

血小板反应蛋白-1 对角膜创伤修复的影响

倪双 综述 刘平 审校

【摘要】 血小板反应蛋白-1 (THBS-1) 是一种细胞外基质蛋白,其在角膜创伤修复中发挥的作用是近年来国内外研究的热点。研究发现 THBS-1 可通过激活转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 来促进细胞增生、细胞外基质形成、诱导细胞移行,从而在上皮基底膜、基质层和内皮修复中起重要作用,这将为临床上治疗各种原因引起的角膜创伤开辟新的途径。本文就 THBS-1 的来源及结构、生物学功能及其在角膜创伤修复过程中所起的作用进行综述。

【关键词】 血小板反应蛋白-1; 转化生长因子- β ; 角膜/创伤修复

The role of thrombospondin-1 in corneal wound healing Ni Shuang, Liu Ping. Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China
Corresponding author: Liu Ping, Email: Pingliu53@126. com

[Abstract] Thrombospondin-1 (THBS-1), a kind of extracellular matrix proteins, whose biological action played an important role in corneal wound healing has become a research highlight. The currently research findings showed that THBS-1 could promote the healing of epithelium, stroma and endothelium through activating the transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) which can accelerate cell proliferation, promote stroma forming and inducing cell migration. It is worthful in clinical treatment of all kinds of corneal wound healing. Now we summarized the research developments which have been acquired in the field recently in this article.

[Key words] Thrombospondin-1; Transforming growth factor- β ; Corneal/wound healing

角膜是重要的光学通路,其透明性和完整性是维持正常视觉功能的主要因素。角膜炎症、外伤、变性、营养不良及肿瘤等是中国主要的致盲原因之一。角膜位于眼球的最前端,容易受到外来因素的伤害,角膜损伤后易形成瘢痕,从而引起视力不同程度的下降。角膜创伤是继角膜炎症感染后的主要致盲原因,早期药物治疗效果欠佳。角膜的创伤修复是一个复杂的过程,创伤可激活角膜中的多种生长因子和调节蛋白,从而引起细胞的活化、增生、迁移以及细胞外基质的纤维化和重构等,此过程需要由多种细胞和细胞因子在时间和空间上高度协调来完成。研究表明,血小板反应蛋白-1 (thrombospondin-1, THBS-1) 是一类具有多种生物学功能的调节蛋白,参与角膜的创伤修复愈合。在角膜上皮细胞、基质细胞及内皮细胞均可检测到 THBS-1 表达,提示其在维护角膜完整性上起重要作用。

1 THBS-1 的生物学特性

1.1 THBS-1 的来源和结构

THBS-1 是一种由血小板、上皮细胞、间皮细胞释放的相对分子质量为 450 000 的细胞外同源三聚体基质糖蛋白^[1],最初是

在被凝血酶刺激的血小板 α 颗粒释放的产物中被发现的,并于 1978 年首次在人体血液中提纯得到。最新研究证实,THBS-1 并非血小板特有,也可由肾小球系膜细胞、成纤维细胞等多种细胞分泌^[2]。许多组织,如肺脏、肾脏、肝脏、心脏、骨、软骨、骨骼肌和脑中等均有 THBS-1 基因产物的表达,THBS-1 是许多不同组织细胞外基质的重要组成部分^[3]。研究发现,THBS-1 由 3 条相同肽链构成,每条肽链分别由 N 端球状结构域、C 端球状结构域、原胶原同源区、type1 重复序列 (thrombospondin type1 repeats, TSRs)、type2 重复序列和 type3 重复序列组成,其中 TSRs 又可分为 TSR1、TSR2、TSR3 这 3 个备解素样基序^[4]。

1.2 THBS-1 的生物学功能

THBS-1 的生物学功能多样,包括生长发育、伤口愈合、血管生成、肿瘤细胞迁移、血小板聚集及细胞黏附^[5]。THBS-1 能够结合纤溶酶原、纤维蛋白原、纤维连接蛋白、尿激酶等多种整合素及纤溶酶原、纤维蛋白原、纤维连接蛋白、尿激酶等多种基质,它们之间的相互作用能促进多蛋白复合体的产生,这种复合体的作用是传递细胞表面及基质之间的信息^[6]。此外,THBS-1 还能结合转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 和隐性相关肽 (latency-associated peptide, LAP),从而激活 TGF- β_1 。THBS-1 是否在正常组织的稳态维持中具有显著作用尚无定论,但其出现在胚胎组织的生长发育过程中,且在创伤愈合过程中其表达是显著增加的^[7]。THBS-1 的缺失会导致

DOI:10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2015. 05. 019
作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属眼科医院
通信作者:刘平,Email:Pingliu53@126. com

炎症期的延长以及伤口愈合和瘢痕形成的延迟^[8]。

2 THBS-1 与 TGF- β_1

THBS-1 是一种多功能的细胞外基质蛋白,在多种创伤修复过程中起重要作用,其主要的功能是刺激 TGF- β 的转化和生成。TGF- β 是一种相对分子质量为 25 000 的分泌型多肽信号分子超家族,在人体组织中以 TGF- β_1 、TGF- β_2 和 TGF- β_3 3 种不同的形式存在,分别被定位在人染色体 19q13、1q41、14q24 上,其中 TGF- β_1 所占的比例最高,活性最强^[9]。激活的 TGF- β_1 可以使角膜实质细胞活化、纤维母细胞增生分化,显著增加胶原、整合素和纤维黏连蛋白的形成,最终促进基质合成和组织纤维化^[10]。研究表明,THBS-1 分子 KRFK 序列可与 L-TGF- β_1 的 LAP 区域结合,从而改变 LAP 的空间构型,使 TGF- β_1 与受体结合的位点暴露,成为活化的 THBS-1/L-TGF- β_1 ^[11]。同时,研究还发现 THBS-1 通过激活 TGF- β_1 来促进角膜基质细胞转化为肌成纤维细胞。

3 THBS-1 与眼部其他疾病

Ng 等^[12]证实 THBS-1 是重要的新生血管抑制因子,在氧诱导的缺血性视网膜病变过程中起关键作用,视网膜新生血管的衰退与 THBS-1 的表达增加有关,研究还发现在年龄相关性黄斑变性中 Bruch 膜和脉络膜中 THBS-1 的降低可能会促使新生血管的形成。Wang 等^[13]研究发现,THBS-1 的表达在脉络膜黑色素瘤发展过程中逐渐降低,而其多肽类表达产物则能有效抑制肿瘤的生长。由此可见,THBS-1 的表达产物能抑制脉络膜黑色素瘤的发展,调节 THBS-1 的表达或活性有益于脉络膜黑色素瘤的治疗。Contreras-Ruiz 等^[14]发现 THBS-1 缺陷鼠和干眼患者的情况相同,均有杯状细胞分泌减少,易发生结膜炎,其研究结果显示,THBS-1 对于减轻自身免疫引起的结膜炎和新生淋巴管均有意义,因此 THBS-1 与自身免疫性干眼相关,且可能对于眼表炎症有较为重要的治疗意义。

4 THBS-1 和角膜创伤修复

4.1 角膜创伤愈合的生物学特征

角膜创伤愈合是复杂的过程。角膜上皮细胞再生能力强,损伤可以自行修复,邻近的未损伤上皮细胞不断增生、分裂,移行到创伤区域,较快修复。生理状态下,基底细胞是唯一能发生分裂的细胞,因此如果损伤累及基底膜,愈合时间将明显延长。损伤前弹力层和角膜实质层将导致瘢痕形成。前弹力层是实质层缩聚形成的,因此损伤的修复过程也是相似的,由未损伤的角膜细胞和成纤维细胞增生修复。后弹力层由内皮细胞分泌而来,修复能力强,损伤后可以再生。角膜内皮损伤后不能再生,靠邻近细胞扩大增长覆盖缺损区。

4.2 THBS-1 与角膜损伤修复

现已证实,多种生长因子和蛋白参与修复过程中细胞迁移、增生、凋亡及蛋白合成等多种生物学活动。新近的研究中发现,THBS-1 在角膜损伤修复过程中发挥了重要作用。Sekiyama 等^[15]证实,在人角膜缘和角膜上皮表达 THBS-1

mRNA,在角膜的损伤愈合过程中,THBS-1 的表达即刻增加。Uno 等^[16]认为角膜的上皮缺陷刺激 THBS-1 在创伤区域的表达,导致角膜上皮细胞再生加速,维生素 A 的缺乏导致 THBS-1 表达的减少。Matsuba 等^[17]在对角膜切剖术小鼠模型的观察研究中,提出 THBS-1 在角膜上皮创伤愈合过程中通过活化 TGF- β_1 促使角膜细胞向肌成纤维细胞转化,TGF- β_1 可诱导角膜细胞增生,肌成纤维细胞分化,产生细胞外基质。Matsuba 等^[17]的另一个重要发现是,创伤后基底膜被破坏时,THBS-1 堆积在基底膜受损创口的基质层内,然而当基底膜是完好的,THBS-1 仅在相对应的基底膜区浅基质层表达。THBS-1 的表达在损伤早期达到高峰,之后表达逐渐减少。许多表达 THBS-1 的细胞同时也表达 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle action, α -SMA),这表明了这些细胞都是上皮细胞。肌上皮细胞存在于其他组织中,但目前没有资料表明它存在于角膜中^[18]。Hiscott 等^[19]研究发现,THBS-1 也在角膜损伤修复过程中对保持角膜组织结构起主要作用。这些研究表明了 THBS-1 在上皮及基底膜愈合过程中所扮演的重要角色。

Blanco-Mezquita 等^[20]利用 THBS-1 基因敲除鼠制作角膜全层贯通伤模型来进一步探讨 THBS-1 在内皮和基质损伤修复中的作用。在角膜完整性被破坏以后,通过增生和迁移,角膜上皮细胞迅速覆盖受损部位。基质层中,受损部位的角膜基质细胞激增,同时变成成纤维细胞,这些成纤维细胞迁移并逐步填充受损部位基质层且分化为肌成纤维细胞。角膜基质细胞在 THBS-1 刺激下分化为肌成纤维细胞,可能的作用机制是 THBS-1 可激活 TGF- β_1 ^[21]。生理状态下,角膜基质细胞相当于静止的成纤维细胞。角膜损伤后,基质细胞立即被激活,然后转化成起修复作用的细胞表型,即肌成纤维细胞^[22]。在一些创伤模型中,肌成纤维细胞不同于成纤维细胞的是其以包含 SMA 的张力纤维构成为特征^[23]。肌成纤维细胞具有强大的收缩作用,与瘢痕形成密切相关。

人类角膜内皮细胞属于不可再生细胞,内皮细胞屏障受到破坏以后,其修复过程通过邻近内皮细胞迁移和过度肥大所完成。在 THBS-1 基因敲除鼠模型中,内皮细胞迁移、肥大和粘附受损表明了 THBS-1 在内皮细胞屏障修补中的重要作用^[24]。Zieske 等^[25]延伸了实验,证实了 THBS-1 也是角膜内皮修复的决定性因素,因为 THBS-1 基因敲除鼠模型经历了长期慢性角膜水肿和顽固的角膜混浊,这 2 种愈合缺陷都没有在野生型鼠模型中发现。此外,大量的研究已经阐明了 TGF- β_1 刺激内皮细胞增生、迁移和产生细胞外基质^[26]。新近的发现是 THBS-1 与 TGF- β_1 -LAP 相互叠连,能激活表达于内皮细胞的内源性 TGF- β_1 ^[27]。这个结果说明了 TGF- β_1 与 THBS-1 的相互联系在角膜内皮修复中所起到的重要作用。

再者,THBS-1 在角膜免疫赦免中也扮演重要的角色,源自抗原提呈细胞的 THBS-1 抑制免疫排斥也是必不可少的。在 Zieske 等^[25]的研究中已经证实源自免疫细胞的 THBS-1 明确涉及到愈合反应当中。此外在免疫抑制作用中,THBS-1 的缺乏在模拟干眼时导致眼表缺陷也可见报道^[28]。综上所述,THBS-1 可能通过多重分子机制影响角膜损伤的愈合。

5 展望

当角膜的完整性遭到损坏时, THBS-1 在角膜创伤愈合中扮演至关重要的角色。大量的实验研究发现, THBS-1 的表达似乎和创伤的范围及程度相关联, 从上皮损伤的基底膜区, 到浅层角膜切削术后的上层基质层, 再到角膜穿透伤的全层角膜, THBS-1 在上皮层、基质层以及内皮层的修复中均发挥作用。随着研究的深入和基因治疗技术的成熟, 若能运用特异性的药物在基因水平有效调控 THBS-1 的表达和活性将成为现实, 并为临床上更好地预防治疗各种原因引起的角膜创伤、减少创伤扩大和继发感染提供了新的可能。

参考文献

- [1] Carlson CB, Lawler J, Mosher DF. Structures of thrombospondins[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(5): 672-686. doi:10.1007/s00018-007-7484-1.
- [2] Grutzmacher C, Park S, Zhao Y, et al. Aberrant production of extracellular matrix proteins and dysfunction in kidney endothelial cells with a short duration of diabetes[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 304(1): F19-30. doi:10.1152/ajprenal.00036.2012.
- [3] Chatila K, Ren G, Xia Y, et al. The role of the thrombospondins in healing myocardial infarcts[J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2007, 5(1): 21-27. doi:10.2174/187152507779315813.
- [4] Bornstein P. Thrombospondins function as regulators of angiogenesis[J]. *J Cell Commun Signal*, 2009, 3(3-4): 189-200. doi:10.1007/s12079-009-0060-8.
- [5] Adams JC, Lawler J. The thrombospondins[J/OL]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3(10): a009712 [2014-12-15]. http://cshperspectives.cshlp.org/content/3/10/a009712.long. doi:10.1101/cshperspect.a009712.
- [6] Tan K, Lawler J. The interaction of thrombospondins with extracellular matrix proteins[J]. *J Cell Commun Signal*, 2009, 3(3-4): 177-187. doi:10.1007/s12079-009-0074-2.
- [7] Henkin J, Volpert OV. Therapies using anti-angiogenic peptide mimetics of thrombospondin-1[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2011, 15(12): 1369-1386. doi:10.1517/14728222.2011.640319.
- [8] Kyriakides TR, Maclachlan S. The role of thrombospondins in wound healing, ischemia, and the foreign body reaction[J]. *J Cell Commun Signal*, 2009, 3(3-4): 215-225. doi:10.1007/s12079-009-0077-z.
- [9] Bettahi I, Sun H, Gao N, et al. Genome-wide transcriptional analysis of differentially expressed genes in diabetic, healing corneal epithelial cells: hyperglycemia-suppressed TGF- β_3 expression contributes to the delay of epithelial wound healing in diabetic corneas[J]. *Diabetes*, 2014, 63(2): 715-727. doi:10.2337/db13-1260.
- [10] Karamichos D, Hutcheon AE, Zieske JD. Transforming growth factor-beta3 regulates assembly of a non-fibrotic matrix in a 3D corneal model[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2011, 5(8): 228-238. doi:10.1002/term.429.
- [11] Saika S, Yamanaka O, Sumioka T, et al. Transforming growth factor beta signal transduction: a potential target for maintenance/restoration of transparency of the cornea[J]. *Eye Contact Lens*, 2010, 36(5): 286-289. doi:10.1097/ICL.0b013e3181eef01c.
- [12] Ng TF, Turpie B, Masli S. Thrombospondin-1-mediated regulation of microglia activation after retinal injury[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(11): 5472-5478. doi:10.1167/iov.08-2877.
- [13] Wang S, Neekhra A, Albert DM, et al. Suppression of thrombospondin-1 expression during uveal melanoma progression and its utilization as potential therapeutic[J]. *Arch Ophthalmol*, 2012, 130(3): 336-341. doi:10.1001/archophthol.2011.1503.
- [14] Contreras-Ruiz L, Regenfuss B, Mir FA, et al. Conjunctival inflammation in thrombospondin-1 deficient mouse model of Sjögren's syndrome[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75937 [2014-12-05]. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0075937. doi:10.1371/journal.pone.0075937.
- [15] Sekiyama E, Nakamura T, Cooper LJ, et al. Unique distribution of thrombospondin-1 in human ocular surface epithelium[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(4): 1352-1358. doi:10.1167/iov.05-1305.
- [16] Uno K, Kuroki M, Hayashi H, et al. Thrombospondin-1 accelerates wound healing of corneal epithelia[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 315(4): 928-934. doi:10.1016/j.bbrc.2004.01.146.
- [17] Matsuba M, Hutcheon AE, Zieske JD. Localization of thrombospondin-1 and myofibroblasts during corneal wound repair[J]. *Exp Eye Res*, 2011, 93(4): 534-540. doi:10.1016/j.exer.2011.06.018.
- [18] Roberts AB, Tian F, Byfield SD, et al. Smad3 is key to TGF-beta-mediated epithelial-to-mesenchymal transition, fibrosis, tumor suppression and metastasis[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2006, 17(1-2): 19-27. doi:10.1016/j.cytogr.2005.09.008.
- [19] Hiscott P, Paraoan L, Choudhary A, et al. Thrombospondin-1, thrombospondin-2 and the eye[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2006, 25(1): 1-18. doi:10.1016/j.preteyeres.2005.05.001.
- [20] Blanco-Mezquita JT, Hutcheon AE, Zieske JD. Role of thrombospondin-1 in repair of penetrating corneal wounds[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(9): 6262-6268. doi:10.1167/iov.13-11710.
- [21] Matsuba M, Hutcheon AE, Zieske JD. Localization of thrombospondin-1 and myofibroblasts during corneal wound repair[J]. *Exp Eye Res*, 2011, 93(4): 534-540. doi:10.1016/j.exer.2011.06.018.
- [22] Karamichos D, Guo XQ, Hutcheon AE, et al. Human corneal fibrosis: an in vitro model[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(3): 1382-1388. doi:10.1167/iov.09-3860.
- [23] Lakshman N, Petroll WM. Growth factor regulation of corneal keratocyte mechanical phenotypes in 3D collagen matrices[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(3): 1077-1086. doi:10.1167/iov.11-8609.
- [24] Haddadin RI, Oh DJ, Kang MH, et al. Thrombospondin-1 (TSP1)-null and TSP2-null mice exhibit lower intraocular pressures[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(10): 6708-6717. doi:10.1167/iov.11-9013.
- [25] Blanco-Mezquita JT, Hutcheon AE, Zieske JD. Role of thrombospondin-1 in repair of penetrating corneal wounds[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(9): 6262-8. doi:10.1167/iov.13-11710.
- [26] Scheef EA, Sorenson CM, Sheibani N. Attenuation of proliferation and migration of retinal pericytes in the absence of thrombospondin-1[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296(4): C724-734. doi:10.1152/ajpcell.00409.2008.
- [27] Joyce NC, Harris DL, Mello DM. Relationship among oxidative stress, DNA damage, and proliferative capacity in human corneal endothelium[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(5): 2116-2122. doi:10.1167/iov.08-3007.
- [28] Turpie B, Yoshimura T, Gulati A, et al. Sjögren's syndrome-like ocular surface disease in thrombospondin-1 deficient mice[J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(3): 1136-1147. doi:10.2353/ajpath.2009.081058.

(收稿日期: 2015-01-24)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)