

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.22.035

全长泌乳素裂解片段 16×10^3 泌乳素的研究进展*

晁楠楠 综述, 方 明[△] 审校

浙江省义乌市中心医院内分泌科, 浙江金华 322023

关键词: 16×10^3 泌乳素; 抗肿瘤; 围生期心肌病; 妊娠高血压综合征; 糖尿病视网膜病变

中图分类号: Q575+.13

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)22-3335-04

泌乳素(PRL)是由位于腺垂体后侧的泌乳细胞所分泌的一种蛋白质类激素,首次发现于1930年,其分泌主要受神经内分泌调节。PRL有300多种生理功能,最为人所知的功能是促使乳腺发育和分泌乳汁,此外PRL与性腺发育、免疫调节、机体应激反应、体细胞的分裂与增殖等息息相关。正常情况下,血液中PRL在一定范围内发挥其功能,某些情况下则与多种疾病的发生及发展相关,如分泌异常导致的高泌乳素血症、肿瘤、自身免疫性疾病等。大部分PRL分子以单体形式存在于循环系统并发挥作用,其相对分子质量为 23×10^3 。近些年来,随着对PRL的研究越来越深入,人们发现 23×10^3 PRL可以进一步被蛋白酶裂解成大小不同的片段,其中 16×10^3 PRL片段(16×10^3 PRL)是其主要的氨基末端裂解产物。 16×10^3 PRL最早在小鼠垂体中被发现,随后于人垂体和血浆中被发现。不同于 23×10^3 PRL的促血管生成作用, 16×10^3 PRL具有抗血管生成作用,因此,可能具有抗肿瘤和抗肿瘤转移作用。此外, 16×10^3 PRL也是围生期心肌病(PPCM)发生和发展的重要影响因素^[1-3]。现对 16×10^3 PRL最新研究进展综述如下。

1 16×10^3 PRL的产生

23×10^3 PRL是由199个氨基酸残基构成的含3个二硫键的单链蛋白,具有由4个反向平行的 α 螺旋构成的结构。 23×10^3 PRL在连接第3和第4个 α 螺旋的长襻处被裂解为 16×10^3 PRL,此裂解过程可发生在细胞外基质^[4]。视网膜、心肌、软骨细胞、乳腺、垂体、胎盘和脐静脉等均可产生 16×10^3 PRL^[5-6]。关于使 23×10^3 PRL裂解产生 16×10^3 PRL的酶,目前研究最多的是组织蛋白酶D。组织蛋白酶D是一种天门冬氨酸蛋白酶,其保持活性的最佳pH值是4.5~5.0,因此可在溶酶体颗粒里保持活性。然而,乳腺上皮细胞分泌的组织蛋白酶D可以在pH值为7.0的细胞外环境中裂解PRL产生 16×10^3 PRL^[7]。一方面,细胞外酸性环境在某些条件下,如氧分压降低的肿瘤组织中可以存在^[8];另一方面,细胞外酸性

环境也可以通过 Na^+/H^+ 交换体和 H^+/ATP 酶实现^[7]。此外,雌激素和氧化应激可以增加组织蛋白酶D的合成和活性^[9],从而使 16×10^3 PRL的产生增加。有研究表明,小鼠 23×10^3 PRL可以被组织蛋白酶D水解生成 16×10^3 PRL,而人 23×10^3 PRL被组织蛋白酶D水解产生类 16×10^3 PRL,分别为氨基酸1~132(相对分子质量 15.0×10^3)、1~147(相对分子质量 16.5×10^3)和1~150(相对分子质量 17.0×10^3)。这几种类 16×10^3 PRL均表现出了抗新生血管生成活性^[8]。这可能跟人PRL和小鼠PRL存在细微的一级结构和三级结构差别有关^[8]。除组织蛋白酶D外,基质金属蛋白酶、骨形态发生蛋白-1可能也与 16×10^3 PRL的产生有关,仍需进一步基础研究。

2 16×10^3 PRL的抗肿瘤作用及相关机制

目前对 16×10^3 PRL抗肿瘤作用的研究局限于细胞和动物实验。目前的研究表明, 16×10^3 PRL可以抑制前列腺癌、结直肠癌、黑色素瘤在体内的生长,也可抑制肿瘤的转移。 16×10^3 PRL对肿瘤生长的抑制归因于其抗血管生成作用,而非直接抑制肿瘤细胞的生长。然而, 16×10^3 PRL对乳腺癌在体内的生长无抑制作用^[10]。一方面,体内可能存在促肿瘤生长因素,抵消了 16×10^3 PRL的抗血管生成作用;另一方面, 16×10^3 PRL可能本身就具备促进乳腺癌细胞有丝分裂的能力^[10]。泌乳素瘤通常不具有侵袭性和转移性,且相较于正常垂体组织血供较少,可能与 16×10^3 PRL的抗血管生成作用及 16×10^3 PRL促进垂体前叶细胞凋亡(雌激素依赖性),并抑制垂体前叶细胞增殖的作用有关^[5,11]。现对 16×10^3 PRL可能存在的抗肿瘤机制具体陈述。

2.1 抗血管生成作用 16×10^3 PRL已被证实体内和体外均能发挥抗血管生成作用。 16×10^3 PRL发挥抗血管生成作用的机制是多方面的。首先, 16×10^3 PRL抑制MAPK信号途径的激活,导致内皮细胞的细胞周期静止,还可抑制血管成熟^[12-13]。其次, 16×10^3 PRL促进内皮细胞凋亡,通过抑制Ras-Ti-

* 基金项目:浙江省义乌市科学技术局课题(19-3-118)。

[△] 通信作者, E-mail: fangming320@163.com。

本文引用格式:晁楠楠,方明. 全长泌乳素裂解片段 16×10^3 泌乳素的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(22): 3335-3338.

aml-1-Rac1-Pak1 信号途径来阻止内皮细胞迁移^[14-15]。此外, 16×10^3 PRL 一方面通过抑制 p38 MAPK/Stat1/IRF-1 途径使大动脉内皮细胞中白细胞介素(IL)-1 β 诱导的诱导型一氧化氮合酶的表达量下降; 另一方面, 通过影响细胞内钙动员来抑制钙离子依赖性内皮型一氧化氮合酶激活, 还可通过激活蛋白磷酸酶 2A(PP2A) 导致内皮型一氧化氮合酶去磷酸化而失活, 从而抑制血管舒张^[16-18]。核转录因子- κ B(NF- κ B) 在 16×10^3 PRL 的抗血管生成作用中也起着不可或缺的作用。 16×10^3 PRL 可诱导 κ B- α 降解, 从而促进 NF- κ B 向细胞核内转移, 同时可诱导内皮细胞和肿瘤组织的 NF- κ B 激活^[14,19]。继而, 16×10^3 PRL 通过激活 NF- κ B 促进内皮细胞的白细胞黏附及肿瘤组织的白细胞浸润^[20]。NF- κ B 激活对 16×10^3 PRL 诱导的半胱天冬酶依赖性血管内皮细胞凋亡也是必不可少的^[14]。此外, 16×10^3 PRL 可诱导内皮细胞表达 Sproutyl, 此过程是 NF- κ B 依赖性的。Sproutyl 可促进内皮细胞凋亡, 抑制内皮细胞增殖、迁移, 抑制毛细血管网形成和对细胞外基质蛋白的黏附^[21]。

2.2 抗淋巴管形成 除了抗血管生成作用外, 16×10^3 PRL 还可抑制淋巴内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成并诱导其凋亡, 从而抑制肿瘤原发灶和前哨淋巴结的淋巴管形成, 减少肿瘤细胞的播散和转移^[22]。

2.3 与纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1) 协同作用 16×10^3 PRL 不通过 PRL 受体发挥作用, 它的内皮细胞结合位点目前仍未知。PAI-1 是 16×10^3 PRL 的结合伴侣, 16×10^3 PRL 可促进内皮细胞产生 PAI-1^[23]。 16×10^3 PRL 通过 PAI-1-uPA-uPA 受体信号途径干扰肿瘤血管生成和生长, 通过抑制 PAI-1 的抗纤溶活性, 促进血栓溶解^[23]。肿瘤组织具有促血管生成和促血栓形成属性, 因此对抗肿瘤治疗而言, 16×10^3 PRL 的抗血管生成作用和促纤溶活性值得关注。

3 16×10^3 PRL 与 PPCM

PPCM 是一种病死率较高的疾病, 可发生在既往健康女性的妊娠终末期和产后第 1 个月。研究表明, 不同的因素可以诱导和驱动 PPCM, 包括炎症和免疫、妊娠激素损伤、儿茶酚胺压力、cAMP-PKA 缺陷、G 蛋白偶联受体信号传递以及遗传变异^[24]。在此, 笔者利用信号转导和转录激活因子 3(STAT3) 基因敲除小鼠模型阐述 PPCM 与氧化应激的关系。STAT3 对心脏的保护作用主要体现在其可以上调抗氧化酶水平, 如可清除活性氧的锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)。小鼠心肌细胞 STAT3 的缺失导致 MnSOD 的表达下降, 活性氧的堆积导致组织蛋白酶 D 的表达增加、水解活性增强, 因此 23×10^3 PRL 裂解产生的 16×10^3 PRL 增多。 16×10^3 PRL 介导了内皮细胞凋亡和毛细血管裂解, 并引起血管收缩, 干扰心肌细胞代谢, 导致 PPCM 的发生和发展。针对此过程的分子机制, 有研究表明其与微小核糖核酸 miR-146a 相

关^[25-26]。 16×10^3 PRL 刺激内皮细胞释放含 miR-146a 的外泌体, 此外泌体被心肌细胞摄取后可降低 Erbb4、Notch1 和 Irak1 基因的表达, 可能因此而降低心肌细胞的代谢活性, 促进细胞凋亡并发挥抗新生血管生成的作用^[25,27]。小鼠妊娠期间 23×10^3 PRL 水平升高, 氧化应激增强, 经 23×10^3 PRL 裂解产生的 16×10^3 PRL 也增多。在这些小鼠妊娠期间给予溴隐亭治疗可避免 PPCM 的发生。这些证据表明, 至少对小鼠而言, 16×10^3 PRL 与 PPCM 有病因学联系, 同时也为临床研究带来了新视角, 因为 PPCM 患者的血清组织蛋白酶 D 和 16×10^3 PRL 水平均升高。

4 16×10^3 PRL 与其他疾病

妊娠高血压综合征(PIH) 是孕产妇和围生儿死亡、早产和胎儿宫内生长受限的主要原因, 其发病机制尚未被完全阐明。PIH 患者的胎盘中可检出 16×10^3 PRL, 而正常产妇的胎盘中未检出, 提示 16×10^3 PRL 水平升高是 PIH 的危险因素^[6]。可能机制是孕早期(妊娠 10 周内)蜕膜产生过多的 16×10^3 PRL, 其抗血管生成作用导致滋养细胞侵入动脉障碍、子宫螺旋动脉重塑失败及其导致的胎盘灌注减少。胎盘缺血、缺氧造成内皮细胞功能障碍和氧化应激增强, 从而导致 PIH 的发生。糖尿病视网膜病变的发生与视网膜局部新生血管形成和血管通透性增加有关。 16×10^3 PRL 可抑制新生血管形成并降低血管通透性^[28]。局部注射 16×10^3 PRL 是糖尿病视网膜病变治疗研究的新方向^[29-30]。最后, 16×10^3 PRL 参与毛细血管前肺动脉高压的发生与发展过程, 可能与 16×10^3 PRL 导致血管内皮功能紊乱、血管舒张障碍有关^[31]。

5 16×10^3 PRL 的血清检测

16×10^3 PRL 相较于 23×10^3 PRL 无特异性抗原表位, 常规酶联免疫吸附试验无法测出 16×10^3 PRL 水平。目前可使用的方法有多反应监测质谱法, 此方法特异性强、灵敏度高、准确度高, 但成本较高^[32]。也可采用免疫学结合激光诱导荧光技术进行 16×10^3 PRL 的半定量检测^[33]。此外, 还可利用 23×10^3 PRL 具有羧基末端的特性, 测出 23×10^3 PRL 的水平, 再用总 PRL 水平减去 23×10^3 PRL 水平, 即得到 16×10^3 PRL 的水平^[31]。最后, 传统的蛋白印迹法也可用于血清 16×10^3 PRL 的半定量检测^[34]。然而, 为了更好地进行 16×10^3 PRL 相关的临床研究, 如何高效、准确地检测血清 16×10^3 PRL 的水平仍是一个亟待解决的问题。

6 小 结

16×10^3 PRL 由 23×10^3 PRL 裂解产生, 此裂解过程可发生在细胞外基质。这意味着此过程存在组织特异性调控机制, 未来需要进一步研究以明确这一裂解过程的发生部位及对裂解酶的调控机制, 以便于更好地控制这一过程。另外, 16×10^3 PRL 的作用机

制,尤其是内皮细胞结合位点仍需要进一步研究。
 16×10^3 PRL 相关临床研究仍需完善。

参考文献

- [1] HILFIKER-KLEINER D, SLIWA K. Pathophysiology and epidemiology of peripartum cardiomyopathy[J]. *Rev Cardiol*, 2014, 11(6):364-370.
- [2] HORSEMAN N D, GREGERSON K A. Prolactin actions [J]. *J Mol Endocrinol*, 2014, 52(1):95-106.
- [3] TRIEBEL J, CLAPP C, DE LA ESCALERA G M, et al. Remarks on the prolactin hypothesis of peripartum cardiomyopathy[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2017, 8: 77.
- [4] BOOSANI C S, SUDHAKAR Y A. Proteolytically derived endogenous angiointerceptors originating from the extracellular matrix [J]. *Pharmaceuticals*, 2011, 4 (12): 1551-1577.
- [5] FERRARIS J, RADL D B, ZARATE S, et al. N-terminal prolactin-derived fragments, vasoinhibins, are proapoptotic and antiproliferative in the anterior pituitary[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7):e21806.
- [6] MASUMOTO A, MASUYAMA H, TAKAMOTO N, et al. Expression of antiangiogenic prolactin fragments in the placentas of women with pregnancy induced hypertension [J]. *Acta Med Okayama*, 2010, 64(4):249-255.
- [7] CASTINO R, DELPAL S, BOUGUYON E, et al. Prolactin promotes the secretion of active cathepsin D at the basal side of rat mammary acini[J]. *Endocrinology*, 2008, 149(8):4095-4105.
- [8] PIWNICA D, TOURAINE P, STRUMAN I, et al. Cathepsin D processes human prolactin into multiple 16K-like N-terminal fragments: study of their antiangiogenic properties and physiological relevance[J]. *Mol Endocrinol*, 2004, 18(10):2522-2542.
- [9] ROCHEFORT H, CHALBOS D, CUNAT S, et al. Estrogen regulated proteases and antiproteases in ovarian and breast cancer cells [J]. *J Steroid Biochem Molec Biol*, 2001, 76(1/5):119-124.
- [10] FAUPEL-BADGER J M, GINSBURG E, FLEMING J M. 16kDa prolactin reduces angiogenesis, but not growth of human breast cancer tumors in vivo[J]. *Horm Cancer*, 2010, 1(2):71-79.
- [11] MENDEZ I, VEGA C, ZAMORANO M, et al. Vasoinhibins and the pituitary gland[J]. *Front Horm Res*, 2010, 38:184-189.
- [12] TABRUYN S P, NGUYEN N Q, CORNET A M, et al. The antiangiogenic factor, 16-kDa human prolactin, induces endothelial cell cycle arrest by acting at both the G0-G1 and the G2-M phases[J]. *Mol Endocrinol*, 2005, 19(7):1932-1942.
- [13] NGUYEN N Q, CASTERMANS K, BERNDT S, et al. The antiangiogenic 16K prolactin impairs functional tumor neovascularization by inhibiting vessel maturation [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11):e27318.
- [14] TABRUYN S P, SORLET C M, RENTIER-DELRUE F, et al. The antiangiogenic factor 16K human prolactin induces caspase-dependent apoptosis by a mechanism that requires activation of nuclear factor-kappaB[J]. *Mol Endocrinol*, 2003, 17(9):1815-1823.
- [15] LEE S H, KUNZ J, LIN S H, et al. 16-kDa prolactin inhibits endothelial cell migration by down-regulating the Ras-Tiam1-Rac1-Pak1 signaling pathway [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(22):11045-11053.
- [16] LEE S H, NISHINO M, MAZUMDAR T, et al. 16-kDa prolactin down-regulates inducible nitric oxide synthase expression through inhibition of the signal transducer and activator of transcription 1/IFN regulatory factor-1 pathway[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(17):7984-7992.
- [17] GONZALEZ C, CORBACHO A M, EISERICH J P, et al. 16K-prolactin inhibits activation of endothelial nitric oxide synthase, intracellular calcium mobilization, and endothelium-dependent vasorelaxation [J]. *Endocrinology*, 2004, 145(12):5714-5722.
- [18] GARCIA C, ARANDA J, ARNOLD E, et al. Vasoinhibins prevent retinal vasopermeability associated with diabetic retinopathy in rats via protein phosphatase 2A-dependent eNOS inactivation[J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(6):2291-2300.
- [19] TABRUYN S P, MEMET S, AVE P, et al. NF-kappaB activation in endothelial cells is critical for the activity of angiostatic agents [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(9):2645-2654.
- [20] TABRUYN S P, SABATEL C, NGUYEN N Q, et al. The angiostatic 16K human prolactin overcomes endothelial cell anergy and promotes leukocyte infiltration via nuclear factor-kappaB activation [J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(6):1422-1429.
- [21] SABATEL C, CORNET A M, TABRUYN S P, et al. Sproutyl, a new target of the angiostatic agent 16K prolactin, negatively regulates angiogenesis[J]. *Mol Cancer*, 2010, 9:231.
- [22] KINET V, CASTERMANS K, HERKENNE S, et al. The angiostatic protein 16K human prolactin significantly prevents tumor-induced lymphangiogenesis by affecting lymphatic endothelial cells [J]. *Endocrinology*, 2011, 152(11):4062-4071.
- [23] BAJOU K, HERKENNE S, THIJSEN V L. PAI-1 mediates the antiangiogenic and profibrinolytic effects of 16K prolactin[J]. *Nat Med*, 2014, 20(7):741-747.
- [24] RICKE-HOCH M, PFEFFER T J, HILFIKER-KLEINER D. Peripartum cardiomyopathy: basic mechanisms and hope for new therapies[J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(3):520-531.
- [25] HALKEIN J, TABRUYN S P, RICKE-HOCH M, et al. MicroRNA-146a is a therapeutic target and biomarker for peripartum cardiomyopathy[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(5):2143-2154.

[26] RICKE-HOCH M, HOES M F, PFEFFER T J, et al. In peripartum cardiomyopathy plasminogen activator inhibitor-1 is a potential new biomarker with controversial roles[J]. Cardiovasc Res, 2020, 116(11):1875-1886.

[27] ODIETE O, HILL M F, SAWYER D B. Neuregulin in cardiovascular development and disease[J]. Circ Res, 2012, 111(10):1376-1385.

[28] RAMIREZ M, WU Z, MORENO-CARRANZA B, et al. Vasoinhibin gene transfer by adenoassociated virus type 2 protects against VEGF- and diabetes-induced retinal vasopermeability[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(12):8944-8950.

[29] ZAMARRIPA D A, DIAZ-LEZAMA N, GARCIA R M, et al. Vasoinhibins regulate the inner and outer blood-retinal barrier and limit retinal oxidative stress[J]. Front Cell Neurosci, 2014, 8:333.

[30] FARJO K M, MA J X. The potential of nanomedicine therapies to treat neovascular disease in the retina[J]. J Angiogenes Res, 2010, 2:21.

[31] HONICKE U, ALBRECHT S, SCHROTTER H, et al. Prolactin and its 16-kDa N-terminal fragment: are higher in patients with precapillary pulmonary hypertension than in a healthy control group[J]. Tex Heart Inst J, 2012, 39(1):44-50.

[32] WAYBRIGHT T J, XU X, FAUPEL-BADGER J M, et al. Preparation of human serum for prolactin measurement by multiple reaction monitoring mass spectrometry[J]. Methods Mol Biol, 2013, 1002:195-203.

[33] TRIEBEL J, HUEFNER M, RAMADORI G. Investigation of prolactin-related vasoinhibin in sera from patients with diabetic retinopathy[J]. Eur J Endocrinol, 2009, 161(2):345-353.

[34] 宋继洋, 王楠, 方砚. 绝经后女性催乳素裂解与高血压及心功能不全关系的研究[J]. 中国循环杂志, 2015, 30(11):1058-1062.

(收稿日期:2021-01-24 修回日期:2021-06-01)

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.22.036

艰难梭菌感染防治措施的研究进展

孟宪涛, 曹 月 综述, 郭占军[△] 审校
山东省聊城市中医医院医学检验科, 山东聊城 252000

关键词: 艰难梭菌; 感染; 肠道菌群; 芽孢
中图分类号: R378.8 文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)22-3338-04

艰难梭菌是革兰阳性厌氧芽孢杆菌,芽孢位于菌体次极端,可在体外存活数月以上^[1]。艰难梭菌可在人体肠道无症状定植,也可引发轻度至重度腹泻、伪膜性肠炎(PMC),严重者可导致死亡。艰难梭菌通过产生肠毒素 A(TcdA)和细胞毒素 B(TcdB)这两种毒素致病,TcdA 和 TcdB 是导致上皮细胞坏死和炎症的主要原因^[2]。抗菌药物是艰难梭菌感染(CDI)的首选治疗手段,也是公认的艰难梭菌相关性腹泻(CDAD)的危险因素,长期使用抗菌药物会导致肠道菌群失调,引起芽孢萌发^[3]。最近,部分非抗菌药物因素,如免疫系统、饮食习惯、微生物菌群、高龄、质子泵抑制剂等也被确认为 CDAD 的危险因素。CDI 多次复发是治疗的一大难点^[4]。近年来,针对 CDI 的预防和治疗措施不断有新的进展,本文就艰难梭菌流行、治疗和预防措施方面的研究新进展综述如下。

1 流行情况

在过去的 20 多年里,由于艰难梭菌高产毒株(BI/NAP1/O27 毒素Ⅲ型)的出现,CDI 发病率在全球显著升高^[5]。核糖体(RT)017 型菌株毒素鉴定为 A⁻B⁺,可引起严重并发症。RT017 型菌株起源于亚

洲,自 2000 年以来,RT017 型 CDI 已在亚洲以外的国家暴发 4 次。葡萄牙 CDI 病例中 RT017 型菌株发病率超过 10%。在中国、韩国,15%~40% CDI 患者诊断为 RT017 型菌株感染^[6]。CDI 已经不局限于医院获得性感染,在美国和英国,20%~45% 的 CDI 是社区获得性感染。

2 临床意义

健康者肠道中的乳酸杆菌、D 群淋球菌以及真菌等均能对艰难梭菌产生较强的拮抗作用,而长时间使用头孢菌素、红霉素以及其他类型的抗菌药物容易引起肠道菌群失调,同时还可对正常菌群的生长产生较强的抑制作用,降低以上菌群对艰难梭菌的拮抗作用,导致已经发生耐药的艰难梭菌在肠道中过度增殖,从而诱发 CDAD、PMC 等疾病,临床表现为不同程度的水样便、血便、稀便等大便性状的改变,部分患者的粪便中可出现坏死的黏膜。此时应考虑对患者停用抗菌药物。对于轻度腹泻,以及无严重疾病或并发症风险的患者,可以观察几天后再决定是否停用抗菌药物。与此同时,应纠正患者的体液和电解质失衡。避免使用抗肠道蠕动的药物,因其可能阻止毒素

[△] 通信作者, E-mail: 17763538760@163.com。
本文引用格式: 孟宪涛, 曹月, 郭占军. 艰难梭菌感染防治措施的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(22): 3338-3341.