

肠黏膜屏障在炎症性肠病中作用机制的研究进展

毛靖伟, 王英德

毛靖伟, 王英德, 大连医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省大连市 116011
作者贡献分布: 本文综述由毛靖伟与王英德完成; 王英德审校.
通讯作者: 王英德, 教授, 硕士生导师, 116011, 辽宁省大连市中山路222号, 大连医科大学附属第一医院消化内科.
albertwyd@yahoo.com.cn
电话: 0411-83635963-3162
收稿日期: 2009-12-05 修回日期: 2010-01-17
接受日期: 2010-01-26 在线出版日期: 2010-03-08

Advances in understanding the pathogenesis of mucosal barrier dysfunction in inflammatory bowel disease

Jing-Wei Mao, Ying-De Wang

Jing-Wei Mao, Ying-De Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China
Correspondence to: Professor Ying-De Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 222 Zhongshan Road, Dalian 116011, Liaoning Province, China. albertwyd@yahoo.com.cn
Received: 2009-12-05 Revised: 2010-01-17
Accepted: 2010-01-26 Published online: 2010-03-08

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic nonspecific intestinal inflammatory disease whose pathogenesis is closely associated with the alterations in mucosal barrier function. Normal mucosal barrier can not only maintain the stability of enteric flora and prevent the translocation of microbes and endotoxin but also play an important role in intestinal immune defense against microbes. Functional impairment of mucosal barrier has been noted in IBD. In this article, we will review the recent advances in understanding the pathogenesis of mucosal barrier dysfunction in IBD.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Mechanical barrier; Immunologic barrier; Biological barrier

Mao JW, Wang YD. Advances in understanding the pathogenesis of mucosal barrier dysfunction in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(7): 695-698

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是肠道慢性非特异性炎症, 黏膜屏障与IBD的关系密切. 正常的肠黏膜屏障能维持肠道内菌群的稳定、防止肠道内细菌及毒素的移位以及对微生物进行适当的免疫防御反应起重要作用. 而当发生IBD时存在肠黏膜屏障功能的障碍. 本文就肠黏膜屏障功能在IBD中作用机制的研究进展作一综述.

关键词: 炎症性肠病; 机械屏障; 免疫屏障; 生物屏障

毛靖伟, 王英德. 肠黏膜屏障在炎症性肠病中作用机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18(7): 695-698
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/695.asp>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)、克罗恩病(Crohn's disease, CD), 发病率逐年增高, 而其发病机制还未完全阐明, 但可以肯定肠黏膜屏障功能失调参与了IBD的发生, 无论UC或CD均存在肠黏膜屏障功能障碍. 肠黏膜屏障主要包括机械屏障、免疫屏障及生物屏障. 机械屏障由肠上皮细胞、肠黏液组成; 免疫屏障即肠道免疫防御系统主要由分泌性免疫球蛋白(secretory immunoglobulin, SIgA)和肠相关淋巴组织(gut associated lymphatic tissue, GALT)构成; 肠道正常菌群构成了肠道的生物屏障.

1 机械屏障

1.1 肠上皮细胞的屏障功能 完整的肠上皮细胞能阻止细菌及毒素等大分子渗透至肠黏膜固有层, 激活固有层免疫细胞维护肠黏膜屏障功能的稳定, 避免了黏膜异常免疫反应的发生. CD患者一级亲属存在肠上皮通透性异常, 说明肠黏膜屏障功能在IBD中具有遗传易感性^[1].

肠上皮细胞屏障功能主要依赖肠上皮细胞间的紧密连接. 上皮细胞紧密连接由紧密连接蛋白构成, 这些蛋白主要包括闭锁蛋白、

背景资料

正常的肠黏膜屏障能维持肠道菌群稳定、防止肠道内细菌及毒素的移位对肠腔内微生物进行适当的免疫耐受及防御反应. 炎症性肠病(IBD)是肠道的慢性非特异性炎症, 发病率逐年增高, 发病机制未完全阐明. 但可以肯定, 肠黏膜屏障功能失调参与了IBD的发生.

同行评议者
夏冰, 教授, 武汉大学中南医院消化内科

研发前沿

肠黏膜屏障功能异常是IBD发病的重要环节。黏膜屏障功能的研究将有助于进一步对IBD发病机制的认识。IBD中遗传易感基因、黏膜免疫以及肠腔内的微生物如何影响黏膜屏障功能正成为IBD的研究热点。

相关报道

国外Wells等报道了黏膜免疫屏障尤其是肠相关淋巴组织(GALT)中的多种免疫细胞及其表达的受体(TLRs、NLRs、CLRs等)对腔内微生物的不同免疫反应在肠黏膜中的作用。

连接相关分子等跨膜蛋白和闭锁小带(zonula occludens, ZO)、丝状肌动蛋白等30多种胞内蛋白。在IBD患者结肠黏膜中存在连接复合物(E-黏钙蛋白及 β -连环蛋白)的表达下调^[2]。肠上皮细胞间的紧密连接能被TNF- α 、IL-17、INF- γ 等多种细胞因子及上皮下的免疫网络所动态调控^[3]。正常的肠上皮细胞功能在肠机械屏障中起不可低估的作用。肠黏膜上皮细胞能表达前列腺素受体EP4(也被称为PTGER4), EP4能调节上皮的屏障功能: EP4基敲除小鼠更易患葡聚糖诱导的结肠炎^[4]。上皮细胞不断与肠腔内的微生物及上皮下的免疫细胞网络接触和相互作用。核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)在IBD中的作用已经得到公认^[5]。上皮细胞特殊的NF- κ B活化或抑制可能是其炎症再发或抑制的关键。IBD中肠腔内有些细菌可能通过抑制NF- κ B抑制蛋白(inhibitor nuclear factor-kappa B, I κ B)的降解、抑制与P50-P65异源二聚体结合的I κ B在蛋白化以及增强过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)- γ 介导的RelA核输出发挥降低上皮细胞中NF- κ B活性的功能^[6]。肠上皮细胞能表达Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)、核苷酸结合寡聚域蛋白-2(nucleotide-binding oligomerization domain protein-2, NOD2)。TLRs家族是一种识别微生物体上保守结构-病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs), 他可表达于肠道黏膜的上皮细胞中, 并介导微生物与细胞之间的相互作用, 对维护正常的肠黏膜屏障必不可少。TLRs能够识别共生菌或病原菌表达的PAMPs, 与黏膜耐受和保护有密切关系^[7]。TLRs信号途径可激活蛋白激酶C(protein kinase C, PKC), 引起ZO-1向细胞顶部紧密连接处的转移, 从而增强肠道黏膜屏障的完整性^[8]。NOD2基因为第1个已证实的人类CD易感基因^[9], 其蛋白的生理功能主要为: 调控细胞的凋亡及对细菌成分的反应, 诱导NF- κ B的激活^[10]。NOD2突变后能降低NF- κ B的活性, 造成机体先天免疫系统低反应性, 从而诱导了机体对肠腔内微生物异常强烈的继发性免疫反应, 进而引起CD的发生^[11]。Hisamatsu等^[12]推测NOD2作为抗菌因子参与黏膜上皮细胞对肠道细菌的反应, NOD2基因变异引起相应功能缺陷故无法防御有害菌群, 导致CD发生。Rosenstiel等^[13]也发现在NF- κ B介导下, TNF- α 和INF- γ 可上调肠上

皮细胞内NOD2基因表达, 提高对LPS的敏感性。

1.2 肠黏液 肠上皮表面覆盖的黏液主要为杯状细胞分泌的MUC2、MUC3等黏蛋白, 他们是一类糖蛋白, 有细菌黏附结合的生态位点, 可与肠上皮细胞上的结合位点竞争, 从而阻止细菌与肠上皮细胞结合, 有利于肠蠕动时清除细菌。肠黏液对抑制结肠炎的发生起重要作用^[14], MUC2缺失的小鼠能发生自发性结肠炎^[15]。杯状细胞除了分泌MUC系列黏蛋白, 还能分泌三叶草样多肽, 其在上皮/黏膜防御及修复中起关键作用^[16]。杯状细胞分泌的一种抵抗素样分子(resistin-like molecule, RELM) β , 被发现能诱导细菌的聚集, 而敲除这种基因能减少葡聚糖诱导的结肠炎症性损伤^[17]。

2 免疫屏障

肠道免疫防御系统可以称为黏膜的监视系统, 他对肠道内的菌群及抗原进行识别并作出不同的反应, 以维持肠道及全身的免疫平衡。

2.1 SIgA 黏膜浆细胞分泌IgA, 肠上皮细胞产生分泌片段, 2分子IgA通过J-链和1个分泌片段连接形成SIgA。SIgA分泌后分布于黏膜表面, 是肠道免疫屏障的重要方面。SIgA能中和毒素、细菌和其他生物活性抗原, 在补体等作用下溶解细菌, 与之形成抗原抗体复合物, 封闭其与肠上皮细胞结合的特异部位, 阻止细菌与肠上皮细胞吸附。此外, SIgA还通过介导抗体依赖细胞介导的细胞毒(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)作用等机制来行使多种功能。

2.2 GALT GALT中派伊尔氏结(Peyer's patches, PP)、孤立的淋巴滤泡及黏膜固有层是肠道黏膜免疫的诱发部位, 而黏膜固有层既是诱发部位又是效应部位, 另外, 上皮细胞间淋巴细胞也是黏膜免疫的效应部位。

GALT中还包括微皱褶细胞(micro-fold cell, 即M细胞)、潘氏细胞、树突状细胞(dendritic cell, DC)、巨噬细胞。肠黏膜内的“哨兵细胞”不断地监测肠道内的微生物, 其中的M细胞通过对大分子、IgA复合物及微生物的胞饮作用, 将他们运输至抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)。在APC中, 骨髓来源的DC是肠黏膜固有层中主要的亚型, 根据部位、成熟的程度及炎症阶段可表现大量的可塑功能。体内免疫荧光显微镜技术发现DC在肠上皮下形成了大量的网络, 同时通过上皮细胞间隙与肠腔内的抗原相互作用^[18]。肠腔内定植的DC对细菌选择

能部分的被CX3CR1依赖机制调节, 这种机制能允许DC与微生物直接接触^[19]. TLRs与相应的配体作用后能刺激未成熟的CD11c⁺、CD11b+DC产生IL-23; 而IL-23基因敲除实验证实, IL-23在结肠炎症小鼠模型的炎症中起主导作用^[20]. DC在IL-4、B淋巴细胞及肠内细菌参与下于肠道炎症的肉芽肿形成中起作用^[21]. GALT中的潘氏细胞位于绒毛隐窝的底部, 他们分泌抗微生物肽, 包括: α 与 β 防御素^[22]. 潘氏细胞 α -防御素的分泌减少可导致NOD2突变患者回肠末端CD的发生^[23]. 由于炎症信号, 循环中的巨噬细胞迁移到肠黏膜固有层, 这些细胞不同于腔内定植的巨噬细胞, 他们能表达髓样细胞触发受体(triggering receptor expressed on myeloid cells, TREM)-1/2、NOD样受体(NOD-like receptors, NLRs)及TLRs^[24,25]. 小鼠体内的巨噬细胞对STAT3选择性裂解, 说明巨噬细胞对IBD有调节作用^[26]. IL-10基因敲除的小鼠由于肠道内的巨噬细胞产生大量的IL-12、IL-23而导致了肠道的炎症, 去除小鼠体内的巨噬细胞后可阻止结肠炎的发展^[27]. 体内的免疫细胞如巨噬细胞和DC迁移至目标黏膜组织依赖细胞因子、炎症介质、黏附分子等的表达. 此外, 这些细胞产生的活性氧是炎症、组织损伤、上皮细胞通透性的关键因素. 补充活化的DC及巨噬细胞至黏膜固有层, 可放大局部炎症反应^[28], 这些细胞对黏膜的归巢被炎症介质受体和细菌信号调控. 由不同种类受体识别不同类的微生物分子是黏膜免疫的重要环节, 已有十余种TLRs、二十余种NLRs、一些C型凝集素受体(C-type lectin receptors, CLR)以及 β -葡聚糖受体被证实参与了黏膜免疫过程^[29]. 这些受体除了在肠上皮细胞内表达, 还主要在上述的DC、巨噬细胞及潘氏细胞中表达. TLR识别微生物后, 通过已知的NOD2蛋白激活NF- κ B途径, 启动信号级联反应, 诱导相关基因表达以防御微生物. 细菌肽聚糖成分胞壁酰二肽(muramyl dipeptide, MDP)可被NLRP1炎性体所识别^[30], 持续的MDP刺激可能使这些通路对入侵肠道的微生物等的耐受.

3 生物屏障

微生物控制着易感宿主IBD的进展. 微生物动态平衡尤其是黏膜中的共生菌群和宿主防御反应在慢性IBD发生、发展中起中枢性作用. 运用抗生素对IBD的一些亚型有益, 同时益生菌或某些细菌前体能改善IBD^[31]. 不同种系的实验鼠自发

性慢性肠炎的发生依赖腔内菌群参与: 肠道限菌状态下, 实验鼠的结肠炎很少发生; 但是当肠腔内给予一定量的细菌后则很快发生结肠炎^[32]. 肠道共生菌群及其产物可能作为自身抗原而诱导免疫耐受, 肠道感染时, 一些条件致病菌损害肠黏膜屏障, 肠腔内细菌及其产物等抗原移至肠黏膜固有层并激活黏膜免疫系统, 使之对肠腔内抗原失去耐受, 从而诱发IBD^[33]. 宿主防御反应比肠道内细菌种类本身更可能决定这种相互作用的结果. 由于菌丛的多样性、复杂性及对他们特性的研究方法有限阻碍了微生物-宿主相互作用的研究. 对微生物进行基因分析及菌丛分布、动力学等研究, 将有助于对IBD进一步了解.

4 结论

正常的肠黏膜屏障对维持肠道内微生物的稳定、防止肠道内细菌及毒素移位及适当的细菌免疫防御反应有重要作用. 肠黏膜屏障中任一屏障的功能异常均可导致多种肠道疾病的发生. 肠黏膜屏障功能异常是IBD发病的重要环节. 改善肠黏膜屏障功能是治疗IBD的重要目标, 如何用药、用什么药对黏膜屏障功能进行调节依赖对肠黏膜屏障的深入研究. 对IBD中遗传易感基因、肠腔内的微生物以及黏膜免疫, 尤其是固有层内免疫细胞及细胞因子网络如何影响黏膜屏障功能进行更深层次的研究, 将有助于我们对其发病机制的认识.

5 参考文献

- 1 Buhner S, Buning C, Genschel J, Kling K, Herrmann D, Dignass A, Kuechler I, Krueger S, Schmidt HH, Lochs H. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut* 2006; 55: 342-347
- 2 Gassler N, Rohr C, Schneider A, Kartenbeck J, Bach A, Obermüller N, Otto HF, Autschbach F. Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G216-G228
- 3 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434
- 4 Kabashima K, Saji T, Murata T, Nagamachi M, Matsuoka T, Segi E, Tsuboi K, Sugimoto Y, Kobayashi T, Miyachi Y, Ichikawa A, Narumiya S. The prostaglandin receptor EP4 suppresses colitis, mucosal damage and CD4 cell activation in the gut. *J Clin Invest* 2002; 109: 883-893
- 5 Atreya I, Atreya R, Neurath MF. NF-kappaB in inflammatory bowel disease. *J Intern Med* 2008; 263: 591-596
- 6 Neish AS, Gewirtz AT, Zeng H, Young AN, Hobert ME, Karmali V, Rao AS, Madara JL. Prokaryotic regulation of epithelial responses by inhibition of

创新盘点
本文从肠黏膜屏障中机械屏障、免疫屏障及生物屏障三个方面对IBD的发病机制进行阐述, 分析了近年来国内外关于IBD发病研究中的上述三方面的最新进展, 探讨今后的研究发展方向, 加深对IBD的认识.

同行评价
本文选题尚可, 有
一定的新意, 内容
全面, 具有一定的
可读性.

- IkappaB-alpha ubiquitination. *Science* 2000; 289: 1560-1563
- 7 Lee J, Gonzales-Navajas JM, Raz E. The "polarizing-tolerizing" mechanism of intestinal epithelium: its relevance to colonic homeostasis. *Semin Immunopathol* 2008; 30: 3-9
- 8 Cario E, Gerken G, Podolsky DK. Toll-like receptor 2 enhances ZO-1-associated intestinal epithelial barrier integrity via protein kinase C. *Gastroenterology* 2004; 127: 224-238
- 9 Cooney R, Jewell D. The genetic basis of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2009; 27: 428-442
- 10 Proell M, Riedl SJ, Fritz JH, Rojas AM, Schwarzenbacher R. The Nod-like receptor (NLR) family: a tale of similarities and differences. *PLoS One* 2008; 3: e2119
- 11 Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH, Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nuñez G, Cho JH. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 603-606
- 12 Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, Nadeau WJ, McCormick BA, Podolsky DK. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 993-1000
- 13 Rosenstiel P, Fantini M, Bräutigam K, Kühbacher T, Waetzig GH, Seegert D, Schreiber S. TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1001-1009
- 14 An G, Wei B, Xia B, McDaniel JM, Ju T, Cummings RD, Braun J, Xia L. Increased susceptibility to colitis and colorectal tumors in mice lacking core 3-derived O-glycans. *J Exp Med* 2007; 204: 1417-1429
- 15 Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, Velich A, Meijerink JP, Van Goudoever JB, Büller HA, Dekker J, Van Seuningen I, Renes IB, Einerhand AW. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 2006; 131: 117-129
- 16 Mashimo H, Wu DC, Podolsky DK, Fishman MC. Impaired defense of intestinal mucosa in mice lacking intestinal trefoil factor. *Science* 1996; 274: 262-265
- 17 McVay LD, Keilbaugh SA, Wong TM, Kierstein S, Shin ME, Lehrke M, Lefterova MI, Shifflett DE, Barnes SL, Cominelli F, Cohn SM, Hecht G, Lazar MA, Haczku A, Wu GD. Absence of bacterially induced RELMbeta reduces injury in the dextran sodium sulfate model of colitis. *J Clin Invest* 2006; 116: 2914-2923
- 18 Chieppa M, Rescigno M, Huang AY, Germain RN. Dynamic imaging of dendritic cell extension into the small bowel lumen in response to epithelial cell TLR engagement. *J Exp Med* 2006; 203: 2841-2852
- 19 Niess JH, Brand S, Gu X, Landsman L, Jung S, McCormick BA, Vyas JM, Boes M, Ploegh HL, Fox JG, Littman DR, Reinecker HC. CX3CR1-mediated dendritic cell access to the intestinal lumen and bacterial clearance. *Science* 2005; 307: 254-258
- 20 Becker C, Wirtz S, Blessing M, Pirhonen J, Strand D, Bechthold O, Frick J, Galle PR, Autenrieth I, Neurath MF. Constitutive p40 promoter activation and IL-23 production in the terminal ileum mediated by dendritic cells. *J Clin Invest* 2003; 112: 693-706
- 21 Mizoguchi A, Ogawa A, Takedatsu H, Sugimoto K, Shimomura Y, Shirane K, Nagahama K, Nagaishi T, Mizoguchi E, Blumberg RS, Bhan AK. Dependence of intestinal granuloma formation on unique myeloid DC-like cells. *J Clin Invest* 2007; 117: 605-615
- 22 Ramasundara M, Leach ST, Lemberg DA, Day AS. Defensins and inflammation: the role of defensins in inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 202-208
- 23 Wehkamp J, Salzman NH, Porter E, Nuding S, Weichenthal M, Petras RE, Shen B, Schaeffeler E, Schwab M, Linzmeier R, Feathers RW, Chu H, Lima H Jr, Fellermann K, Ganz T, Stange EF, Bevins CL. Reduced Paneth cell alpha-defensins in ileal Crohn's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 18129-18134
- 24 Schenk M, Bouchon A, Birrer S, Colonna M, Mueller C. Macrophages expressing triggering receptor expressed on myeloid cells-1 are underrepresented in the human intestine. *J Immunol* 2005; 174: 517-524
- 25 Weber B, Saurer L, Mueller C. Intestinal macrophages: differentiation and involvement in intestinal immunopathologies. *Semin Immunopathol* 2009; 31: 171-184
- 26 Takeda K, Clausen BE, Kaisho T, Tsujimura T, Terada N, Förster I, Akira S. Enhanced Th1 activity and development of chronic enterocolitis in mice devoid of Stat3 in macrophages and neutrophils. *Immunity* 1999; 10: 39-49
- 27 Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, Sato T, Matsuoka K, Arai K, Nakai T, Hasegawa A, Inoue N, Watanabe N, Akagawa KS, Hibi T. Abnormally differentiated subsets of intestinal macrophage play a key role in Th1-dominant chronic colitis through excess production of IL-12 and IL-23 in response to bacteria. *J Immunol* 2005; 175: 6900-6908
- 28 Fort MM, Leach MW, Rennick DM. A role for NK cells as regulators of CD4+ T cells in a transfer model of colitis. *J Immunol* 1998; 161: 3256-3261
- 29 Wells JM, Loonen LM, Karczewski JM. The role of innate signaling in the homeostasis of tolerance and immunity in the intestine. *Int J Med Microbiol* 2010; 300: 41-48
- 30 Bruey JM, Bruey-Sedano N, Luciano F, Zhai D, Balpai R, Xu C, Kress CL, Bailly-Maitre B, Li X, Osterman A, Matsuzawa S, Tersikh AV, Faustin B, Reed JC. Bcl-2 and Bcl-XL regulate proinflammatory caspase-1 activation by interaction with NALP1. *Cell* 2007; 129: 45-56
- 31 Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, Poggioli G, Miglioli M, Campieri M. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 124: 1202-1209
- 32 Elson CO, Cong Y, McCracken VJ, Dimmitt RA, Lorenz RG, Weaver CT. Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunol Rev* 2005; 206: 260-276
- 33 Boirivant M, Amendola A, Butera A. Intestinal microflora and immunoregulation. *Mucosal Immunol* 2008; 1 Suppl 1: S47-S49