

УДК: 612.24:612.017.1

РОЛЬ СУРФАКТАНТНОГО БЕЛКА А В ИММУННОЙ ЗАЩИТЕ ЛЁГКИХ**Микеров А.Н.***Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского,
Саратов, email: a_mikerov@mail.ru*

Механизмы врождённого компонента иммунитета играют важную роль в первичном ответе на инфекцию. Врождённый иммунитет лёгких связан с функцией лёгочного сурфактанта, который наряду с поддержанием необходимого для дыхания поверхностного натяжения, обеспечивает иммунную защиту лёгких. В организме человека белок SP-A (SP-A, Surfactant Protein A), наиболее обильный белок сурфактанта лёгких человека с выраженными иммуномодулирующими свойствами, кодируется двумя генами – SP-A1 и SP-A2. Соотношение белков SP-A1 и SP-A2 в лёгких может отличаться у разных индивидумов. В данном обзоре рассматриваются вопросы, связанные с ролью лёгочного сурфактанта в иммунной защите. Описаны строение и функции сурфактантного белка А. Значительное внимание уделено различиям в иммунобиологической активности между SP-A1 и SP-A2 вариантами белка SP-A и механизмам, лежащим в основе данных различий.

Ключевые слова: иммунный ответ в лёгких, сурфактантный белок А, иммуномодулирование**ROLE OF THE SURFACTANT PROTEIN A IN THE LUNG IMMUNE DEFENSE****Mikerov A.N.***Saratov State Medical University, Saratov, email: a_mikerov@mail.ru*

The mechanisms of the innate immune defense play an important role in the primary response to infection. The lung innate immunity is associated with the function of the lung surfactant that participates in the maintaining of the necessary for breathing surface tension, as well as in the immune defense of the lung. In human, SP-A (Surfactant Protein A) is the most abundant protein in the lung surfactant, and it has been suggested to have the immunomodulating role. The SP-A is encoded by two genes, SP-A1 and SP-A2. Ratio between SP-A1 and SP-A2 in the lung can be different in different individuals. This review describes the role of the lung surfactant in the immune defense, as well as the structure and function of the surfactant protein A. Particular attention was paid to the differences between SP-A1 and SP-A2 variants, and to the underlying mechanisms for these differences.

Keywords: lung immune response, surfactant protein A, immunomodulation

Известно, что лёгкие выполняют две главные функции в организме: обеспечение дыхания и функционирование механизмов врождённого иммунитета. Для выполнения этих двух функций важное значение отводится лёгочному сурфактанту, покрывающему поверхность альвеолярного эпителия лёгких. Лёгочный сурфактант состоит из липидов (~90%) и белков (~10%), представляя собой липопротеидный комплекс. Сурфактантные белки представлены белками SP-A, (Surfactant Protein A, ~5,3%), SP-D (~0,6%), SP-B (~0,7%), and SP-C (~0,4%). [4]. Компоненты липидной фракции и гидрофобные белки SP-B и SP-C участвуют в снижении поверхностного натяжения в лёгких, что позволяет предотвращать слипание альвеол в конце выдоха. Гидрофильные белки SP-A и SP-D отвечают за регулирование механизмов врождённого иммунитета. Нарушение состава и свойств сурфактанта связано с такими заболеваниями, как респираторный дистресс-синдром новорожденных, острый респираторный дистресс-синдром взрослых, бронхиальная астма, пневмония, туберкулез легких и др. [36].

Сурфактантный белок А (SP-A, Surfactant Protein A) является основным белком лёгочного сурфактанта, обладающим выраженными иммуномодулирующими свойствами. Белок SP-A функционирует как в качестве

опсонизирующего агента, так и в качестве иммуномодулятора. Опсонизация и агрегация патогенных микроорганизмов белком SP-A способствует их последующему фагоцитозу и киллингу. Было показано, что SP-A воздействует на рост и жизнеспособность микроорганизмов, повышая проницаемость микробной клеточной мембраны [35]. Более того, SP-A регулирует механизмы иммунной защиты в лёгких путём связывания звеньев врождённого и приобретённого компонентов иммунитета [3]. Среди регуляторных функций SP-A – его способность стимулировать хемотаксис макрофагов [34], влиять на пролиферацию клеток иммунного ответа [14] и на продукцию провоспалительных цитокинов [2, 13], повышать продукцию реактивных оксидантов [28], регулировать продукцию оксида азота [8], повышать фагоцитоз клеток, подвергшихся апоптозу [26], и стимулировать фагоцитоз [9, 21]. Роль SP-A во многих процессах была также доказана при использовании генетически модифицированных SP-A (-/-) нокаут мышей, у которых отсутствует ген *SP-A*. Такие мыши проявляли повышенную чувствительность к ряду патогенных микроорганизмов, включая группу В *Streptococcus* (GBS) [15], *Pseudomonas aeruginosa* [16], *Haemophilus influenza* [17], *Pneumocystis carinii* [18], *Klebsiella pneumonia* [20].

Gardai с соавт. [6] предложили модель, согласно которой SP-A может опосредовать как про-, так и противовоспалительные процессы в лёгких в зависимости от обстоятельств. В случае, если углевод-связывающий домен (CRD, Carbohydrate Recognition Domain) белка SP-A не связан с микробными лигандами, он может взаимодействовать с рецептором SIRP α , приводя к снижению активации NF- κ B, что, в конечном итоге, будет снижать продукцию про-воспалительных цитокинов и активацию альвеолярных макрофагов. В случае лёгочной инфекции, CRD домен связывается с микробными лигандами и поэтому связь CRD с SIRP α становится невозможной. Вместо этого появляется возможность связывания «коллагенового хвоста» SP-A с рецепторами калретикулин/CD91. Такое взаимодействие стимулирует активацию NF- κ B, что, в конечном итоге, повышает продукцию провоспалительных цитокинов и активацию альвеолярных макрофагов. Данная модель объясняет, каким образом один и тот же белок, в данном случае белок SP-A, может оказывать как позитивный, так и негативный эффект на регуляцию воспаления в лёгких в зависимости от наличия или отсутствия лёгочной инфекции, соответственно. В то же время, показано, что SP-A всё же проявляет базовый уровень про-воспалительной активности и в отсутствии микробных лигандов [25]. Это может иметь большое физиологическое значение в поддержании иммунного статуса лёгких в состоянии постоянной готовности, поскольку лёгкие находятся в постоянном контакте с бактериями, вирусами, токсинами, аллергенами и т.д., поступающими вместе с вдыхаемым воздухом.

Исследования последних лет показали, что SP-A, являясь частью системы врождённого иммунитета, способен координировать врождённый и приобретённый компоненты иммунитета посредством взаимодействия с дендритными клетками и Т-клетками, регулируя, таким образом, иммунный ответ в лёгких [24, 33]. Функция дендритных клеток в регулировании иммунного ответа зависит от уровня их «созревания». «Незрелые» дендритные клетки обладают фагоцитирующей способностью, в то время как «зрелые» дендритные клетки презентуют антиген Т-клеткам и стимулируют Т-клетки в региональных лимфатических узлах и тканях. SP-A ингибирует пролиферацию Т-клеток двумя способами:

- 1) опосредованно, т.е. через торможение созревания дендритных клеток [3];
- 2) путём прямого взаимодействия с Т-клетками [1].

На основании накопленных данных было предложено [33], что основной функцией SP-A в лёгких является регулирование «иммунологической среды» и предотвращение чрезмерной активации каскадов воспалительного ответа, что потенциально может привести к повреждению лёгочной ткани и, как следствие, к нарушению газообмена.

Кроме описанных выше функций, SP-A опосредует механизмы аллергических реакций в лёгких, участвуя в удалении аллергена, ингибировании связывания IgE и аллергена и освобождения гистамина, супрессии активации сенсibilизированных базофилов, тучных клеток или эозинофилов, супрессии пролиферации В- и Т-клеток, и модуляции иммунного ответа дендритными клетками и макрофагами [12]. В модели на мышах выявлено, что внутриносное введение SP-A снижает эозинофилию в случае аллергического бронхолёгочного аспергиллёза [19].

SP-A человека состоит из двух генных продуктов, SP-A1 и SP-A2, структура и функция которых различна. Генетический локус SP-A человека расположен на хромосоме 10 и представлен двумя функциональными генами – *sfpa1* (или *SP-A1*) и *sfpa2* (или *SP-A2*), расположенными в противоположной транскрипционной ориентации [11]. Белок SP-A собирается как октадекамер, состоящий из шести тримерных субъединиц. Каждый тример SP-A человека состоит из двух молекул SP-A1 и одной молекулы SP-A2 [29]. В то же время, тримеры, состоящие только из одного SP-A варианта, также могут обладать функциональной активностью [21, 31]. «Зрелый» белок SP-A, являясь членом семейства коллектинов С-типа, состоит из четырёх доменов:

- 1) N-терминальная последовательность;
- 2) коллагеноподобный домен;
- 3) углевод-узнающий домен (CRD, carbohydrate recognition domain);
- 4) «шейка» между коллагеноподобным и углевод-узнающим доменами. Различия в аминокислотной последовательности между вариантами SP-A1 и SP-A2 локализуются в коллагеноподобном домене.

Функциональные различия между SP-A1 и SP-A2 включают их способность стимулировать фагоцитоз [21, 22], ингибировать секрецию сурфактанта [30], стимулировать продукцию TNF- α [32], так же, как и различия в их агрегации и олигомеризации [5, 30]. Во всех этих случаях SP-A2 обладал большей активностью, чем SP-A1. Более того, SP-A2 в большей степени, чем SP-A1, связывал углеводы [23]. Всё это указывает на то, что структурные особенности

SP-A2 в большей степени, чем SP-A1, способствуют связыванию с углеводами.

Наиболее важное различие в структуре SP-A1 и SP-A2 – аминокислотная позиция 85 коллагеноподобного региона белка SP-A, где SP-A1 имеет цистеин, а SP-A2 – аргинин. Дополнительный цистеин в SP-A1 может быть вовлечён в формирование межтримерной или внутритримерной дисульфидной связи и может отвечать за различия в олигомеризации SP-A1 и SP-A2 [30]. Было показано, что замена Arg⁸⁵ на Cys⁸⁵ в SP-A2 приводит к снижению функциональной активности SP-A2 до уровня SP-A1, а замена Cys⁸⁵ на Arg⁸⁵ в SP-A1 повышает активность SP-A1 до уровня SP-A2. Таким образом, структурные различия в коллагеноподобном домене между SP-A1 и SP-A2 могут отвечать за функциональные различия между ними.

Поскольку продукты гена SP-A2 более функциональны, чем SP-A1, общая активность SP-A в лёгких может зависеть не только от общего содержания SP-A, но и от соотношения SP-A1 к SP-A2. Известно, что заболевания лёгких сопровождаются изменением как общего содержания белка SP-A в бронхоальвеолярной жидкости у различных индивидуумов [7, 10], так и соотношения SP-A1 и SP-A2 в бронхоальвеолярном лаваже [27]. Следовательно, нарушения экспрессии генов *SP-A1* и *SP-A2* могут привести к неадекватному соотношению SP-A вариантов в лёгких, что, в свою очередь, может внести вклад в неэффективное модулирование механизмов иммунной защиты в лёгких и соответственно повлиять на остроту и продолжительность инфекционных заболеваний лёгких.

Список литературы

1. Surfactant protein A inhibits T cell proliferation via its collagen-like tail and a 210-kDa receptor / P. Borron, F.X. McCormack, B.M. Elhalwagi, Z.C. Chroneos, J.F. Lewis, S. Zhu, J.R. Wright, V.L. Shepherd, F. Possmayer, K. Inchley, L.J. Fraher // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 275: L679-686. – 1998.
2. Surfactant-associated protein A inhibits LPS-induced cytokine and nitric oxide production in vivo / P. Borron, J.C. McIntosh, T.R. Korfhagen, J.A. Whitsett, J. Taylor, J.R. Wright // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 278: L840-847. – 2000.
3. Brinker K.G., Garner H., Wright J.R. Surfactant protein A modulates the differentiation of murine bone marrow-derived dendritic cells // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 284: L232-241. – 2003.
4. Chroneos Z.C., Sever-Chroneos Z., Shepherd V.L. Pulmonary surfactant: an immunological perspective // *Cell Physiol Biochem* 25: 13-26. – 2010.
5. Structural analysis and lipid-binding properties of recombinant human surfactant protein A derived from one or both genes / I. Garcia-Verdugo, G. Wang, J. Floros, C. Casals // *Biochemistry* 41: 14041-14053. – 2002.
6. By binding SIRPalpha or calreticulin/CD91, lung collectins act as dual function surveillance molecules to suppress or enhance inflammation / S.J. Gardai, Y.Q. Xiao, M. Dickinson, J.A. Nick, D.R. Voelker, K.E. Greene, P.M. Henson // *Cell* 115: 13-23. – 2003.
7. Pulmonary surfactant, lung function, and endobronchial inflammation in cystic fibrosis / M. Griese, R. Essl, R. Schmidt, E. Rietschel, F. Ratjen, M. Ballmann, K. Paul // *Am J Respir Crit Care Med* 170: 1000-1005. – 2004.
8. Role of surfactant protein-A in nitric oxide production and mycoplasma killing in congenic C57BL/6 mice / J.M. Hickman-Davis, J. Gibbs-Erwin, J.R. Lindsey, S. Matalon // *American journal of respiratory cell and molecular biology* 30: 319-325. – 2004.
9. Killing of *Klebsiella pneumoniae* by human alveolar macrophages / J.M. Hickman-Davis, P. O'Reilly, I.C. Davis, J. Peti-Peterdi, G. Davis, K.R. Young, R.B. Devlin, S. Matalon // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 282: L944-956. – 2002.
10. Decreased contents of surfactant proteins A and D in BAL fluids of healthy smokers / Y. Honda, H. Takahashi, Y. Kuroki, T. Akino, S. Abe // *Chest* 109: 1006-1009. – 1996.
11. Hoover R.R., Floros J. Organization of the human SP-A and SP-D loci at 10q22-q23. Physical and radiation hybrid mapping reveal gene order and orientation // *American journal of respiratory cell and molecular biology* 18: 353-362. – 1998.
12. Surfactant proteins SP-A and SP-D: structure, function and receptors / U. Kishore, T.J. Greenhough, P. Waters, A.K. Shrive, R. Ghai, M.F. Kamran, A.L. Bernal, K.B. Reid, T. Madan, T. Chakraborty // *Mol Immunol* 43: 1293-1315. – 2006.
13. Kremlev S.G., Phelps D.S. Surfactant protein A stimulation of inflammatory cytokine and immunoglobulin production // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 267: L712-719. – 1994.
14. Kremlev S.G., Umstead T.M., Phelps D.S. Effects of surfactant protein A and surfactant lipids on lymphocyte proliferation in vitro // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 267: L357-364. – 1994.
15. Surfactant protein A-deficient mice are susceptible to group B streptococcal infection / A.M. LeVine, M.D. Bruno, K.M. Huelsman, G.F. Ross, J.A. Whitsett, T.R. Korfhagen // *J Immunol* 158: 4336-4340. – 1997.
16. Surfactant protein A-deficient mice are susceptible to *Pseudomonas aeruginosa* infection / A.M. LeVine, K.E. Kurak, M.D. Bruno, J.M. Stark, J.A. Whitsett, T.R. Korfhagen // *American journal of respiratory cell and molecular biology* 19: 700-708. – 1998.
17. Distinct effects of surfactant protein A or D deficiency during bacterial infection on the lung / A.M. LeVine, J.A. Whitsett, J.A. Gwozdz, T.R. Richardson, J.H. Fisher, M.S. Burhans, T.R. Korfhagen // *J Immunol* 165: 3934-3940. – 2000.
18. Immunosuppressed surfactant protein A-deficient mice have increased susceptibility to *Pneumocystis carinii* infection / M.J. Linke, C.E. Harris, T.R. Korfhagen, F.X. McCormack, A.D. Ashbaugh, P. Steele, J.A. Whitsett, P.D. Walzer // *J Infect Dis* 183: 943-952. – 2001.
19. Surfactant proteins A and D protect mice against pulmonary hypersensitivity induced by *Aspergillus fumigatus* antigens and allergens / T. Madan, U. Kishore, M. Singh, P. Strong, H. Clark, E.M. Hussain, K.B. Reid, P.U. Sarma // *J Clin Invest* 107: 467-475. – 2001.
20. Ablation of SP-A has a negative impact on the susceptibility of mice to *Klebsiella pneumoniae* infection after ozone exposure: sex differences / A.N. Mikerov, R. Haque, X. Gan, X. Guo, D.S. Phelps, J. Floros // *Respir Res* 9: 77. – 2008.
21. SP-A1 and SP-A2 variants differentially enhance association of *Pseudomonas aeruginosa* with rat alveolar macrophages / A.N. Mikerov, T.M. Umstead, W. Huang, W. Liu, D.S. Phelps, J. Floros // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 288: L150-158. – 2005.
22. Surfactant protein A2 (SP-A2) variants expressed in CHO cells stimulate phagocytosis of *Pseudomonas aeruginosa*

more than Do SP-A1 variants / A.N. Mikerov, G. Wang, T.M. Umstead, M. Zacharatos, N.J. Thomas, D.S. Phelps, J. Floros // *Infect Immun* 75: 1403-1412. – 2007.

23. Oberley R.E., Snyder J.M. Recombinant human SP-A1 and SP-A2 proteins have different carbohydrate-binding characteristics // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 284: L871-881, 2003.

24. Pastva A.M., Wright J.R., Williams K.L. Immunomodulatory roles of surfactant proteins A and D: implications in lung disease // *Proc Am Thorac Soc* 4: 252-257. – 2007.

25. Phelps D.S. Surfactant regulation of host defense function in the lung: a question of balance // *Pediatr Pathol Mol Med* 20: 269-292. – 2001.

26. Schagat T.L., Wofford J.A., Wright J.R. Surfactant protein A enhances alveolar macrophage phagocytosis of apoptotic neutrophils // *J Immunol* 166: 2727-2733. – 2001.

27. Characterization of a human surfactant protein A1 (SP-A1) gene-specific antibody; SP-A1 content variation among individuals of varying age and pulmonary health / H.R. Tagaram, G. Wang, T.M. Umstead, A.N. Mikerov, N.J. Thomas, G.R. Graff, J.C. Hess, M.J. Thomassen, M.S. Kavuru, D.S. Phelps, J. Floros // *American journal of physiology* 292: L1052-1063. – 2007.

28. Pulmonary surfactant protein A enhances the host-defense mechanism of rat alveolar macrophages / F. van Iwaarden, B. Welmers, J. Verhoef, H.P. Haagsman, L.M. van Golde // *American journal of respiratory cell and molecular biology* 2: 91-98. – 1990.

29. Voss T., Melchers K., Scheirle G., Schafer K.P. Structural comparison of recombinant pulmonary surfactant protein SP-A derived from two human coding sequences: implications for the chain composition of natural human SP-A // *American journal of respiratory cell and molecular biology* 4: 88-94. – 1991.

30. Differences in biochemical properties and in biological function between human SP-A1 and SP-A2 variants, and the

impact of ozone-induced oxidation / G. Wang, S.R. Bates-Kenney, J.Q. Tao, D.S. Phelps, J. Floros // *Biochemistry* 43: 4227-4239. – 2004.

31. Effect of cysteine 85 on biochemical properties and biological function of human surfactant protein A variants Wang G., Myers C., Mikerov A., Floros J. // *Biochemistry* 46: 8425-8435. – 2007.

32. Wang G., Phelps D.S., Umstead T.M., Floros J. Human SP-A protein variants derived from one or both genes stimulate TNF-alpha production in the THP-1 cell line // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 278: L946-954. – 2000.

33. Wright J.R. Immunoregulatory functions of surfactant proteins // *Nat Rev Immunol* 5: 58-68, 2005.

34. Wright J.R., Youmans D.C. Pulmonary surfactant protein A stimulates chemotaxis of alveolar macrophage // *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 264: L338-344. – 1993.

35. Surfactant proteins A and D inhibit the growth of Gram-negative bacteria by increasing membrane permeability / H. Wu, A. Kuzmenko, S. Wan, L. Schaffer, A. Weiss, J.H. Fisher, K.S. Kim, F.X. McCormack // *J Clin Invest* 111: 1589-1602. – 2003.

36. Розенберг ОА. Лёгочный сурфактант и его применение при заболеваниях лёгких. *Общая реаниматология*. – 20073. – №1. – С. 66–77.

Рецензенты:

Фёдорова В.А., д.м.н., зав. отделом зоо- и зооантропонозных инфекций ГНУ Саратовского НИВИ РАСХН, г. Саратов;

Заднова С.П., д.б.н., в.н.с. лаборатории патогенных вибрионов ФКУЗ «Российского НИПЧИ «Микроб», г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 19.12.2011.