 RECK 基因的调控作用可能参与了 COPD 气道重塑过程。

### 3.4 细胞凋亡

细胞凋亡与 COPD 发病机制有关。HHIP 目标基因 FGF-2<sup>[26]</sup>和 ATF5<sup>[27]</sup>调节 Bcl-2(B 细胞淋巴瘤)抗凋亡蛋白质和促凋亡蛋白 Bax 的表达,从而减少协同表达,这是吸烟诱导细胞死亡的机制之一。此外,HHIP 的另一个目标基因 BIRC5 是一种抗凋亡蛋白,通过依赖和非依赖方式<sup>[28]</sup>调节含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶,从而干预细胞死亡。吸烟诱导肺损伤后,HHIP 缺失导致细胞中 FGF2、ATF5 和 BIRC5 表达减少,促进细胞凋亡。

### 3.5 平滑肌细胞

SHH 促进血管平滑肌的生长和生存<sup>[29]</sup>。胚胎时期,Hh 信号通路调控肺间质干细胞分化为气道平滑肌细胞。远端肺间质的干细胞在 Shh 信号调控下,通过诱导平滑肌肌动蛋白,逐渐向近端气道迁移分化为气道平滑肌细胞。Hh 信号通路调控失常,导致细胞平滑肌细胞生长缺陷,引起肺组织结构塌陷。另外,有证据显示 Shh 信号促进平滑肌再生和血管床的修复,受损血管的内膜平滑肌细胞是内源 Hh 信号的主要靶点。血管损伤后,体内 Shh 信号诱导内膜平滑肌细胞 Ptc1 受体表达增加,Gli 表达显著提高,并协同增加 Notch 基因和血管内皮生长因子 A 的表达<sup>[30]</sup>,从而修复受损的平滑肌细胞。如果相似的情况出现在肺血管,Hh 信号通路与平滑肌的相关理论可能也会成为 COPD 发病机制之一。

#### 4 小结与展望

综上所述, HHIP 基因及 Hh 信号通路与 COPD 的易感性有着密切的关系, HHIP 基因是 COPD 的一种保护性基因, 该基因的缺失将导致 COPD 发病高风险。上述结论可能与以下几点相关: 首先, HHIP 影响肺功能, 防止 COPD 易感者的 FEV1 和 FEV1 / FVC 下降。其次, HHIP 对其他基因有调控作用, 可以调节细胞的分化, 增殖和凋亡。另外, 该基因可以调节细胞外基质的成分, 参与气道重塑。最后, HHIP 通过影响气道平滑肌的厚度和调控受损平滑肌修复, 又与 COPD 的气流受限密切相关。40 多年前, COPD 患者中  $\alpha$ -1 抗胰蛋白酶缺失的发现, 导致 COPD 的蛋白酶-抗蛋白酶失衡假说的发展。随着 Hh 信号通路进一步研究, 可能为 COPD 的发病机制提供新的见解。与此同时, 如何利用 HHIP 基因的调控来预防和治疗 COPD 也是未来的研究方向。

#### 参考文献(References)

- [1] Seifart C, Plagens of chronic obstructive pulmonary disease :a succinct review, future avenues and prospective clinical applications [J]. Pharmacogenomics, 2009, 10(4): 655-667
- [2] Bossé Y. Genetics of chronic obstructive pulmonary disease: a succinct review, future avenues and prospective clinical applications [J]. Pharmacogenomics, 2009, 10 (4): 655-667
- [3] Todd JL, Goldstein DB, Ge D, et al. The state of genome-wide association studies in pulmonary disease [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 184: 873-880
- [4] Mateusz Siedlinski, Dustin Tingley, Peter J. Lipman, et al. Dissecting direct and indirect genetic effects on chronic obstructive pulmonary disease (COPD) susceptibility[J]. Hum Genet, 2013, 132(4): 431-441
- [5] Castaldi PJ, Cho MH, San José Esté par R, et al. Genome-Wide Association Identifies Regulatory Loci Associated with Distinct Local Histogram Emphysema Patterns [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2014, 190(4): 399-409
- [6] Sin, D., Lamontagne, M., Couture, C., et al. Refining susceptibility loci of chronic obstructive pulmonary disease with lung eqtls [J]. PLoS ONE, 2013, 8: e70220
- [7] Peter J. Castaldi, Michael H. Cho, et al. Genetic control of gene expression at novel and established chronic obstructive pulmonary disease loci[J]. Hum Mol Genet, 2015, 24(4): 1200-1210
- [8] Silverman EK, Spira A, Paré PD, et al. Genetics and genomics of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Proc Am Thorac Soc[J]. 2009, 6(6): 539-542
- [9] Castaldi PJ, Dy J, Ross J, et al. Cluster analysis in the COPD Gene study identifies subtypes of smokers with distinct patterns of airway disease and emphysema[J]. Thorax, 2014, 69(5): 415-22
- [10] Pillai SG, Ge D, Zhu G, et al. A genome-wide association study in chronic obstructive pulmonary disease ( COPD): identification of two major susceptibility Loci[J]. PLoS Genet, 2009, 5(3): 1-8
- [11] Hancock DB, Eijgelsheim M, Wilk JB, et al. Meta-analyses of genome-wide association studies identify multiple loci associated with pulmonary function[J]. Nat. Genet, 2010, 42: 45-52
- [12] Wilk JB, Chen TH, Gottlieb DJ, et al. A genome-wide association study of pulmonary function measures in the FraminghamHeart Study [J]. PLoS Genet, 2009, 5: 1-8
- [13] Li X, Howard TD, Moore WC, et al. Importance of hedgehog interacting protein and other lung function genes in asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 127: 1457-65
- [14] Woo Jin Kim, Yeon-mok OH, Jin Hwa Lee, et al. Genetic variants in HHIP are associated with FEV1 in subjects with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Respiriology, 2013, 18: 1202-1209
- [15] BoWang, Haixia Zhou, Jing Yang, et al. Association of HHIP polymorphisms with COPD and COPD-related phenotypes in a Chinese Han population[J]. Gene, 2013, 531: 101-105
- [16] Zhou X, Baron RM, Hardin M, et al. Identification of a chronic obstructive pulmonary disease genetic determinant that regulates HHIP[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21: 1325-1335
- [17] Jin Hwa Lee, Michael H. Cho, Merry-Lynn N, et al. Phenotypic and genetic heterogeneity among subjects with mild airflow obstruction in COPD[J]. Gene Respiratory Medicine, 2014, 108: 1469-1480
- [18] Marjan Kerkhof, MD, PhD,a,b H. Marika Boezen, et al. Transient early wheeze and lung function in early childhood associated with chronic obstructive pulmonary disease genes [J]. Allergy Clin Immunol, 2014: 68-76
- [19] Van Durme, Y.M., Eijgelsheim, M., Joos, G.F., et al. Hedgehog-interacting protein is COPD susceptibility gene: the Rotterdam Study [J]. Eur Respir J, 2010, 36: 89-95
- [20] Xiaobo Zhou, Weiliang Qiu, J. Fah Sathirapongsasuti, et al. Gene expression analysis uncovers novel hedgehog interacting protein (HHIP) effects in human bronchial epithelial cells [J]. Genomics, 2013, 1-10
- [21] M. Rutter, J.Wang, Z. Huang, et al. Gli2 influences proliferation in the developing lung through regulation of cyclin expression [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2010, 42: 615-625
- [22] Y. Choi,H. Chung, H. Jung, et al. Syndecans as cell surface receptors: unique structure equates with functional diversity [J]. Matrix Biol, 2011, 30: 93-99
- [23] K. Hayashida, W.C. Parks, P.W. Park, Syndecan-1 shedding facilitates the resolution of neutrophilic inflammation by removing sequestered CXC chemokines[J]. Blood, 2009, 114: 3033-3043
- [24] S. Takagi, S. Simizu, H. Osada, RECK negatively regulatesmatrixmetalloproteinase-9 transcription[J]. Cancer Res, 2009, 69: 1502-1508
- [25] Xin XF, Zhao M, Li ZL, et al. Metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in induced sputum in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease and their relationship to airway inflammation and airflow limitation [J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases, 2007, 30(3): 192-196
- [26] C. Sgadari, G. Barillari, C. Palladino, et al. Fibroblast growth factor-2 and the HIV-1 Tat protein synergize in promoting Bcl-2 expression and preventing endothelial cell apoptosis: implications for the pathogenesis of AIDS-associated kaposi's sarcoma [J]. Int J Vasc Med, 2011, 4527-4529
- [27] D. Dluzen, G. Li, D. Tacelosky, et al. BCL-2 is a downstreamtarget of ATF5 that mediates the prosurvival function of ATF5 in a cell type-dependent manner[J]. J Biol Chem, 2011, 286: 7705-7713
- [28] C.H. Cheung, L. Cheng, K.Y. Chang, et al. Investigations of survivin: the past, present and future[J]. Front Biosci, 2011, 16: 952-961
- [29] Morrow D, Sweeney C, Birney YA, et al. Biomechanical regulation of hedgehog signaling in vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 292: C488-496
- [30] David Morrow, John P. Cullen, Weimin Liu, et al. Sonic Hedgehog Induces Notch Target Gene Expression in Vascular Smooth Muscle Cells via VEGF-A [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(7): 1112-1118