· 综　　述 ·

αA 晶状体蛋白的功能及其在相关眼部疾病中的作用

徐琼　综述　赵明威　黎晓新　审校

北京大学人民医院　视网膜脉络膜疾病诊治研究北京市重点实验室　北京大学医学部眼视光学院　北京大学人民医院眼视光中心 100044

通信作者：赵明威，Email：dr_zhaomingwei@163.com

【摘要】　αA 晶状体蛋白是晶状体中重要的蛋白成分，具有分子伴侣活性，可调控凋亡、新生血管形成、氧化还原过程及炎症反应，其功能已成为研究热点之一。现在越来越多的研究证实，αA 晶状体蛋白不仅存在于晶状体中，也存在于视网膜等其他眼内结构中，不仅可维持内环境的稳定，还在各类眼部疾病，如视神经损伤类疾病、视网膜变性类疾病、眼肿瘤、炎症类疾病和视网膜脉络膜血管类疾病等中表现出相应的变化。本文就 αA 晶状体蛋白的分布、基本结构、功能及其在眼部疾病中的作用进行综述。

【关键词】　αA 晶状体蛋白；眼科疾病；功能；分布；结构

基金项目：国家自然科学基金项目（81470651，81770943）

DOI：10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.02.015

The function of αA-crytstallin and effects in ocular diseases

Xu Qiong, Zhao Mingwei, Li Xiaoxin

Peking University People's Hospital, Beijing Key Laboratory of Diagnosis and Therapy of Retinal and Choroid Diseases, College of Optometry, Peking University Health Science Center, Center of Optometry, Department of Ophthalmology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Corresponding author: Zhao Mingwei, Email: dr_zhaomingwei@163.com

[**Abstract**]　αA-crystallin is an important protein in lens, with molecular chaperone founction, apoptosis regulation effect, neovascularization regulation, oxidation-reduction reaction process regulation and inflammation reaction regulation. Now, more and more studies have verified that αA-crystallin exists not only in lens, but also in other intraocular structures, such as retina. αA-crystallin can not only maintain the internal environment homeostasis, but also participate in many other eye diseases, such as optic nerve injury diseases, retinal degeneration, ocular neoplasmas, inflammatory diseases and retinal choroidal vascular diseases. This article reviewed the distribution, structure and founction of αA-crystallin and its effects in ocular diseases.

[**Key words**]　αA-crystallin; Ocular diseases; Function; Distribution; Structure

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81470651, 81770943)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.02.015

αA晶状体蛋白是晶状体中重要的蛋白质成分，近年来研究表明其具有很多特性，包括维持晶状体的结构和屈光性、分子伴侣活性、自激酶活性、磷酸化丝氨酸残基-19、45、59 模式，并可通过抑制细胞凋亡蛋白酶前体-3 的活化发挥抗凋亡作用等。αA 晶状体蛋白在氧化应激时能够帮助细胞必需蛋白质构象的维持，在蛋白质聚集折叠、跨膜转运、移位、细胞骨架稳定等方面发挥重要功能[1-2]。αA 晶状体蛋白分子活性的下降可导致其他功能蛋白的凝聚和酶的失活，进而导致多种眼部疾病发生和发展。本文就近年来 αA 晶状体蛋白的分布、基本结构、功能及其在眼部疾病中的作用进行综述。

1　αA 晶状体蛋白的分布

既往研究认为 αA 晶状体蛋白主要存在于晶状体中，在脾脏和胸腺中有微量表达，αB 晶状体蛋白在全身各组织中均有表达[3]。近来研究发现 αA 晶状体蛋白在视网膜中也有分布，Xi 等[4]发现小鼠视网膜中有 20 种晶状体蛋白的表达，其中以 αA 晶状体蛋白和 αB 晶状体蛋白为主，前者的含量是后者的 15～30 倍。αA 晶状体蛋白主要分布在视网膜内、外核层及视网膜神经节细胞（retinal ganglion cells，RGCs）的细胞核，但在内核层主要位于细胞膜和部分细胞骨架结构，在外核层多位于细胞核膜[2]。虽然 αA 晶状体蛋白以可溶性蛋白形式存在，但其在氧化应激状态下也能与线粒体、内质网等细胞器相结合，并发生翻译后修饰，与相应细胞因子或信号蛋白结合，调控细胞状态。αA 晶状体蛋白分布在不同部位可能发挥不同的作用，但目前具体的对应关系尚有待进一步研究证实。

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

目前已明确视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞的细胞膜、细胞质及细胞核中均有 αA 晶状体蛋白的表达,αA 晶状体蛋白对 RPE 细胞各种生物活性的调控也逐渐明确[5]。人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVECs)中 αA 晶状体蛋白的表达及功能有待深入研究。

2　晶状体蛋白的基本结构

晶状体是人体内蛋白质含量最高的组织,晶状体蛋白是晶状体上皮细胞的主要成分,约占晶状体中水溶性蛋白的 90%,依据其在电场中的迁移能力可分为 α、β、γ 晶状体蛋白,其中 α 晶状体蛋白含量最多,约占 40%。α 晶状体蛋白由 2 条基因编码,即 αA 和 αB 晶状体蛋白基因,而 α 晶状体蛋白也是由 A 和 B 亚单位以 3∶1的方式组成的四聚体,发挥其生物学作用。αA 晶状体蛋白基因位于人类第 21 号染色体,编码 173 个氨基酸残基的多肽;αB 晶状体蛋白基因位于人类第 11 号染色体,编码 175 个氨基酸残基的多肽,两者之间有 57% 的氨基酸序列同源,相对分子质量约为20 000[6]。在哺乳动物晶状体中,αA 与 αB 晶状体蛋白的浓度比为 3∶1[2]。

3　αA 晶状体蛋白的主要功能

3.1　αA 晶状体蛋白的分子伴侣功能

近年来,αA 晶状体蛋白的功能已成为研究热点之一。目前研究结果显示,αA 晶状体蛋白是小分子热休克蛋白(small heat shock proteins, sHSPs)的主要成员之一,它拥有由 80 个氨基酸组成的所有 sHSPs 超家族成员的共同结构域,具有分子伴侣功能。Horwitz 等[7]研究证实,αA 晶状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而改变或修饰其他蛋白质,进而影响或调节其他功能性蛋白质。Horwitz 等[7]首先报道了 αA 晶状体蛋白能防止热应激导致的晶状体内的蛋白质和酶的聚集。其他研究还发现,αA 晶状体蛋白对各种变性具有抑制作用,包括加热、紫外线和化学处理造成的蛋白质非特异性凝聚,对糖基化诱导的重要代谢和抗氧化酶的失活具有保护作用[2]。

作为晶状体的重要组成蛋白,αA 晶状体蛋白在晶状体内发挥不可或缺的作用,如参与屈光指数形成;与晶状体内错误折叠或变性的蛋白质结合,阻止非特异性聚集,维持晶状体的透明性;在应激状态下与骨架蛋白结合,防止发生可能的损伤,从而稳定细胞骨架网络系统,支持细胞骨架在维持细胞形态、信号传导、提供细胞内物质反应和贮存场所等方面的功能[8]。当晶状体内的 αA 晶状体蛋白分子伴侣活性受到氧化损伤、紫外线照射和糖基化等化学性修饰的严重影响时,分子伴侣的保护作用随之消失,造成晶状体代谢酶对各种损伤的易感性增加,导致晶状体代谢障碍[2]。

αA 晶状体蛋白不仅存在于晶状体中,越来越多的研究发现其也存在于眼内其他结构中,而且当 αA 晶状体蛋白发生基因突变或翻译后修饰时其伴侣功能降低,从而参与多种眼部疾病的发生。αA 晶状体蛋白可与 RGCs 的细胞膜结合,促进 RGCs 的存活和轴突的再生,部分地改善视神经损伤后视功能[9]。体外实验证实,晶状体蛋白可以维护血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等视网膜功能蛋白在应激状态下的结构稳定性[10],并通过 AKT 通路、RAF/MEK/ERK 或 P53 等途径抑制细胞凋亡[11]。

αA 晶状体蛋白与 z 线相关的结蛋白、肌联蛋白、肌动蛋白、微管蛋白等骨架蛋白之间存在共定位和相互作用,其他各类晶状体蛋白也是 αA 晶状体蛋白的靶蛋白之一,一些看家酶也是 αA 晶状体蛋白的重要伴侣[8]。目前 αA 晶状体蛋白结构尚不明确,能够确定的是 αA 晶状体蛋白由 1 个保守晶状结构域及两端的可变 N-末端结构域和 C-末端结合存在。Schaefer 等[13]证明 αA 晶状体蛋白在体内具有 Ser-20、Ser-59、Ser-62、Ser-66、Ser-81、Ser-86、Ser-148、Ser-155 和 Ser-173 等 9 个 N-末端结合位点。每个结构域具有分子伴侣功能,并且可以根据 N-末端的氧化、磷酸化、脱酰胺化、乙酰化和断裂等翻译后修饰发挥不同的生理作用[14-15]。αA 晶状体蛋白能与多种信号分子,例如其他亚类晶状体蛋白、凋亡蛋白、细胞骨架蛋白、炎性因子、血管生成和生长因子结合[5],经过修饰产生协同或拮抗效应,如有效折叠新翻译的蛋白[16]、亚细胞内的转运蛋白[16]、抗细胞凋亡[17]、抑制炎症[18]、保护神经[5]、调节血管生成[19]、与细胞因子结合、影响细胞信号转导[20]等。

如果希望通过药物结合具体位点来调控 αA 晶状体蛋白的作用,需进一步研究磷酸化与分子伴侣功能间的紧密联系以及生物学特性。

3.2　αA 晶状体蛋白对细胞凋亡的调控作用

αA 晶状体蛋白基因敲减(*CRYAA*$^{-/-}$)小鼠受到氧化应激或光损伤后细胞易发生凋亡。目前研究结果显示,αA 晶状体蛋白主要与 caspase-3、caspase-6、bax、bcl、PAR-2、MrsA 等蛋白结合,调控凋亡程序的启动[21],而 αB 晶状体蛋白可以通过分子伴侣介导的自噬反应诱导 2 型程序性细胞死亡[22]。αA 晶状体蛋白是否具有这种介导自噬反应的功能,有待进一步研究。

3.3　αA 晶状体蛋白对眼部新生血管形成的促进作用

αB 晶状体蛋白可以与 VEGF 结合,促进视网膜新生血管生成[23],并抑制 VEGF 的降解[24],推测 αB 可能成为 VEGF 类的治疗靶点。研究发现,αA 晶状体蛋白通过调控可溶性 VEGF 受体-1(soluble vascular endothelial growth factor receptor 1, sVEGFR-1)参与角膜新生血管生成的调节[25]。研究表明,*CRYAA* 基因敲除不仅在细胞分子水平抑制新生血管生成,也在小鼠氧诱导视网膜病变(oxygen induced retinopathy, OIR)及激光诱导脉络膜新生血管模型中抑制视网膜脉络膜新生血管形成[26]。

3.4　αA 晶状体蛋白对氧化还原反应平衡的调控作用

αA 晶状体蛋白在维持氧化还原反应的平衡方面具有重要作用。研究发现,αA 晶状体蛋白与 Cu^{2+} 结合能够调控其分子伴侣活性[27]。随着 αA 晶状体蛋白与金属离子间相互作用研究的不断深入,可能找寻出视网膜退行性疾病及神经病变新的治疗靶点。

3.5　αA 晶状体蛋白调控炎症反应

目前的研究认为,αB 晶状体蛋白能够与 VEGF、HSP27、核

中華醫學會雜誌社 版权所有 违者必究　Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)等泛素-蛋白酶系统相互作用,参与调控炎症反应过程的调控。研究发现,αA 晶状体蛋白也参与炎症过程,主要通过 Toll 受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)-NF-κB 途径调控炎症反应[28],外源性 αA 晶状体蛋白对炎性因子的产生究竟是促进作用还是抑制作用尚有待进一步研究。研究发现,αA 晶状体蛋白处理后可使树突状细胞白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)分泌增多,IL-10 分泌减少[29]。未来有望研发出特异性针对 αA 晶状体蛋白的新型药物以对相关疾病进行靶向治疗。

αA 晶状体蛋白通过对正常和应激条件下蛋白质的质量控制及动态平衡进行调控,其遗传和生物化学研究已经揭示其能够在神经退行性疾病、癌症、炎症和新生血管类疾病中发挥作用,这预示着 αA 晶状体蛋白也许能够成为今后治疗的新靶点。

4　αA 晶状体蛋白在晶状体外的其他眼部疾病中的作用

研究表明,晶状体蛋白不仅在维持眼内环境的稳定,而且在多种眼部疾病的发病过程中表现出相应的变化。目前研究证实,在年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)、视网膜母细胞瘤(retinoblatoma, Rb)及先天性黑矇等疾病中,αA 晶状体蛋白均表达升高[30-33],但 αA 晶状体蛋白参与这些疾病的机制尚有待进一步研究。

4.1　视神经损伤性疾病中 αA 晶状体蛋白的视神经保护作用

视神经损伤后再生治疗一直是眼科的难题,迄今仍缺乏有效的治疗方法,各种眼外伤、青光眼等疾病视神经损伤后对 RGCs 存活的保护和促进其轴突的再生成为研究热点。Shao 等[34]研究发现,在视神经损伤模型的大鼠玻璃体腔注射 αA 晶状体蛋白可促进 RGCs 再生。

Chiu 等[35]在 RGCs 中检测出内源性 αA 晶状体蛋白的表达。在高眼压诱导视神经损伤鼠模型中,αA 晶状体蛋白主要集中表达在 RGCs 上,在内外核层中仅少量表达,且较正常组织表达下降,其表达受眼压变化的影响。在使用保护神经的药物后,存活 RGCs 中晶状体蛋白的表达上调。αA 晶状体蛋白对 RGCs 的保护机制可能包括以下几方面:(1)αA 晶状体蛋白可一定程度上清除自由基及阻断脂质过氧化,保护细胞膜免受损伤[36];(2)通过上调部分抗氧化酶的活性和/或减少抗氧化酶的消耗,增强细胞的修复能力[36];(3)调节钙离子内流调节蛋白的表达及功能,减轻 RGCs 损伤后钙离子超载及其所致的细胞损伤,稳定细胞内外钙离子平衡[36];(4)减轻视神经损伤后的视网膜胶质细胞活化,抑制胶质细胞活化引发的肿瘤坏死因子和诱导型一氧化氮合成酶的表达上调[37]。

因此,αA 晶状体蛋白可提高 RGCs 的存活率,但多数研究是针对 αA 与 αB 晶状体蛋白的共同作用,具体 αA 晶状体蛋白在其中发挥的作用及其机制仍有待进一步研究。

4.2　视网膜变性类疾病中 αA 晶状体蛋白的细胞保护作用

视网膜变性类疾病主要表现为光感受器或 RPE 细胞的变性和凋亡,主要包括 AMD、视网膜色素变性、视网膜劈裂症和遗传性黄斑营养不良等。

AMD 是临床上导致不可逆盲的主要疾病之一,临床及病理学研究显示早期 AMD 患者可见 Bruch 膜上大小不等的玻璃膜疣。关于晶状体蛋白在黄斑变性眼视网膜中分布的研究证实,Bruch 膜、玻璃膜疣、脉络膜组织以及 RPE 细胞中,晶状体蛋白均较正常对照组明显升高[30]。Alge 等[38]研究发现,在 RPE 细胞受到热休克或氧介导的损伤时晶状体蛋白的表达升高,这可能是防止细胞凋亡的组织应激反应促使晶状体蛋白表达上调,从而抑制蛋白受损并阻止蛋白的聚集。应激损伤越大,αA 晶状体蛋白在玻璃膜疣或 RPE 中的积聚越多,提示 AMD 的风险越大。

RCS 大鼠是视网膜色素变性的经典动物模型,其视网膜蛋白分析结果显示,αA 晶状体蛋白和视紫红激酶表达明显减少,这两者可能通过影响视紫红质合成而影响光感受器代谢,参与视网膜变性的过程[39]。Yaung 等[40]研究发现,αA 晶状体蛋白基因敲除小鼠的 RPE 细胞对缺氧的耐受能力明显下降,化学缺氧造模状态下,αA 晶状体蛋白基因敲除小鼠视网膜变性的程度也明显加重。因此,现有研究结果显示应激状态下,视网膜可通过上调晶状体蛋白表达以保护细胞;另一方面,晶状体蛋白的缺失可能会导致视网膜细胞对外界损伤的耐受力下降,从而加快变性类疾病的发展。

4.3　眼肿瘤类疾病中 αA 晶状体蛋白的促进作用

目前针对 αA 晶状体蛋白与肿瘤相关性的研究相对较少。在 Rb 肿瘤细胞质中有 αA 晶状体蛋白表达[32]。在眼睑皮肤腺癌中,αA 晶状体蛋白呈高表达[41]。研究认为 αA 晶状体蛋白能够抑制肿瘤细胞凋亡,从而促进肿瘤形成。此外,研究者发现在肿瘤血管发生过程中 αA 晶状体蛋白表达异常,推测其可能参与血管的塑形[42]。

αA 晶状体蛋白能调控肿瘤的进展,在不同组织中对机体的调控作用机制不一,因此在不同疾病中可能通过不同的功能位点发挥不同的作用。相关研究报道,αA 晶状体蛋白主要通过与 caspase-6、caspase-3 结合,并与促凋亡因子 bax 及抑凋亡因子 bcl-2 结合,抑制细胞凋亡[21]。αA 晶状体蛋白还能够调控 Akt 激酶,增强 MDM2 的磷酸化,使 p53 的稳定性下降,从而抑制细胞凋亡[42],提示 αA 晶状体蛋白可能通过抑制凋亡而间接促进肿瘤发展。但在人和鼠的胰腺肿瘤中,αA 晶状体蛋白表达下降,通过调控 ERK、MAP 激酶以及 AP-1 的表达和活性改变细胞的转化和迁移,从而抑制肿瘤的发生和发展[43]。深入研究 αA 晶状体蛋白的特异功能机制有助于未来找到特异的靶向药物以调控 αA 晶状体蛋白的功能。

4.4　αA 晶状体蛋白对炎症的抑制作用

炎症反应是机体对各种损伤因素,包括感染、创伤、烧伤、缺氧和再灌注引起的全身反应。研究证实,在缺血-再灌注损伤眼玻璃体内 αB 晶状体蛋白的磷酸化能够抑制缺血-再灌注损伤引起的缺氧和氧化应激[44]。αA 晶状体通过抑制 RPE 细胞中谷胱甘肽的外排而促进 RPE 的抗氧化应激能力[45]。在具有神经退行性疾病及白内障眼,αA 晶状体蛋白与 Cu^{2+} 特异性结合,通过氧化还原反应沉默 Cu^{2+},抑制氧化损伤[27]。在自身

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

免疫性葡萄膜炎动物模型中,各类炎性因子通过上调 αA 晶状体蛋白的表达而防止感光细胞线粒体氧化应激介导的细胞凋亡[46]。在糖尿病鼠中,αA 晶状体蛋白表达显著增加。研究认为,αA 晶状体蛋白因 DR 的氧化损伤而代偿性表达升高,从而抑制炎症反应[31]。研究发现,交感性眼炎视网膜中 αA 晶状体蛋白表达量显著升高,考虑 αA 晶状体蛋白对眼内炎症相关的细胞凋亡具有抑制作用[47]。

目前,αA 晶状体蛋白具体通过何种机制参与炎症反应调控尚未明了。αA 晶状体蛋白通过分子伴侣作用与各类信号分子结合,调控其功能,改变细胞生物活性,但其中的确切关系仍有待深入探讨。

4.5　视网膜脉络膜血管性疾病中 αA 晶状体蛋白的双向调控作用

视网膜血管性疾病是以视网膜血管改变为主要病理变化的一类疾病,主要包括 DR、视网膜静脉阻塞、视网膜动脉阻塞、视网膜血管炎、高血压动脉硬化性视网膜病变、眼缺血综合征、早产儿视网膜病变、脉络膜新生血管性疾病、Coats 病、家族性玻璃体视网膜病变和放射性视网膜病变等。

不同病因导致的糖尿病模型动物视网膜中各种晶状体蛋白表达呈不同程度升高[31]。研究发现,药物性糖尿病小鼠和遗传性糖尿病小鼠的视网膜中 αA 晶状体蛋白的表达均明显升高,并伴有视网膜细胞死亡和凋亡蛋白 bax、bcl-xs 表达升高。Kase 等[48]研究发现,DR 患者视网膜中 αA 晶状体蛋白表达升高。Ruebsam 等[31]用糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGE)处理动物模型以模拟糖尿病损伤,发现 αA 晶状体蛋白表达明显升高,αB 晶状体蛋白的表达变化很小,推测可能是 αA 晶状体蛋白对 AGE 引起的视网膜损伤发挥保护作用。长期和持久的糖基化作用可使 αA 晶状体蛋白分子伴侣活性下降 50% ~100%。糖尿病通过糖基化作用降低 αA 晶状体蛋白的溶解度、破坏 αA 晶状体蛋白与 bax 的正常相互作用,明显抑制 αA 晶状体蛋白的伴侣功能,减弱了其对神经的保护作用[31]。

αB 晶状体蛋白在氧诱导的视网膜病变(oxygen induced retinopathy, OIR)和激光诱导脉络膜新生血管(choroidal neovescularization, CNV)模型中参与 VEGF-A 信号分子的调控,用编码 αB 蛋白的基因敲除小鼠制作的 OIR 模型和激光诱导 CNV 模型均可发现新生血管芽生成减少和渗漏减轻,缺氧诱导因子 1α 表达未见明显变化,在促 VEGFA 分泌因素一致的情况下,VEGFA 蛋白的表达在基因敲除鼠有明显减弱,αB 晶状体蛋白 RNA 含量未见明显改变,推测在 αB 晶状体蛋白缺失的状态下,VEGFA 的翻译后修饰受到影响,改变了其最终表达量。该研究通过免疫共沉淀方法证实,αB 晶状体蛋白与 VEGFA 在内质网中直接结合,确保 VEGFA 正确的组装,αB 晶状体蛋白缺失时无法对 VEGFA 发挥分子伴侣作用,影响 VEGFA 的最终分泌及后续病理生理过程[21]。相关研究也发现,αA 晶状体蛋白也通过调控 sVEGFR-1 参与角膜新生血管形成的调节[30-31]。在角膜新生血管动物模型中添加外源性 αA 晶状体蛋白能有效增加 sVEGFR-1 的表达量,抑制角膜新生血管形成,推测 αA 晶状体蛋白通过分子伴侣功能影响 sVEGFR-1 的表达[25]。αA 晶状体蛋白在视网膜脉络膜血管形成中也同样发挥调控作用[27]。*CRYAA* 基因敲除 HUVECs 内及小鼠 OIR、CNV 模型中 VEGFR2、AKT、PLCγ1、FAK、Src、p42/p44MAPK 及 p38MAPK 的磷酸化水平明显降低,而 VEGFR2、AKT、PLCγ1、FAK、Src、p42/p44MAPK 及 p38MAPK 总蛋白表达量无明显变化。CRYAA 不仅参与 VEGF 的协同调控作用,可能还通过调控 VEGFR2、AKT、PLCγ1、FAK、Src、p42/p44MAPK 及 p38MAPK 的磷酸活化过程参与 VEGFR2 的促血管生成信号通路。编码 αA 晶状体蛋白基因敲除后细胞凋亡蛋白 caspase-9 及 caspase-3 的活化水平升高,细胞凋亡率升高。细胞凋亡增加不利于维持血管内皮细胞的内稳态,血管生成也受到一定程度抑制。

αA 晶状体蛋白在视网膜脉络膜血管性疾病中具有双刃剑作用,在特定疾病阶段可以保护视网膜免受损伤,在另一疾病阶段,也可促进视网膜脉络膜新生血管形成,从而加重疾病进展。

5　αA 晶状体蛋白在相关研究中的进展

5.1　相关动物模型研究

早在 1997 年研究 αA 晶状体蛋白在体内环境下的功能即已建立了 *CRYAA* 基因敲除的动物模型,*CRYAA*$^{(-/-)}$小鼠晶状体体积较同龄野生型小鼠小 40%,而且在生后 7 周即发展为白内障,野生型小鼠则直到 18 周才出现白内障。此外,*CRYAA* 基因敲减后小鼠易发生氧化应激及炎症损伤引发的细胞凋亡。自身免疫性葡萄膜炎、视网膜色素变性、高眼压动物模型及新生血管视网膜病动物模型也已建立,发现这些病理状态会代偿性引起 αA 晶状体蛋白的相应变化,从另一个侧面证实 αA 晶状体蛋白参与这类疾病的发生。

在本课题组既往研究中发现,与同龄野生型小鼠相比,*CRYAA*$^{(-/-)}$小鼠 OIR 与激光诱导 CNV 模型中新生血管形成受到抑制,说明 αA 晶状体蛋白在新生血管形成中具有促进作用[26]。

5.2　αA 晶状体蛋白作为潜在的特异药物靶点的相关研究

Ueda 等[49]报道成纤维生长因子能够促进 αA 晶状体蛋白基因启动子的功能,而转化生长因子则抑制 αA 晶状体蛋白启动子,从而改变 αA 晶状体蛋白的分子伴侣作用,提示可以通过特定靶点来调控 αA 晶状体蛋白的特定功能。

上述诸多研究显示,αA 晶状体蛋白通过特异性的作用机制调控各类疾病的发生和发展,未来若能明确 αA 晶状体蛋白参与各类疾病调控的特异位点或特异机制,将能研发特定靶向药物调控 αA 晶状体蛋白的功能,从而达到防治疾病的目的。

6　小结

综上所述,αA 晶状体蛋白存在于视网膜组织中,在各种病理过程的应激条件下发生相应变化,通过抑制细胞凋亡、稳定细胞骨架、保护血管完整性等机制维护视网膜结构的完整及正常的生理功能。深入研究 αA 晶状体蛋白在视网膜脉络膜病理状态下的作用,尤其是在发挥神经保护及维持血管完整性方面的相关机制和特异调控途径,将为视网膜病变的防治提供新的研究方向。

中華醫學會雜誌社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究　Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

参考文献

[1] Brady JP, Garland DL, Green DE, et al. AlphaB-crystallin in lens development and muscle integrity: a gene knockout approach[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42(12): 2924-2934.

[2] Augusteyn RC. alpha-crystallin: a review of its structure and function [J]. Clin Exp Optom, 2004, 87(6): 356-366.

[3] Kato K, Shinohara H, Kurobe N, et al. Immunoreactive alpha A crystallin in rat non-lenticular tissues detected with a sensitive immunoassay method [J]. Biochim Biophys Acta, 1991, 1080(2): 173-180.

[4] Xi J, Farjo R, Yoshida S, et al. A comprehensive analysis of the expression of crystallins in mouse retina [J]. Mol Vis, 2003, 9: 410-419.

[5] Andley UP. Crystallins in the eye: Function and pathology [J]. Prog Retin Eye Res, 2007, 26(1): 78-98. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2006.10.003.

[6] Ryazantsev SN, Poliansky NB, Chebotareva NA, et al. 3D structure of the native α-crystallin from bovine eye lens[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 117: 1289-1298. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.06.004.

[7] Horwitz J. Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992, 89(21): 10449-10453.

[8] Posner M. A Comparative View of Alpha Crystallins: the contribution of comparative studies to understanding function[J]. Integr Comp Biol, 2003, 43(4): 481-491. DOI: 10.1093/icb/43.4.481.

[9] Wu N, Yu J, Chen S, et al. α-Crystallin protects RGC survival and inhibits microglial activation after optic nerve crush[J]. Life Sci, 2014, 94(1): 17-23. DOI: 10.1016/j.lfs.2013.10.034.

[10] Ghosh JG, Shenoy AK, Clark JI. Interactions between important regulatory proteins and human alphaB crystallin [J]. Biochemistry, 2007, 46(21): 6308-6317. DOI: 10.1021/bi700149h.

[11] Li DW, Liu JP, Mao YW, et al. Calcium-activated RAF/MEK/ERK signaling pathway mediates p53-dependent apoptosis and is abrogated by alpha B-crystallin through inhibition of RAS activation[J]. Mol Biol Cell, 2005, 16(9): 4437-4453. DOI: 10.1091/mbc.e05-01-0010.

[12] Avetisov SE, Polunin GS, Sheremet NL, et al. Chaperon-like anticataract agents, the antiaggregants of lens crystallin. Communication 4. Study of the effect of a mixture of di- and tetrapeptides on a prolonged rat model of UV-induced cataract[J]. Vestn Oftalmol, 2008, 124(2): 12-16.

[13] Schaefer H, Chamrad DC, Herrmann M, et al. Study of posttranslational modifications in lenticular alphaA-crystallin of mice using proteomic analysis techniques [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1764(12): 1948-1962. DOI: 10.1016/j.bbapap.2006.10.004.

[14] Kapphahn RJ, Ethen CM, Peters EA, et al. Modified alpha A crystallin in the retina: altered expression and truncation with aging [J]. Biochemistry, 2003, 42(51): 15310-15325. DOI: 10.1021/bi034774e.

[15] Asomugha CO, Gupta R, Srivastava OP. Structural and functional roles of deamidation of N146 and/or truncation of NH2- or COOH-termini in human αB-crystallin[J]. Mol Vis, 2011, 17: 2407-2420.

[16] Frydman J. Folding of newly translated proteins *in vivo*: the role of molecular chaperones [J]. Annu Rev Biochem, 2001, 70: 603-647. DOI: 10.1146/annurev.biochem.70.1.603.

[17] Yu Y, Jiang H, Li H, et al. Alpha-A-crystallin protects lens epithelial cell-derived ipsc-like cells against apoptosis induced by oxidative stress [J]. Cell Reprogram, 2016, 18(5): 327-332. DOI: 10.1089/cell.2016.0017.

[18] Nagaraj RH, Nahomi RB, Mueller NH, et al. Therapeutic potential of α-crystallin[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1860(1 Pt B): 252-257. DOI: 10.1016/j.bbagen.2015.03.012.

[19] Reddy VS, Reddy GB. Role of crystallins in diabetic complications[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1860(1 Pt B): 269-277. DOI: 10.1016/j.bbagen.2015.05.009.

[20] Sreekumar PG, Hinton DR, Kannan R. Methionine sulfoxide reductase A: structure, function and role in ocular pathology [J]. World J Biol Chem, 2011, 2(8): 184-192. DOI: 10.4331/wjbc.v2.i8.184.

[21] Zhu Z, Li R, Stricker R, et al. Extracellular α-crystallin protects astrocytes from cell death through activation of MAPK, PI3K/Akt signaling pathway and blockade of ROS release from mitochondria[J]. Brain Res, 2015, 1620: 17-28. DOI: 10.1016/j.brainres.2015.05.011.

[22] Wang AL, Lukas TJ, Yuan M, et al. Autophagy and exosomes in the aged retinal pigment epithelium: possible relevance to drusen formation and age-related macular degeneration[J/OL]. PLoS One, 2009, 4(1): e4160 [2018-04-20]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2612751/. DOI: 10.1371/journal.pone.0004160.

[23] Kase S, He S, Sonoda S, et al. alphaB-crystallin regulation of angiogenesis by modulation of VEGF [J]. Blood, 2010, 115(16): 3398-3406. DOI: 10.1182/blood-2009-01-197095.

[24] Ruan Q, Han S, Jiang WG, et al. αB-crystallin, an effector of unfolded protein response, confers anti-VEGF resistance to breast cancer via maintenance of intracrine VEGF in endothelial cells[J]. Mol Cancer Res, 2011, 9(12): 1632-1643. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-11-0327.

[25] Zhu W, Qi X, Ren S, et al. αA-crystallin in the pathogenesis and intervention of experimental murine corneal neovascularization[J]. Exp Eye Res, 2012, 98: 44-51. DOI: 10.1016/j.exer.2012.03.005.

[26] Xu Q, Bai Y, Huang L, et al. Knockout of αA-crystallin inhibits ocular neovascularization[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(2): 816-826. DOI: 10.1167/iovs.14-14734.

[27] Karmakar S, Das KP. Interaction of Cu^{2+} with α-crystallin: A Biophysical and Mass Spectrometric Study[J]. Protein Pept Lett, 2018, 25(3): 275-284. DOI: 10.2174/0929866525666171229230611.

[28] Rao NA, Saraswathy S, Pararajasegaram G, et al. Small heat shock protein αA-crystallin prevents photoreceptor degeneration in experimental autoimmune uveitis [J/OL]. PLoS One, 2012, 7(3): e33582 [2018-04-23]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3316578/. DOI: 10.1371/journal.pone.0033582.

[29] Roelofs MF, Boelens WC, Joosten LA, et al. Identification of small heat shock protein B8 (HSP22) as a novel TLR4 ligand and potential involvement in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. J Immunol, 2006, 176(11): 7021-7027.

[30] Kannan R, Sreekumar PG, Hinton DR. Alpha crystallins in the retinal pigment epithelium and implications for the pathogenesis and treatment of age-related macular degeneration[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1860(1 Pt B): 258-268. DOI: 10.1016/j.bbagen.2015.05.016.

[31] Ruebsam A, Dulle JE, Myers AM, et al. A specific phosphorylation regulates the protective role of αA-crystallin in diabetes[J/OL]. JCI Insight, 2018, 3(4): pii: 97919 [2018-04-10]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5916248/. DOI: 10.1172/jci.insight.97919.

[32] Kase S, Parikh JG, Rao NA. Expression of alpha-crystallin in retinoblastoma[J]. Arch Ophthalmol, 2009, 127(2): 187-192. DOI: 10.1001/archophthalmol.2008.580.

[33] Vorum H, Østergaard M, Rice GE, et al. Identification of differentially regulated proteins in a patient with Leber's Congenital Amaurosis-aproteomic study[J/OL]. Proteome Sci, 2007, 5: 5 [2018-03-26]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1821315/.

[34] Shao WY, Liu X, Gu XL, et al. Promotion of axon regeneration and inhibition of astrocyte activation by alpha A-crystallin on crushed optic nerve[J]. Int J Ophthalmol, 2016, 9(7): 955-966. DOI: 10.18240/ijo.2016.07.04.

[35] 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]. J Cell Biochem, 2010, 110(2): 311-320. DOI: 10.1002/jcb.22539.

[36] Wang Y, Wang Y, Wang D, et al. In vitro study of the effects of lens extract on rat retinal neuron survival and neurite outgrowth [J]. Ophthalmic Res, 2009, 42(1): 29-35. DOI: 10.1159/000219682.

[37] Wu N, Wang YH, Zhao HS, et al. α-Crystallin downregulates the expression of TNF-alpha and iNOS by activated rat retinal microglia *in vitro* and *in vivo*[J]. Ophthalmic Res, 2009, 42(1): 21-28. DOI: 10.1159/000219681.

[38] Alge CS, Priglinger SG, Neubauer AS, et al. Retinal pigment epithelium is protected against apoptosis by alphaB-crystallin [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(11): 3575-3582.

[39] Aguilà M, Bevilacqua D, McCulley C, et al. Hsp90 inhibition protects against inherited retinal degeneration [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23(8): 2164-2175. DOI: 10.1093/hmg/ddt613.

[40] Yaung J, Kannan R, Wawrousek EF, et al. Exacerbation of retinal degeneration in the absence of alpha crystallins in an *in vivo* model of

中华医学会杂志社 版权所有 违者必究　Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

chemically induced hypoxia [J]. Exp Eye Res, 2008, 86(2): 355-365. DOI:10.1016/j.exer.2007.11.007.
[41] Rigas PK, Kase S, Rao NA. Expression of alpha-crystallins in human sebaceous carcinoma of the eyelid [J]. Eur J Ophthalmol, 2009, 19(5): 702-707.
[42] Chen P, Ji W, Liu FY, et al. Alpha-crystallins and tumorigenesis [J]. Curr Mol Med, 2012, 12(9): 1164-1173.
[43] Deng M, Chen PC, Xie S, et al. The small heat shock protein alphaA-crystallin is expressed in pancreas and acts as a negative regulator of carcinogenesis [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1802(7-8): 621-631. DOI:10.1016/j.bbadis.2010.04.004.
[44] Christopher KL, Pedler MG, Shieh B, et al. Alpha-crystallin-mediated protection of lens cells against heat and oxidative stress-induced cell death [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843(2): 309-315. DOI:10.1016/j.bbamcr.2013.11.010.
[45] Sreekumar PG, Spee C, Ryan SJ, et al. Mechanism of RPE cell death in α-crystallin deficient mice: a novel and critical role for MRP1-mediated GSH efflux [J/OL]. PLoS One, 2012, 7(3): e33420 [2018-05-01]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3307734/. DOI: 10.1371/journal.pone.0033420.
[46] Saraswathy S, Nguyen AM, Rao NA. The role of TLR4 in photoreceptor {alpha} a crystallin upregulation during early experimental autoimmune uveitis [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(7): 3680-3686. DOI:10.1167/iovs.09-4575.
[47] Kase S, Meghpara BB, Ishida S, et al. Expression of α-crystallin in the retina of human sympathetic ophthalmia [J]. Mol Med Rep, 2012, 5(2): 395-399. DOI:10.3892/mmr.2011.653.
[48] Kase S, Ishida S, Rao NA. Increased expression of αA-crystallin in human diabetic eye [J]. Int J Mol Med, 2011, 28(4): 505-511. DOI: 10.3892/ ijmm.2011.708.
[49] Ueda Y, Chamberlain CG, Satoh K, et al. Inhibition of FGF-induced alphaA-crystallin promoter activity in lens epithelial explants by TGFbeta [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2000, 41(7): 1833-1839.

（收稿日期：2018-07-19　修回日期：2018-11-26）

（本文编辑：刘艳）

· 病例报告 ·

双鼻侧偏盲三例病因分析

冯丙岂　曹娟辉　樊宁　刘旭阳

深圳市眼科医院　暨南大学附属深圳眼科医院　深圳眼科学重点实验室 518040

通信作者：刘旭阳，Email：xliu1213@126.com

DOI：10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.02.016

例1，患者男，45 岁，因双眼视力下降 5 年就诊。5 年前无明显诱因出现双眼视力下降，伴有视野缩窄和夜间视物困难。既往双眼准分子激光手术史。否认外伤史、全身病史及家族史。眼部检查：裸眼视力右眼 0.6，左眼 0.7，均矫正无助；双眼眼压正常；角膜透明，可见环形线状准分子手术印记；瞳孔圆，直径 3 mm，对光反射存在；眼底视盘边界清，色可，C/D 为 0.6，黄斑中心凹形态可，颞下方可见 6 个视盘直径（papillary diameter，PD）弓形萎缩灶，萎缩灶内少量类骨细胞样色素沉着，隐见脉络膜大血管。辅助检查：自动视野计检查见双眼对称性鼻侧及颞上方视野损害；黄斑区光相干断层扫描（optical coherence tomography，OCT）示黄斑中心凹厚度右眼为160 μm，左眼为170 μm，双眼颞侧视网膜及下方视网膜色素上皮（retinal pigment epithelium，RPE）异常；视网膜电图（electroretinogram，ERG）检查见双眼明暗反应振幅中度下降，波形及潜伏期大致正常；荧光素眼底血管造影（fluorescein fundus angiography，FFA）早期即可见双眼黄斑区下方及颞侧有类似靴子样透见荧光，下方区域可透见脉络膜中大血管充盈，各象限周边部弧带状背景荧光稍增强，夹杂斑灶状强透见荧光（图 1）。头颅 MRI 检查未见明显异常。诊断：双眼陈旧性脉络膜视网膜病变。

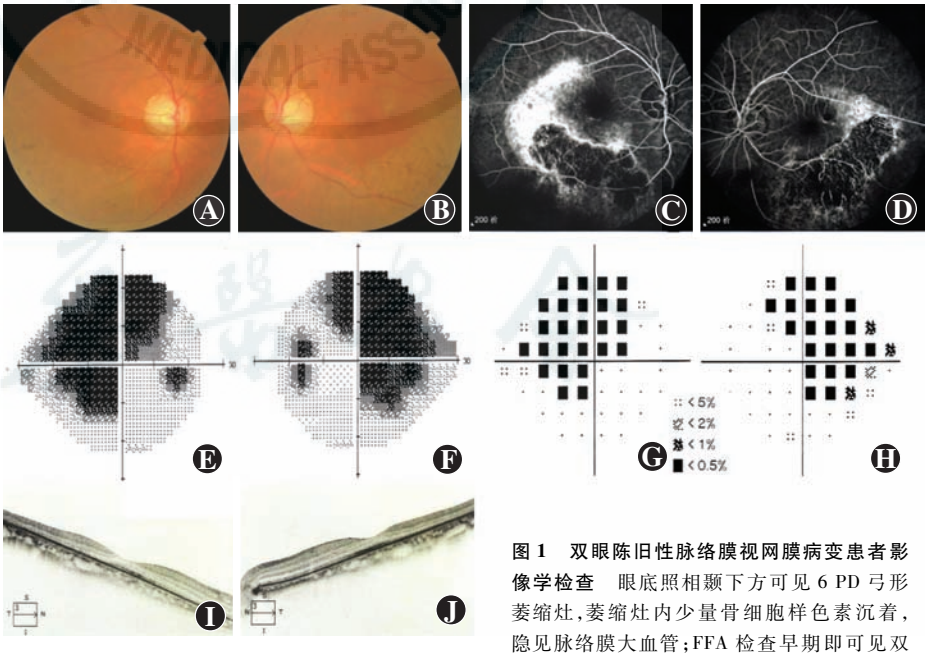

图 1　双眼陈旧性脉络膜视网膜病变患者影像学检查　眼底照相颞下方可见 6 PD 弓形萎缩灶，萎缩灶内少量骨细胞样色素沉着，隐见脉络膜大血管；FFA 检查早期即可见双眼黄斑区下方及颞侧类似靴子样透见荧光，下方区域可透见脉络膜中大血管充盈，各象限周边部弧带状背景荧光稍增强，夹杂斑灶状强透见荧光；Humphrey 视野检查可见双眼对称性鼻侧及颞上方视野损害；黄斑区 OCT 检查可见黄斑中心凹厚度右眼为160 μm，左眼为 170 μm，双眼颞侧视网膜及下方 RPE 异常　A：右眼眼底照相　B：左眼眼底照相　C：右眼 FFA 检查　D：左眼 FFA 检查　E：右眼 Humphrey 视野检查灰度图　F：左眼 Humphrey 视野检查灰度图　G：右眼 Humphrey 视野检查模式偏差概率图　H：左眼 Humphrey 视野检查模式偏差概率图　I：右眼黄斑区 OCT 检查　J：左眼黄斑区 OCT 检查

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?