

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Πρωτεΐνες KL-6 και Clara σε νοσήματα των πνευμόνων

Τ. Σιαχανίδου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι πρωτεΐνες KL-6 και Clara χαρακτηρίζονται ως πνευμονοπρωτεΐνες λόγω της πνευμονικής, κυρίως, προέλευσής τους και δράσης. Η πρωτεΐνη KL-6 ενοχοποιείται ότι συμμετέχει σε μηχανισμούς ανάπτυξης πνευμονικής ίνωσης, ενώ η πρωτεΐνη Clara ασκεί ισχυρή ανοσορρυθμιστική και αντιφλεγμονώδη δράση στον πνεύμονα. Ανασκοπούνται εν συντομία τα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών αυτών, ο ρόλος τους σε νοσήματα του αναπνευστικού και η σημασία της μέτρησης των επιπέδων τους. **(Δελτ Α' Παιδιατρ Κλιν Πανεπ Αθηνών 2008, 55(2):142-145)**

Λέξεις ευρετηριασμού: KL-6, πρωτεΐνη Clara, πνευμονοπάθεια, πνευμονοπρωτεΐνες.

Οι πρωτεΐνες KL-6 και Clara, όπως και οι δομικές πρωτεΐνες του επιφανειοδραστικού παράγοντα (surfactant proteins A-D), χαρακτηρίζονται ως πνευμονοπρωτεΐνες, λόγω της πνευμονικής τους, κυρίως, προέλευσης και δράσης¹.

Η KL-6 είναι γλυκοπρωτεΐνη μεγάλου μοριακού βάρους (>200 KD), η οποία παράγεται, κυρίως, από τα κύτταρα τύπου II των πνευμονικών κυψελίδων, αλλά και από άλλα κύτταρα, όπως τα επιθηλιακά κύτταρα των βρογχιολίων¹. Είναι γνωστό ότι όταν η κυψελίδα υφίσταται βλάβη, τα κύτταρα τύπου II πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται σε κύτταρα τύπου I με στόχο την επανόρθωση της κυψελιδικής βλάβης. Ο πολλαπλασιασμός των κυψελιδικών κυττάρων τύπου II ή η διέγερση των κυττάρων αυτών από φλεγμονώδεις κυτταροκίνες έχουν ως αποτέλεσμα την αυξημένη σύνθεση και έκκριση της KL-6 στο κυψελιδικό υγρό. Εν τούτοις, λόγω του μεγάλου μεγέθους του μορίου της KL-6, η βλάβη του κυψελιδικού επιθηλίου δεν είναι αρκετή για να διαφύγει η πρωτεΐνη KL-6 από τις κυψελίδες στο αίμα μέσω του ενδοθηλίου των πνευμονικών τριχοειδών. Χρειάζεται να υπάρχει σοβαρή βλάβη και του διάμεσου ιστού των πνευμόνων για να αυξηθούν τα επίπεδα της KL-6 στο αίμα².

Τα επίπεδα της KL-6 είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με

Μονάδα Νεογνών, Α' Παιδιατρική Κλινική
Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παί-
δων «Αγ. Σοφία»

Υποβλήθηκε: 23/01/07

διάμεση πνευμονοπάθεια, όπως διάμεση πνευμονίτιδα και πνευμονίτιδα εξ ακτινοβολίας, ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση, πνευμονική σαρκοείδωση, κυστική ίνωση, οξύ σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS), ιογενή πνευμονία (π.χ. από ιό γρίπης ή αναπνευστικό συγκυτιακό ιό), καθώς και στη βρογχοπνευμονική δυσπλασία των προώρων, νόσημα που χαρακτηρίζεται από βλάβη του κυψελιδικού επιθηλίου και του διάμεσου ιστού με συνοδό πνευμονική ίνωση^{1,2,3-6}. Αντίθετα, τα επίπεδα της KL-6 στο αίμα είναι φυσιολογικά ή ηπίως αυξημένα σε ασθενείς με πνευμονοπάθεια μη διάμεσου τύπου, π.χ. πνευμονία μικροβιακής αιτιολογίας, βρογχικό άσθμα και πνευμονικό εμφύσημα^{4,5,7,8}.

Τα αυξημένα επίπεδα της KL-6 στο αίμα σε ασθενείς με πνευμονοπάθεια σχετίζονται θετικά με τη βαρύτητα της νόσου και έχουν προγνωστική αξία για την ανταπόκριση στη θεραπεία και την έκβαση^{2,9}. Παρ' ότι ο ρόλος της KL-6 δεν έχει πλήρως διευκρινισθεί, υποστηρίζεται ότι η πρωτεΐνη KL-6 είναι χημειοτακτικός παράγοντας των ινοβλαστών και, επιπλέον, ευοδώνει την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους, συμμετέχοντας έτσι στην παθογένεια της πνευμονικής ίνωσης^{10,11}. Σε τούτο συνηγορούν και τα αποτελέσματα πρόσφατης μελέτης, σύμφωνα με τα οποία τα επίπεδα της KL-6 στο αίμα κατά τις πρώτες δύο εβδομάδες ζωής αποτελούν προγνωστικό δείκτη για τη μετέπειτα εμφάνιση βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας σε πρόωρα νεογνά¹². Η παρασκευή ανταγωνιστών της KL-6 είναι υπό μελέτη. Ενδεχομένως, η χρησιμοποίησή τους στο μέλλον θα βοηθήσει στην πρόληψη και αντιμετώπιση σοβαρών πνευμονοπαθειών¹¹.

Η πρωτεΐνη Clara παράγεται, κυρίως, από τα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών (Clara cells) και λόγω του μικρού μοριακού της βάρους (10 KD) διαχέεται εύκολα στο αίμα¹. Μελέτες *in vitro* και *in vivo* έδειξαν ότι η πρωτεΐνη Clara ασκεί ισχυρή ανοσορρυθμιστική και αντιφλεγμονώδη δράση στον πνεύμονα¹. Συγκεκριμένα: 1) αναστέλλει τη φωσφολιπάση A2 (ένζυμο που αδρανοποιεί τον επιφανειοδραστικό παράγοντα και ευοδώνει τη σύνθεση προσταγλαδινών), 2) αναστέλλει τη χημειοταξία των πολυμορφοπύρηνων, μονοπύρηνων και ινοβλαστών, 3) καταστέλλει την απελευθέρωση των TNF-α, IL-1β και IF-γ σε ανθρώπινα λεμφοκύτταρα που υφίστανται διέγερση και 4) αναστέλλει το σχηματισμό συμπλέγματος ινικής, που συμμετέχει στην ίνωση του πνεύμονα.

Σε διαγονιδιακά πειραματόζωα με παντελή έλλειψη πρωτεΐνης Clara, η έκθεση σε φλεγμονώδη παράγοντα (οξειδωτικό stress, λοίμωξη από αναπνευστικό

συγκυτιακό ιό), οδήγησε σε έντονη φλεγμονώδη αντίδραση των πνευμόνων^{13,14}, ενώ η ενδοτραχειακή χορήγηση ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης Clara προστάτευσε τα πειραματόζωα από πνευμονική βλάβη¹⁵. Επίσης, η χορήγηση ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης Clara σε πειραματόζωα που είχαν ανάγκη μηχανικού αερισμού, είχε ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της δράσης του επιφανειοδραστικού παράγοντα, τη βελτίωση της ανταλλαγής των αερίων και της ενδοτικότητας (compliance) του πνεύμονα και την ελάττωση τοπικών μεσολαβητών φλεγμονής^{15,16}.

Με βάση τα ανωτέρω, ήταν αναμενόμενο να επιχειρηθεί η χορήγηση ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης Clara και σε ανθρώπους με ενδογενή έλλειψη. Έλλειψη της πρωτεΐνης Clara έχει παρατηρηθεί σε πρόωρα νεογνά κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής τους¹⁷. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση της πρωτεΐνης Clara, η οποία φυσιολογικά αυξάνει κατά τη διάρκεια της κύησης¹⁸, είναι 20 φορές περίπου μικρότερη κατά τις πρώτες ημέρες ζωής στο τραχειακό έκπλυμα νεογνών που γεννήθηκαν πρόωρα, συγκριτικά με τελειόμνηνα νεογνά¹⁷. Έχει, επίσης, διαπιστωθεί ότι τα επίπεδα της πρωτεΐνης Clara στο τραχειακό έκπλυμα πρόωρων νεογνών που πάσχουν από σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (ΣΑΔ) συσχετίζονται αρνητικά με τις ανάγκες των προώρων σε οξυγόνο¹⁹. Είναι δε ενδιαφέρον ότι πρόωρα νεογνά που εμφάνισαν αργότερα βρογχοπνευμονική δυσπλασία, είχαν χαμηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης Clara στο τραχειακό έκπλυμα κατά τις πρώτες ημέρες ζωής από πρόωρα νεογνά που δεν εμφάνισαν βρογχοπνευμονική δυσπλασία²⁰. Σε πρόσφατη μελέτη φάσης Ι σε πρόωρα νεογνά με ΣΑΔ χορηγήθηκε ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη Clara ενδοτραχειακά, εντός 4 ωρών από τη χορήγηση του επιφανειοδραστικού παράγοντα²¹. Διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση ήταν ασφαλής και η τοπική φλεγμονώδη αντίδραση των πνευμόνων (αριθμός λευκοκυττάρων και πολυμορφοπύρηνων, συγκέντρωση λευκώματος και IL-6 στο τραχειακό έκπλυμα) ήταν μικρότερη στην ομάδα των νεογνών που έλαβαν το φάρμακο, συγκριτικά με την ομάδα που χορηγήθηκε εικονικό φάρμακο (placebo). Λόγω του μικρού αριθμού των προώρων που μελετήθηκαν (N=22), δεν κατέστη δυνατόν να διαπιστωθεί όφελος από τη χορήγηση του φαρμάκου ως προς την πρόληψη της βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας. Εν τούτοις, δεδομένου του σημαντικού ρόλου της φλεγμονώδους αντίδρασης στην ανάπτυξη βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας, πιστεύεται ότι η καταστολή της τοπικής φλεγμονώδους αντίδρασης των πνευμόνων που επιτυγχάνεται με τη χορήγηση του φαρμάκου, καθιστά την ανασυνδυασμένη πρωτε-

ήν Clara ένα πολλά υποσχόμενο φάρμακο για την πρόληψη της βροχοπνευμονικής δυσπλασίας²². Το δοσολογικό σχήμα που θα επιφέρει τα όσο το δυνατόν, καλύτερα αποτελέσματα, χρειάζεται επίσης να καθοριστεί²².

Ελαττωμένη σύνθεση της πρωτεΐνης Clara έχει, επίσης, αναφερθεί σε πάσχοντες από βρογχικό άσθμα²³. Τούτο έχει συσχετισθεί με την ύπαρξη πολυμορφισμών του γονιδίου της, ιδιαίτερα σε ασθενείς με μέτριο ή σοβαρό άσθμα^{24,25}.

Λαμβάνοντας υπ' όψιν τον αντιφλεγμονώδη ρόλο της πρωτεΐνης Clara στο αναπνευστικό σύστημα, η ελαττωμένη σύνθεσή της σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα είναι πιθανόν ότι συμβάλλει στην παθογένεια της νόσου. Ωστόσο, δεν έχει μελετηθεί μέχρι σήμερα αν η χορήγηση ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης Clara θα μπορούσε να βοηθήσει στην αντιμετώπιση της νόσου.

Συμπερασματικά, οι πρωτεΐνες KL-6 και Clara αποτελούν ένα νέο πεδίο έρευνας σε νοσήματα του αναπνευστικού συστήματος. Στην κλινική πράξη, η μέτρηση των επιπέδων τους στο αίμα ενδεχομένως θα περιληφθεί, στο μέλλον, στις μεθόδους διαγνωστικής προσέγγισης και αξιολόγησης πνευμονοπαθειών. Περαιτέρω μελέτες θα δείξουν αν οι ανταγωνιστές της KL-6 ή η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη Clara θα προστεθούν μελλοντικά στην κλινική μας φαρέτρα για την πρόληψη ή αντιμετώπιση των νοσημάτων αυτών.

KL-6 and Clara Proteins in lung diseases

T. Siahianidou

(*Ann Clin Paediatr* 2008, 55(2):142-145)

KL-6 and Clara proteins are characterized as pneumo-proteins due to their almost exclusively lung synthesis and action. KL-6 is implicated in lung fibrogenic process, whereas Clara cell protein possesses potent immunomodulating and anti-inflammatory role in the lung. In this review, the characteristics of KL-6 and Clara cell proteins, the role of these proteins in lung diseases and the meaning of their assay are described.

Key words: KL-6, Clara cell protein, lung disease, pneumoproteins.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hermans C, Bernard A. Lung epithelium-specific proteins. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159:646-678.
2. Kohno N. Serum marker KL-6/MUC1 for the diagnosis and management of interstitial pneumonitis. *J Med Invest* 1999; 46:151-158.
3. Kobayashi J, Kitamura S. Serum KL-6 for the evaluation of active pneumonitis in pulmonary sarcoidosis. *Chest* 1996; 109:1276-1282.
4. Briassoulis G, Mavrikiou M, Margeli A, Lazaropoulou, Natsi L, Papassotiropoulos I, Hatzis T. Circulating levels of KL-6 in acute respiratory distress syndrome, sepsis or traumatic brain injury in critically ill children. *Pediatr Pulmonol* 2006; 41:790-795.
5. Kubota M, Haruta T. The role of serum KL-6 measurement in common pediatric respiratory infections. *J Infect Chemother* 2006; 12:22-24.
6. Ogiwara T, Hirano K, Morinobu T, Ogawa S, Hiroi M, Ban R, et al. KL-6, a mucinous glycoprotein, as an indicator of chronic lung disease of the newborn. *J Pediatr* 2000; 137:280-282.
7. Al-Salmi Q, Walter JN, Colasurdo GN, Sockrider MM, Smith O, Takahashi H, Fan LL. Serum KL-6 and surfactant proteins A and D in pediatric interstitial lung disease. *Chest* 2005; 127:403-407.
8. Ohnishi H, Yokoyama A, Kondo K, Hamada H, Abe M, Nishimura K, et al. Comparative study of KL-6, surfactant protein-A, surfactant protein-D, and monocyte chemoattractant protein-1 as serum markers for interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:378-381.
9. Yokoyama A, Kohno N, Hamada H, Sakatani M, Ueda E, Kondo K, et al. Circulating KL-6 predicts the outcome of rapidly progressive idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1680-1684.
10. Hirasawa Y, Kohno N, Yokoyama A, Inoue Y, Abe M, Hiwada K. KL-6, a human MUC1 mucin, is chemotactic for human fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17:501-507.
11. Ohshima S, Yokoyama A, Hattori N, Ishikawa N, Hirasawa Y, Kohno N. KL-6, a human MUC1 mucin, promotes proliferation and survival of lung fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338:1845-1852.
12. Ogiwara T, Hirano K, Morinobu T, Kim HS, Ogawa S, Hiroi M, et al. Plasma KL-6 predicts the development and outcome of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res* 2006; 60:613-618.
13. Johnston CJ, Mango GW, Finkelstein JN, Stripp BR. Altered pulmonary response to hyperoxia in Clara cell secretory protein deficient mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17:147-155.
14. Wang SZ, Rosenberger CL, Bao YX, Stark JM, Harrod KS. Clara cell secretory protein modulates lung inflammation and immune responses to respira-

- tory syncytial virus infection. *J Immunol* 2003; 171:1051-1060.
15. *Shashikant BN, Miller TL, Welch RW, Pilon AL, Shaffer TH, Wolfson MR.* Dose response to rhCC10-augmented surfactant therapy in a lamb model of infant respiratory distress syndrome: physiological, inflammatory, and kinetic profiles. *J Appl Physiol* 2005; 99:2204-2211.
 16. *Chandra S, Davis JM, Drexler S, Kowalewska J, Chester D, Koo HC, et al.* Safety and efficacy of intratracheal recombinant human Clara cell protein in a newborn piglet model of acute lung injury. *Pediatr Res* 2003; 54:509-515.
 17. *Loughran-Fowlds A, Oei J, Wang H, Xu H, Wimalasundera N, Egan C, et al.* The influence of gestation and mechanical ventilation on serum clara cell secretory protein (CC10) concentrations in ventilated and nonventilated newborn infants. *Pediatr Res* 2006; 60:103-108.
 18. *Bernard A, Thielemans N, Lauwerys R, Langhendries JP, Van Lierde M, Freund MM.* Clara cell protein in human amniotic fluid: a potential marker of fetal lung growth. *Pediatr Res* 1994; 36:771-775.
 19. *Lassus P, Nevalainen TJ, Eskola JU, Andersson S.* Clara cell secretory protein in preterm infants' tracheal aspirates correlates with maturity and increases in infection. *Pediatr Pulmonol* 2000; 30:466-469.
 20. *Ramsay PL, DeMayo FJ, Hegemier SE, Wearden ME, Smith CV, Welty SE.* Clara cell secretory protein oxidation and expression in premature infants who develop bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:155-161.
 21. *Levine CR, Gewolb IH, Allen K, Welch RW, Melby JM, Pollack S, et al.* Safety, pharmacokinetics, and anti-inflammatory effects of intratracheal recombinant human clara cell protein in premature infants with respiratory distress syndrome. *Pediatr Res* 2005; 58:15-2.
 22. *Welty SE.* CC10 administration to premature infants: In search of the "silver bullet" to prevent lung inflammation. *Pediatr Res* 2005; 58:7-9.
 23. *Ye Q, Fujita M, Ouchi H, Inoshima I, Maeyama T, Kuwano K, Horiuchi Y, et al.* Serum CC-10 in inflammatory lung diseases. *Respiration* 2004; 71:505-510.
 24. *Martin AC, Laig IA, Khoo SK, Zhang G, Rueter K, Teoh L, et al.* Acute asthma in children: Relationships among CD14 and CC16 genotypes, plasma levels, and severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:617-622.
 25. *Laing IA, Goldblatt J, Eber E, Hayden CM, Rye PJ, Gibson NA, et al.* A polymorphism of the CC16 gene is associated with an increased risk of asthma. *J Med Genet* 1998; 35:463-467.