

亲环素 A 生物学功能的研究进展

涂剑综述, 严鹏科, 廖端芳审校

(南华大学药物药理研究所, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 分子生物学; 亲环素 A; 综述; 免疫抑制; 前炎性因子

[摘要] 亲环素 A 是一种在生物界广泛存在、高度保守的蛋白质, 具有肽基脯氨酰顺/反异构酶活性, 参与蛋白质折叠、装配与运输; 它在细胞内能与环孢霉素 A 结合, 参与免疫抑制; 还可介导胆固醇转运, 能发挥前炎性因子的功能, 并且在信号转导中具有重要作用。

[中图分类号] Q7

[文献标识码] A

1984 年, Handschumacher 等^[1]第一次从牛胸腺中提取得到亲环素 A (cyclophilin A, CyPA), 此后人们陆续从不同种属各种组织和器官中分离获得 CyPA^[2,3], 成为环孢霉素 A 亲和素 (cyclophilin, CyP) 家族成员之一。CyPA 位于胞浆, 从原核细胞到人类, CyPA 广泛存在并且高度保守。亲环素 A 是免疫抑制剂环孢霉素 A (cyclosporin A, CsA) 在细胞内的作用靶点。近年来, 随着人们对 CyPA 研究的不断深入, 对其生物学功能又有了新的认识与补充。研究发现: CyPA 参与了细胞内小凹蛋白 (Caveolir 1) / CyPA / Cyclophilin 40 / 热休克蛋白 56 (heat-shock protein 56, HSP56) 复合物 (胆固醇转运复合物) 的形成^[4], 能激活内皮细胞, 成为前炎性因子, 还可作为一种氧化应激诱导分泌的生长因子。本文就 CyPA 的生物学功能以及该分子与疾病的关系作一综述。

1 介导环孢霉素 A 的免疫抑制

环孢霉素 A 是一种来自真菌的环十一肽, 临床上广泛用于器官移植后抗排斥反应, 近年来也用于一些自身免疫性疾病的治疗。由 X 线衍射和 NMR 已经确定 CyPA 与 CsA 的结合位点^[5], 证明 CyPA 是免疫抑制剂 CsA 的受体蛋白, CyPA 分子肽脯氨酸异构酶 (Peptidyl prolyl cis-trans isomerase, PPIase) 活性中心是 CsA 的结合位点。近来有研究表明^[6]: CyP 具有核酸酶活性, 在 T 细胞自然凋亡中起作用。当 CsA 进入 T 细胞, CyP 核酸酶活性被激活, 对 DNA 进行降解, CyP 与 CsA 结合, 导致细胞信号传导中断, 使 T 细胞活化必需的一些细胞因子表达受阻, 最终抑制 T 细胞增殖。在此机理之上进一步发现: 在临床一些自身免疫性疾病中, 该分子与某些疾病存在一些关联。1992 年, Harigai 等^[7]首先报道, 全身性红斑狼疮患者血清中出现抗 CyPA 抗体。有人进一步用酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测 SLE 患者

的 3 种抗 CyPA 抗体^[8], 结果发现, 抗 CyPA 抗体虽非 SLE 特异性抗体, 但可作为判断 SLE 病情活动性的参考指标之一。CyPA 还能特异性结合 I 型艾滋病毒 (human immunodeficiency virus type 1, HIV-1) 的 Gag 蛋白 Pr55gag^[9], 这种结合关系着对 HIV-1 生活周期的影响以及由免疫抑制病毒导致的相关病理变化, 与艾滋病的发病机理有关。从 CsA 能有效治疗牛皮癣发现: 人皮肤和角化细胞中的 CyP 在细胞不同分化时期有不同表达^[10]。另有研究表明, 在器官移植中不同的人体细胞对 CsA 具有不同的敏感性, 这种敏感性与不同的 CyP 异构体及其浓度相关。所以在对器官移植患者作 CsA 浓度监测的同时进行 CyP 浓度监测, 能更合理的应用 CsA 进行治疗并判断预后。

2 参与胆固醇流出的调控

Smart 等^[4]在研究 Caveolir 1 调节胆固醇代谢时发现: CyPA 参与 NIH3T3 细胞 Caveolir 1 / CyPA / Cyclophilin40 / HSP56 复合物 (胆固醇转运复合物) 的形成, 该复合物是细胞内胆固醇转运的主要载体。在胆固醇转运旺盛的细胞胞浆中可检测到组成该复合物的 4 种蛋白 Caveolir 1、CyPA、Cyclophilin40 和 HSP56, 在胞膜上只有组成该复合物的两种蛋白 Caveolir 1 和 CyPA 存在。近来的研究显示: 存在于细胞膜上的特异性内陷结构 Caveolae (小凹结构), 在介导细胞内胆固醇的转运、维持细胞内外胆固醇平衡过程中起着重要作用^[11]。Caveolir 1 是 Caveolae 的主要组成蛋白, Caveolir 1 是介导细胞尤其是细胞膜上 Caveolae 区域胆固醇转运的关键蛋白。Caveolir 1 氨基酸序列中包括一段长达 33 个氨基酸的疏水区域, 该疏水区域两端均带有一个脯氨酸残基, 借助这两个残基形成一个 N 末端、C 末端均面向胞浆的发夹结构, 该结构为游离胆固醇的结合部位^[12,13]。CyPA 也具有 PPIase 活性, 此酶可使脯氨酸发生顺一反式变化, 参与蛋白折叠^[14,15], CyPA 可能影响 Caveolir 1 疏水区两端的脯氨酸残基空间结构, 从而影响了 Caveolir 1 与胆固醇结合。此外, CyPA 的中部含一个 Caveolin 结合区 (Ligand binding domain) 和一个特异的热休克蛋白结合区 (3-unit tetratricopeptide repeat domain, TRP)^[16,17], Caveolir 1 的 C 末端 143 位半胱氨酸残基与 CyPA 结合有关 (这个位点

[收稿日期] 2004-10-09

[修回日期] 2005-03-15

[基金项目] 国家自然科学基金 973 (G2000-6905)、湖南省医药卫生基金 (B2004-086) 资助。

[作者简介] 涂剑, 硕士研究生, 助教, E-mail 为 xiaotutj0706@sina.com。严鹏科, 博士, 讲师, 硕士研究生导师, E-mail 为 cnyanpk@tom.com。

通讯作者廖端芳, 博士, 教授, 博士研究生导师, 联系电话为 0734-8281408, E-mail 为 dfliao66@yahoo.com.cn。

为胆固醇结合和转运复合物形成所必须^[18]), 均提示 CyPA 和 Caveolin-1 分子间的相互作用与胆固醇转运密切相关。Jing 等^[19] 研究发现, 用氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low density lipoprotein, ox-LDL) 作用于培养的大鼠血管平滑肌细胞 24 小时, 可使 CyPA 大量外溢 (CyPA 在细胞内、外的功能可能存在差异, 在细胞内以参与胆固醇代谢为主, 在胞外以显示生长因子活性为主), 细胞培养液中的 CyPA 含量显著增加, 同时伴有细胞内胆固醇及胆固醇酯的明显增加; 同一条件下用抗氧化剂丙丁酚处理, 能促进 CyclophilinA 表达, 抑制 CyPA 外溢。最近研究显示: 在清道夫受体转基因建立的动脉粥样硬化动物模型中, 巨噬细胞中的清道夫受体 (macrophage scavenger receptors, MSRs) 可调控 CyPA 免疫抑制剂 CsA 的浓度^[20], 提示 CyPA 对动脉粥样硬化的发生可能有一定的作用。

3 亲环素 A 是一种能激活内皮细胞的前炎症因子

Jin 等^[21] 利用免疫组织化学技术, 观察了敲除载脂蛋白 E (apolipoprotein E) 基因小鼠引发的动脉粥样硬化的模型斑块, 结果发现斑块中 CyPA 高表达。内皮细胞是重要的炎症调控区, CyPA 能激活内皮细胞, 人重组 CyPA 能激活包括细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2)、JNK (Jun N-terminal kinase) 和 p38 MAPK 在内的丝裂素活化蛋白激酶, 并促进如 E 选择素和血管细胞黏附分子 1 等的表达。此外, 重组 CyPA 与抗真菌药环己酰亚胺 (cycloheximide) 诱导的内皮细胞凋亡也与 α 肿瘤坏死因子的前凋亡相似。以上均提示 CyPA 是一种调控免疫相关的心血管疾病中内皮细胞功能的旁分泌和自分泌因子^[22]。

4 亲环素 A 是一种氧化应激诱导分泌的生长因子

亲环素 A 是一种氧化应激诱导分泌的生长因子。实验证明 CyPA 具有 PPIase 活性^[19], 在氧化应激条件下由血管平滑肌细胞分泌到细胞外, 介导活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 介质对 ERK1/2 的激活和血管平滑肌细胞增殖。人类重组的 CyPA 能模仿细胞分泌的 CyPA 功能, 激活 ERK1/2 并刺激平滑肌细胞增殖。CyPA 激活 ERK1/2 需要 PPIase 参与, 而 PPIase 酶抑制剂环孢霉素可抑制 CyPA 对 ERK1/2 的激活; 同时 CyPA 还能抑制硝普钠诱导的血管平滑肌细胞凋亡。在体外, 氧化应激和血管损伤又能促进 CyPA 的表达和分泌。用免疫组织化学方法通过大鼠颈总动脉球囊损伤模型检测 CyPA 会发现: 球囊损伤 24 h 后整个血管壁都有 CyPA 表达, 其中内膜 CyPA 表达最强; 到第 4 天 CyPA 开始在中膜层和新生内膜细胞表达; 一周后当完整的新生内膜已形成时, CyPA 主要在中膜层和新生内膜表达, 呈现逐渐从外膜向内膜“迁移”现象。这些发现第一次证明 CyPA 为氧化应激诱导分泌的生长因子, 表明 CyPA 在血管疾病发病机制中发挥着重要作用。周四桂等^[23] 研究发现, 经血管内皮细胞建立缺氧/复氧 (hypoxia/reoxygenation, H/R) 模型, 在缺氧 1 小时复氧 4 小时后, ROS 释放增多, CyPA 的表达明显上调, ERK1/2 显著活化, 调节细胞黏附分子表达, 介导 H/R 引起的血管内皮细胞-

中性粒细胞黏附。通过 CyPA 的反义寡核苷酸处理, CyPA 表达下调; 用 CsA 可抑制 CyPA 的 PPIase 活性^[24]。证明 CyPA 的反义寡核苷酸与 CsA 二者均可显著抑制 H/R 引起的 ERK1/2 等激活, 抑制血管内皮细胞-中性粒细胞粘附。

近年来, 围绕 CyPA 生物学功能的研究越来越深入和广泛, 并已经揭示出许多新的现象。CyPA 在免疫抑制、介导胆固醇流出、调节细胞内胆固醇的动态平衡以及与动脉粥样硬化发生中发挥着重要作用, 同时对于炎症的发生、细胞凋亡等可能也有重要的调控作用。尽管如此, CyPA 在动脉粥样硬化性疾病、各种肿瘤和病毒感染等的发生发展中的作用和机理均有待进一步阐明。

[参考文献]

- [1] Handschumacher RE, Harding MW, Rice J, Drugge RJ, Speicher DW. Cyclophilin: aspecific cytosolic binding protein for cyclosporin A. *Science*, 1984, **226**(4674): 544-547
- [2] Gasser CS, Gunning DA, Budelier KA, Brown SM. Structure and expression of cytosolic cyclophilin/peptidyl prolyl cis-trans isomerase of higher plants and production of active tomato cyclophilin in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**(24): 9 519-523
- [3] Ryffel B, Woerly G, Greiner B, Haendler B, Mihatsch MJ, Foxwell BM. Distribution of the cyclosporine binding protein cyclophilin in human tissues. *Immunology*, 1991, **72**(3): 399-404
- [4] Smart FJ, Ying YS, Donzell WC. A role for caveolin in transport of cholesterol from endoplasmic reticulum to plasma membrane. *J Biol Chem*, 1996, **271**: 29 427-435
- [5] Theriault Y, Logan TM, Meadows R, Yu L, Olejniczak ET, Holzman TF, et al. Solution structure of the cyclosporin A/cyclophilin complex by NMR. *Nature*, 1993, **361**: 88-91
- [6] Murayama T, Frutani M. Archaeal peptidyl prolyl cis-trans isomerases (PPIases). *Front Biosci*, 2000, **5**: 821-836
- [7] Harigai M, Hara M, Takahashi N, Kitani A, Hirose T, Suzuki K, et al. Presence of autoantibodies to peptidyl prolyl cis-trans isomerase (cyclosporin A-binding protein) in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol Immunopathol*, 1992, **63**(1): 58-65
- [8] 张缪佳, 刘晓华, 陈子庆, 沈友轩, 顾 镭, 柯 瑶, 等. 系统性红斑狼疮患者血清抗亲环素 A 抗体检测的临床意义. *南京医科大学学报 (自然科学版)*, 2003, **9**(5): 446-449
- [9] Luban J, Bossolt KL, Franke EK, Kalpana GV, Goff SP. Human immunodeficiency virus type 1 Gag protein binds to cyclophilins A and B. *Cell*, 1993, **73**(6): 1 067-078
- [10] Chatellard-Gruaz D, Saurat JH, Siegenthaler G. Differential expression of cyclophilin isoforms during keratinocyte differentiation. *Biochem J*, 1994, **303**(Pt 3): 863-867
- [11] Schlegel A, Lisanti MP. Caveolae and their coat proteins, the caveolins: from electron microscopic novelty to biological launching pad. *J Cell Physiol*, 2001, **186**(3): 329-337
- [12] Murata M, Peranen J, Schreiner R, Wieland F, Kurzchalia TV, Simons K. VIP21/caveolin is a cholesterol-binding protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 10 339-343
- [13] Dupree P, Parton RG, Raposo G, Kurzchalia TV, Simons K. Caveolae and sorting in the trans-Golgi network of epithelial cells. *EMBO J*, 1993, **12**: 1 597-605
- [14] Takahashi N, Hayano T, Suzuki M. Peptidyl prolyl cis-trans isomerase is the cyclosporin A binding protein cyclophilin. *Nature*, 1989, **337**(6206): 473-475
- [15] Maki K, Ikura T, Hayano T, Takahashi N, Kuwajima K. Effects of proline mutations on the folding of staphylococcal nuclease. *Biochemistry*, 1999, **38**(7): 2 213-223
- [16] Annette Uittenbogaard, Eric J Smart. Palmitoylation of caveolin-1 is required for cholesterol binding, chaperone complex formation, and rapid transport of cholesterol to caveole. *J Biol Chem*, 2000, **275**(33): 25 595-599
- [17] Kallen J, Walkinshaw MD. The X-ray structure of a tetrapeptide bound to the active site of human cyclophilin A. *FEBS Lett*, 1992, **300**(3): 286-290

- [18] Zhao Y, Ke H. Crystal structure implies that cyclophilin predominantly catalyzes the trans to cis isomerization. *Biochemistry*, 1996, **35**(23): 7 356-361
- [19] Jing ZG, Melaragno MG, Liao DF, Yan C, Haendeler J, Suh YA, et al. CyclophilinA is a secreted growth factor induced by oxidative stress. *Circ Res*, 2000, **87**(9): 789-796
- [20] Jin S, Mathis AS, Gioia K, Minko T, Friedman GS, Rosenblatt J, et al. Effect of tacrolimus on the expression of macrophage scavenger and nuclear hormone receptors in THP-1-derived human macrophages. *Transplantation*, 2004, **77**(8): 1 281-287
- [21] Jin ZG, Lungu AO, Xie L, Wang M, Wong C, Berk BC. Cyclophilin A is a proinflammatory cytokine that activates endothelial cells, arterioscler. *Thromb Vasc Biol*, 2004, **24**(7): 1 186-191
- [22] Kim SH, Lessner SM, Sakurai Y, Galis ZS. CyclophilinA as a novel biphasic mediator of endothelial activation and dysfunction. *Am J Pathol*, 2004, **164**(5): 1 567-574
- [23] 周四桂, 雷小勇, 廖端芳. 缺氧预适应对缺氧复氧诱导内皮细胞一中性粒细胞黏附的影响. *中国危重病急救医学*, 2003, **15**(3): 159-163
- [24] Zhou SG, Xu LP, Liao DF, Lei XY, Yan FX, Zhu BY. Cyclosporin A inhibits the adhesion of neutrophil with ECV-304 induced by hypoxia/reoxygenation via ROS-Cyclophilin A-ERK1/2 pathway. *Sheng Li Xue Bao*, 2004, **56**(3): 313-320
- (此文编辑 朱雯霞)

《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》 (生物医药类)一览表(2003 年度)

中国医科大学学报	中华病理学杂志
中国医疗器械杂志	中华超声影像学杂志
中国医师杂志	中华传染病杂志
中国医学计算机成像杂志	中华创伤骨科杂志
中国医学科学院学报	中华创伤杂志
中国医学伦理学	中华儿科杂志
中国医学物理学杂志	中华耳鼻咽喉科杂志
中国医学影像技术	中华放射学杂志
中国医学影像学杂志	中华放射医学与防护杂志
中国医药工业杂志	中华放射肿瘤学杂志
中国医药学报	中华风湿病学杂志
中国医院药学杂志	中华妇产科杂志
中国应用生理学杂志	中华肝胆外科杂志
中国优生与遗传杂志	中华肝脏病杂志
中国运动医学杂志	中华骨科杂志
中国针灸	中华航海医学与高气压医学杂志
中国职业医学	中华航空航天医学杂志
中国中西医结合急救杂志	中华核医学杂志
中国中西医结合肾病杂志	中华护理杂志
中国中西医结合消化杂志	中华急诊医学杂志
中国中西医结合杂志	中华检验医学杂志
中国中药杂志	中华结核和呼吸杂志
中国中医骨伤科杂志	中华精神科杂志
中国中医急症	中华口腔医学杂志
中国中医药科技	中华劳动卫生职业病杂志
中国中医药信息杂志	中华老年多器官疾病杂志
中国肿瘤临床	中华老年心脑血管病杂志
中国肿瘤临床与康复	中华老年医学杂志
中国肿瘤生物治疗杂志	中华流行病学杂志
中国综合临床	中华麻醉学杂志
中国组织化学与细胞化学杂志	中华泌尿外科杂志