

α_2 -巨球蛋白在神经系统疾病中的研究进展

李金懋 综述 陈莉芬 审校

重庆医科大学附属第二医院神经内科,重庆市 400010

摘要: α_2 -巨球蛋白(A2M)是血浆中的一种重要糖蛋白,是一种非特异性的蛋白酶抑制剂,同时可与大量免疫炎症因子、细胞因子结合,广泛地参与多种神经系统疾病的病理生理过程,但对其是否作为保护性因素存在仍有争议。本文就A2M在神经退行性疾病、脑血管病、周围神经病等疾病中的研究进展作一综述。

关键词: α_2 -巨球蛋白;蛋白酶抑制剂; β 淀粉样蛋白;多发性硬化;动脉粥样硬化

α_2 -巨球蛋白(α_2 -macroglobulin, A2M)是一种在血浆中含量很丰富的高分子量糖蛋白,其具有广谱的蛋白酶抑制作用,也是脑组织免疫炎症反应的一种急性期反应蛋白。A2M可通过与免疫炎症因子、细胞因子、生长因子、激素等结合,从而影响这些小分子在体内的平衡,发挥广泛的生理功能^[1]。既往文献曾报道A2M对炎症、感染、辐射损伤等具有保护作用^[2-4]。近年来研究发现在某些中枢神经系统疾病,尤其是神经退行性疾病中,A2M也发挥了重要作用。

1 A2M的来源与结构

A2M主要由肝细胞合成,也可在脑内由星形胶质细胞产生,此外成纤维细胞、单核细胞、肺泡巨噬细胞等也可合成A2M。它广泛分布在细胞外液中,尤其在血浆中维持着较高的浓度。

A2M是一种分子量为725000的可溶性血浆糖蛋白,由四个分子量约为179000的亚基通过二硫键和非共价键连接形成四聚体^[5]。每个亚基至少含有五个结合位点:诱捕区域、受体结合位点、谷氨酰胺转胺酶反应位点、内部硫酯键和锌结合位点。A2M的四个亚基组成一个中空的圆柱体结构,从中间可分为功能相同的两半,每一半由两个亚基组成,每个亚基含有一个长臂和一个短臂,其中长臂被称为“诱捕臂”,在电子显微镜下,自然形态的A2M形状呈类似“H”形,诱捕区位于每个功能半分子的底部,硫酯键靠近功能半分子两条长臂之间的交联部位^[6]。

2 A2M的作用机制

1953年Jacobsson首次报道了A2M这一位于

电泳 α 区的蛋白质,随后人们开始了对其结构、功能及作用机制等方面的研究,目前公认A2M是通过“空间捕获”的方式抑制蛋白酶,而蛋白酶本身仍可保持活性。蛋白酶通过识别并水解A2M“诱捕区域”的肽键,导致A2M的空间构象改变,长臂弯曲度增大,形成一个“笼形结构”,将蛋白酶分子包裹在里面,阻止蛋白酶活性中心与底物相互作用。同时A2M分子变得更为紧密,由电泳速度极为缓慢的自然形态(slowform),转变为电泳速度较快的激活形态(fastform),从而捕获蛋白酶,几乎所有的蛋白酶都受A2M的抑制。一个A2M可结合两个小分子蛋白酶,只能结合一个大分子蛋白酶^[6,7]。

同时,转变为激活状态后的A2M,其中央部位的受体结合区暴露,可被其特异受体即低密度脂蛋白受体相关蛋白(low density lipoprotein receptor related protein, LRP/A2M-R)识别,通过细胞内吞作用,A2M与蛋白酶形成的复合物在循环系统中可以迅速被清除^[7]。

3 A2M与神经系统疾病的关系

3.1 与阿尔茨海默病的关系

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种年龄相关的神经退行性疾病,表现为进行性的认知功能减退^[8]。AD的神经病理学特征为脑实质内细胞外间隙及脑血管壁内的 β 淀粉样蛋白(β amyloid peptide, A β)的沉积和神经元纤维缠结,同时伴随神经元的丢失、突触退变和广泛的皮质萎缩。

激活状态的A2M可与A β 结合,结合部位在其C末端的1314-1365氨基酸序列^[9]。Lauer等^[10]

收稿日期:2015-06-18;修回日期:2015-08-12

作者简介:李金懋(1990-),女,在读硕士,主要从事脑血管疾病及神经变性疾病的研究。E-mail:15086680263@163.com。

通讯作者:陈莉芬,女,医学博士,主任医师,硕士生导师,主要从事脑血管疾病、认知功能损害和癫痫的研究。E-mail:lifen_chen@163.com。

提出经蛋白酶激活后的 A2M 可与 A β 形成复合物,可由 LRP 介导,通过细胞内吞作用,促进 A β 的分解;也可直接通过蛋白水解作用分解 A β ,还可通过血脑屏障上的 LRP 将 A β 从脑组织中转运到血液中以清除。Wyatt 等^[11]证实,在细胞外液中,A2M-蛋白酶复合物不仅可以直接催化水解 A β ,抑制其沉积,导致细胞外液中可溶性 A β 浓度降低,从而减轻 A β 的神经毒性;还可以分子伴侣的形式抑制错误折叠蛋白继续沿着 A β 形成的途径发展。

基于上述研究,人们推测 A2M 基因多态性可能通过影响 A β 的纤维化、沉积及清除,进而参与 AD 的病理过程。Myllykangas 等^[12]对一个样本量为 601 例的芬兰高龄人群进行研究后指出,A2M 基因第 24 位外显子上表现为 A/A 基因型可以增加 A β 的沉积,与 AD 的病变严重程度有关。宋海庆等^[13]对 179 名 AD 患者研究后发现,A2M 基因的单体型-88G/25G 突变,可能对散发性 AD 的病情发展起着保护作用,并且独立于年龄、性别及载脂蛋白 E(APOE) ϵ 4 等位基因,而带有单体 GG 型基因突变的人患 AD 的风险会减少 44%。Flachsbar 等^[14]通过对 1042 名德国长寿老人及 1040 名 60~75 岁老人进行基因检测、数据分析后发现,A2M*2-G 单体基因型在长寿老人中出现的频率很少,并提出这种基因型可作为促进 AD 发病的危险基因型。意大利的 Brunoa 等^[15]发现,A2M-Ile/Val (Ile1000Val) 基因型与 AD 呈正相关,而 LRP1-C/T 基因型和 A2M-Ile/Val 基因型同时存在的人发展为 AD 的风险增加了 2 倍。

但是,Colacicco 等^[16]并没有发现 A2M 的 Ile1000Val 基因型有增加意大利南部散发性 AD 的风险。陈辉等^[17]对 52 个相关研究进行 Meta 分析后并没有发现 A2M 的 5 bp I/D 和 Ile1000Val 基因与 AD 患病风险有关。2014 年,Michalowska-Wender 等^[18]对波兰的 50 名 AD 患者进行研究后,也未发现他们与对照组在基因型及等位基因频率上有明显的差别,提示 A2M 基因可能并不是决定 AD 的唯一基因。

这些相互矛盾的研究结果可能与被研究人群的种族差异及样本量有关,因此尚有待大样本量、不同种族背景的研究来证实 A2M 基因多态性在 AD 诊断、疾病进展中的作用。

在基因治疗方面,武强等^[19]将构建好的 pEG-FP/A2M(FP6) 重组质粒转染至神经干细胞,并将

转染后的神经干细胞移植到 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠海马中,发现其能显著改善小鼠的学习记忆功能,且小鼠额叶皮质及海马区 A β 斑块沉积明显减少,部分移植细胞分化为神经元及神经胶质细胞。说明 A2M(FP6) 作为治疗基因结合神经干细胞移植可以改善 AD 小鼠的认知功能及脑部病理变化,从而为 AD 的治疗提供了一个新的方向。

3.2 与多发性硬化的相关性

多发性硬化(multiple sclerosis, MS) 是一种中枢神经系统的炎性脱髓鞘疾病,发病机制复杂,大多数患者经历多次缓解复发,病情逐渐加重。因此提供疾病诊断、治疗,预测疾病严重程度、复发概率的生物标志物对于多发性硬化的诊断治疗具有重要意义。髓鞘碱性蛋白(MBP) 约占整个中枢神经系统髓鞘蛋白的 30%,当髓鞘受损及脱失时,MBP 被释放到循环中,经过蛋白酶水解后形成具有免疫原性的 MBP 片段,从而可能致敏淋巴细胞,刺激抗体产生,抑制神经电活动。自然形式以及激活形式的 A2M 均可与 MBP 结合,从而防止其被蛋白酶水解形成免疫原性片段,A2M 与 MBP 绑定后可被运送到肝脏而清除,提示 A2M 可能对 MS 这类脱髓鞘疾病具有保护作用^[20]。Gunnarsson 等^[21,22]发现在一些 MS 的病人血浆中 A2M 的构象发生了改变,减弱了 A2M 对蛋白酶的抑制作用。2004 年,Jensen 等^[23]发现 MS 病人与正常对照相比,血浆中自然形态的 A2M 明显降低,而激活形态的 A2M 明显升高,提示 A2M 对多发性硬化疾病中增强的蛋白酶水解活动有调节作用,但具体的病理生理机制尚不明确。2013 年,Jofre 等^[24]发现在多种 MS 病人的血浆中,A2M 明显减少,虽然结果与 Jensen 团队的结果有差异,但这可能与种族差异有关,并且 Jofre 的研究采用 EDTA 作为抗凝剂,而 Jensen 团队使用的是肝素作为抗凝剂,肝素与 A2M 会形成竞争作用,可能影响实验结果。

虽然各个研究的结果有一定的差异,但我们仍然可以看到 A2M 在诊断、治疗多发性硬化这种疾病中的潜力,今后需要进一步的实验研究来证实 A2M 在多发性硬化病理生理过程中的作用。

3.3 在脑血管疾病中的作用

近年来,关于 A2M 在脑血管病中的作用也多有研究。Beheiri 等^[25]对白人儿童进行的病例对照研究发现,A2M 含量升高可抑制激活的蛋白 C,促进凝血酶原的激活和增强凝血酶的活性,可能是白

人儿童中风和下肢深静脉血栓形成的独立危险因素。Larionov 等^[26]发现 A2M-D/I 基因多态性与更少的严重脑动脉粥样硬化及更低的动脉粥样硬化血管数量有关,提示此基因多态性可抑制脑动脉粥样硬化严重程度和波及范围。Nezu 等^[27]发现 A2M 的血清水平在急性缺血性卒中患者中,特别是腔隙性脑梗死患者中,明显高于正常对照组,推测 A2M 可能作为急性缺血性脑卒中的潜在生物标志物,且当校正了年龄和其他基线特征后,血清中 A2M 升高与脑白质病变的严重程度独立相关,而腔隙性脑梗死和脑白质病变已经被认为是颅内小血管病变的特征性表现,提示 A2M 的血清水平可能反映颅内小血管的慢性病变程度。2014 年,Ricardo 等^[28]发现了 A2M 在血管平滑肌细胞中的表达,且 A2M 在无斑块的动脉壁中层中含量更多,并提出 NR4A 受体可促进 A2M 的表达,从而抑制血管平滑肌细胞上基质金属蛋白酶家族的活性,调节血管平滑肌细胞的生理功能,抑制血管重塑作用。

总的来说,更多研究倾向于 A2M 升高可作为脑血管病的保护性因素。

3.4 与周围神经病的关系

在周围神经损伤中,施万细胞在损伤的神经远端去分化、增殖,建立一个细胞外支架以供再生的轴突迁移生长,分泌细胞因子和趋化因子吸引炎症细胞,比较代表性的细胞因子有肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素-1b (IL-1b)、白介素-6 (IL-6) 和干扰素- γ (IFN- γ) 等。Sanja 等^[29]发现一种 A2M 的衍生物,即 α 2-macroglobulin activated for cytokine binding (MAC) 和多种细胞因子的亲和力很高,可与大量的细胞因子结合,并且可以抑制巨噬细胞的浸润,从而抵抗局部炎症和保护受伤的轴突。MAC 与细胞因子结合之后,被绑定到 LRP-1 上运送到溶酶体而被降解,证明了 MAC 在周围神经系统损伤性疾病中可以抑制炎症反应,起到积极的效果,推测 A2M 及其衍生物在周围神经系统损伤中可能有着保护作用。2011 年,Shi 等^[30]指出,在施万细胞中,激活的 A2M 与 LRP-1 结合后,可激活 ERK / MAP 激酶及 AKT 细胞信号传导通路,增加单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 的表达,促进受损神经细胞的存活和迁移。这些研究均提示 A2M 在周围神经损伤中的积极作用,当然完整的机制尚有待更深入的研究来阐明。

综上所述,A2M 作为血浆中一种重要的大分

子糖蛋白,在神经退行性疾病、脑血管疾病、周围神经疾病等疾病的诊断、评估及治疗上体现出很大的潜力,当然其诊断的特异性、敏感性尚存在争议,且补充 A2M 及进行 A2M 基因特异位点的靶向治疗等方法是否能带来远期获益仍有待进一步研究。既往许多研究已向我们展示了 A2M 结合并抑制各种蛋白酶、细胞因子、免疫炎症因子等物质的特性,并且证实它能抑制各种内源性及外源性蛋白酶,通过 LRP 介导的胞吞作用消灭免疫炎症因子,我们推测 A2M 在神经内科其他疾病,尤其是免疫炎症性疾病中的作用,如吉兰-巴雷综合征、重症肌无力、中枢神经系统感染性疾病等,将是今后重要的研究方向。

参 考 文 献

- [1] LaMarre J, Wollenberg GK, Gonias SL, et al. Cytokine binding and clearance properties of proteinase-activated α 2-macroglobulin. *Lab Invest*, 1991, 65(1): 3-14.
- [2] Luan Y, Kong L, Howell DR, et al. Inhibition of ADAMTS-7 and ADAMTS-12 degradation of cartilage oligomeric matrix protein by alpha-2-macroglobulin. *Osteoarthritis Cartilage*, 2008, 16: 1413-1420.
- [3] Dalli J, Norling LV, Montero-Melendez T, et al. Microparticle alpha-2-macroglobulin enhances pro-resolving responses and promotes survival in sepsis. *EMBO Mol Med*, 2014, 6(1): 27-42.
- [4] Bogojevic D, Poznanovic G, Grdovic N, et al. Administration of rat acute-phase protein α (2)-macroglobulin before total-body irradiation initiates cytoprotective mechanisms in the liver. *Radiat Environ Biophys*, 2011, 50(1): 167-179.
- [5] Borth W. α 2-Macroglobulin, a multifunctional binding protein with targeting characteristics. *FASEB J*, 1992, 6(15): 3345-3353.
- [6] Rehman AA, Ahsan H, Khan FH. α -2-Macroglobulin: a physiological guardian. *J Cell Physiol*, 2013, 228(8): 1665-1675.
- [7] Marrero A, Duquerroy S, Trapani S, et al. The crystal structure of human α 2-macroglobulin reveals a unique molecular cage. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51(14): 3340-3344.
- [8] Reitz C, Mayeux R. Alzheimer disease: epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem Pharmacol*, 2014, 88(4): 640-651.
- [9] Mettenberg JM, Webb DJ, Gonias SL. Distinct binding sites in the structure of alpha 2-macroglobulin mediate the interaction with beta-amyloid peptide and growth factors. *J Biol*

- Chem, 2002, 277(15): 13338-13345.
- [10] Lauer D, Reichenbach A, Birkenmeier G. Alpha 2-macroglobulin-mediated degradation of amyloid beta 1-42: a mechanism to enhance amyloid beta catabolism. *Exp Neurol*, 2001, 167(2): 385-392.
- [11] Wyatt AR, Constantinescu P, Ecroyd H, et al. Protease-activated alpha-2-macroglobulin can inhibit amyloid formation via two distinct mechanisms. *FEBS Lett*, 2013, 587(5): 398-403.
- [12] Myllykangas L, Polvikoski T, Sulkava R, et al. Genetic association of alpha 2-macroglobulin with Alzheimer's disease in a Finnish elderly population. *Ann Neurol*, 1999, 46(3): 382-390.
- [13] Song H, Jia L, Zuo X, et al. Association between haplotype-88G/25G in A2M with Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2010, 479(2): 143-145.
- [14] Flachsbart F, Caliebe A, Nothnagel M, et al. Depletion of potential A2M risk haplotype for Alzheimer's disease in long-lived individuals. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18(1): 59-61.
- [15] Bruno E, Quattrocchi G, Nicoletti A, et al. Lack of interaction between LRP1 and A2M polymorphisms for the risk of Alzheimer disease. *Neurosci Lett*, 2010, 482(2): 112-116.
- [16] Colacicco AM, Solfrizzi V, D'Introno A, et al. Alpha-2-macroglobulin gene, oxidized low-density lipoprotein receptor-1 locus, and sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 2009, 30(9): 1518-1520.
- [17] Chen H, Li Z, Liu N, et al. Influence of Alpha-2-Macroglobulin 5 bp I/D and Ile1000Val polymorphisms on the susceptibility of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of 52 studies. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70(1): 511-519.
- [18] Michałowska-Wender G, Wawrzynek A, Rossa G, et al. On the lack of a clear-cut association between alpha-2-macroglobulin deletion and the risk of Alzheimer disease in Poland. *Folia Neuropathol*, 2014, 52(4): 417-420.
- [19] 武强, 李露斯, 范文辉, 等. pEGFP/A2M(FP6) 转染神经干细胞海马移植治疗 APP/PS1 双转基因 AD 小鼠的实验观察. *神经损伤与功能重建*, 2013, 8(2): 103-108.
- [20] Gunnarsson M, Jensen PE. Binding of soluble myelin basic protein to various conformational forms of alpha2-macroglobulin. *Arch Biochem Biophys*, 1998, 359(2): 192-198.
- [21] Gunnarsson M, Stigbrand T, Jensen PE. Immunochemical aberrations of alpha2-macroglobulin purified from a patient with multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand*, 2000, 102(6): 406-409.
- [22] Gunnarsson M, Stigbrand T, Jensen PE. Aberrant forms of alpha(2)-macroglobulin purified from patients with multiple sclerosis. *Clin Chim Acta*, 2000, 295(1-2): 27-40.
- [23] Jensen PE, Humle J, Jørgensen S, Datta P, et al. Significantly increased fractions of transformed to total alpha 2-macroglobulin concentrations in plasma from patients with multiple sclerosis. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1690(3): 203-207.
- [24] Tenorio-Laranga J, Peltonen I, Keskitalo S, et al. Alteration of prolyl oligopeptidase and activated alpha-2-macroglobulin in multiple sclerosis subtypes and in the clinically isolated syndrome. *Biochem Pharmacol*, 2013, 85(12): 1783-1794.
- [25] Beheiri A, Langer C, Düring C, et al. Role of elevated alpha 2-macroglobulin revisited: results of a case-control study in children with symptomatic thromboembolism. *J Thromb Haemost*, 2007, 5(6): 1179-1184.
- [26] Larionov S, Dedeck O, Birkenmeier G, et al. The intronic deletion polymorphism of the Alpha 2-macroglobulin gene modulates the severity and extent of atherosclerosis in the circle of Willis. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2006, 32(4): 451-454.
- [27] Nezu T, Hosomi N, Aoki S, et al. Alpha 2-macroglobulin as a promising biomarker for cerebral small vessel disease in acute ischemic stroke patients. *J Neurol*, 2013, 260(10): 2642-2649.
- [28] Rodríguez-Calvo R, Ferrún B, Alonso J, et al. NR4A receptors up-regulate the antiprotease alpha-2 macroglobulin (A2M) and modulate MMP-2 and MMP-9 in vascular smooth muscle cells. *Thromb Haemost*, 2015, 113(6): 1323-1334.
- [29] Arandjelovic S, Dragojlovic N, Li X, et al. A derivative of the plasma protease inhibitor alpha(2)-macroglobulin regulates the response to peripheral nerve injury. *J Neurochem*, 2007, 103(2): 694-705.
- [30] Shi Y, Yamauchi T, Gaultier A, et al. Regulation of cytokine expression by Schwann cells in response to alpha-2-macroglobulin binding to LRP1. *J Neurosci Res*, 2011, 89(4): 544-551.