

血清正五聚蛋白 3 在缺血性脑卒中发生、 发展机制中的研究进展

韩雪 高燕军 赵士娇

【中图分类号】 R743.3 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2018)05-0604-03
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2018.05.030

全球疾病负担(GBD)研究项目表明,全球疾病谱已经发生转变,脑卒中、心血管疾病、糖尿病、癌症及慢性肺病等慢性病成为影响全球人群健康的主要问题^[1]。在我国由于脑血管病一级预防干预仍然与国外存在巨大差距,不良生活习惯、高血压病、糖尿病、肥胖、血脂异常、高同型半胱氨酸血症等使得缺血性脑卒中呈现上升趋势,呈现较高发病率、致残率、病死率和复发率的特征。缺血性脑卒中治疗无特效药物,早期恢复灌注有助于拯救缺血性半暗带区域,但临床上超过 90% 以上的缺血性脑卒中患者未能在发病 4.5 h 内就诊,仅 4% 的急性脑梗死患者接受了溶栓治疗,其中仅 1.6% 接受 rt-PA 进行治疗。长时间脑血流中断和延迟的再灌注损伤可引发缺血性级联反应,包括能量障碍、炎症反应、自由基生成、凋亡基因激活等许多环节。目前研究认为,导致脑损伤的多种发病机制中缺血再灌注损伤及免疫炎症占主导作用,而由缺血引发的脑损伤占次要作用^[2]。越来越多研究证实炎症反应在缺血性脑卒中的发生、发展过程中具关键作用^[3]。根据以往研究已知,炎症标志物 hs-CRP 与脑卒中发病风险及预后关系密切。近年来发现的正五聚蛋白 3 (PTX-3) 与 hs-CRP 同属于正五聚蛋白超家族而备受关注。PTX-3 在动脉粥样硬化、急性冠脉综合征、心力衰竭等疾病中起重要作用,探讨 PTX-3 与缺血性脑卒中的关系文章甚少,本研究现关于 PTX-3 生物学特性及其在缺血性脑卒中发生、发展机制中的研究进展做一综述。

1 PTX-3 的生物学特征

1.1 PTX-3 的结构

正五聚蛋白超家族是 1 个在进化上保守的多功能模式识别蛋白超家族,其家族成员的 C 端由约 200 个氨基酸组成的特殊结构域为特征。根据 N 端区域的长度可分为短正五聚蛋白和长正五聚蛋白,其中超敏反应蛋白 (hs-CRP) 和血清淀粉样蛋白 A (SAA) 属于典型的短正五聚蛋白,而作为长正五聚蛋白的主要成员 PTX-3,因其 N 端具有特异性的结构域而区别于短正五聚蛋白^[4]。PTX-3 基因位于人类第 3 号染色体 q25,含有 3 个外显子,前 2 个外显子分别编码信号肽和蛋白质的 N 端结构域,第 3 个外显子编码 C 端结构域。人类 PTX3 基因近端启动子有许多潜在的增强子结合位点,包括激活蛋白-1 (AP-1),核转录因子 (nf- κ B) 和选择性启动

子因子 1 (SP1)。有研究表明,nf- κ B 结合位点对促炎性细胞因子的反应是必不可少的,而 AP-1 控制 PTX-3 的基本转录。不同的信号通路可以影响 PTX-3 的产生。急性心肌缺血时血管内皮细胞通过 nf- κ B 途径诱导 PTX-3 的表达。同时内皮细胞可通过溶性鞘脂 G 蛋白偶联受体激活蛋白激酶通路 P13K/Akt 途径来阻止炎症反应。根据活化剂不同,PTX-3 可表现为促炎及抗炎双重作用。作为反映心血管系统局部炎症状态的一种新的炎症标志物,PTX-3 的水平反映了局部动脉壁损伤后炎症反应,而非全身性炎症反应,较肝脏产生的 hs-CRP 更敏感、更特异,因此可把它当作一种动脉壁炎症标志物。

1.2 PTX-3 合成

典型的长五聚蛋白的 PTX-3 在 20 世纪 90 年代初被发现,可通过两种途径激活体内固有免疫反应^[5],分别通过识别外源性和自身变异性抗原在人类固有免疫反应中发挥重要作用。正常情况下 PTX-3 以糖基化单体的备用形式储存在中性粒细胞特定颗粒中,在组织损伤或感染等炎症刺激下被激活后 PTX3 释放到细胞外,发挥其组织修复及重构作用。在动脉粥样硬化中、炎症反应或创伤后尤其在心肌梗死及缺血性脑卒中后 PTX3 血浆水平升高达峰值的时间早于 hs-CRP。PTX-3 在促炎因子 IL-1、TNF- α 、Toll 样受体激动剂、微生物等刺激下由直接参与动脉粥样硬化的细胞如血管平滑肌细胞、成纤维细胞、内皮细胞及单核巨噬细胞等产生,并可进一步促进炎症反应^[6]。

2 PTX-3 与动脉粥样硬化及脑卒中的关系

1999 年《新英格兰杂志》撰文“动脉粥样硬化是一种炎症性疾病”^[7],动脉粥样硬化的病理过程中存在渗出、增生、变性等炎症基本特征,过度性炎症反应导致动脉粥样斑块形成。动脉粥样硬化的主要病理特征是胆固醇沉积在动脉内膜层,导致单核细胞/巨噬细胞、中性粒细胞和内皮细胞的激活,这些都能产生与动脉粥样硬化相关的炎症反应,刺激 PTX-3 的释放^[8]。除此之外,氧化低密度脂蛋白会增加 PTX3 mRNA 在血管平滑肌细胞中的表达,最终导致血清 PTX3 水平增高^[9]。故血清 PTX-3 水平反映动脉粥样硬化病变自身部位的局部炎症^[10]。在 Bruneck 的研究中 PTX-3 血清水平不仅与颈动脉内膜中层厚度相关,还与动脉粥样硬化病变的严重程度相关^[11]。研究表明,晚期动脉粥样硬化斑块中中性粒细胞和巨噬细胞中的 PTX-3 表达水平升高^[12],而早期动脉粥样硬化与 PTX-3 水平无明显相关,故

PTX-3 在泡沫细胞内水平高于脂质条纹中水平。根据 Ryu 等^[13] 人研究显示,颈动脉粥样硬化斑块破裂可能性与 PTX-3 水平呈正相关。在冠状动脉相关研究中 PTX3 在不稳定斑块及复杂性斑块中表达增强,在纤维粥样斑区域 PTX-3 水平相对较低。综上所述,PTX-3 不仅与动脉粥样硬化相关,更与斑块不稳定及斑块破裂密切相关。

多因素参与了急性缺血性脑卒中的发生和发展,包括细胞凋亡、氧化应激和炎症等^[14]。急性缺血性脑卒中诱导大量细胞因子的释放,通过上调粘附分子的表达,加重了脑损伤的严重程度。PTX-3 作为一种急性期反应蛋白,可加速炎症介质释放及免疫系统激活,与损伤程度密切相关,因此可以作为评价急性缺血性脑卒中发生、发展的 1 个重要的生物标志物。PTX-3 导致缺血性脑卒中机制包括以下几点:(1) PTX-3 可与成纤维细胞生长因子 2 结合导致血小板的稳定性下降,促进血栓形成。同时与成纤维细胞生长因子 2 结合的 PTX-3 可促进平滑肌细胞的增值和迁移,易形成血栓^[15];(2) PTX-3 可通过抑制促纤维细胞生长因子表达,使得斑块纤维帽变薄,易脱落形成血栓;(3) 组织因子水平与级联凝血密切相关,PTX-3 可促进组织因子在单核细胞及内皮细胞中的表达,进而促进血栓形成^[11];(4) 高水平的 PTX-3 通过上调内皮组织因子表达,增加细胞凋亡,导致体内高凝状态,诱导血栓形成;(5) 对于已经脑梗死的患者,PTX3 高表达可引发炎症介质级联反应,并诱导其他炎症介质释放,导致脑损伤加重^[16]。故推测血清 PTX-3 水平越高,急性缺血性脑卒中患者病情严重程度越重。

3 PTX-3 与脑卒中后神经及血管再生的关系

既往研究表明,炎症与缺血性脑卒中的发病机制密切相关,主要受 IL-1 的调节^[17],阻断 IL-1 诱导的炎症反应具有神经保护作用。近期研究表明,炎症信号可激活小胶质细胞的经典激活(M1)和选择激活(M2)两种表型^[18]。M1 型小胶质细胞可被促炎细胞因子激活,诱发转录,激活核因子- κ B,从而产生 IL-1、TNF、MCP-1、MMPs-9 等促炎细胞因子,导致脑损伤程度加重,而 M2 型小神经胶质细胞可分泌如 IL-4、TGF 和 IDGF-1 等抗炎介质,促进组织修复及伤口愈合,在炎症晚期发挥脑保护作用^[19]。缺血性脑卒中后活化的小胶质细胞首先以 M1 型介导的炎症反应开始,加重脑损伤;病情进展到某一阶段 M1 型可转化为 M2 型,通过释放 VEGF 并促进组织修复而限制促炎信号的产生。故缺血性脑卒中急性期促炎性因子刺激导致的小胶质细胞活化可导致显著的神经损伤,使得缺血性脑卒中患者预后不良,但晚期炎症反应可启动并维持包括神经和血管再生在内的关键脑修复机制。脑卒中后的血管再生主要发生在缺血中心周围的半暗带区域,并与脑卒中后神经再生密切相关,因为神经前体细胞沿血管生成区域分化和迁移^[20]。根据既往研究已知,PTX-3 已被证明参与脑卒中后水肿消退和胶质瘢痕形成^[21],同时根据 Beatriz 等人的研究所观察到在脑缺血事件后 6 d,PTX-3 以神经再生的形式促进修复,尤其是在海马。该研究还提出,PTX-3 可以诱导神经干细胞和祖细胞(NSPC)的增殖,提示 PTX-3 是一种直接内源性神经源性介

质,而 PTX-3 的神经源性作用在 IL-1 β 基因敲除后中被消除。故 IL-1 可以促进神经再生,而 PTX-3 可能参与神经再生这一过程。

在外周组织中 PTX-3 被认为是抗血管生成因子^[22]。但根据 Beatriz 等人显示 PTX-3 对脑血管内皮细胞有促血管再生作用,提示 PTX-3 在脑损伤后的作用可能与外周组织有所不同。研究表明,中枢和外周组织中 PTX-3 的表达受到不同的调控^[21]。目前认为 PTX-3 有利于脑卒中后血管再生,缺乏 PTX-3 减少再灌注区毛细血管的数量,并导致脑缺血患者预后不良。PTX-3 在脑缺血后的作用可能有助于血管的全面修复并间接促进血管生成^[21],从而抑制 PTX-3 的抗血管生成作用。Baldini 和同事们发现有动脉炎症患者的 PTX-3 和血管内皮生长因子(VEGF)的水平均升高,同时观察到 PTX-3 基因敲除的小鼠血管中血管内皮生长因子受体 2(VEGFR2)水平较低。VEGF 是由脑缺血后由星形胶质细胞所产生并可结合内皮细胞中的 VEGFR2,进而促进血管再生。因此,低水平的 VEGFR2 可以反映较低的水平 VEGF。在敲除 PTX-3 基因的小鼠血管再生数量减少可以进一步说明这两个进程相互关联。免疫炎症反应在缺血性脑卒中中的作用已受到广泛的关注,而炎症反应所发挥的脑损伤或脑保护作用取决于缺血的阶段及严重程度,区分早期炎症反应加重脑损伤作用以及晚期炎症反应的促进神经功能的恢复和组织的修复作用,是选择适当抗炎治疗时机所必需的。综上所述,PTX-3 能调节脑卒中后神经和血管再生,对脑卒中的功能性修复起关键作用^[23],可能成为治疗脑卒中的新靶点。

4 PTX-3 与卒中后血脑屏障稳定性的关系

血脑屏障是体内选择性最高、控制最严格的生物屏障,星形胶质细胞通过突起的终足紧密包裹大脑微血管管壁外侧,同时可与血管内皮细胞相互作用,进而可调节脑部血流、血管舒张程度,并维持脑组织内水容量的稳定^[24]。既往研究表明,在脑损伤后星形胶质细胞分泌血管内皮生长因子,导致血脑屏障破坏^[25]。然而,最近的研究提出在缺血性脑卒中后反应性星形胶质细胞释放的 PTX-3 保护血脑屏障在缺血条件下的完整性^[26]。有关研究表明,脑缺血时炎症反应早期血管内皮生长因子通过下调封闭蛋白 5 和闭锁蛋白 mRNA 和蛋白质的表达水平来破坏血脑屏障的稳定性,而封闭蛋白 5 和闭锁蛋白是血脑屏障的重要组成部分^[27]。最近的研究显示,脑缺血后在炎症因子(IL-1 α/β)刺激下神经元和胶质细胞可产生 PTX-3^[21]。这些炎症刺激下产生的 PTX-3 可能具有保护作用,探究其机制可能为急性脑梗死后在脑梗死坏死灶周围反应性星形胶质细胞产生大量 PTX-3 增加了脑内皮细胞紧密连接蛋白的表达水平,维持血脑屏障完整性。故产生的 PTX3 抵消了血管内皮细胞生长因子(VEGF)对血脑屏障的消极影响;同时 PTX-3 在一定程度上表现出对 VEGF 的亲中性,这一结果也支持 PTX3 与 VEGF 相互作用并维持脑卒中急性期的血脑屏障完整性这一观点。PTX-3 是反应性星形胶质细胞维持缺血性脑卒中后血脑屏障稳定性的的重要介质,这揭示了星形胶质细胞

在病理条件下 1 个新的角色,星形胶质细胞产生的 PTX-3 可能是急性缺血性脑卒中 1 个有效的治疗靶点。

5 结束语

目前人们虽然对 PTX-3 的分子结构及心脑血管疾病的关系有了一定了解,作为新近发现的炎症标志物,相比于 hs-CRP 等非特异性标记物,PTX-3 更能反映局部血管炎症状态。PTX-3 作为促进炎症和抗炎之间的刺激物,可通过平衡促炎性、促动脉粥样硬化的级联反应而发挥作用,PTX-3 在缺血性脑卒中中发生、发展机制中的作用仍需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Roth GA, Forouzanfar MH, Moran A, et al. Demographic and epidemiologic drivers of global cardiovascular mortality[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(14): 1333-1341.
- [2] Tobin MK, Bonds JA, Minshall RD, et al. Neurogenesis and inflammation after ischemic stroke: what is known and where we go from here[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2014, 34(10): 1573-1584.
- [3] Shichita T. Molecular and cellular mechanisms underlying the sterile inflammation after ischemic stroke [J]. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2018, 1(151): 9-14.
- [4] Akgul O, Baycan OF, Bulut U, et al. Long-term prognostic value of elevated pentraxin 3 in patients undergoing primary angioplasty for ST-elevation myocardial infarction[J]. *Coron Artery Dis*, 2015, 26(7): 592-597.
- [5] Guo R, Li YM, Wen J, et al. Elevated plasma level of pentraxin-3 predicts In-Hospital and 30-Day clinical outcomes in patients with Non-ST-Segment elevation myocardial infarction who have undergone percutaneous coronary intervention[J]. *Cardiology*, 2014, 129(3): 178-188.
- [6] Ketter P, Yu JJ, Cap AP, et al. Pentraxin 3: an immune modulator of infection and useful marker for disease severity assessment in sepsis[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2016, 12(5): 501-507.
- [7] Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease[J]. *N Engl J Med*, 1999, 340(2): 115-126.
- [8] Violi F, Pastori D. Pentraxin3-A Link between obesity, inflammation and vascular disease? [J]. *Circ J*, 2016, 80(2): 327-328.
- [9] Tomandlova M, Jarkovsky J, Tomandl J, et al. Prognostic value of pentraxin-3 level in patients with STEMI and its relationship with heart failure and markers of oxidative stress [J]. *Dis Markers*, 2015, 2015(2): 1-11.
- [10] Tazaki R, Tanigawa J, Fujisaka T, et al. Plasma pentraxin3 level is associated with plaque vulnerability assessed by optical coherence tomography in patients with coronary artery disease [J]. *Int Heart J*, 2016, 57(1): 18-24.
- [11] Nerkiz P, Doganer YC, Aydogan U, et al. Serum pentraxin-3 level in patients who underwent coronary angiography and relationship with coronary atherosclerosis[J]. *Medical Principles and Practice*, 2015, 24(4): 369-375.
- [12] Casula M1, Montecucco F2, Bonaventura A, et al. Update on the role of Pentraxin 3 in atherosclerosis and cardiovascular diseases[J]. *Vascul Pharmacol*, 2017, 12(99): 1-12.
- [13] Ryu WS, Kim CK, Kim BJ, et al. Pentraxin 3: a novel and Independent prognostic marker in ischemic stroke[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 220(2): 581-586.
- [14] Wang WM, Liu Z, Liu AJ, et al. The Zinc ion chelating agent TPEN attenuates neuronal death/apoptosis caused by hypoxia/ischemia via mediating the pathophysiological cascade including excitotoxicity, oxidative stress, and inflammation [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21(9): 708-717.
- [15] Fornai F, Carrizzo A, Forte M, et al. The inflammatory protein Pentraxin 3 in cardiovascular disease[J]. *Immunity & Ageing*, 2016, 13(1): 25.
- [16] 李巧思, 毕国荣. 正五聚蛋白 3 与脑缺血[J]. *国际脑血管病杂志*, 2016, 24(5): 469-472.
- [17] Iadecola C, Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation[J]. *Nat Med*, 2011, 17(7): 796-808.
- [18] Chawla A. Control of macrophage activation and function by PPARs[J]. *Circ Res*, 2010, 106(10): 1559-1569.
- [19] lee Y, lee SR, Choi SS, et al. Therapeutically targeting neuroinflammation and microglia after acute ischemic stroke[J]. *BioMed Research International*, 2014, 2014(1): 297241.
- [20] Ohab JJ, Carmichael ST. Poststroke neurogenesis: emerging principles of migration and localization of immature neurons [J]. *Neuroscientist*, 2008, 14(4): 369-380.
- [21] Rodriguez-Grande B, Swana M, Nguyen LA, et al. The acute-phase protein PTX3 is an essential mediator of glial scar formation and resolution of brain edema after ischemic injury[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2014, 34(3): 480-488.
- [22] Leali D, Inforzato A, Ronca R, et al. Long pentraxin 3/tumor necrosis factor-stimulated gene-6 interaction [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(3): 696-703.
- [23] Rodriguez-Grande B, Varghese L, Molina-Holgado F, et al. Pentraxin 3 mediates neurogenesis and angiogenesis after cerebral ischaemia[J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12(6): 15.
- [24] Keaney J, Campbell M. The dynamic blood-brain barrier [J]. *FEBS J*, 2015, 282(21): 4067-4079.
- [25] Argaw AT, Asp L, Zhang J, et al. Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(7): 2454-2468.
- [26] Chen YJ, Zhang Y, Tang JJ, et al. Norrin protected Blood-Brain barrier via frizzled-4/beta-Catenin pathway after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *Stroke*, 2015, 46(2): 529-536.
- [27] Argaw AT, Gurfein BT, Zhang Y, et al. VEGF-mediated disruption of endothelial CLN-5 promotes blood-brain barrier breakdown[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(6): 1977-1982.

(2018-03-04 收稿)