

□ 종 설 □

## Type II Cell 분리체로부터 Surfactant 인지질의 분비를 매개하는 신호변환 기전

한양대학교 의과대학 내과학교실

박 성 수

= Abstract =

### Signal Transduction Mechanisms Mediating Surfactant Phospholipid Secretion in Isolated Type II Cell

Sung Soo Park, M.D.

*Department of Pulmonary Medicine, College of Medicine, Hanyang University, Seoul,*

Secretion of surfactant phospholipid can be stimulated by a variety of agonists acting via at least three different signal transduction mechanisms. These include the adenylate cyclase system with activation of cAMP-dependent protein kinase; activation of protein kinase C either directly or subsequent to activation of phosphoinositide-specific phospholipase C and generation of diacylglycerols and inositol trisphosphate; and a third mechanism that involves increased  $Ca^{2+}$  levels and a calmodulin-dependent step. ATP stimulates secretion via all three mechanisms. The protein kinase C pathway is also coupled to phospholipase D which, acting on relatively abundant cellular phospholipids, generates diacylglycerols that further activate protein kinase C. Sustained protein kinase C activation can maintain phosphatidylcholine secretion for a prolonged period of time. It is likely that interactions between the different signaling pathways have an important role in the overall physiological regulation of surfactant secretion.

**Key Words :** Signal transduction mechanisms, Surfactant phospholipid secretion, Isolated type II cell

Surfactant는 성인성 호흡곤란 증후군에 있어서 일차적 또는 이차적으로 폐기능을 유지하는데 지극히 중요할 뿐만 아니라 surfactant의 결핍이 어떤 형태든 폐의 병태생리학적 결과에 의미심장

하게 기여하는 것으로 알려져 있다. Surfactant는 90%의 지질과 10%의 단백질로 구성되어 있으며, 단백질은 배수성 단백질인 surfactant protein B (SP-B) 및 surfactant C (SP-C)와, 친수성 (親

水性, hydrophilic) 단백질 surfactant A (SP-A)와 surfactant D (SP-D)로 구성되어 있다. SP-A는 오폭닌된 적혈구와 박테리아의 식작용을 자극하는 보체 C1q와 mannose-binding 단백질과 유사한 구조를 가지며, SP-D는 보체 C3bi와 결합하는 bovine 응집소와 유사하다. 이와같이 SP-A와 SP-D는 구조상 유사하고 숙주 방어기전과 밀접한 관계가 있으며<sup>1)</sup> 또한 SP-A는 *Pneumocystis carinii*에 의한 폐렴의 병인에도 기여한다<sup>2)</sup>. Surfactant 단백질 합성은 특이조직에만 한정되어 있고, 발생학적 및 호르몬에 의하여 조절된다.

다양한 작용물질들이 type II 세포의 surfactant 분비를 자극하며, 입증된 분비촉진제로는  $P_1$  (adenosine) 및  $P_2$  (ATP)를 통하여 작용하는 베타 아드레날린성 작용물질들과 purinoceptor 작용물질들 및 세포들내로 칼슘유입을 촉진시키는 이온운반체들과 직접 protein kinase C를 활성화시키는 약물들이다<sup>3-5)</sup>. Type II cell phosphatidylcholine (PC) 분비를 촉진하는 다른 약물로는 arachidonic acid, prostaglandin들, leukotriene들, vasopressin, histamine 및 항 histamine제들이다<sup>6-9)</sup>. Type II세포로부터 surfactant 분비를 억제하는 제제들은 SP-A, 식물렉틴들, 맥아 응집소, concanavalin A, adenosine  $A_1$  수용체들에 작용하는 물질들, substance P 및 compound 48/80 이다<sup>10-14)</sup>. PC분비는 적어도 한 개 이상의 신호변환 기전에 의하여 증대된다. Adenosine  $A_2$ 와 베타 아드레날린성 작용물질들은 adenylylase와 짝짓거나 이차 메신저인 cAMP의 세포표면 수용체들을 통하여 surfactant 분비를 촉진하는 제제들이며 베타 수용체들은 GTP와 결합하는 단백질  $G_s$ 를 통하여 adenylylase와 짝을 짓고, 콜레라 독소는 영구적으로  $G_s$ 를 활성화시켜 type II 세포들에서 PC의 분비를 자극한다<sup>15)</sup>. Forskolin은 adenylylase를 직접 자극하여 PC분비를 촉진하며<sup>16)</sup>, actin과 또는 다른 단백질의 인산화 역시 PC분비를 초래한다. 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate(TPA)

나 1-oleoyl-2-acetylgllycerol (OAG) 및 dioctanoylglycerol 같은 protein kinase C들의 활성제들은 type II세포들에서 surfactant분비를 초래한다<sup>17,18)</sup>. 세포의 ATP는 phosphoinositide-specific phospholipase C (PPI-PLC)와 짝짓는  $P_2$  purinoceptor에 작용하여 PC분비를 자극한다. PPI-PLC이 phosphatidylinositol bisphosphate ( $PIP_2$ )에 작용하여 이차 메신저들인 inositol trisphosphate( $IP_3$ )와 diacylglycerol (DAG)를 유발시키며<sup>18,19)</sup> DAG는 protein kinase C 및 ATP에 노출된 type II 세포들내 효소들을 활성화시킨다<sup>18)</sup>. Vasopressin은 type II 세포들내 PC분비 및 PPI-PLC를 활성화시키는 것으로 알려져 있다<sup>20)</sup>.  $IP_3$ 는 세포내 칼슘이동을 촉진시키고, ATP에 노출된 type II 세포들내 칼슘이 증가된다<sup>19)</sup>. A23187이나 ionomycin같은 이온운반체들은 칼슘흡수를 증가시켜 type II 세포내 PC분비를 촉진시키는 반면 calmodulin길항제들인 W-5와 W-13은 감소시킨다<sup>17,21,22)</sup>. 이와같은 사실은 calmodulin에 의존하는 단계가 surfactant분비 조절에 관여함을 암시한다.

Type II 세포들내 PC분비기전은 적어도 세가지의 신호변환 기전에 의하여 조절되는데 첫째, cAMP발생과 adenylylase의 활성, 및 cAMP에 의존하는 protein kinase의 활성 둘째, DAG발생과 PPI-PLC와 protein kinase C의 활성 및  $IP_3$ 의 발생, 셋째, 칼슘치의 증가와  $Ca^{2+}$ /calmodulin에 의존하는 protein kinase 또는 calmodulin에 의존하는 다른단계등이 관여한다 (Table 1). ATP는 세가지 모든 경로를 통하여 조정되는데 type II세포내에서 cAMP을 증가시켜 PC분비에 관여하고, 이러한 효과는 adenosine  $A_2$ 수용체에 대한 길항제에 의해 ATP의 자극효과의 75%가 소멸된다<sup>23,24)</sup>. PC분비에 대한 ATP의 효과는 5' (N-ethylcarboxyamido)adenosine (NECA), adenosine 유사체, terbutaline들을 추가했을시 보다 낮지는 못하다<sup>24)</sup>. PC분비에 대한 ATP의 대부분 효과는 adenylylase와 결합되어 있는 adenosine  $A_2$  수용체에 의하여 조

정되어 지는데 이와같은 사실은 ATP와 ATP의 길항제들이 신호변환기전에 있어서 역할을 분담한다고 볼 수 있다. PC에 대한 ATP의 자극효과의 35%는 calmodulin길항제에 의하여 소멸되며<sup>25)</sup> A<sub>2</sub>길항제와 protein kinase C 억제제 및 calmodulin길항제의 연합에 의하여 PC에 대한 ATP의 자극효과를 완전히 차단할 수 있다<sup>25)</sup>.

Surfactant분비를 조정하는 신호변환 경로들 사이에 혼선이 발생할 수 있다. PC분비에 대한 NECA의 자극효과는 ionomycin과 TPA, 및 dioctanoylglycerol과 상승작용이 있으며, 이러한 상승작용은 cAMP치를 높이며 또한 작용시간이 오래 지속되게한다<sup>22)</sup>. PC분비에 대한 ionomycin 효과는 A23187과 OAG와 terbutaline과 유사한 forskolin 및 cAMP와 상승작용이 있으며<sup>17,21,26)</sup> 반면 TPA로 전처치한 type II 세포들은 PC 분비에 있어서 ATP 및 IP<sub>3</sub>에 대한 ATP의 자극효과를 감소시킨다<sup>18)</sup>. 이와같이 서로 다른 신호전환 경로들 사이의 상호작용이 surfactant분비의 전체에 걸친 생리학적 조절에 있어 중요한 역할을 한다. Terbutaline과 NECA 및 ATP를 세포들에 첨가 한후 5분내지 15분에 cAMP는 최고치에 도달하며<sup>13,24,27)</sup> IP<sub>3</sub>는 ATP첨가후 30초에 최고치에 도달하였다가 2분에 기준치로 떨어진다<sup>18)</sup>. ATP 자극에 대한 phosphatidylethanol형성은 PPI-PLC

를 억제시키는 neomycin에 의해 감소되며<sup>28)</sup> ATP에 의한 IP<sub>3</sub>와 phosphatidylethanol의 형성은 백일해 독소에 의하여 역시 감소된다. ATP는 type II 세포에서 phosphatidylethanol형성을 촉진하며<sup>29)</sup> P<sub>2</sub>수용체에 작용하고 G단백을 통하여 PPI-PLC와 짝짓고 이효소의 활성화는 DAG의 발생과 TPA 및 dioctanoylglycerol에 의하여 직접 활성화되는 protein kinase C의 활성을 초래한다. Protein kinase C는 phospholipase D를 활성화시켜 세포내 많이 존재하는 인지질에 작용하여 많은량의 DAG를 형성하며 DAG는 protein kinase를 활성화시켜 PC 분비를 더 오래동안 지속시킨다.

결론적으로 surfactant 인지질분비는 적어도 3개의 서로 다른 신호변환 기전에 의하여 자극되는데 첫째, cAMP-dependent protein kinase의 활성화와 함께 adenylate cyclase system 둘째, 직접 또는 PPI-PLC의 활성화와 DAG들과 IP<sub>3</sub>의 발생에 의한 protein kinase C의 간접적인 활성화 셋째 칼슘치의 증가 및 calmodulin에 의존하는 단계가 포함된다. protein kinase C경로는 phospholipase D와 짝지어져 DAG들을 발생시켜 protein kinase C를 더욱 더 활성화시키고 또한 cycle을 영속시켜 surfactant분비를 오래동안 유지시킨다.

**Table 1.** Surfactant secretagogues and signal transduction mechanisms

Secretagogue class	Known secretagogues in type II cells	Effector enzyme	Second messenger	Protein kinase
$\beta$ -Agonist	terbutaline, isoproterenol	adenylate cyclase	cAMP	cAMP-dependent
Adenosine A <sub>2</sub> receptor agonist	adenosine, AMP NECA	adenylate cyclase	cAMP	cAMP-dependent
Protein kinase C activator	TPA, OAG, dioctanoylglycerol	none	none	protein kinase C
P <sub>2</sub> receptor agonist	ATP, ADP, UTP	PPI-PLC	DAG IP <sub>3</sub> , Ca <sup>2+</sup>	protein kinase C Ca <sup>2+</sup> /calmodulin-dependent?
Ionophore	ionomycin, A23187	none	Ca <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup> /calmodulin-dependent?

NECA = 5' (N-ethylcarboxyamido)adenosine; TPA = 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate;

OAG = 1-oleoyl-2-acetyl-glycerol; PPI-PLC = phosphoinositide-specific phospholipase C;

DAG = diacylglycerol; IP<sub>3</sub> = inositol trisphosphate.

## REFERENCES

- 1) Iwaarden JF van : Role for surfactant proteins in the alveolar defense system. *Prog Respir Res Basel Karger* **27** : 205, 1994
- 2) Phelps DS : The role of surfactant in the pathogenesis of pneumonia. *Prog Respir Res Basel Karger* **27** : 216, 1994
- 3) Rooney SA, Gobran LI, Griesse M : Signal transduction mechanisms mediating surfactant phospholipid secretion in isolated type II cells. *Prog Respir Res Basel Karger* **27**:84, 1994
- 4) Chander A, Fisher AB : Regulation of lung surfactant secretion. *Am J Physiol* **258** : L241, 1990
- 5) Wright JR, Dobbs LG : Regulation of pulmonary surfactant secretion and clearance. *Ann Rev Physiol* **53** : 395, 1991
- 6) Gilfillan AM, Rooney SA : Arachidonic acid metabolites stimulate phosphatidylcholine secretion in primary cultures of type II pneumocytes. *Biochim Biophys Acta* **833** : 336, 1985
- 7) Brown LAS, Wood LH : Stimulation of surfactant secretion by vasopressin in primary cultures of adult rat type II pneumocytes. *Biochim Biophys Acta* **1001** : 76, 1989
- 8) Chen M, Brown LAS : Histamine stimulation of surfactant secretion from rat type II pneumocytes. *Am J Physiol* **258** : L195, 1990
- 9) Gilfillan AM, Lewis AJ, Rooney SA : Effects of thiazinamium chloride and other antihistamines on phosphatidylcholine secretion in rat type II pneumocyte cultures. *Biochem Pharmacol* **36** : 277, 1987
- 10) Rice WR, Ross GF, Singleton FM, Dingle S, Whitset JA : Surfactant-associated protein inhibits phospholipid secretion from type II cells. *J Appl Physiol* **63** : 692, 1987
- 11) Griesse M, Gobran LI, Rooney SA : Surfactant lipid uptake and secretion in type II cells in response to lectins and secretagogues. *Am J Physiol* **261** : L434, 1991
- 12) Rice WR, Singleton FM : Regulation of surfactant phospholipid secretion from isolated rat alveolar type II cells by lectins. *Biochim Biophys Acta* **958** : 205, 1988
- 13) Rice WR, Singleton FM : Regulation of surfactant secretion from isolated type II pneumocytes by substance P. *Biochim Biophys Acta* **889** : 123, 1986
- 14) Rice WR, Whitset JA : Inhibition of surfactant release from isolated type II cells by compound 48/80. *Biochim Biophys Acta* **805** : 261, 1984
- 15) Mescher EJ, Dobbs LG, Mason RJ : Cholera toxin stimulates secretion of saturated phosphatidylcholine and increases cellular cyclic AMP in isolated rat alveolar type II cells. *Exp Lung Res* **5** : 173, 1983
- 16) Gobran LI, Rooney SA : Adenosine A<sub>1</sub> receptor-mediated inhibition of surfactant secretion in rat type II pneumocytes. *Am J Physiol* **258** : L45, 1990
- 17) Sano K, Voelker DR, Mason RJ : Involvement of protein kinase C in pulmonary surfactant secretion from alveolar type II cells. *J Biol Chem* **260** : 12725, 1985
- 18) Griesse M, Gobran LI, Rooney SA : ATP-stimulated inositol phospholipid metabolism and surfactant secretion in rat type II pneumocytes. *Am J Physiol* **260** : L586, 1991
- 19) Rice WR, Dorn CC, Singleton FM : P<sub>2</sub>-purinoceptor regulation of surfactant phosphatidylcholine secretion; Relative roles of calcium and protein kinase C. *Biochem J* **266**:407, 1990
- 20) Brown LAS, Chen M : Vasopressin signal

- transduction in rat type II pneumocytes. *Am J Physiol* **258** : L301, 1990
- 21) Dobbs LG, Gonzalez RF, Marinari LA, Mescher EJ, Hawgood S : The role of calcium in the secretion of surfactant by rat alveolar type II cells. *Biochim Biophys Acta* **877** : 305, 1986
  - 22) Griesse M, Gobran LI, Rooney SA : Potentiation of A<sub>2</sub> purinoceptor-stimulated surfactant phospholipid secretion in primary cultures of rat type II pneumocytes. *Lung* **171** : 75, 1993
  - 23) Warburton D, Buckley S, Cosico L : P1 and P2 purinergic receptor signal transduction in rat type II pneumocytes. *J Appl Physiol* **66** : 901, 1989
  - 24) Griesse M, Gobran LI, Rooney SA : A<sub>2</sub> and P<sub>2</sub> purine receptor interactions and surfactant secretion in primary cultures of type II cells. *Am J Physiol* **261**: L140, 1991
  - 25) Griesse M, Gobran LI, Rooney SA : Signal-transduction mechanisms of ATP-stimulated phosphatidylcholine secretion in rat type II pneumocytes ; Interactions between ATP and other surfactant secretagogues. *Biochim Biophys Acta* **1167** : 85, 1993
  - 26) Sano K, Voelker DR, Mason RJ : Effect of secretagogues on cytoplasmic free calcium in alveolar type II epithelial cells. *Am J Physiol* **253** : C 679, 1987
  - 27) Gilfillan AM, Rooney SA : Functional evidence for adenosine A<sub>2</sub> receptor regulation of phosphatidylcholine secretion in cultured type II pneumocytes. *J Pharmacol Exp Ther* **241** : 907, 1987
  - 28) Rooney SA, Gobran LI : Activation of phospholipase D in rat type II pneumocytes by ATP and other surfactant secretagogues. *Am J physiol* **264** : L133, 1993