

综述与专论

触珠蛋白研究进展

王凤君 黄文华 黎 鳌

(第三军医大学烧伤研究所, 重庆 630038)

摘要 触珠蛋白是一种酸性糖蛋白, 属急性期反应蛋白之一。由于所含轻链类型的不同, 触珠蛋白具有遗传多态性。触珠蛋白的合成和降解主要在肝脏进行, 并受细胞因子、前列腺素、激素等的调节。触珠蛋白具有广泛的生物学功能, 可能是一种重要的调节蛋白。

关键词 触珠蛋白, 结构, 功能

触珠蛋白(haptoglobin, HP)又称结合珠蛋白, 是血清球蛋白组分中的一种酸性糖蛋白, 广泛存在于人类和许多哺乳动物的血清及其它体液中, 主要在肝脏合成和降解。作为急性期蛋白(acute phase protein, APP)之一的HP, 其血清含量在肿瘤、炎症、创伤、感染、心肌梗塞等病理状态时常显著升高, 并与严重程度及预后有关。HP升高对机体有何意义, 是目前研究的主要内容之一。研究表明, HP是一种多功能性的蛋白质。本文就HP作一简单介绍。

1 HP的结构与遗传多态性

用还原和烷基化的方法将HP裂解, 发现HP的分子结构类似免疫球蛋白, 即由两条重链(β 链)和两条轻链(α 链)组成四聚体。其中 α 链有两种, 即 $h\alpha^1$ 和 $h\alpha^2$, 而 $h\alpha^1$ 又有两种亚型, 即 $h\alpha^{1F}$ 和 $h\alpha^{1S}$ 。 α^1 链由84个氨基酸组成, 分子量约9100。 $h\alpha^{1F}$ 和 $h\alpha^{1S}$ 除第54位氨基酸残基不同外, 前者为赖氨酸, 后者为谷氨酸, 其余83个氨基酸残基顺序均相同。 α^2 链由143个氨基酸组成, 分子量约16000左右。它是由 α^1 链的前71个氨基酸残基和后72个氨基酸残基组成的多肽链。 β 链约含310个氨基酸残基, 含有糖, 分子量约45000。 β 链的

糖含量约20%, 其中半乳糖5.3%, 甘露糖2.5%, 乙酰氨基葡萄糖5.3%, 涎酸5.3%, 岩藻糖0.2%。 β 链的氨基酸序列与胰蛋白酶、凝血酶、纤维蛋白溶酶及弹性蛋白酶等有部分同源性, 但HP却无酶活性。

HP有三种主要表现型, 分别称之为HP1-1, HP2-2和HP2-1, 这是由于 α 链的类型不同所造成的。HP1-1由两条 α^1 链和两条 β 链组成, HP2-2由两条 α^2 链和两条 β 链组成, 而HP2-1则由一条 α^1 链、一条 α^2 链和两条 β 链组成。HP2-2和HP2-1是由一系列不同聚合程度的多聚体组成。因此, 通常所称的HP并非专指一种分子, 而是泛指具有相同生物活性和类似分子结构的一组蛋白质。

2 HP的合成、降解及影响合成的因素

2.1 HP的合成与降解

肝脏是HP生物合成的主要部位, 脾、淋巴结和胸腺等网状内皮系统组织也具有合成HP的能力。HP的降解也主要在肝脏进行, 它既能被枯否氏细胞摄取, 也能被肝实质细胞摄取。HP也可进入脾脏或骨髓被降解。

HP降解时, 首先与血红蛋白(Hb)结合而

形成 HP-Hb 复合物, 通过膜受体和/或胞吞作用进入肝细胞. 用人肝细胞癌细胞株 PLC/PRF/5 和 HepG₂ 来研究同位素标记的 HP-Hb 复合物被摄取的过程, 发现每个 PLC/PRF/5 和 HepG₂ 分别有 21 000 和 63 000 个 HP 受体, 每一肝细胞也表达大约 84 000 个 HP 受体. HP-Hb 复合物与 HP 受体结合后, HP 受体从细胞表面向细胞内移位, 从而使 HP-Hb 复合物在细胞内发生内在化, 然后内在化的 HP-Hb 复合物再慢慢降解^[1]. 可见, HP 是通过受体介导的胞吞作用进入肝细胞内降解的.

2.2 影响 HP 合成的因素

2.2.1 细胞因子 在众多的细胞因子中, 白细胞介素 6 (IL-6) 是 HP 合成的一种主要刺激因子. 给恒河猴皮下注射剂量为 3—30 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的重组人 IL-6 后, HP 合成明显增加, 并呈现剂量依赖性^[2]. 体外实验也证实^[3], IL-6 能促进人肝细胞癌细胞株 HepG₂ 和 HuH-7 合成 HP. 目前认为 IL-6 促进肝脏合成 HP, 可能是直接作用于肝细胞膜上的 IL-6 受体而实现的.

IL-1 对 HP 合成也具有促进作用^[4], 不同的 IL-1 其作用程度也不尽相同, 人 IL-1 较小鼠 IL-1 作用更强. IL-1 对 HP 合成的促进作用也有剂量依赖性, 但其能力不及 IL-6 强. IL-1 的作用可能是间接的, 或是通过刺激 IL-6 合成, 或是通过其它暂不明了的网络而促进 HP 合成. 其它细胞因子如肿瘤坏死因子 (TNF)、白血病抑制因子 (LIF)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 及 γ -干扰素等对肝脏合成 HP 也具有不同程度的促进作用.

2.2.2 前列腺素(PG) VX₂ 肿瘤细胞可产生大量 PGE₂, 免接种 VX₂ 细胞后, HP 合成明显增加, 而 PG 合成酶抑制剂消炎痛则可抑制 HP 合成, 提示 PGE₂ 可促进 HP 合成. 兔全身应用 PGE₁, PGE₂, PGF_{2a} 和 PGA₂ 后, HP 合成增加, 1 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 2 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 PGE₁ 使 HP 合成分别增加 5 倍和 10 倍, 重复注射 PGE₁ 则使 HP 合成长期维持于高水平状态^[5]. 系统性硬化病人的 HP 是降低的, 但静脉输入

10 $\text{ng} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 PGE₁ 后, HP 合成显著增加. PG 促进 HP 合成的机制可能是直接作用于肝细胞, 或是通过刺激巨噬细胞分泌 IL-1 等而间接起作用.

2.2.3 激素 给正常大鼠注射内源性致热原 (endogenous pyrogen, EP) 后, HP 合成明显增加. 如预先切除大鼠肾上腺, EP 则不能促进 HP 合成. 但是, 将可的松与 EP 同时注射给切除肾上腺的大鼠, EP 则又能促进 HP 合成^[6]. 这说明 HP 的生物合成是皮质类固醇激素依赖性的. 体外实验也证明, 皮质醇、皮质酮、地塞米松、胰岛素、生长激素等可直接促进离体灌注肝合成 HP, 但作用机理还不清楚.

3 HP 的功能

3.1 结合游离 Hb

HP 与 Hb 结合形成 HP-Hb 复合物, 是 HP 特征性的物理化学和生理学性能. HP 与 Hb 之间的结合完全是化学计量关系, 即 1 mol/L 的 HP 与 1 mol/L 的 Hb 发生反应, 此反应基本上不可逆. HP 与 Hb 的结合没有种属特异性, 人 HP 除能与人氧合 Hb, 碳氧 Hb, 高铁 Hb, 氰化高铁 Hb 结合外, 尚能与各种动物的 Hb 结合, 但亲和力较弱. 种系关系越远, HP 与 Hb 的亲和力越弱.

HP 结合 Hb 的部位是在 Hb 的 α 链, 而且是在 Hb ($\alpha\beta$) 二聚体的基础上进行的. Hb 四聚体先解聚成两个 ($\alpha\beta$) 二聚体, HP 的 β 链与 ($\alpha\beta$) 二聚体的 α 链首先结合, 再与 β 链结合. 三种表现型的 HP 与 Hb 结合的能力是相同的. HP 与 Hb 形成复合物后, Hb 的性质随即发生明显变化, 表现在对氧的亲和力大大加强, Bohr 效应消失, 过氧化物酶活性明显增加. 利用 HP 与 Hb 结合后, Hb 过氧化物酶活性增加这一特性, 可定量测定 HP 的浓度.

创伤、烧伤及其它原因引起红细胞破坏, 血中游离 Hb 浓度明显升高. 游离 Hb 极易解聚形成 ($\alpha\beta$) 二聚体, 经肾小球滤过进入原尿, 对肾小管造成直接损害. 游离 Hb 还可形成管型, 阻塞肾小管, 导致近端静水压升高, 肾小

球有效滤过压和肾小球滤过率降低. HP 与 Hb 结合后形成大分子复合物, 此复合物不能通过肾小球基底膜, 从而阻止了 Hb 对肾功能的损害. 许多资料证实^[7,8], 应用 HP 可保护溶血所造成的肾功能损害. 有人甚至设计了一种装置, 将溶血病人的血引出体外, 流经结合有 HP 的凝胶柱后, 再输回病人体内, 以清除血中游离 Hb 而保护肾功能.

过去一般认为 HP 只能与 Hb 结合, 而不能与肌红蛋白 (myoglobin, Mb) 结合. 近年来有报导人 HP 不仅能与 Hb 结合, 还可与人 Mb 结合, 尽管其结合能力较弱^[9]. 对于高 Mb 血症的病人, 如严重烧伤、电击伤、心肌梗塞、伴骨骼肌创伤的病人, 这显得非常重要, 因 HP 与 Mb 的结合可阻止 Mb 对肾脏的损害.

3.2 调节 PG 合成

许多研究表明, HP 呈剂量依赖性地抑制 PG 如 PGE_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGD_2 和 6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的合成. HP 对 PG 合成的抑制作用不是直接影响 PG 合成酶的活性, 而是 HP 与 Hb 结合后通过位阻现象 (steric hindrance) 封闭了环氧化酶完整活性所必需的血红素基团, 从而降低环氧化酶活性, 导致 PG 合成受阻. 但是, 近年来的资料表明, HP 具有刺激肺泡巨噬细胞产生 PGE_2 的作用, 其能力与脂多糖 (LPS) 大致相当^[10]. Frohlander^[11] 也证实 HP 不仅能单独促进 PGE_2 合成, 还能协同缓激肽和凝血酶刺激 PGE_2 合成. HP 促进 PG 合成不是通过环氧化酶途径, 而是通过刺激磷脂酶 A_2 活性, 增加花生四烯酸产生而促进 PG 合成. 由此看来, HP 是促进还是抑制 PG 合成尚有争论, 需进一步研究.

3.3 抑制蛋白水解酶活性

组织蛋白酶是细胞溶酶体所含的一种蛋白水解酶, 创伤或炎症时局部组织蛋白酶活性增强, 组织蛋白发生分解. HP 对组织蛋白酶 B 活性有极强的非竞争性抑制作用. Pagano^[12] 也证实, HP, HP-Hb 复合物及去涎酸触珠蛋白 (asialohapto globin) 均可抑制组织蛋白酶 B 和 L 的活性. 可见, HP 对组织蛋白酶的抑制

作用可能与其涎酸成分无关, 但确切机制还不清楚. 此外, HP 对胰蛋白酶活性也具有非竞争性抑制作用.

3.4 抑制自由基产生和脂质过氧化

Hb 也和其它含血红素的蛋白质一样, 可引起自由基产生和脂质过氧化反应, 从而导致组织损伤. 这是由 Hb 中血红素的 Fe^{2+} 与 H_2O_2 反应, 形成高铁血红蛋白, $\cdot\text{OH}$ 及 OH^- . 游离 Hb 可引起花生四烯酸、亚麻酸等多不饱和脂肪酸及红细胞膜脂质发生过氧化反应. HP 则可抑制 Hb 介导的羟自由基形成和脂质过氧化反应^[13,14]. 其作用机制还不清楚, 可能是由于 HP 与 Hb 结合后, 起到了稳定 Hb 中血红素基团的作用, 从而抑制 Hb 介导的羟自由基形成和脂质过氧化.

3.5 一种天然的间接抑菌剂

游离 Hb 中的铁离子有助于噬铁性细菌的生长繁殖. 给小鼠腹腔接种大肠杆菌, 同时注入少量 Hb 后, 大批小鼠死亡. 进一步在体外对大肠杆菌培养, 同样发现实验组与对照组的细菌生长曲线有极其显著的差异. 如将 Hb 与 HP 同时加入, 细菌则不能生长^[15]. Ward^[16] 也发现游离 Hb 促进克雷白肺炎杆菌 (*Klebsiella pneumoniae*) 生长繁殖, 但加入 HP 后, 克雷白肺炎杆菌却不能再利用 Hb 而维持其生长. 可能是 HP 与 Hb 结合后, Hb 中的铁离子不再能被噬铁性细菌所利用. 因此, HP 可能是一种天然的间接抑菌剂.

3.6 具有抗链球菌 T4 抗体的活性

1977 年德国学者 Prokop 和 Kohler 通过体外细菌凝集实验, 首先发现 HP 能与表面携有 T4 抗原的链球菌发生凝集反应, HP 具有类似抗链球菌 T4 抗原的抗体活性. 在 HP 的三种表现型中, HP2-2 的凝集能力较 HP2-1 和 HP1-1 强. 后来许多学者的研究均证实, HP 能凝集表面携有 T4 抗原的链球菌, 并认为该链球菌表面有人 HP 受体. HP 的这种作用有何意义, 正是许多学者正在研究的内容之一.

3.7 调节机体免疫功能

近年来 HP 的免疫调节功能已引起许多学

者的高度重视. Baseler^[10]采用离子交换层析和制备性等电聚焦方法, 从血清分离纯化 HP 后, 研究 HP 对淋巴细胞功能的影响. 发现 HP 呈剂量依赖性地抑制植物血凝素 PHA 或伴刀豆球蛋白 ConA 刺激的淋巴细胞多克隆有丝分裂原反应, 低浓度 HP 促进 B 细胞有丝分裂原 LPS 刺激的 B 细胞增殖反应, 高浓度 HP 则抑制 B 细胞增殖反应. Okubo^[17]从肾病综合征患者腹水分离纯化 HP, 发现 HP 在生理浓度时即抑制 ConA 或 PHA 刺激的淋巴细胞增殖反应, 而病理浓度的 HP 对 ConA 或 PHA 刺激的淋巴细胞增殖抑制率分别达 60% 和 90%. 由于 PHA 浓度的增加也不能逆转 HP 对淋巴细胞增殖的抑制效应, 所以 HP 的抑制作用不是 HP 与 PHA 结合而导致 PHA 对淋巴细胞的刺激减弱, 而可能是 HP 与淋巴细胞表面的受体结合, 或者是通过其涎酸成分而起抑制作用^[18]. 因此, HP 可能是淋巴细胞免疫功能的调节因子.

HP 对淋巴细胞的作用不仅表现在影响 T、B 淋巴细胞对有丝分裂原的多克隆反应, 而且对同种抗原引起的 T 淋巴细胞增殖也有抑制作用. Oh^[19]报导从恶性肿瘤患者血清纯化的 HP, 呈剂量依赖性地抑制正常人单向混合淋巴细胞反应. 此外, HP 对 NK 细胞的杀伤功能也具有明显的抑制作用.

HP 对免疫功能的影响不仅限于淋巴细胞, 对其它免疫细胞也有作用. HP 呈剂量依赖性地抑制正常人外周血单核细胞趋化功能^[18]. 最近, 有人报导 HP 抑制 FMLP (一种合成的白细胞刺激剂) 刺激的中性粒细胞产生超氧化物, 从而抑制其杀菌功能^[20]. 其作用机制可能是 HP 与中性粒细胞表面的 HP 受体结合, 抑制了细胞内 Ca^{2+} 浓度的增加, 干扰细胞内的信号传递过程. 可见, HP 对免疫功能的影响是相当广泛的, 涉及到各种免疫效应细胞, 而且主要是下向调控, 即免疫抑制作用.

4 结 语

从 HP 的发现至今已有半个世纪的历史,

人们对 HP 的研究已从过去的分子结构、遗传变异等, 逐步转移到探索 HP 的生理功能和病理意义. 急性反应期 HP 的升高固然对机体具有一定的保护作用, 但它同时所呈现出的免疫抑制作用去对机体不利. 因此, 对 HP 的生理功能和病理意义, 需用全面的辨证观点正确对待.

参 考 文 献

- 1 Okuda M, Tokunaga R, Taketani S. *Biochim Biophys Acta*, 1992; **113** (2): 143
- 2 Mayer P, Geissler K, Valent P *et al.* *Exp Hematol*, 1991; **19** (7): 688
- 3 Mackiewicz A, Schooltink H, Heinrich P C *et al.* *J Immunol*, 1992; **149** (6): 2021
- 4 Mackiewicz A, Ganapathi M K, Schulta D *et al.* *Biochem J*, 1988; **253** (3): 851
- 5 Shim B S. *Nature*, 1976; **259** (5541): 326
- 6 Limaous E A, Riberio E B, Gordon A H. *Braz J Med Biol Res*, 1985; **18** (4): 549
- 7 Aikawa N, Ishibiki K, Okusawa S *et al.* *J Burn Care Rehabil*, 1984; **5** (1): 20
- 8 Yoshioka T, Sugimoto T, Ukai T *et al.* *J Trauma*, 1985; **25** (4): 281
- 9 Sakata S, Yoshioka N, Atassi M Z. *Biochim Biophys Acta*, 1986; **873** (2): 312
- 10 Baseler M W, Burrell R. *Inflammation*, 1983; **7** (4): 387
- 11 Frohlander N, Ljunggren O, Lerner U H. *Biochem Biophys Res Commun*, 1991; **178** (1): 343
- 12 Pagano M, Nicola M A, Engler R. *Can J Biochem*, 1982; **60** (6): 631
- 13 Sadrzadeh S M H, Graf E, Panter S S *et al.* *J Biol Chem*, 1984; **259** (23): 14354
- 14 Gutteridge J M C. *Biochim Biophys Acta*, 1987; **917** (2): 219
- 15 Eaton J W, Brandt P, Mahoney J R. *Science*, 1982; **215** (4533): 691
- 16 Ward C G, Hammond J S, Bullen J J. *Infect Immun*, 1986; **51** (3): 723
- 17 Okubo H. *Japan J Med*, 1985; **24** (2): 181
- 18 Samak R, Edelstein R, Israel L. *Cancer Immunol Immunother*, 1982; **13** (1): 38
- 19 Oh S K, Kim S H, Walker J E. *J Natl Cancer Inst*, 1990; **82** (11): 934
- 20 Oh S K, Pavlotsky N, Tauber A I. *J Leukoc Biol*, 1990; **47** (2): 142

Recent Advances in the Study of Haptoglobin.

Wang Fengjun, Huang Wenhua, Li Ao. (Burn Institute, The Third Military Medical College, Chongqing 630038). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (5): 386--389

Haptoglobin, belonging to the group of acute phase reactant proteins in the serum, is an acidoglycoprotein, and exhibits genetic polymorphism by the difference in the types of light chains it contains. The biosynthesis and degradation of haptoglobin are mainly carried out in the liver and regulated by some cytokines, prostaglandins and hormones. Haptoglobin has multifaceted biological activities, so it is believed that haptoglobin may be an important regulating protein to be present in the serum.

Key words haptoglobin, structure, function

Recent Advance on Spider Peptide Neurotoxin

Research. Liang Songping, Pan Xin. (Department of Biology, Hunan Normal University, Changsha 410006). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (5): 390—395

The chemical structures and physiological functions of spider peptide neurotoxins have been reviewed and introduced. These neurotoxins can be classified briefly into two groups according to their size. The short spider neurotoxins contain 33 to 40 amino acids residues, whereas the long ones have 66 to 77 residues. The homologies of the neurotoxins from different species are not evident and the physiological activities are quite different. Some spider neurotoxins were found to selectively affect the sodium or calcium channels of the neuromuscular system of the insect and vertebrate and were believed to be useful as tools in neurophysiology and pharmacology studies.

Key words spider toxin, neurotoxin, pep-

tide, ion channel

Glutathione: Detoxication and Toxic Metabo-

lites. Cheng Yuankai. (Institute of Labor Hygiene, Anshan Iron and Steel Complex, Anshan 114001). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (5): 395—399

Glutathione is the major nonprotein sulfhydryl present in cells and plays an important role in the deactivation of oxygen radicals, organic hydroperoxides and electrophiles. However, recent studies show that conjugation of glutathione with some vicinal dihaloalkanes, haloalkenes, quinoid compounds, isocyanates, isothiocyanates, aldehydes, α , β -unsaturated aldehydes etc. will lead to the formation of toxic metabolites.

Key words glutathione, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, detoxication, toxic metabolites

The Function of POU-domain Proteins in Development of Central Nervous System.

Zhang Li, Jia Hongti. (Department of Biochemistry, Beijing Medical University, Beijing 100083). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21** (5): 400—403

A family of POU-domain proteins is a class of DNA specific transcription factors that contain homeodomains (HD). During development of the central nervous system (CNS), the spatial and temporal expression for the POU-domain proteins may play a crucial role in the appearance of neuronal phenotypes via both homodimeric and heterodimeric protein-protein interactions and DNA-protein interactions in gene regulation.

Key words POU-domain protein, transcription factors, development of central nervous