

文章编号 1006-8147(2016)01-0084-03

综述

C1QBP 的多种配体及其在感染和炎症中的研究进展

陈雅婧¹,王勇²综述,刘运德¹,岳丹¹审校

(1.天津医科大学医学检验学院,天津 300203;2.天津医科大学第二医院泌尿外科,天津市泌尿外科研究所,天津 300211)

关键词 C1QBP;感染;炎症

中图分类号 Q7

文献标志码 A

人的 C1QBP(complement component 1q subcomponent binding protein, C1QBP) 又称人透明质酸结合蛋白和 P32, 是一种多区域和多功能的酸性细胞蛋白, 最初被定义为前体 mRNA 剪接因子 SF-2 相关蛋白, 也是补体 C1q 的球状头部受体。最初发现 C1QBP 表达于线粒体中, C1QBP 在线粒体中的大量聚集会诱导细胞凋亡^[1], 之后发现它表达于多种组织和细胞类型中包括淋巴细胞、上皮细胞、树突状细胞和血小板。此外, 还分布于其他细胞成分中包括内质网、核酸以及细胞表面^[2-3]。它是一种高度保守的蛋白, 参与细胞增殖、迁移和代谢^[4]。累积至今的实验证据表明除了 C1q, C1QBP 还结合不同的血浆配体包括高分子量激肽原 (high molecular weight kininogen, HK)、凝血因子 XII (coagulation factor XII, FXII)、玻连蛋白 (vitronectin, VN)、纤维蛋白原和凝血酶。更重要的是 C1QBP 能够结合不同的病原体相关分子配体, 因此被认为是一个有效的病原体受体。病原微生物如金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌或产单核细胞李斯特菌结合 C1QBP 获得能进入细胞或诱导细胞反应的能力, 提高它们的生存率。因此, C1QBP 在调节多个免疫进程包括炎症、自身免疫、感染和癌症中均发挥重要作用, 并被报道具有促凋亡的特性^[5]。

1 C1QBP 结构

完整的 C1QBP 蛋白含有 282 个氨基酸, 可能与 CD44、单唾液酸神经节苷脂和肌动蛋白一起在膜载体上表达^[6]。但从细胞表面分离出的成熟蛋白质仅含有 74-282 号残基, 与细胞膜表面蛋白一样,

并不包括 N 末端精氨酸富集的 73 个残基。剪切前 73 个氨基酸序列后形成成熟蛋白质, 这种成熟蛋白质的 N 末端不仅可能有单独的信号序列指导蛋白的促分泌通路, 还可能含有线粒体靶序列。C1QBP 缺乏跨膜蛋白, 通过与其他跨膜蛋白相互作用来传导细胞内信号。研究发现成熟的 C1QBP 具有特殊的晶体结构: C1QBP 在近生理条件下以非共价键三聚体形式存在, 环形三聚体包含 A、B 和 C 3 条特异性肽链, 并且两面电荷分布明显不同。它的 cDNA 序列显示为一个高度带电的酸性分子, 并且含有 3 个 N-糖基化位点。多聚体形成对于增加 C1QBP 与多种配体例如 C1q, HK 的亲合力至关重要。

2 C1QBP 的多种配体及其作用

C1QBP 是一种多配体和多功能的蛋白质, 在获得性免疫应答中能发挥重要作用^[7], 该分子最初被识别和定义为 C1q 的球状头部区域受体, 多种数据表明它可以与其他多种配体相结合。最近发现它对细胞内和细胞外配体都有重要调节作用, 使得该分子出现在细胞内多个位点并发挥多种功能。C1QBP 和这些分子之间的相互作用在感染和炎症中均发挥重要生物学作用。

2.1 C1QBP 与多种血浆蛋白结合并发挥作用

2.1.1 与 C1q 结合调节多种免疫应答 C1q 是补体系统中 C1 复合物的成分之一, 由于其可以与病原体相关的或者细胞表面表达的配体或者受体相互作用, 所以在各种病理和生理环境下均很重要^[8], 它可以与免疫复合物或者非免疫复合物结合来启动补体的经典激活途径。C1QBP 只在适宜的浓度 (240 nmol/L \pm 10 nmol/L) 与 C1q 结合^[9]。已确定 C1q 结合在 C1QBP 的 N-末端位点, 且由 76-93 氨基酸残基组成, C1QBP 首先结合于 C1q A 链的 155-164 氨基酸残基。C1QBP 上有两个 C1q 结合位点: 它们是 190-202 和 144-162 残基^[10]。已知 C1q 结合到细胞上会诱导和调节一系列细胞应答, 其中包括: 介

基金项目 国家自然科学基金青年基金资助项目 (81202380 和 81402094); 天津市应用基础与前沿技术研究计划青年基金项目 (14JCQNJC11600); 中国博士后基金面上项目 (2013 M541189); 天津医科大学科研基金 (2013KYQ04)

作者简介 陈雅婧 (1990-), 女, 硕士在读, 研究方向: 临床检验诊断学;
通信作者: 岳丹, E-mail: danyue0705@sina.cn。

导 1,4,5-三磷酸肌醇和血小板促凝活性的产生,从而增加前凝血酶的活性,利于补体激活和炎症过程中血栓的形成;抑制 T、B 细胞的增殖,随着 C1q 浓度的升高,它抑制淋巴细胞增殖的能力也随之升高;管理树突状细胞^[11-12]和血管的再生^[13],嗜酸性粒细胞、肥大细胞、中性粒细胞和树突状细胞的趋化,成纤维细胞和内皮细胞的粘附等。

2.1.2 与 HK 和 FXII 结合调节血管通透性和炎症反应 血浆激肽形成途径包括 3 个必须蛋白质,它们是:激肽释放酶原、FXII 和 HK^[14]。C1QBP 上包含两个 HK 结合位点:一个在 190-202 位点,另外一个在 204-218 位点。HK 的 5 区位于轻链的 N 末端,它富含组氨酸和精氨酸,包含与 C1QBP 相互作用的位点,在 HK 的重链还有一个 C1QBP 的结合位点,但是与 C1QBP 的亲合力较前者低得多。因此,C1QBP 与轻链的结合,对于装配和诱发激肽生成系统更加重要。C1QBP 已被证明能够结合 FXII,已结合的 HK 能够被 FXII 抑制,很可能是由于它们结合到相同或重叠的位点^[15]。

当 FXII 被活化成 FXIIa 后,它可以将 HK 的复合物前激肽释放酶转换为激肽释放酶,后者反过来消化 HK 生成九肽缓激肽(BK)^[16]。BK 属于激肽家族的促炎症反应肽,是一个有效的血管活性肽,是已知的激肽中最有力的血管扩张剂激动剂,BK 通过缓激肽受体 2(B2R)诱发内皮渗漏,但其他分子可能参与获得性血管水肿的发病和维持^[17]。在炎症位点,可溶性 C1QBP 可以通过重新合成或者快速转运已经合成的缓激肽受体 1(B1R)从而上调 B1R 的表达,进而增强血管通透性^[17]。通过抑制肽或抗体对 C1QBP 封闭可能会抑制九肽缓激肽的形成,降低血管的渗漏^[18]。

2.1.3 与 VN 结合在免疫防御中发挥作用 VN 存在于血浆、细胞外基质以及血小板中,可以促进正常细胞或者癌细胞的分化,并可以参与细胞外基质蛋白的水解。VN 同时也作为间接调理素参与细胞凋亡,并且会与 C1QBP 一样作为重要的补体抑制剂。VN 或含有 VN 的复合物如 VN-凝血酶-抗凝血酶 III (VNTAT) 三元复合物均可以与 C1QBP 相结合。C1QBP 能与 VNTAT 三元复合物结合,但不与凝血酶-抗凝血酶 III 复合物(TAT)结合,表明 C1QBP 与 VNTAT 的结合是通过复合物的 VN 部分所介导的,因此怀疑 C1QBP 和抗凝血酶 III 可能竞争结合凝血酶上相同或重叠的结合位点。VN 与 C1QBP 之间的直接相互作用表明,C1QBP 可能参与调节富含 VN 的细胞外基质和细胞之间的联系。因此 C1QBP

和 VN 可以在伤口愈合和免疫防御的过程中协同发挥作用。此外,C1QBP 可能参与含有 VN 的复合物的清除或者是与 VN 相协同抑制补体介导的细胞溶解^[19]。

2.2 C1QBP 可以与多种病原体结合而调节感染进程 C1QBP 是一个新兴的可以识别病原体的受体,能够与多种病原微生物相互作用,包括金黄色葡萄球菌、李斯特菌以及一些病毒。已知多种病原微生物通过 C1QBP 进入细胞或者抑制免疫反应来保证它们的生存。

2.2.1 与金黄色葡萄球菌结合引发多种感染 表达 A 蛋白的金黄色葡萄球菌 Cowan I 株不仅可以与纯化的 C1QBP 相结合,也可以和血小板上的 C1QBP 相结合,但是缺乏 A 蛋白的 Wood 46 株却不可以。通过 MAb 74.5.2 结合 C1QBP 可以显著降低金黄色葡萄球菌结合到血管内皮细胞^[20]。金黄色葡萄球菌通过毒力因子 A 蛋白与 C1QBP 相互作用^[20]可以导致一系列的疾病,从轻微的皮肤感染,如粉刺和脓肿,到危及生命的疾病,如肺炎、脑膜炎、败血症、心内膜炎。金黄色葡萄球菌对血小板上 C1QBP 的粘附性是血管内感染发病机制的主要决定因素。因此,金黄色葡萄球菌粘附于血小板可能导致血管损伤和血栓形成。

2.2.2 与蜡样芽孢杆菌结合促进病原体生存 蜡样芽孢杆菌是另一个可以与 C1QBP 结合的致病细菌。蜡样芽孢杆菌是属于革兰阳性棒状杆菌,其中包括致命的炭疽芽孢杆菌。它参与几种不同类型的食物中毒和组织破坏。已知 C1QBP 以特定方式结合在芽孢上,并且通过 C1QBP 粘附在孢子上可以诱导 C1QBP 的高表达。此外,一个称为炭疽芽孢杆菌胶原样蛋白的结构蛋白,与 C1q 家族的蛋白质有着惊人的相似性,并存在于炭疽芽孢杆菌上。由于蜡样芽孢杆菌与炭疽芽孢杆菌的相似性,可以推测蜡样芽孢杆菌可能也有一个炭疽芽孢杆菌胶原样蛋白的结构,使得它能与 C1QBP 相互作用。正是由于 C1QBP 存在这样的分子才可以促进芽孢粘附到细胞表面,并允许其出芽和(或)进入细胞,从而能够提高蜡样芽孢杆菌的生存率。

2.2.3 与产单核细胞李斯特菌结合促进病原体侵入细胞 另外一种利用 C1QBP 进入宿主细胞的致病细菌是产单核细胞李斯特菌,它是一种革兰阳性细菌,可能会造成严重食物感染,特别是在免疫功能不全的人或者动物中产生机会致病,通过信号通路的活化使非吞噬性细胞转变成吞噬性细胞导致李斯特菌进入细胞。该进程是通过两种紧密关联的

细菌表面蛋白或者特定的毒力因子 In1A 和 In1B 与靶细胞表面分子介导的。In1A 结合到钙粘连蛋白 E 从而促进细菌通过肠屏障入侵肠细胞;In1B 可以感染和分布于多种细胞,通过刺激接头蛋白 Gab1、Cbl、Shc 酪氨酸的磷酸化和磷脂酰肌醇 3 激酶的活化促进细菌进入细胞,通过结合和活化酪氨酸激酶 Met 受体发挥重大作用,这个受体也是肝细胞生长因子受体^[21-22]。然而,除了 c-Met,In1B 也会与 C1QBP 和乙酰肝素蛋白聚糖相结合。In1B 与 C1QBP 之间的相互作用是特异性并剂量依赖性的,可以通过 C1q 来抑制李斯特菌的侵袭。C1QBP 已被确定为能促进产单核细胞李斯特菌与 In1B 相互作用后进入宿主细胞的第二受体。

2.2.4 与病毒结合影响其致病性 C1QBP 已被证明能够与一些病毒核心蛋白相互作用,例如 1 型人免疫缺陷病毒的颗粒蛋白表达调节因子和 Epstein-Barr 病毒核抗原。这些病毒蛋白质大多数也参与病毒基因表达的调节,C1QBP 与这些分子之间的相互作用表明了它可能直接或间接地影响它们的复制,最终影响它们的致病性,此外还可以促进并维持病毒的感染^[23]。一些病毒包膜蛋白,如艾滋病毒的外包膜蛋白 HIV-gp120、HIV-gp41^[24],与 C1q 有着结构和功能上的相似性。因此,C1QBP 能够与 C1q 进行相互作用,同时也可以与独立的 gp120 以及整个 1 型人免疫缺陷病毒相互作用。当宿主被 HSV-1 感染后,它的毒力因子 ICP34.5 蛋白会将 C1QBP 招募至核膜周围,在 HSV-1 感染的 C1QBP 敲除的细胞中,游离病毒会显著降低,表明 C1QBP 是 HSV-1 病毒核输出的中介调节物^[25]。丙型肝炎病毒感染是人类健康的重大威胁,是另一种与 C1QBP 有亲和力的病毒配体,它在 C1QBP 上的结合位点已被确认为 188 - 259 氨基酸,但是精确的结合位点尚未被识别。丙型肝炎病毒核心蛋白通过在 T 细胞上结合 C1QBP,阻断 T 细胞的 G1 到 S 相转变,抑制宿主的免疫反应导致病毒持续感染和更严重的疾病进展,在某种程度上类似于补体 C1q 诱导的抗增殖反应。此外,从慢性病人中分离出的丙型肝炎病毒核心蛋白可以与 C1QBP 更有效的结合。

3 展望

C1QBP 在感染和炎症进程中通过与多种不同的微生物成分、补体以及激酶形成系统的关键蛋白相互作用,特别是在与微生物感染、免疫应答有关的进程中发挥重要作用。因此,识别 C1QBP 与不同配体结合的区域,从而能够设计相应的治疗方案来预防 C1QBP 诱导的炎症。此外,已有文献报道

C1QBP 在肿瘤的发展中也发挥重要作用^[26-28]。总的来说,C1QBP 可以作为多种免疫进程的标志物,可以设计成抗体依赖、肽依赖或者化学物依赖的治疗形式。但是目前对于 C1QBP 的研究还不完善,因此需要进一步深入探讨 C1QBP 的功能,可以为临床提供新的治疗靶点,对于感染和炎症乃至肿瘤的控制具有重要意义。

参考文献:

- [1] Watthanasurorot A, Jiravanichpaisal P, Soderhall K, et al. A calreticulin/gC1qR complex prevents cells from dying: a conserved mechanism from arthropods to humans[J]. *J Mol Cell Biol*, 2013, 5(2): 120
- [2] Braun L, Ghebrehiwet B, Cossart P. gC1q-R/p32, a C1q-binding protein, is a receptor for the In1B invasion protein of *Listeria monocytogenes*[J]. *EMBO J*, 2000,19(7): 1458
- [3] Mahdi F, Madar Z S, Figueroa C D, et al. Factor XII interacts with the multiprotein assembly of urokinase plasminogen activator receptor, gC1qR, and cytokeratin 1 on endothelial cell membranes [J]. *Blood*, 2002, 99(10): 3585
- [4] Matos P, Horn J A, Beards F, et al. A role for the mitochondrial-associated protein p32 in regulation of trophoblast proliferation[J]. *Mol Hum Reprod*, 2014, 20(8): 745
- [5] Xiao K, Wang Y, Chang Z, et al. p32, a novel binding partner of Mc1-1, positively regulates mitochondrial Ca²⁺ uptake and apoptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 451(2): 322
- [6] Kim K B, Yi J S, Nguyen N, et al. Cell-surface receptor for complement component C1q (gC1qR) is a key regulator for lamellipodia formation and cancer metastasis[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(26): 23093
- [7] Ye T, Huang X, Wang X W, et al. Characterization of a gC1qR from the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, 43(1): 200
- [8] Ghebrehiwet B, Peerschke E I. Purification of C1q receptors and functional analysis[J]. *Methods Mol Biol*, 2014, 1100: 319
- [9] Westman J, Hansen F C, Olin A I, et al. p33 (gC1q receptor) prevents cell damage by blocking the cytolytic activity of antimicrobial peptides[J]. *J Immunol*, 2013, 191(11): 5714
- [10] Ghebrehiwet B, Jesty J, Vinayagasundaram R, et al. Targeting gC1qR domains for therapy against infection and inflammation[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 735: 97
- [11] Castellano G, Woltman A M, Nauta A J, et al. Maturation of dendritic cells abrogates C1q production in vivo and in vitro [J]. *Blood*, 2004, 103(10): 3813
- [12] Hosszu K K, Santiago-Schwarz F, Peerschke E I, et al. Evidence that a C1q/C1qR system regulates monocyte-derived dendritic cell differentiation at the interface of innate and acquired immunity[J]. *Innate Immun*, 2010, 16(2): 115
- [13] Bossi F, Peerschke E I, Ghebrehiwet B, et al. Cross-talk between the complement and the kinin system in vascular permeability[J]. *Immunol Lett*, 2011, 140(1/2): 7
- [14] Kaplan A P. The bradykinin-forming cascade: a historical perspective[J]. *Chem Immunol Allergy*, 2014, 100: 205

(下转第 89 页)

- encoding the low-density lipoprotein receptor LRP4 cause abnormal limb development in the mouse[J]. *Genomics*, 2006, 87(5):673
- [19] Johnson E B, Steffen D J, Lynch K W, et al. Defective splicing of *Megf7/Lrp4*, a regulator of distal limb development, in autosomal recessive mulefoot disease[J]. *Genomics*, 2006, 88(5): 600
- [20] Cossins J, Belaya K, Zoltowska K, et al. The search for new antigenic targets in myasthenia gravis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1275:123
- [21] Barik A, Lu Y, Sathyamurthy A, et al. LRP4 is critical for neuromuscular junction maintenance[J]. *J Neurosci*, 2014, 34(42): 13892
- [22] Zong Y, Zhang B, Gu S, et al. Structural basis of agrin-LRP4-MuSK signaling[J]. *Genes Dev*, 2012, 26(3):247
- [23] Shen C, Lu Y, Zhang B, et al. Antibodies against low density lipoprotein receptor-related protein 4 induce myasthenia gravis[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(12): 5190
- [24] Rodríguez Cruz P M, Al-Hajjar M, Huda S, et al. Clinical features and diagnostic usefulness of antibodies to clustered acetylcholine receptors in the diagnosis of seronegative myasthenia gravis [J]. *JAMA Neurol*, 2015, 72(6): 642
- [25] Higuchi O, Hamuro J, Motomura M, et al. Autoantibodies to low-density lipoprotein receptor-related protein 4 in myasthenia gravis [J]. *Ann Neurol*, 2011, 69(2):418
- [26] Zhang B, Tzartos J S, Belimezi M, et al. Autoantibodies to lipoprotein-related protein 4 in patients with double-seronegative myasthenia gravis[J]. *Arch Neurol*, 2012, 69(4):445
- [27] Zisimopoulou P, Evangelakou P, Tzartos J, et al. A comprehensive analysis of the epidemiology and clinical characteristics of anti-LRP4 in myasthenia gravis[J]. *J Autoimmun*, 2014, 52:139
- [28] Meriggioli M N, Sanders D B. Muscle autoantibodies in myasthenia gravis: beyond diagnosis[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2012, 8(5):427
- [29] Yang L, Maxwell S, Leite M I, et al. Non-radioactive serological diagnosis of myasthenia gravis and clinical features of patients from Tianjin, China[J]. *J Neurol Sci*, 2011, 301(1/2):71
- [30] Tsigvoulis G, Dervenoulas G, Kokotis P, et al. Double seronegative myasthenia gravis with low density lipoprotein-4 (LRP4) antibodies presenting with isolated ocular symptoms[J]. *J Neurol Sci*, 2014, 346(1/2):328

(2015-08-19 收稿)

(上接第 86 页)

- [15] Ghebrehwet B, Lim B L, Kumar R, et al. gC1qR/p33, a member of a new class of multifunctional and multicompartamental cellular proteins, is involved in inflammation and infection[J]. *Immunol Rev*, 2001, 180: 65
- [16] Ghebrehwet B, Jesty J, Xu S, et al. Structure-function studies using deletion mutants identify domains of gC1qR/p33 as potential therapeutic targets for vascular permeability and inflammation[J]. *Front Immunol*, 2011, 2:58
- [17] Ghebrehwet B, Ji Y, Valentino A, et al. Soluble gC1qR is an autocrine signal that induces B1R expression on endothelial cells[J]. *J Immunol*, 2014, 192(1): 377
- [18] Bossi F, Fischetti F, Regoli D, et al. Novel pathogenic mechanism and therapeutic approaches to angioedema associated with C1 inhibitor deficiency[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009,124(6): 1303
- [19] Yang L, Liu X, Liu W, et al. Characterization of complement 1q binding protein of tiger shrimp, *Penaeus monodon*, and its C1q binding activity[J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2013, 34(1): 82
- [20] Sethi S, Herrmann M, Roller J, et al. Blockade of gC1qR/p33, a receptor for C1q, inhibits adherence of *Staphylococcus aureus* to the microvascular endothelium[J]. *Microvasc Res*, 2011, 82(1): 66
- [21] Shen Y, Naujokas M, Park M, et al. InIB-dependent internalization of *Listeria* is mediated by the Met receptor tyrosine kinase[J]. *Cell*, 2000, 103(3): 501
- [22] Marino M, Banerjee M, Jonquieres R, et al. GW domains of the *Listeria monocytogenes* invasion protein InIB are SH3-like and mediate binding to host ligands[J]. *EMBO J*, 2002, 21(21): 5623
- [23] Li X C, Du Z Q, Lan J F, et al. A novel pathogen-binding gC1qR homolog, FegC1qR, in the Chinese white shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Dev Comp Immunol*, 2012, 36(2): 400
- [24] Fausther-Bovendo H, Vieillard V, Sagan S, et al. HIV gp41 engages gC1qR on CD4+ T cells to induce the expression of an NK ligand through the PIP3/H2O2 pathway[J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6: e1000975
- [25] Wang Y, Yang Y, Wu S, et al. p32 is a novel target for viral protein ICP34.5 of herpes simplex virus type 1 and facilitates viral nuclear egress[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(52): 35795
- [26] Saha P, Ghosh I, Datta K. Increased hyaluronan levels in HABP1/p32/gC1qR overexpressing HepG2 cells inhibit autophagic vacuolation regulating tumor potency[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e103208
- [27] Peerschke E I, Ghebrehwet B. cC1qR/CR and gC1qR/p33: observations in cancer[J]. *Mol Immunol*, 2014, 61(2): 100
- [28] Zhang X, Zhang F, Guo L, et al. Interactome analysis reveals that C1QBP (complement component 1, q subcomponent binding protein) is associated with cancer cell chemotaxis and metastasis[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12(11): 3199

(2015-07-15 收稿)