

# 凝溶胶蛋白的生物学功能及临床意义

王佳 赵卫国 闵锐

【关键词】凝溶胶蛋白；结构；功能；创伤

## 1 凝溶胶蛋白(gelsolin)的结构

凝溶胶蛋白是凝溶胶蛋白超家族成员之一,属肌动蛋白结合蛋白,普遍存在于哺乳动物和非哺乳动物的体内。该蛋白质家族由 gelsolin、微丝切割蛋白(adseverin)、绒毛蛋白(villin)、加帽蛋白 G(capG)、绒毛蛋白样蛋白(advillin)、肌动蛋白成束蛋白(supervillin)、flightless1 等 7 种蛋白质组成。凝溶胶蛋白相对分子质量为 82 000~84 000,基因定位于 9q33,长度 70 kb,至少含有 14 个外显子。哺乳动物体内凝溶胶蛋白有胞质型和血浆型两种形式,两种凝溶胶蛋白由同一个基因在不同转录起始位点进行转录编码。另有文献报道发现了凝溶胶蛋白的第 3 种形式,即 gelsolin-3。gelsolin-3 属胞质型,其特点是在 N-末端附加有 11 个氨基酸残基。gelsolin-3 主要表达于少突胶质细胞,但对于其特殊功能的探索目前尚无结果<sup>[1]</sup>。凝溶胶蛋白全长包含前后两个同源的结构相似部分,两部分分别包含 3 个重复片段(G1~G3 和 G4~G6),N-末端(NH<sub>2</sub>)和 C-末端(COOH-)之间有一个链状连接,可以被天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)切断。凝溶胶蛋白有 G1、G2、G4 3 个肌动蛋白结合位点,1 个磷脂酰肌醇二磷酸(PIP<sub>2</sub>)的结合位点 G2,3 个 Ca<sup>2+</sup>结合位点 G1、G4 和 G6。其中,肌动蛋白结合位点 G1 和 G4 片段能够结合球状肌动蛋白(G-actin),G2 可以结合纤维状肌动蛋白(F-actin)。

## 2 凝溶胶蛋白的生物学功能

### 2.1 凝溶胶蛋白与肌动蛋白的作用:

在正常生理条件下,肌动蛋白以单体(G-actin)和聚合体(F-actin)两种形式存在,两者在细胞内通过聚合解聚作用维持动态平衡。凝溶胶蛋白以 Ca<sup>2+</sup>依赖的方式切割、封闭肌动蛋白,从而调节肌动蛋白的结构和长度。在缺乏 Ca<sup>2+</sup>的条件下,

凝溶胶蛋白处于非活化状态,其结构似圆球形,各个节段紧紧包裹在一起。晶体结构分析表明,其 C-末端有封闭的螺旋状尾部(latch helix),螺旋状尾部与肌动蛋白的结合位点 G2 紧密结合。凝溶胶蛋白与肌动蛋白具体的作用机制目前尚未彻底阐明,但螺旋状尾部假说一直得到人们的推崇。该假说认为 Ca<sup>2+</sup>首先与 G6 结合,二者结合导致凝溶胶蛋白的结构发生第一次变化,释放出与螺旋状尾部紧密结合的肌动蛋白结合位点 G2,之后 G2 与肌动蛋白结合,两者的结合介导了 G1 与肌动蛋白的结合。G4 和 G6 在无 Ca<sup>2+</sup>时相互结合在一起,当存在 Ca<sup>2+</sup>时,两者之间的结合就被打开,G6 形成新的结合位点并与 G5 结合,这种变化释放出 G4 位点,G4 可同时与 Ca<sup>2+</sup>和肌动蛋白结合,此时凝溶胶蛋白的 N-末端和 C-末端结合两个相邻的肌动蛋白丝,然后开始切割肌动蛋白。在切割完成之后,凝溶胶蛋白依然结合在由切割所形成较短的肌动蛋白丝末端,形成对肌动蛋白末端的覆盖,被覆盖的末端称为倒刺末端(barbed end)。凝溶胶蛋白通过倒刺末端封闭肌动蛋白,阻止 G-actin 继续结合到纤维末端。这种结合十分牢固,只有在 PIP<sub>2</sub>与凝溶胶蛋白相互作用时才可去除其对肌动蛋白的封端作用。有报道一种细菌来源的蛋白也可以抑制凝溶胶蛋白的切割活性。这些细菌有可能侵入细胞,释放效应蛋白,通过抑制凝溶胶蛋白对肌动蛋白的切割活性,引起细胞骨架重组及细胞膜边缘波动<sup>[2-3]</sup>,其机制有待于进一步研究。

### 2.2 凝溶胶蛋白与细胞活性、细胞运动:

敲除凝溶胶蛋白基因小鼠不能表达凝溶胶蛋白,活体动物实验证明该品系 BALB/c 小鼠和 C57 小鼠在胚胎期 17 d 和生后 21 d 无法存活<sup>[4]</sup>。缺乏凝溶胶蛋白的神经元对谷氨酸盐所诱导兴奋性毒性更为敏感。该品系小鼠成纤维细胞无法切割和重组肌动蛋白丝,对生长因子的刺激无反应,无趋药性及创伤愈合能

力。在用无细胞系统检验李斯特菌属运动实验中,凝溶胶蛋白未表现出重要作用,但该菌属中凝溶胶蛋白转染小鼠成纤维细胞(NIH3T3)细胞系却表现出相应的运动性增加<sup>[4]</sup>。说明凝溶胶蛋白与动物生存密切相关,在维持细胞活性和肌动蛋白动力学过程中发挥重要作用。

### 2.3 凝溶胶蛋白与信号转导、离子通道调节:

磷脂是细胞膜的基本构成成分,磷脂酰肌醇是磷脂的一种,在细胞信号转导中起重要作用。在微摩尔 Ca<sup>2+</sup>或微酸环境中,凝溶胶蛋白和磷脂酰肌醇的结合力明显增强。凝溶胶蛋白可改变磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸盐聚合物的结构,反映出凝溶胶蛋白与磷酸肌醇的高亲和力,且在 NIH3T3 中过表达凝溶胶蛋白对细胞因子激活磷脂酶 C $\beta$  或 C $\gamma$  的信号转导有重要意义。从一系列脂酶和激酶(包括 phospholipases C $\gamma$ 1、C $\delta$  和磷脂酰肌醇 3-激酶等)复合物中也可分离到凝溶胶蛋白,表明凝溶胶蛋白可能通过与磷脂酰肌醇或信号转导相关酶类相互作用直接或间接参与脂质信号转导。

雄激素受体(AR)在许多生理过程及前列腺癌的进展过程中发挥着重要的生物学作用。AR 是一种转录因子,是核受体超家族的成员之一。AR 的 N-末端和 C-末端之间的相互作用在 AR 介导的很多病理生理过程中发挥着关键作用。很多 AR 相关蛋白和共激活物对其 N-末端和 C-末端的相互作用会产生影响。研究人员通过对各种影响因子进行研究测定发现,凝溶胶蛋白作为 AR 的相关蛋白之一,在 AR 转运过程中可以加快其核转运过程,促进 AR 的转录活性,并且在 5 $\alpha$ -双氢睾酮的参与下,凝溶胶蛋白可以抑制前列腺癌 LNCaP 细胞的生长<sup>[5]</sup>。近年来动物实验表明凝溶胶蛋白有可能参与离子通道的调节。与野生型动物相比,缺乏凝溶胶蛋白表达的动物在胚胎期海马神经元 F-actin 增加,N-甲基-D-天门冬氨酸受体介导的细胞电流增加,细胞对 Ca<sup>2+</sup>的吸收增加、谷氨酸盐刺激所导致的细胞坏死增加;而

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.04.025

作者单位:200433 上海市第二军医大学海军医学系放射医学教研室

且癫痫所诱导海马神经元损伤和局部缺血所造成的大脑皮质损害均增加。这些现象提示凝溶胶蛋白可能在离子通道调节方面发挥着一定作用。

**2.4 凝溶胶蛋白与细胞凋亡:**细胞凋亡的过程是由 caspases 激活的级联反应, caspase-3 是细胞凋亡的核心效应酶,凝溶胶蛋白是其靶蛋白之一。研究表明凝溶胶蛋白可通过不同机制抑制效应酶 caspase 活性或其激活过程:①细胞过表达凝溶胶蛋白可阻止 caspase-3 激活。②用无细胞系统研究细胞凋亡的过程表明凝溶胶蛋白与 PIP2、caspase-3 形成的复合物可抑制 caspase-3 活性,体内凝溶胶蛋白和 PIP2 形成的复合物与细胞凋亡延迟发生有关联。③凝溶胶蛋白过表达可阻断受凋亡因子刺激的 Jurkat 细胞线粒体膜电位丢失和细胞色素 C 释放,阻断 caspase 激活的信号转导途径,使效应蛋白 caspase 无法激活。所以凝溶胶蛋白可能通过抑制效应酶 caspase 活性抑制细胞凋亡。但是也有报道,观察过表达凝溶胶蛋白的 T 淋巴细胞并未发现 Fas 蛋白诱导的细胞凋亡过程延迟<sup>[11]</sup>。因此目前对于凝溶胶蛋白是否能抑制细胞凋亡仍然存在争议。

**2.5 凝溶胶蛋白与肿瘤:**许多研究发现凝溶胶蛋白在肿瘤组织中的表达明显下降,如研究者检测膀胱癌患者的凝溶胶蛋白含量,发现有 77.8% 的患者凝溶胶蛋白未检出或明显下降,而如果将外源性人或鼠的凝溶胶蛋白 cDNA 转染至膀胱癌患者的癌细胞系中,则凝溶胶蛋白的转染子 UMUC-2 会大大降低肿瘤细胞的集落形成能力和致肿瘤性,所以凝溶胶蛋白基因被认为是一个候选的抑癌基因。但是也有学者认为凝溶胶蛋白对肿瘤的发生有促进作用<sup>[6]</sup>。此问题产生的分歧可能是由于研究人员选用的肿瘤细胞种属或分型不一致,亦或检测方法、评价指标存在差异等原因所造成,凝溶胶蛋白对肿瘤的发生究竟有什么样的作用,尚有待于进一步研究证实。

**2.6 凝溶胶蛋白的其他生物学作用:**气道表面的黏液层在黏纤纤毛清除及防止微生物、有害因子侵入机体中发挥着重要的作用。研究人员运用蛋白组学的方法在静止期和白细胞介素-4(IL-4)处理后测定人类支气管上皮细胞分泌到黏液层中的蛋白质,发现分泌最丰富的蛋白质就是凝溶胶蛋白。IL-4 处理组的凝溶

胶蛋白分泌量是静止期的 3 倍,哮喘受试者的凝溶胶蛋白分泌量也有所上调。体外实验证实哮喘患者的支气管肺泡灌洗液中凝溶胶蛋白和 IL-4 的浓度均升高<sup>[7]</sup>。这些结果揭示凝溶胶蛋白可能会通过分解炎症过程中由濒死细胞释放的大量 F-actin 来提高哮喘患者气道表面黏液的流动性,在辅助黏液层维持自然免疫等方面有某种作用。

血小板的形成和活化过程需要细胞骨架肌动蛋白的参与。血小板是由经历了增殖、分化、细胞核多倍体化及凋亡过程的巨核细胞所分裂形成的。巨核细胞可以表达凝溶胶蛋白,但不能表达同属于凝溶胶蛋白超家族的 adseverin 和 capG。如果强制表达 adseverin,可以诱导巨核细胞形成血小板,并且会下调凝溶胶蛋白的表达,这说明凝溶胶蛋白有可能会抑制巨核细胞分化,阻断其形成血小板。血小板在活化的第一阶段,其形状需要从圆盘状转变为长而细的丝状伪足,这种纤维状伪足包含有大量的 F-actin。凝溶胶蛋白可以切割肌动蛋白并封闭倒刺末端,阻止 G-actin 聚合为 F-actin<sup>[1]</sup>。如果不去除凝溶胶蛋白对肌动蛋白的切割封端作用,肌动蛋白就无法聚合,无法形成 F-actin,无法形成纤维状伪足。从这个意义上说,凝溶胶蛋白可能会抑制血小板的活化过程。

血浆凝溶胶蛋白基因的变异还是某些遗传性疾病的基础,有报道,芬兰型家族性淀粉样变性病 (FAF) 与血浆凝溶胶蛋白 187 位点的基因突变密切相关<sup>[1]</sup>。凝溶胶蛋白还可以和一些促炎症反应脂质如溶血磷脂酸、1-磷酸鞘氨醇、磷酸肌醇等结合介导炎症反应<sup>[8]</sup>。

**3 凝溶胶蛋白与临床**

肌动蛋白是真核生物细胞中含量最丰富的一种细胞骨架蛋白,细胞中超过 10% 的细胞溶质蛋白质由其构成,当细胞受损时,大量的肌动蛋白就会从细胞中释放到细胞间隙和循环中,可能会阻塞微循环,使组织器官受损。对于这种可能性的鉴定,研究人员已做了大量研究。将足量的肌动蛋白由静脉输入小鼠体内,发现血管内有微丝、微血栓形成,血管内皮细胞出现了损伤情况,这些变化在肺部血液循环中尤为明显,可造成严重的肺部损伤,大量的肌动蛋白最终导致小鼠死亡。在体外实验中,将肌动蛋白输入凝溶胶蛋白孵育的细胞中时,却并

未观察到上述的病理变化<sup>[9]</sup>。检测急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 患者的血清和加有 G-actin 的正常血清对羊肺动脉内皮细胞 (SPAEC) 的活性、形态及功能的作用情况,结果显示,ARDS 患者血清和含有肌动蛋白的正常血清对该种细胞均有毒性效应。如果 SPAEC 预先用凝溶胶蛋白孵育,则不会出现细胞毒性效应;同时还在 ARDS 患者血清中检测到肌动蛋白存在,并证明含 G-actin 的血清中肌动蛋白由单体转化为聚合体后可直接损伤 SPAEC,而非继发的微血栓、血小板活化等造成对 SPAEC 的损伤<sup>[10]</sup>。另外,有报道在油酸刺激的肺损伤和 ARDS 患者外周血中均发现有肌动蛋白和凝溶胶蛋白复合物的存在;而在正常人的血液循环中未检出<sup>[9]</sup>。这些实验均证明,肌动蛋白泄漏至细胞外环境后,会对多个组织器官功能障碍的病理生理过程产生影响,血浆凝溶胶蛋白在这个病理生理过程中可能会与肌动蛋白相互作用,减轻肌动蛋白的损伤效应。

目前有很多学者认为,破裂细胞释放的肌动蛋白之所以对组织器官表现出毒性效应,关键是肌动蛋白的数量太大,超过了凝溶胶蛋白的数量,凝溶胶蛋白的清除能力耗竭,无法将所有的肌动蛋白清除。已有研究报道急性肝功能障碍、心肌梗死、脓毒症及肌坏死的患者血液中凝溶胶蛋白的水平明显下降<sup>[9]</sup>。正常生理条件下,肠系膜淋巴液中凝溶胶蛋白的表达水平高于其在血浆中的表达水平。最近,研究人员发现在失血性休克后,肠系膜淋巴液中凝溶胶蛋白的表达也显著下降<sup>[8]</sup>。基于以上的认识,研究者推测血浆凝溶胶蛋白水平或许可以与多种损伤的严重程度及预后发生联系,在各种创伤后向机体灌输凝溶胶蛋白也许会阻止病情发展,促进损伤尽快修复。为检验血浆凝溶胶蛋白的水平与手术、创伤患者病死率之间的关系,研究者对重症监护病房 (ICU) 中各类严重创伤患者进行随访观察,发现低水平血浆凝溶胶蛋白与 ICU 死亡风险的增加密切相关。血浆凝溶胶蛋白水平低于 61 mg/L (即血浆凝溶胶蛋白正常水平的 25%) 意味着滞留 ICU 的时间延长,依赖呼吸机的时间延长,住院病死率增加<sup>[9]</sup>。

在治疗及预防疾病方面,研究人员发现,大鼠皮肤总体表面积 40% 烧伤后 12 h 内凝溶胶蛋白水平可降至正常水

平的 10%，并在烧伤后 6 d 内一直低于正常水平，如将人重组血浆凝溶胶蛋白给烧伤大鼠，则会降低肺部微循环渗透性增加，对烧伤所致的肺微血管损伤有治疗保护作用<sup>[11]</sup>。有报道凝溶胶蛋白可作为动物脓毒症的生物标记和治疗试剂，证实了补充外源性凝溶胶蛋白可减少脓毒症动物的死亡率，认为凝溶胶蛋白在动物脓毒症的治疗保护方面发挥着关键作用<sup>[12]</sup>。美国有相关专利文献也表明，应用血浆凝溶胶蛋白或其活性片段、同系物、同型物，可有效治疗及预防由细菌内毒素、细菌细胞壁脂多糖(LPS)和脂壁酸质(LTA)所导致的感染性休克，并可以有效控制感染性休克患者的病情发展。该项专利指出，血浆凝溶胶蛋白可用于对抗或预防脓毒症、严重炎症或其他危重情况<sup>[13]</sup>。这些研究结果证实，凝溶胶蛋白对严重创伤患者不仅是一个很有潜力的生物标志，而且作为一种肌动蛋白清除蛋白，在延缓组织损伤，促进组织恢复方面也有着巨大的研究潜力，可以尝试将凝溶胶蛋白应用到临床作为某些治疗方法的替代疗法。

#### 4 结 语

凝溶胶蛋白通过与细胞骨架肌动蛋白的相互作用，在细胞质溶胶态和凝胶态的相互转换中发挥着关键作用。细胞质溶胶态和凝胶态之间的相互转换是许多细胞进程的基础，所以凝溶胶蛋白通过这种作用方式，在很多病理生理过程中都发挥着重要作用。目前关于凝溶胶

蛋白的某些生物学功能的作用机制尚未彻底明确，进一步探讨阐明这些机制有利于明确很多疾病的发病机制，有可能为新的治疗方法研究提供依据。上述凝溶胶蛋白在临床方面的应用情况不仅表现了其广阔的研究前景，也为今后的研究目标提供了充足的理论可行性。

#### 参考文献

- [1] Silacci P, Mazzolai L, Gauci C, et al. Gelsolin superfamily proteins; key regulators of cellular functions. *Cell Mol Life Sci*, 2004, 61(19-20): 2614-2623.
- [2] Cossart P, Sansonetti PJ. Bacterial invasion; the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science*, 2004, 304(5668): 242-248.
- [3] Cossart P. Bacterial invasion; a new strategy to dominate cytoskeleton plasticity. *Dev Cell*, 2004, 6(3): 314-315.
- [4] Kwiatkowski DJ. Functions of gelsolin; motility, signaling, apoptosis, cancer. *Curr Opin Cell Biol*, 1999, 11(1): 103-108.
- [5] Hsu CL, Chen YL, Ting HJ, et al. Androgen receptor (AR) NH2- and COOH-terminal interactions result in the differential influences on the AR-mediated transactivation and cell growth. *Mol Endocrinol*, 2004, 19(2): 350-361.
- [6] Van den Abbeele A, De Corte V, Van Impe K, et al. Downregulation of gelsolin family proteins counteracts cancer cell invasion in vitro. *Cancer Lett*, 2007, 225(1): 57-70.

- [7] Candiano G, Bruschi M, Pedemonte N, et al. Gelsolin secretion in interleukin-4-treated bronchial epithelia and in asthmatic airways. *Respir Crit Care Med*, 2005, 172(9): 1090-1096.
- [8] Jordan JR, Moore EE, Damle SS, et al. Gelsolin is depleted in post-shock mesenteric lymph. 2007, 143(1): 130-135.
- [9] Lee PS, Drager LR, Stossel TP, et al. Relationship of plasma gelsolin levels to outcomes in critically ill surgical patients. *Ann Surg*, 2006, 243(3): 399-403.
- [10] Erukhimov JA, Tang ZL, Johnson BA, et al. Actin-containing sera from patients with adult respiratory distress syndrome are toxic to sheep pulmonary endothelial cells. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162(1): 288-294.
- [11] Rothenbach PA, Dahl B, Schwartz JJ, et al. Recombinant plasma gelsolin infusion attenuates burn-induced pulmonary microvascular dysfunction. *J Appl Physiol*, 2004, 96(1): 25-31.
- [12] Lee PS, Waxman AB, Cotich KL, et al. Plasma gelsolin is a marker and therapeutic agent in animal sepsis. *Crit Care Med*, 2007, 35(3): 894-895.
- [13] Janney PA, Bucki R. Methods of using gelsolin to treat or prevent bacterial sepsis: US, 20070238668. 2006-05-27.

(收稿日期: 2008-05-26)

修回日期: 2008-11-26)

(本文编辑: 李银平)

#### • 启事 •

### 首届全国免疫功能缺陷和器官移植后肺部及相关并发症诊疗新进展研讨会报名通知

与免疫抑制应用及器官移植相关的并发症，特别是肺部损伤引起的并发症，严重影响了患者的生存率及生活质量。许多患者放、化疗或移植非常成功，但最终死于肺部并发症，给患者及社会带来了沉重的负担。为此，中华医学会继续教育部经研究决定于 2009 年 6 月下旬在北京召开首届全国免疫功能缺陷和器官移植后肺部及相关并发症诊疗新进展研讨会。本次活动主要研讨肺部并发症(包括感染与非感染并发症)、呼吸衰竭与人工通气支持问题、病毒、真菌、细菌、分支杆菌感染问题、肺部影像诊断、纤维支气管镜应用、多器官功能衰竭等问题。欢迎呼吸科、肿瘤科、血液科、ICU、器官移植(骨髓移植、肾移植、肝移植等)等专业的老年资医师报名参加学习。国家级继续教育项目编号 2009-03-10-101。

会议日期: 2009 年 6 月 26 日报到; 27-29 日开会。

会议地点: 众晶鑫酒店新楼(北京海淀区复兴路 26 号, 解放军总医院正门往东 150 m)。

主讲教师: 会议期间将邀请国内知名专家刘又宁、陈良安、石炳毅、杜林栋、许兰萍、马大庆、王仲元、解立新、曹照龙、李若俞、张波、王恒香、陈水平等教授进行专题报告。

主要内容: 免疫功能缺陷及器官移植后肺部并发症诊断、鉴别诊断、治疗策略与研究进展; 免疫功能缺陷和器官移植后经验性抗真菌治疗策略; 免疫功能缺陷患者结核和非典型分支杆菌感染的临床特点与治疗; 纤维支气管镜适应证的掌握和应用价值; 少见病原判断; 激素剂量掌握; 免疫功能缺陷与器官移植术后的呼吸支持策略; 高分辨 CT 诊断的应用; 骨髓移植后肺脏感染性并发症与非感染性并发症的诊断与治疗; 常用免疫抑制剂的临床应用现状与展望; 肾、肝移植后常见并发症的诊断与治疗; 病毒、真菌感染及卡氏肺孢子虫肺炎的实验室检查及临床诊疗策略。

通知索取联系人及电话: 杨桂芳 010-51798200, 51798255; 梁鸿 010-85158402; 短信报名: 13611002300(发短信时务必注明“免疫缺陷会议”名称、姓名、工作单位及科室、邮编)。

(中华医学会继续教育部)