

α 晶体蛋白在视神经损伤后再生中的作用研究进展

李贇婷, 曹霞, 马林昆

基金项目:国家自然科学基金地区基金(No. 31160206); 云南省联合重点专项(No. 2013FB107)
作者单位:(650101) 中国云南省昆明市, 昆明医科大学第二附属医院眼科
作者简介:李贇婷, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病。
通讯作者:马林昆, 毕业于东南大学医学院, 硕士, 教授, 主任医师, 院长, 研究方向: 眼底病. mlk_ynkm@163.com
收稿日期:2014-11-19 **修回日期:**2015-02-11

Research progress of α - crystallin in regeneration of optic nerve injury

Yun-Ting Li, Xia Cao, Lin-Kun Ma

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 31160206); Yunnan Key Joint Special Project (No. 2013FB107)

Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Lin-Kun Ma. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China. mlk_ynkm@163.com
Received: 2014-11-19 Accepted: 2015-02-11

Abstract

α -crystallin is the predominant structural protein in the lens. It is a member of small heat shock proteins (sHSPs) which has the common functions of HSPs. It also has anti-apoptotic activity etc. Recently, it has been proved to combine with the cellular membrane of retinal ganglion cells (RGCs) to enhance the survival of RGCs and the regeneration of axons, thereby partly restore visual function. But we haven't come to a unified conclusion of the mechanism. This review is focused on structure and functions of α -crystallin, the protection function and mechanism of α -crystallin towards RGCs after the optic nerve injury.

KEYWORDS: α -crystallin; optic nerve injury/regeneration; retinal ganglion cells

Citation: Li YT, Cao X, Ma LK. Research progress of α -crystallin in regeneration of optic nerve injury. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(3):448-450

摘要

α 晶体蛋白是构成晶状体的重要结构蛋白, 属于小分子热休克蛋白(sHSPs)家族, 除了具有热休克蛋白(HSPs)的共性, 还具有抗细胞凋亡等作用。近年来研究还发现, α 晶

体蛋白可与视网膜神经节细胞(RGCs)的细胞膜结合来促进 RGCs 的存活和轴突的再生, 进而部分改善视功能, 但其相关机制仍无统一的结论。本文就 α 晶体蛋白的基本结构与功能、 α 晶体蛋白在视神经损伤后对 RGCs 的保护作用及其机制展开综述。

关键词: α 晶体蛋白; 视神经损伤/再生; 视网膜神经节细胞

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.3.18

引用:李贇婷, 曹霞, 马林昆. α 晶体蛋白在视神经损伤后再生中的作用研究进展. 国际眼科杂志 2015;15(3):448-450

0 引言

视神经损伤(optic nerve injury)是眼科临床诸多致盲疾病的共同原因, 目前仍缺乏有效的治疗方法。视神经损伤后 RGCs 的存活及其轴突的再生, 是视神经损伤修复新的突破点, 其有效途径及其机制已成为当前国内外研究的热点^[1]。李双等^[2]通过大鼠视神经钳夹伤模型证实晶状体损伤可以保护 RGCs 的存活, 并可增加视网膜 GAP-43 的表达来促进轴突的再生, 其原因可能是损伤的晶状体释放某种“神经保护物质”。后来这种“神经保护物质”被证实是 α 晶体蛋白^[3]。本文就 α 晶体蛋白的基本结构与功能、 α 晶体蛋白在视神经损伤后对 RGCs 的保护作用及其机制展开综述, 旨在为视神经损伤的临床治疗提供新的思路。

1 α 晶体蛋白的基本结构与分布

水溶性晶体蛋白在脊椎动物中主要由 α , β , γ 晶体蛋白组成。 α 晶体蛋白是由 A 和 B 亚基组成的聚集体, 在水溶性晶体蛋白中高达 40%。其中, αA 晶体蛋白基因位于人类 21 号染色体上, αB 晶体蛋白基因位于人类 11 号染色体, 两者之间同源氨基酸序列达到 57%, 且均为小分子热休克蛋白(small heat shock proteins, sHSPs)家族成员^[4]。 α 晶体蛋白为非对称的环形四价聚集体, 包括 3 个结构域: C-末端、 α 晶体蛋白结构域和 N-末端, 每个区域均可与未折叠蛋白肽链结合, 阻断蛋白间的相互作用, 抑制蛋白质聚集, 协助蛋白多肽在折叠酶的作用下逐步完成正确折叠, 发挥分子伴侣的功能^[5]。

Munemasa 等^[6]证实小鼠视网膜表达的 αA 和 αB 晶体蛋白主要分布在 RGCs 的细胞核、视网膜内核层的细胞膜和部分细胞骨架结构以及视网膜外核层细胞核膜, 这种分布可能与其可在不同部位发挥功能有关。有研究者在体外培养的视网膜色素上皮细胞的胞膜、胞浆及细胞核中也发现 α 晶体蛋白并证实视网膜色素上皮细胞也可以表达 α 晶体蛋白^[7]。

2 α 晶体蛋白的主要功能

2.1 α 晶体蛋白具有 HSPs 作用 HSPs 是细胞遭受环境中物理、化学等刺激时发生应激反应而合成的蛋白质, 又

称为应激蛋白(Stress Protein, SP),其在结构上高度保守,能够通过改变或修饰其他蛋白质来发挥生物学活性作用,故将其称为“分子伴侣”^[8]。 α 晶体蛋白属于sHSPs家族,故具有HSPs的共性。Horwitz^[9]首先证实了 α 晶体蛋白具有分子伴侣功能,即该蛋白可以不依赖消耗ATP酶,通过介导其他蛋白质的折叠和装配,间接发挥作用。其它研究还发现 α 晶体蛋白在体外和体内对热应激均有良好的保护作用,当晶状体内蛋白质和酶在热应激条件下发生异常聚集时, α 晶体蛋白能抑制此过程中蛋白质和酶的聚集及紫外线导致的酶的化学性失活等^[10]。由此可见,作为一种重要的应激蛋白, α 晶体蛋白在应激时可维持细胞必须的蛋白质构象从而起到一定的保护作用。当细胞受到应激刺激或其他损伤因素作用时, α 晶体蛋白可通过调节肌动蛋白动力学和微管聚集等在蛋白质聚集折叠、跨膜转运、重塑细胞骨架、提高细胞应激反应等方面发挥重要作用^[11]。

2.2 α 晶体蛋白具有抗细胞凋亡作用 α 晶体蛋白能抵抗细胞缺氧、高温、高渗等应激因素诱导的细胞凋亡^[12]。有学者在 H_2O_2 诱导的大鼠心肌细胞(H9c2)凋亡过程中,证明了 α B晶体蛋白的过度表达可显著减少H9c2心肌细胞的凋亡,其机制为减少线粒体内细胞色素C的释放,拮抗Bcl-2表达的下调和促进磷酸化AKT水平的降低,最终减少下游效应凋亡蛋白酶Caspase-3的活化,从而减少 H_2O_2 导致的H9c2心肌细胞的凋亡^[13]。此外, α B晶体蛋白可通过与Bax和Bcl-Xs相互作用抑制其向线粒体移位而发挥其抗凋亡作用,当抗凋亡蛋白Bcl-2在晶体细胞中过度表达时,可通过抑制转录因子LEDGF(α B晶体蛋白正性调节因子)而减少 α B晶体蛋白的表达,加重氧化应激所致的细胞凋亡^[14],说明 α B晶体蛋白与其他的凋亡调节蛋白之间存在相互影响,也提示 α B晶体蛋白可能还存在其他的凋亡调节机制。同时, α A晶体蛋白被证实可通过抑制Caspase-3和Caspase-9的活化及抑制凋亡蛋白Bim的和Bax的过度表达,明显减少化学因素诱导的中国仓鼠卵巢(CHO)细胞的凋亡^[15]。这表明 α A和 α B晶体蛋白均具有抗细胞凋亡的作用,其机制主要与调节细胞凋亡途径中两个重要的家族:Caspase和Bcl-2家族有关。

还有研究指出 α A和 α B晶体蛋白在特定的应激状态下其抗凋亡机制不尽相同。比如,在由紫外线和氧化应激压力导致的细胞凋亡过程中, α A晶体蛋白是通过调节激活AKT信号通路来抑制细胞凋亡,而 α B晶体蛋白则是通过负性调节MAPK信号通路来抑制细胞凋亡^[16]。由此可见, α 晶体蛋白抗细胞凋亡的调节机制非常复杂,需要我们更深入地探究。

3 α 晶体蛋白对RGCs的保护作用及其机制

早在1994年Mansour-Robaey等^[17]就发现晶状体损伤可以保护RGCs的存活和促进其轴突再生。进一步研究表明,促进RGCs存活和轴突再生的原因不是单纯的眼球损伤,而是损伤后的晶状体释放的“神经保护性物质”延长了RGCs的存活时间并促进了轴突的再生,并惊奇地发现:RGCs的再生轴突可通过损伤区与上丘形成功能性突触联系,从而帮助RGCs渡过危险期,并克服视神经损伤局部环境中产生的抑制性物质的阻碍,促进视神经再生^[18]。后来这种“神经保护物质”被证实是 α 晶体蛋白,其机制可能是通过促进RGCs中GAP-43的表达,从而激活RGCs细胞内的某些信号通路,促进其轴突的再生^[3,19]。

最新研究通过静脉注射 α 晶体蛋白也证实了其可促进RGCs的存活,并认为其可能是通过抑制视网膜小胶质细胞的激活从而发挥间接保护作用^[20]。

然而,关于 α 晶体蛋白保护RGCs并促进其轴突再生的机制,目前尚不完全明确。目前主要的研究方向包括 α 晶体蛋白与RGCs膜上受体结合、调节Caspase及Bcl-2家族阻止RGCs凋亡、抑制RhoA-Rock通路的信号传导促进RGCs轴突再生、抑制视网膜小胶质细胞反应间接保护RGCs。

3.1 α 晶体蛋白与RGCs膜上受体结合 王晓芹等^[21]在探讨 α 晶体蛋白对体外培养RGCs的作用中发现, α 晶体蛋白与RGCs胞膜上作用物的定位和分布大致相同,提示RGCs胞膜上可能有 α 晶体蛋白的受体,并猜测可能是某种蛋白分子。但后来的研究发现,RGCs胞膜本身即可表达 α 晶体蛋白^[22],故不能排除内源性 α 晶体蛋白的干扰作用。随后,王兴利^[23]通过对外源性 α 晶体蛋白标记,再与RGCs孵育的方式,证明了外源性 α 晶体蛋白可与RGCs的胞膜结合发挥保护及促进轴突再生的作用,并认为谷胱甘肽S-转移酶可能是外源性 α 晶体蛋白的靶蛋白。这一重大发现为进一步研究 α 晶体蛋白促RGCs存活及轴突再生的机制奠定了坚实的基础。

3.2 α 晶体蛋白调节Caspase和Bcl-2家族 α B晶体蛋白可以减缓大鼠急性高眼压后RGCs的凋亡,其机制可能为 α B晶体蛋白能抑制RGCs内凋亡蛋白酶Caspase-3的表达,从而减少细胞凋亡^[24]。进一步的研究结果表明, α 晶体蛋白能通过调节Caspase家族和Bcl-2家族来阻止细胞凋亡,具体机制为通过抑制Caspase-9(线粒体通路)和Caspase-8(死亡受体通路)对Caspase-3激活从而防止RGCs凋亡,以及与Bax和Bcl-Xs相互作用抑制其向线粒体移位而发挥其抗凋亡作用^[15,16,25]。

3.3 α 晶体蛋白抑制RhoA-Rock信号通路 视神经损伤后,损伤局部微环境改变,会产生多种轴突再生抑制物。研究发现,急性高眼压后,视网膜缺血诱导RhoA/Rock-2通路激活,肌球-肌动蛋白交联,血管平滑肌细胞骨架重组、收缩,诱发血管内皮细胞合成释放ET-1,血管收缩,减少局部供血供氧,最终导致RGCs凋亡^[26]。而 α 晶体蛋白能够抑制RhoA的激活,进而抑制Rock活化及cofilin,MLC磷酸化,减少髓鞘抑制信号传导,防止生长锥萎缩,达到拮抗视神经损伤后局部抑制性微环境的阻碍作用,促进RGCs轴突再生^[27]。

3.4 α 晶体蛋白抑制视网膜小胶质细胞增殖及活化 视神经损伤后RGCs继发性死亡可导致视网膜小胶质细胞数量的显著增加。最新研究结果表明,静脉内注射 α 晶体蛋白能够抑制视网膜小胶质细胞的激活,使活化的小胶质细胞数量减少,从而减轻炎症反应,间接保护RGCs,并能抑制视网膜TNF- α ,iNOS的释放,减轻小胶质细胞对RGCs的过度吞噬和继发性损害^[20,28,29]。这也从另一方面向我们提示,静脉注射 α 晶体蛋白可能为视神经损伤的治疗提供了一种新的策略。

4 展望

视神经损伤是由许多眼部疾病所导致的不可逆性视功能损害,其与RGCs的丢失具有高度相关性,因此RGCs的存活是视功能恢复的必要条件。 α 晶体蛋白为视神经损伤治疗提供了新思路。大量的研究证实 α 晶体蛋白能够极大促进RGCs的存活和轴突再生,其作用机制除了 α

晶体蛋白与 RGCs 膜上受体结合、调节 Caspase 和 Bcl-2 家族、抑制 RhoA 激活和小胶质细胞增殖及活化外,是否还有其他机制发挥作用需要更深入的研究。

参考文献

- 1 Moore DL, Goldberg JL. Four steps to optic nerve regeneration. *J Neuroophthalmol* 2010;30(4):347-360
- 2 李双,姜发纲.晶状体损伤对视神经钳夹伤大鼠视网膜节细胞存活和轴突再生的影响. *眼科新进展* 2010;30(3):226-229
- 3 Chiu K, Zhou Y, Yeung SC, et al. Up-regulation of crystallins is involved in the neuroprotective effect of wolfberry on survival of retinal ganglion cells in rat ocular hypertension model. *J Cell Biochem* 2010;110(2):311-320
- 4 Slingsby C, Wistow GJ, Clark AR. Evolution of crystallins for a role in the vertebrate eye lens. *Protein Sci* 2013;22(4):367-380
- 5 Babizhayev MA, Nikolayev GM, Nikolayeva JG, et al. Water-structuring technology with the molecular chaperone proteins; indicated application of the alpha-crystallin domains and imidazole-containing peptidomimetics in cosmetic skin care systems or dermatological therapeutic drug carrier formulations. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 2011;28(3):203-253
- 6 Munemasa Y, Kwong JM, Caprioli J, et al. The role of alphaA- and alphaB-crystallins in the survival of retinal ganglion cells after optic nerve axotomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(8):3869-3875
- 7 Jeong WJ, Rho JH, Yoon YG, et al. Cytoplasmic and nuclear anti-apoptotic roles of alphaB-crystallin in retinal pigment epithelial cells. *PLoS One* 2012;7(9):e45754
- 8 Kaul G, Thippeswamy H. Role of heat shock proteins in diseases and their therapeutic potential. *Indian J Microbiol* 2011;51(2):124-131
- 9 Horwitz J. Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(21):10449-10543
- 10 Nahomi RB, Wang B, Raghavan CT, et al. Chaperone peptides of alpha-crystallin inhibit epithelial cell apoptosis, protein insolubilization, and opacification in experimental cataracts. *J Biol Chem* 2013;288(18):13022-13035
- 11 Acunzo J, Katsogiannou M, Rocchi P. Small heat shock proteins HSP27 (HspB1), alphaB-crystallin (HspB5) and HSP22 (HspB8) as regulators of cell death. *Int J Biochem Cell Biol* 2012;44(10):1622-1631
- 12 Christopher KL, Pedler MG, Shieh B, et al. Alpha-crystallin-mediated protection of lens cells against heat and oxidative stress-induced cell death. *Biochim Biophys Acta* 2014;1843(2):309-315
- 13 Xu F, Yu H, Liu J, et al. alphaB-crystallin regulates oxidative stress-induced apoptosis in cardiac H9c2 cells via the PI3K/AKT pathway. *Mol Biol Rep* 2013;40(3):2517-2526
- 14 Launay N, Tarze A, Vicart P, et al. Serine 59 phosphorylation of alphaB-crystallin down-regulates its anti-apoptotic function by

binding and sequestering Bcl-2 in breast cancer cells. *J Biol Chem* 2010;285(48):37324-37332

- 15 Pasupuleti N, Matsuyama S, Voss O, et al. The anti-apoptotic function of human alphaA-crystallin is directly related to its chaperone activity. *Cell Death Dis* 2010;1:e31
- 16 Hu WF, Gong L, Cao Z, et al. alphaA- and alphaB-crystallins interact with caspase-3 and Bax to guard mouse lens development. *Curr Mol Med* 2012;12(2):177-187
- 17 Mansour-Robaey S, Clarke DB, Wang YC, et al. Effects of ocular injury and administration of brain-derived neurotrophic factor on survival and regrowth of axotomized retinal ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91(5):1632-1636
- 18 Fischer D, Heiduschka P, Thanos S. Lens-injury-stimulated axonal regeneration throughout the optic pathway of adult rats. *Exp Neurol* 2001;172(2):257-272
- 19 王瑞红,吴志鸿,侯世科,等. alphaB-晶体蛋白对急性高血压大鼠视网膜神经节细胞轴突再生作用的研究. *国际眼科杂志* 2013;13(6):1081-1086
- 20 Wu N, Yu J, Chen S, et al. alpha-Crystallin protects RGC survival and inhibits microglial activation after optic nerve crush. *Life Sci* 2014;94(1):17-23
- 21 王晓芹,王一. alpha晶体蛋白对视网膜神经节细胞作用的初步研究. *第三军医大学学报* 2006;28(19):1955-1958
- 22 应希,王一,曾玉晓,等. 大鼠视网膜神经节细胞中内源性 alpha晶体蛋白的表达及其变化规律. *眼科新进展* 2010;30(9):815-818
- 23 王兴利. alpha晶体蛋白与视网膜神经节细胞膜结合的靶蛋白的探索研究. *第三军医大学* 2011
- 24 Wu Z, Wang L, Hou S. Alpha B-crystallin improved survival of retinal ganglion cells in a rat model of acute ocular hypertension. *Neural Regen Res* 2012;7(19):1493-1497
- 25 Hamann S, Métrailler S, Schorderet DF, et al. Analysis of the cytoprotective role of alpha-crystallins in cell survival and implication of the alphaA-crystallin C-terminal extension domain in preventing Bax-induced apoptosis. *PLoS One* 2013;8(2):e55372
- 26 张菁,余腊梅,胡义珍. 大鼠急性高血压后视网膜 RhoA、ROCK-2 和 ET-1 的表达及其相关性研究. *眼科新进展* 2011;31(5):419-422,426
- 27 Wang YH, Wang DW, Wu N, et al. alpha-Crystallin promotes rat axonal regeneration through regulation of RhoA/rock/cofilin/MLC signaling pathways. *J Mol Neurosci* 2012;46(1):138-144
- 28 于嘉. alpha-晶体蛋白保护视网膜神经节细胞存活及抑制小胶质细胞活化的在体研究. *第三军医大学* 2011
- 29 Pangratz-Fuehrer S, Kaur K, Ousman SS, et al. Functional rescue of experimental ischemic optic neuropathy with alphaB-crystallin. *Eye (Lond)* 2011;25(6):809-817