

α 抗胰蛋白酶研究进展

杜金洋, 张琚瑶, 神和倩, 高 晗, 尹 娇, 张 玉, 郭 鑫, 吕威志, 杨东英*
(德州学院医药与护理学院, 山东 德州 253023)

摘 要: 缺乏 α 抗胰蛋白酶可以引起肝炎、慢性肺阻塞等疾病。 α 抗胰蛋白酶的主要有抑制如凝血酶、纤溶酶、中性粒细胞弹性蛋白酶等多种丝氨酸的内切肽酶; 抑制多形核白细胞 (PMN 细胞) 的激活; 清除细胞毒性物质, 保护组织细胞并帮助其再生和修复的功能。本文就 α 抗胰蛋白酶理化性质、缺乏症极其抗病毒的治疗作用进行综述。

关键词: α 抗胰蛋白酶; AATD; 理化性质

中图分类号: Q78

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2021)03-0056-03

α -抗胰蛋白酶(α 1-antitrypsin 或 AAT)是一种主要由肝细胞滑面内质网联合高尔基复合体共同参与合成的血浆蛋白, 参与血浆蛋白酶活性的负性调节, 抑制蛋白酶过度活化引起的组织损伤, 因此被称为 α -蛋白酶抑制剂^[1-2]。因 AAT 与蛋白酶活性中心的结合模式和蛋白酶-底物的结合模式相似, 所以在酶抑制过程中, AAT 与目标酶结合形成 AAT-蛋白酶的共价复合物, 启动蛋白酶裂解程序^[3]。

1 AAT 的理化性质

AAT 主要是由肝细胞合成的一种丝氨酸蛋白酶抑制蛋白, 肺泡巨噬细胞、单核细胞以及上皮细胞也可以合成, 相对分子质量为 52 kD, 正常人体内血清中 AAT 浓度的参考值是 (2.90 \pm 0.51) g/L, 但人体内 AAT 浓度会随着蛋白酶抑制表型变化而不同^[4]。AAT 在正常的血浆中能抑制 90% 以上的蛋白酶活性, 是人体内最重要的蛋白酶抑制物, 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族的成员^[4]。

AAT 的主要功能有: (1) 抑制多种丝氨酸的内切肽酶, 比如凝血酶、纤溶酶、中性粒细胞弹性蛋白酶等; (2) 抑制炎症反应的各个关键中间环节, 如炎症细胞因子的生成过程以及各种炎性介质的合成和释放过程等; (3) 抑制多形核白细胞 (PMN 细胞) 的激活^[5]; (4) 清除细胞毒性物质, 如自由基和过氧化物, 因而可以减轻蛋白酶激活导致的肺基地组织基质受损, 保护组织细胞并有助于它的再生和修复。

2 AAT 缺乏症

编码 AAT 的 *SERPINA1* 基因具有正常的蛋白

质循环水平。有 95% 的重度 AAT 缺乏症是由单一氨基酸 Glu342Lys (Z 等位基因) 的纯合子取代引起的, 这种情况在 25 个欧洲血统的人中就有一个。轻度的 AAT 缺乏症通常是由另一种 Glu264Val (S 等位基因) 氨基酸替代导致的, 这种基因在四分之一的伊比利亚半岛人身上被发现。然而, 许多其他等位基因对 AAT 也有不同的影响, 如产生错误折叠的蛋白, 或对循环 AAT 的水平和功能没有影响。

2.1 AAT 缺乏临床表现

错误折叠的 AAT 会形成有序的聚合物, 累积成肝细胞包涵体, 这种错误折叠的蛋白质会导致蛋白质毒性应激和功能获得性肝病。缺乏 AAT 导致中性粒细胞弹性酶 (NE) 过量, 进而诱导黏蛋白的产生和分泌, 并且诱导其他蛋白酶和炎症细胞因子的表达。AAT 不仅是一种抗蛋白酶, 还是一种有效的抗炎剂, 通过 IL-8 的相互作用调节中性粒细胞趋化、脱颗粒、自身免疫和凋亡。AAT 被氧化、水解、裂解和聚合灭活。中性粒细胞增多, 蛋白酶活性增强, 结构损伤和易感性感染发生, 导致组织损伤和肺气肿。在此类患者中有 20% ~ 36% 患有临床意义的肝纤维化, 晚期纤维化的危险因素包括代谢综合征和肥胖。对 AAT 严重缺失等位基因 (*PiZZ*) 的患者而言, 饮酒的确切影响尚待确定, 但现有证据表明, 饮酒加剧疾病的发展。且 α -抗胰蛋白酶缺乏症 (AATD) 导致的肝肺问题更有可能因 COVID-19 感染而出现严重并发症^[6]。

AAT 缺乏症在肺部疾病上的临床表现与非遗传性肺气肿无明显区别。这就是约 90% 的病例从出现症状到确诊的 5 ~ 7 年间仍未诊断出严重 AAT

收稿日期: 2021-05-27 修回日期: 2021-05-29

作者简介: 杜金洋 (2001—), 女, 研究方向: 生物制药。

* 通讯作者: 杨东英, 女, 生物化学与分子生物学, 副教授, 主要从事生化与分子生物学教学工作。

缺乏症的部分原因。中度吸烟和主要影响下叶的全腺性肺气肿患者出现的早发性阻塞性肺疾病是与AAT缺乏症相关的肺部疾病的典型临床描述。

AAT缺乏主要会引发肝肺疾病,除此之外也会引起其他疾病。比如中性粒细胞性脂膜炎以及与抗中性粒细胞胞浆抗体有关的各类疾病。中性粒细胞性脂膜炎的特点是皮下结节疼痛,皮下存在中性粒细胞浸润,它发生在少于1%的PiZZ基因型人群中。而与抗中性粒细胞胞浆抗体相关的问题有血管炎、慢性肾病、糖尿病、代谢改变,脂蛋白水平降至极低密度等。

2.2 AAT缺乏症诊断

AAT缺乏症诊断不仅要考虑肺部疾病患者,所有患有慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、肝病、哮喘的不良反应、 c -ANCA血管炎、脂膜炎或支气管扩张的患者,还要考虑缺乏症患者的直系亲属是否有患病风险。

对于肺部疾病,检测的第一步是测定血清中的AAT水平。由于AAT是一种在感染或炎症反应过程中会增加的急性期反应物,因此测量时应同时评估C反应蛋白。在C反应蛋白水平正常的情况下,血清水平高于或等于1.1 g/L可作为AAT状态正常的证据。如果血清中AAT水平低于1.1 g/L,那么临床医生应该要求专业实验室进行表型或基因分型。在不确定的病例中,应进行基因测序。患者应该转到专门的AAT缺乏症中心进行咨询,同时应当检测自身AAT水平和基因分型。

对于肝脏疾病,所有的PiZZ携带者都应该在一个专门研究AAT缺乏症的中心进行肝病检测。鉴于其具有侵袭性,因此肝活检不能用于无症状患者的监测。瞬时弹性成像有助于排除晚期纤维化(F3或F4期),但在较低水平纤维化时效果较差,其作用类似于天冬氨酸转氨酶(AST)-血小板比率指数(APRI)。 γ -谷氨酰转氨酶水平作为一种无创标记,其效果比APRI、FIB-4评分或转氨酶测量更好。但这些生物标志物对于与AAT缺乏相关的肝脏疾病,临界值仍有待确定。

2.3 AAT缺乏症(AATD)治疗

目前针对AAT缺乏症最有效的策略是预防,因此早期的诊断很重要。患者可以通过良好的生活习惯减少发病风险,并通过现有的治疗手段获益。目前实验室主要采取血浆水平检测、蛋白表型检测、基因检测和组织病理学检测^[7]四种检测方式。对于儿童,尤其是一些早产儿来说,AAT缺乏症的预防更为重要,因为他们抗胰蛋白酶水平较低,抗氧化酶活性和抗氧化剂水平较低,自身无法有效减轻炎症发生,控制机体损伤后的修复过程。

由AAT缺乏引起的肺部疾病采用的治疗方法与治疗COPD相同。血浆纯化AAT静脉增强治疗于1987年被美国食品和药物管理局(FDA)批准,是目前唯一获得许可的治疗AAT缺乏症的特异性疗法。但没有临床疗效的证据。经过随机、对照实验后,将降低肺密度损失作为主要的治疗结果。

与AAT突变相关的肝病会因次要因素(如脂肪和酒精)而加重影响肝功能。因此建议人们注意保持正常体重指数,并在建议范围内饮酒。患有与AAT缺乏有关的晚期肝病者应该戒酒。除了针对晚期患者进行器官移植,目前没有一种疗法被批准用于AAT缺乏症相关的肝脏疾病。

AAT缺乏症患者发生肺气肿与嗜中性粒细胞丝氨酸蛋白酶失去控制有关,可以通过补充AAT的方法来抑制丝氨酸蛋白酶的活性。很多国家将静脉注射AAT作为缓解血浆严重不足的主要方法。AAT可以利用层析技术从血浆中分离或通过基因重组技术得到。为使AAT保持有效的浓度,患者需要定期补充,静脉注射AAT剂量大约是60 mg/kg/周^[8]。

2.4 衰老对AATD表现的影响

AATD占COPD病例的2%,功能丧失和功能获得是最常见的重度缺陷特征,两者都是促炎状态,与组织损伤无关。AATD的许多疾病在老年患者中临床表现更为明显,而且AAT缺乏症患者出现其他慢性炎症的情况高于预期,AAT缺乏症的炎症和一些AAT缺乏症相关的病例过程具有加速衰老的特征。

AATD与加速老化有许多共同特点。肺部存在系统性和局部性的慢性炎症,比非遗传性COPD更严重,尤其是中性粒细胞趋化剂,如LTB4和IL-8。AAT可以通过直接结合的方式抑制IL-8的作用,将IL-8从其受体CXCR-1和CXCR-2分离出来。中性粒细胞弹性酶可增加内皮细胞、上皮细胞和免疫细胞上LTB4的产生和相关的BLT1的表达。与此相一致的是,PiZZ型 α 抗胰蛋白酶缺乏症患者的中性粒细胞与LTB4反应时,黏附和脱颗粒增加。

3 AAT对COVID-19起治疗效果的假设

3.1 已知的AAT对机体的保护作用

AAT最明显的作用是对嗜中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)的抑制作用,NE对肺组织的危害非常大。AAT蛋白由三个 β -薄片(a-c)和一个反应环组成。NE与活性环结合,接近 β -薄片a,形成一个不可逆的复合物,促进对NE的抑制。

AAT还可以降低胚胎毒性,有助于妊娠。研究发现AAT在口服避孕药的女性中明显更高,这表明其对雌激素有反应,而且妇女在怀孕期间AAT水平升高,在34~38周达到峰值,在产后期间下降^[9]。

AAT 也被称为 B 淋巴细胞调节剂,在 LPS 刺激下,AAT 降低了 B 淋巴细胞的活化,Ki-67 + b 细胞的数量、IgM 的释放和活化标志物 CD40 和 CD19 的表达。

AAT 对病毒感染也有保护作用。2001 年,Shapiro 等人的研究中发现,蛋白酶抑制剂减弱了 HIV 在核细胞中的复制。AAT 20aa 残基的一个小 c 端被称为“病毒抑制肽”,可以与 HIV 包膜糖蛋白 gp41 结合,阻止病毒进入宿主细胞。病毒抑制肽在体内也有抗 HIV 的活性。

3.2 AAT 拮抗 COVID-19 的潜在机制

首先,AAT 可以抵御包括 RNA 在内的微生物,可以增强宿主对多种病原体的免疫力,比如 HIV、流感、铜绿假单胞菌以及细胞内分枝杆菌。AAT 还可以抑制 TMPRSS2 (protease transmembrane protease, serine 2) 阻止 SARS-CoV-2 进入细胞。可能导致致命疾病的冠状病毒利用宿主细胞丝氨酸蛋白酶 TMPRSS-2 来处理病毒刺突蛋白,使它能够有效与细胞表面结合。一定生理浓度的 AAT 可以有效抑制 TMPRSS-2 的活性,因而可以在一定程度上阻止冠状病毒进入宿主细胞。此外,AAT 还具有强大的抗炎活性,AAT 通过结合 I κ B α 或抑制 I κ B α 泛素化,抑制促炎转录因子 NF κ B 活化,从而减轻炎症反应^[10-12]。AAT 还可以通过抑制凝血酶来延缓血栓的形成。

总结

AAT 的主要功能是使蛋白水解酶失活,由于 AAT 经常暴露于病原体并且具有高度的细胞免疫活性,其在肺组织中会不断释放。对肺组织有害的 NE 的抑制是 AAT 最明显的作用,因此可以推断出 AAT 表达的变化可能与肺部疾病(如纤维化)有关。最近,随着新型冠状病毒在全球范围内的流行,除了疫苗接种,研发新的治疗药物也迫在眉睫,最新研究表明,AAT 可以通过与 ACE2 受体的结合而起到保护

作用,免受 COVID-19 的感染,但这一研究仅仅处于起步阶段,尚需深入开展例如等位基因变体,AAT 水平和 AAT 突变与 Covid-19 临床结果之间是否存在相关性等研究;有症状和无症状的 SARS-CoV-2 感染之间的 AAT 水平是否存在差异;SARS-CoV-2 感染中是否存在与 AAT 增加有关的性别或年龄差异;AAT 是否能够抑制 TMPRSS2 介导的 ACE2 裂解等系列问题也需要深入探讨研究。

参考文献:

- [1] 秦莉,罗光华. α 1-抗胰蛋白酶缺乏症的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(9):1111-1114.
- [2] 王方. 重视 α 1-抗胰蛋白酶缺乏症的诊断[J]. 中国临床医生杂志,2015,43(2):10-14.
- [3] 王婧雯,王秋颖,徐建国. 慢性阻塞性肺病稳定期合并 2 型糖尿病患者血清 α 1-抗胰蛋白酶、中性粒细胞弹力蛋白酶水平[J]. 中国老年学杂志,2013,33(3):510-511.
- [4] 谭迎,钟建开. α 1-抗胰蛋白酶与动脉粥样硬化及冠心病关系的研究进展[J]. 山东医药,2018,58(17):94-97.
- [5] 宋帅,杨广民. α 1-抗胰蛋白酶最新研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(11):1356-1360.
- [6] MCNULTY M J, SILBERSTEIN D Z, KUHN B T, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency and recombinant protein sources with focus on plant sources: Updates, challenges and perspectives[J]. Free Radical Biology and Medicine,2021,163.
- [7] 刘宇良,杨笃才,匡青芬. α 1-抗胰蛋白酶缺乏症的诊断与治疗[J]. 实用临床医学,2017,18(2):104-107.
- [8] STOCKLEY R A, TURNED A M. α 1-Antitrypsin deficiency: clinical variability, assessment, and treatment [J]. Trends Mol Med, 2014, 20(2):105-115.
- [9] BAI X Y, HIPPENSTEEL J, LEAVITT A, et al. Hypothesis: Alpha-1-antitrypsin is a promising treatment option for COVID-19 [J]. Medical Hypotheses,2020.
- [10] DE LOYOLA M B, DOS REIS T T A, DE OLIVEIRA G X L M, et al. Alpha-1-antitrypsin: A possible host protective factor against Covid-19. [J]. Reviews in medical virology,2020.
- [11] 钟金凤. 家蚕减数分裂阻滞基因及 RNA 和输出因子结合蛋白基因的研究[D]. 苏州:苏州大学,2011.
- [12] 李力炯. 麻纺韧皮纤维脱胶用碱性果胶酶的制备及表征[D]. 东华大学,2012.

Research Progress of Alpha Antitrypsin

DU Jing-yang, ZHANG Jun-yao, SHEN He-qian, GAO Han, YIN Jiao,

ZHANG Yu, GUO Xin, LV Wei-zhi, YANG Dong-ying

(School of Nursing and Biomedicine, Dezhou University, Dezhou 253023)

Abstract: Alpha Antitrypsin (AAT) deficiency can cause hepatitis, chronic pulmonary obstruction and other diseases. The main function of AAT is to inhibit a variety of serine endopeptidases, such as thrombin, plasmin, neutrophil elastase, inhibit the activation of polymorphonuclear leukocytes (PMN cells), remove cytotoxic substances, protect tissue cells and help its regeneration and repair. This article reviewed its physicochemical properties, deficiency and antiviral therapeutic effects.

Key words: alpha antitrypsin; AATD; physiological and chemical properties