

胸腺肽 β_4 在眼表疾病中的保护作用

刘菁华¹, 李 轩^{1,2}

引用:刘菁华,李轩. 胸腺肽 β_4 在眼表疾病中的保护作用. 国际眼科杂志 2019;19(3):402-404

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81170828);天津市应用基础与前沿技术研究计划项目(No.15JCZDJC35300);天津市卫计委科技攻关项目(No.14KG133)

作者单位:¹(300070)中国天津市,天津医科大学眼科临床学院;²(300020)中国天津市眼科医院 天津市眼科研究所 天津市眼科学与视觉科学重点实验室

作者简介:刘菁华,在读硕士研究生,研究方向:角膜的损伤与愈合。

通讯作者:李轩,主任医师,研究员,博士研究生导师,研究方向:角膜的损伤与愈合.xuanli08@yahoo.com

收稿日期:2018-09-18 修回日期:2019-01-17

摘要

胸腺肽是一种在多种组织结构中广泛分布且具有多种生物活性的蛋白。分为三种亚型:胸腺肽 α 、胸腺肽 β 、胸腺肽 γ 。其中胸腺肽 β 家族中以胸腺肽 β_4 (T β_4) 在正常人体中的分布最为广泛。已有大量研究证实,T β_4 具有抗炎、抗凋亡、促增殖等作用。而眼表疾病大多与眼表上皮的损伤及炎症有关,因此促进损伤修复、愈合及抗炎成为治疗眼表疾病的关键。本文将主要介绍 T β_4 的分布、结构、合成及其在眼表疾病中的保护作用。

关键词:胸腺肽 β_4 ;眼表疾病;保护作用

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.3.12

Protective effect of thymosin β_4 in ocular surface diseases

Jing-Hua Liu¹, Xuan Li^{1,2}

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81170828); Applied Basic and Frontier Technology Research Project of Tianjin (No.15JCZDJC35300); Tianjin Health and Family Planning Communication Foundation (No.14KG133)

¹Clinical College of Ophthalmology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; ²Tianjin Eye Hospital, Tianjin Eye Institute, Tianjin Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin 300020, China

Correspondence to: Xuan Li. Clinical College of Ophthalmology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; Tianjin Eye Hospital, Tianjin Eye Institute, Tianjin Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin 300020, China. xuanli08@yahoo.com

Received:2018-09-18 Accepted:2019-01-17

Abstract

• Thymosin is a kind of protein that is widely distributed

in many tissues. It has many biological activities. Thymosin is divided into three subtypes: thymosin α , thymosin β and thymosin γ . Thymosin β_4 (T β_4) is the most widely distributed in normal human body. A large number of studies have confirmed that T β_4 has the functions of anti-inflammatory, anti-apoptosis and promoting proliferation. Ocular surface diseases are mostly related to ocular surface injury and inflammation. Therefore, promoting wound repair and healing and anti-inflammatory are the key to the treatment of ocular surface diseases. The present review mainly introduces the distribution, structure, synthesis of T β_4 and its protective effect on ocular surface.

• KEYWORDS: thymosin β_4 ; ocular surface diseases; protective functions

Citation: Liu JH, Li X. Protective effect of thymosin β_4 in ocular surface diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(3):402-404

0 引言

1966年,Goldstein等^[1]成功从小牛的胸腺组织中提取出胸腺肽(Thymosin),胸腺肽也因此得名。随着研究的深入,学者们发现胸腺肽在多种组织结构中广泛分布且具有多种生物活性的蛋白。且研究表明,胸腺肽在免疫调节、血管生物学和癌症发病机制中发挥着重要作用,甚至还可作为诊断及评估某些疾病预后的分子标记及治疗疾病的药物。自然条件下,胸腺肽为高电荷的非结构短肽蛋白。根据其等电点的不同,胸腺肽被分为三个亚型:胸腺肽 α (Thymosin α , T α , pI<5.0),胸腺肽 β (Thymosin β , T β , 5.0<pI<7.0);胸腺肽 γ (Thymosin γ , T γ , pI>7.0)。研究表明,目前,在正常人体中表达的 T β 家族仅发现三种:胸腺肽 β_4 (Thymosin β_4 , T β_4),胸腺肽 β_{10} (Thymosin β_{10} , T β_{10})及胸腺肽 β_{15} (Thymosin β_{15} , T β_{15}),其中以 T β_4 的表达量最高^[2]。近年来的研究表明,T β_4 具有促进细胞迁移、促血管生成、抗炎、抗凋亡、促进伤口愈合、抑制纤维化、促进干细胞分化等生物功用^[3]。现已有研究证实 T β_4 对眼表的多种损伤发挥保护作用,说明针对 T β_4 在眼表疾病治疗方面的研究有重要临床意义。因此本文主要就 T β_4 在眼表疾病中的保护作用的研究进展进行综述,以期了解 T β_4 在人体内的分布、基本结构、合成以及其在不同眼表疾病中的作用及相关作用机制,为 T β_4 在眼表疾病治疗的后续研究及临床应用中提供研究思路及依据。

1 T β_4 的主要生物学特性及功用

T β_4 为结构高度保守的水溶性多肽,由 43 个氨基酸构成,其相对分子量(Mr)为 4982,等电点(pI)为 5.1^[4]。1981年,Low等^[5]对牛的 T β_4 进行了序列分析并得到了其完整的核苷酸序列:乙酰化 C 端-丝氨酸-天冬氨酸-赖

氨酸-脯氨酸-……-丙氨酸-甘氨酸-谷氨酸-丝氨酸-OH。1993年,Czisch等运用核磁共振等技术对T β 4的天然结构进行了探究,结果显示,T β 4为螺旋结构,且在水溶液中其二级结构不断发生变化,需与特定的蛋白或非天然溶剂结合才能保持其稳定的三级结构,且T β 4的三级结构不稳定,影响其结构的主要因素是温度^[6]。因此,针对该方面的进一步研究可能是解决T β 4作为药物应用于临床的关键。

T β 4的合成是一个自动匹配的固相过程,通过细胞的分泌、死亡或裂解从细胞中释放。其在多种组织及细胞中呈高浓度表达,如巨噬细胞、除红细胞以外的血细胞、肿瘤细胞等,但目前尚未在细菌等微生物中检测到任何胸腺肽家族的表达。目前,T β 4的cDNA序列和氨基酸序列已明确,这为进一步研究T β 4的生物特性及临床应用奠定了基础^[7]。

T β 4为一种主要的肌动蛋白结合蛋,它的主要作用是与其G-肌动蛋白结合,维持G-肌动蛋白和F-肌动蛋白的动力学平衡,从而刺激细胞增殖及分化^[8]。这对细胞骨架的重组和稳定性至关重要,尤其是受损细胞。除此之外,已有大量研究证实,T β 4还可促细胞的迁移分化、促伤口愈合、抑制炎症反应、抑制氧化应激反应以及抗细胞凋亡等作用^[3,9-11]。因此,T β 4在角膜损伤修复、皮肤伤口愈合及移植、心脏修复、中枢神经系统修复、组织保护等领域的应用及临床治疗中备受关注。

2 T β 4与眼表疾病

解剖学中,眼表即为上下睑缘之中所包括的眼表面组织结构。其中主要部分为角膜上皮及结膜上皮,因此眼表疾病也主要指眼结膜及角膜浅层的相关疾病。常见的眼表疾病有:干眼综合征、睑板腺功能障碍、化学烧伤和包括Sjogren综合征及眼类天疱疮等在内的免疫相关疾病等。眼表疾病严重影响患者的视力和生活质量,主要症状为视力模糊、眼部不适或疼痛、红肿、瘙痒,严重时会导致角膜瘢痕而导致永久失明。眼表疾病的致病因素并不单一,但常伴有炎症及眼表上皮损伤,严重时致眼表上皮持续缺损,严重损伤患者视力。因此,抗炎、修复上皮损伤成为治疗许多眼表疾病的关键。基于T β 4的生物特征及功用,已有研究证实T β 4对多种类型的眼表损伤具有修复作用。

2.1 T β 4与眼表伤口修复 T β 4可调节许多下游因子的表达,这些细胞因子在细胞分化、迁移及炎症反应中发挥重要作用。研究证实T β 4参与细胞外基质重塑以修复角膜上皮^[12]。除此之外,Sosne等^[13-14]在大鼠角膜清创模型及小鼠角膜碱烧伤模型中证实了T β 4有促进角膜上皮愈合的作用。

角膜组织可表达基质金属蛋白酶(MMP),其亦在角膜上皮细胞迁移中发挥重要作用。有研究证实,阻断MMP的活化可抑制T β 4介导的角膜上皮细胞的迁移^[15]。但MMP过表达又可加剧上皮缺损。因此T β 4的部分促伤口愈合作用的发挥,在于它能够通过其中枢肌动蛋白结构域快速提高MMP的活性,进而维持MMP表达相对稳定^[16]。

有研究显示,角膜损伤后,T β 4可直接或间接地调节TGF β -1的表达,进一步调节参与角膜上皮愈合过程中的细胞因子的表达,并增加层粘连蛋白-332(LM-332)在结膜细胞中的表达^[17]。LM-332是许多组织基底膜中锚定

纤维的组成部分,维持上皮与上皮下连接结构的完整性。它是上皮细胞黏附、迁移和胶原沉积的配体。LM-332被蛋白酶降解为较小的片段,该片段能通过促进细胞与基底及细胞间的黏附从而促进细胞迁移^[18]。而T β 4的抗凋亡作用可能有助于LM-332维持细胞间及细胞与基质间的相互作用^[19]。除此之外,T β 4的抗炎作用也有助于加快伤口愈合。

2.2 T β 4与眼表炎症 已有研究在多种细胞及组织中证实,T β 4可通过调节促炎白细胞及细胞因子的浸润,减少炎症因子的表达,从而达到抑制炎症反应的效果^[20-21]。

TNF- α 是目前已知最主要的促炎细胞因子之一。TNF- α 与其受体TRFN1结合所导致一连串的级联反应可激活NF- κ B。而通常,NF- κ B受其家族抑制蛋白(IkBs)调控而处于未激活状态。细胞接受外部刺激后,IkBs磷酸化且降解,从NF- κ B二聚体中释放。活化的NF- κ B转运至细胞核,与一系列促炎基因结合。因此,NF- κ B也被认为在炎症反应中发挥着重要作用^[22]。在角膜感染和炎症过程中,泪液中TNF- α 的含量则增多^[23]。有研究证实,在经TNF- α 刺激的角膜上皮细胞中,T β 4能够显著抑制NF- κ B的活化、p65单位磷酸化以及核转运^[4]。然而,T β 4对TNF- α 介导的信号转导级联调节机制目前尚不明确。

另有研究证实,在大鼠受损角膜愈合过程中,T β 4滴眼治疗可调节角膜中IL-1 β 和IL-6等炎症因子表达量,表明T β 4具有抗炎活性。另外,在小鼠的角膜碱烧伤愈合中,T β 4下调PMNs、巨噬细胞炎性蛋白-2及IL-8等促炎基因及趋化因子蛋白的表达^[13-14]。其中,T β 4通过抑制由TNF- α 诱导的NF- κ B活化和核移位,进而抑制IL-8分泌^[24]。

因此,T β 4不仅减轻组织地炎症反应,还阻止了因炎症反应引起的进一步的组织损伤,皆对促进伤口愈合具有重要意义。

2.3 T β 4与干眼 干眼是由于泪液的量或质或流体动力学异常引起的泪膜不稳定和(或)眼表损害,从而导致眼部不适症状及视功能障碍的一类疾病^[25]。因此,稳定的眼表环境被破坏是干眼反复发作难以治愈的关键。且众所周知,眼表上皮结构及功能的完整性对眼表环境稳态的维持至关重要。而干眼常伴随有眼表炎症及上皮缺损,因此T β 4作为有效的抗炎剂和创面愈合促进剂而备受关注,已成为治疗干眼的新靶点。

Sosne等^[26]通过建立小鼠的干眼模型证实T β 4可有效减轻干眼小鼠角膜的上皮缺损。Sosne等^[27-28]随后还进行了相应的临床试验,结果显示,T β 4能有效缓解干眼患者的眼部不适,且能有效降低角膜荧光素钠着色。值得注意的是,在该研究中,患者使用T β 4滴眼30d后并未发现副作用及并发症。不同于目前临床应用的其他药物(如人工泪液)只能改善泪膜的状态,T β 4可在减轻干眼患者眼表的炎症反应的同时促进受损眼表上皮的修复,有效减轻干眼患者临床症状,更具针对性。

2.4 T β 4与眼表氧化应激及细胞凋亡 日常生活中的紫外线照射或是意外的化学损伤等都会导致眼表组织的氧化应激损伤,进而造成眼表的组织损伤。李轩等^[29]通过建立体外兔角膜上皮细胞氧化应激模型,探究了T β 4对细胞内活性氧的产生及细胞凋亡的影响作用,结果显示,T β 4可有效缓解细胞氧化应激损伤,并抑制由氧化应激损

伤引起的继发细胞凋亡。随后,李轩还探讨了Tβ4在体外角膜上皮细胞的乙醇损伤模型中的抗凋亡及促增殖的保护作用,研究结果显示,乙醇损伤的兔角膜上皮细胞中caspase-3的表达量较正常组有所升高,而损伤后经一定浓度Tβ4的治疗组中caspase-3的表达量较乙醇组显著下降。且Tβ4治疗组细胞中bcl-2蛋白质量浓度高于乙醇损伤组,且Tβ4治疗组细胞中Cyclin D1及Cyclin D3的表达量较乙醇损伤组明显提高,证实了Tβ4的抗凋亡以及促增殖的作用,但涉及的具体通路还需要进一步的研究及证实^[30]。以上研究结果证实,Tβ4对兔角膜上皮细胞的氧化应激损伤具有保护及修复作用。为涉及氧化应激损伤的眼表疾病及Tβ4的相应作用的研究提供研究依据及思路。

3 小结

综上所述,Tβ4是治疗许多眼表疾病的新选择。与传统的药物相比(如抗生素、激素及生长因子等),Tβ4的促增殖作用不可小觑。它不仅能有效抗炎还可以促进细胞增殖,因此其能显著促进眼表伤口愈合并从根本上缓解干眼症状,且短期临床试验尚未发现不良反应及并发症。除此之外,Tβ4还可抑制由多种原因所至的眼表氧化应激损伤。因此,在眼科领域,Tβ4作为创伤愈合及抗炎的治疗药物具有重要临床意义。但目前对Tβ4促进伤口愈合及抗炎的作用机制的研究尚浅,未来还需要大量的基础及临床研究去探索其在此方面的详细作用机制,以期能发现更多潜在的治疗作用及适应证,并运用于临床。

参考文献

- 1 Goldstein AL, Slater FD, White A. Preparation, assay, and partial purification of a thymic lymphocytopoietic factor (thymosin). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1966;56(3): 1010-1017
- 2 Dedova IV, Nikolaeva OP, Safer D, et al. Thymosin beta4 induces a conformational change in actin monomers. *Biophys J* 2006;90(3):985-992
- 3 Goldstein AL, Hannappel E, Sosne G, et al. Thymosin beta4: a multi-functional regenerative peptide. Basic properties and clinical applications. *Expert Opin Biol Ther* 2012;12(1):37-51
- 4 Sosne G, Qiu P, Christopherson PL, et al. Thymosin beta 4 suppression of corneal NFκB: a potential anti-inflammatory pathway. *Exp Eye Res* 2007;84(4):663-669
- 5 Low TL, Hu SK, Goldstein AL. Complete amino acid sequence of bovine thymosin beta 4: a thymic hormone that induces terminal deoxynucleotidyl transferase activity in thymocyte populations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981;78(2):1162-1166
- 6 Hoch K, Volk DE. Structures of Thymosin Proteins. *Vitam Horm* 2016; 102:1-24
- 7 Jo JO, Kang YJ, Ock MS, et al. Thymosin beta4 expression in human tissues and in tumors using tissue microarrays. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2011;19(2):160-167
- 8 Kuzan A. Thymosin beta as an Actin-binding Protein with a Variety of Functions. *Adv Clin Exp Med* 2016;25(6):1331-1336
- 9 Hong Y, Yao Q, Zheng L. Thymosin beta4 attenuates liver fibrosis via suppressing Notch signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2017;493(4):1396-1401
- 10 Vasilopoulou E, Winyard PJ, Riley PR, et al. The role of thymosin-beta4 in kidney disease. *Expert Opin Biol Ther* 2015;15(Suppl 1):S187-190

- 11 Bollini S, Riley PR, Smart N. Thymosin beta4: multiple functions in protection, repair and regeneration of the mammalian heart. *Expert Opin Biol Ther* 2015;15(Suppl 1):S163-174
- 12 Liu CY, Kao WW. Corneal Epithelial Wound Healing. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2015;134:61-71
- 13 Sosne G, Chan CC, Thai K, et al. Thymosin beta 4 promotes corneal wound healing and modulates inflammatory mediators *in vivo*. *Exp Eye Res* 2001;72(5):605-608
- 14 Sosne G, Szliter EA, Barrett R, et al. Thymosin beta 4 promotes corneal wound healing and decreases inflammation *in vivo* following alkali injury. *Exp Eye Res* 2002;74(2):293-299
- 15 Ardan T, Nemcova L, Bohuslavova B, et al. Reduced Levels of Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in UVB - Irradiated Corneal Epithelium. *Photochem Photobiol* 2016;92(5):720-727
- 16 Philp D, Badamchian M, Scheremeta B, et al. Thymosin beta 4 and a synthetic peptide containing its actin-binding domain promote dermal wound repair in db/db diabetic mice and in aged mice. *Wound Repair Regen* 2003;11(1):19-24
- 17 Sosne G, Xu L, Prach L, et al. Thymosin beta 4 stimulates laminin-5 production independent of TGF-beta. *Exp Cell Res* 2004;293(1):175-183
- 18 Kiritsi D, Has C, Bruckner-Tuderman L. Laminin 332 in junctional epidermolysis bullosa. *Cell Adh Migr* 2013;7(1):135-141
- 19 Ho JH, Chuang CH, Ho CY, et al. Internalization is essential for the antiapoptotic effects of exogenous thymosin beta-4 on human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(1):27-33
- 20 Vasilopoulou E, Kolatsi-Joannou M, Lindenmeyer MT, et al. Loss of endogenous thymosin beta4 accelerates glomerular disease. *Kidney Int* 2016;90(5):1056-1070
- 21 Zhang J, Wu J, Zeng W, et al. Function of Thymosin Beta-4 in Ethanol-Induced Microglial Activation. *Cell Physiol Biochem* 2016;38(6):2230-2238
- 22 Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF-κB signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013;12:86
- 23 Crnej A, Omoto M, Dohlman TH, et al. Corneal inflammation after miniature keratoprosthesis implantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;56(1):185-189
- 24 Li ZY, Chen ZL, Zhang T, et al. TGF-beta and NF-kappaB signaling pathway crosstalk potentiates corneal epithelial senescence through an RNA stress response. *Aging (Albany NY)* 2016;8(10):2337-2354
- 25 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 干眼临床诊疗专家共识(2013年). *中华眼科杂志* 2013;49(1):73-75
- 26 Sosne G, Kim C, Kleinman HK. Thymosin beta4 significantly reduces the signs of dryness in a murine controlled adverse environment model of experimental dry eye. *Expert Opin Biol Ther* 2015;15(Suppl 1):S155-161
- 27 Sosne G, Dunn SP, Kim C. Thymosin beta4 significantly improves signs and symptoms of severe dry eye in a phase 2 randomized trial. *Cornea* 2015;34(5):491-496
- 28 Sosne G, Ousler GW. Thymosin beta 4 ophthalmic solution for dry eye: a randomized, placebo-controlled, Phase II clinical trial conducted using the controlled adverse environment (CAE) model. *Clin Ophthalmol* 2015;9:877-884
- 29 李轩,姜志听,郝朋,等. 胸腺素β4对体外培养的兔角膜上皮细胞氧化损伤的保护作用. *中华眼科杂志* 2013;49(8):716-722
- 30 姜志听,郝朋,汤欣,等. 胸腺素β4对乙醇诱导的体外兔角膜上皮细胞损伤的保护作用. *中华实验眼科杂志* 2016;34(2):108-114