

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.15.018

文章编号: 1005-8982(2016)15-0098-04

新进展研究

慢性阻塞性肺疾病患者血清腺苷酸环化酶 蛋白 -1 水平及其临床意义*

张冬,何慧洁,王慧敏,赵刚,赵子龙,张学军

(包头医学院第一附属医院 呼吸科,内蒙古 包头 014010)

摘要:目的 研究慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者腺苷酸环化酶蛋白-1(CAP1)水平及其临床意义。**方法** 选取 COPD 急性加重期患者 30 例(急性期组),稳定期患者 30 例(稳定期组),健康体检者 30 例(对照组),抽取静脉血 2 ml,采用酶联免疫法测定 CAP1 浓度;所有入选患者行肺功能检查。**结果** 急性期组血清 CAP1 浓度低于稳定期组($P=0.001$),稳定期组低于对照组($P=0.001$);Pearson 相关分析结果显示,急性期组和稳定期组血清 CAP1 浓度与第一秒用力呼气量占预计值的百分比(Predicted FEV1%)呈正相关($r=0.809, P=0.002$);急性期组和稳定期组血清 CAP1 浓度与第一秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比(FEV1/FVC%)呈正相关($r=0.840, P=0.001$)。**结论** 血清 CAP1 可能是 COPD 的保护因素,血清 CAP1 对判断病情严重程度有一定价值。

关键词: 腺苷酸环化酶蛋白-1;慢性阻塞性肺疾病;临床意义

中图分类号: R563.9

文献标识码: B

Level and clinical implication of serum CAP-1 in patients with chronic obstructive pulmonary disease*

Dong Zhang, Hui-jie He, Hui-min Wang, Gang Zhao, Zi-long Zhao, Xue-jun Zhang

(Department of Respiratory Diseases, the First Affiliated Hospital of Baotou
Medical College, Baotou, Neimenggu 014010, China)

Abstract: Objective To investigate the level and clinical implication of serum adenylyl cyclase-associated protein-1 (CAP-1) and its relationship with respiratory function in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods** The serum level of CAP-1 was measured by ELISA in 30 cases of acute exacerbations of COPD (AECOPD) and 30 patients with stable COPD, 30 cases of healthy volunteers were included as controls. Lung ventilatory functions were measured in all patients and healthy controls. **Results** The concentration of serum CAP-1 was significantly lower in the stable COPD patients than in the volunteers ($P=0.001$), and significantly lower in the patients with AECOPD than in the stable COPD patients ($P=0.001$). Pearson correlation analysis showed that the level of serum CAP-1 was positively correlated with predicted FEV1% ($r=0.809, P=0.002$) and FEV1/FVC% ($r=0.840, P=0.001$). **Conclusions** Serum CAP-1 may be a protective factor of COPD, which has certain value in the evaluation of COPD.

Keywords: adenylyl cyclase-associated protein-1; chronic obstructive pulmonary disease; clinical implication

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种严重危害人类健康的

常见病、多发病,严重影响患者的生命质量,病死率较高,给患者及其家庭,以及社会带来沉重的经济

收稿日期:2016-01-05

* 基金项目:包头市社会发展科技支撑项目(No:2014S2003-5-17)

[通信作者] 何慧洁, E-mail: san-er@sohu.com; Tel: 0472-2178302

负担^[1]。

腺苷酸环化酶相关蛋白(adenylyl cyclase-associated protein,CAP)有两种亚型(CAP1 和 CAP2)。早在 90 年代,哺乳动物和酵母的 CAP1 被证实在肌动蛋白中发挥重要作用^[2-4]。肌动蛋白的单体通过聚合和解聚完成细胞的运动,通过不同的聚合方式使细胞保持不同的形态。CAP1 能够与肌动蛋白单体结合,在肌动蛋白由单体组合成多聚体,以及多聚体解聚成单体的循环利用过程中起重要的枢纽作用。据报道,呼吸道上皮细胞产生 CAP1^[5-6]。本文探讨血清 CAP1 含量在 COPD 患者中的意义。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 1 月-2015 年 10 月在包头医学院第一附属医院呼吸科住院治疗的 COPD 急性加重期患者 30 例(急性期组)。其中,男性 18 例,女性 12 例;年龄 47~78 岁,平均(64.06±10.13)岁;同期呼吸科门诊稳定期患者 30 例(稳定期组)。其中,男性 21 例,女性 9 例;年龄 52~82 岁,平均(66.82±9.06)岁,诊断符合中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组制定的《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)》中 COPD 的诊断标准^[7],即根据临床表现有呼吸困难、慢性咳嗽或咳痰,且有暴露于危险因素病史的患者,进行肺功能检查,吸入支气管舒张剂后一秒用力呼气容积(forced expiratory volume in one second,FEV1)/用力肺活量(forced vital capacity,FVC)<70%,除外其他疾病后确诊为慢阻肺。同期本院体检科健康体检者 30 例(对照组)。其中,男性 20 例,女性 10 例;年龄 45~76 岁,平均(61.83±8.24)岁。所有入选患者排除肺癌、肺炎及支气管哮喘。所有纳入的研究对象签署知情同意书,并取得包头医学院第一附属医院伦理委员会的审核批准。3 组一般资料比较差异无统计学意义,具有临床可比性。

1.2 标本采集

抽取入选者空腹静脉血 2 ml,室温血液自然凝固 10~20 min,3 000 r/min 离心 20 min。收集上清液,标本置于 -20℃冰箱冷冻保存。

1.3 肺功能检测

对所有入选对象使用德国耶格肺功能仪,测定并记录吸入支气管扩张剂后第一秒用力呼气容积占用力肺活量的百分比(forced expired volume in one

second to forced vital capacity ratio,FEV1/FVC%)、第一秒用力呼气量占预计值的百分比(forced expired volume in one second to predicted value,Predicted FEV1%)。

1.4 检测方法及试剂

采用酶联免疫吸附试验测定患者血清 CAP1 浓度,试剂盒购自武汉贝茵莱公司 Bioswamp 品牌,检测步骤严格按照说明书进行操作。在酶标包被板设标准品孔、空白孔以及待测样品孔,加样,用封板膜封板后置 37℃温育 30 min,用洗涤液反复洗涤 5 次,拍干,每孔加入酶标试剂 50 μl,空白孔除外。温育 30 min 后洗涤,加入显色剂,37℃避光显色 15 min,加入终止液后 15 min,150 nm 波长依序测量各孔的吸光度值,最后计算样品浓度。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,正态分布、方差齐的多组间比较用单因素方差分析(One-way,ANOVA),组间两两比较用 q 检验。CAP1 与肺功能的相关性用 Pearson 相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CAP1、FEV1/FVC%、Predicted FEV1%比较

3 组 CAP1、FEV1/FVC%、Predicted FEV1%比较,经方差分析,差异有统计学意义($F = 354.82, 229.50$ 和 $203.47, P = 0.000$)。组间 CAP1、FEV1/FVC%、Predicted FEV1%的两两比较,经 q 检验,差异有统计学意义(稳定期与急性期组比较, $P = 0.001$;稳定期与对照组比较, $P = 0.001$)。见附表。

2.2 急性期组和稳定期组血清 CAP1 浓度与 Predicted FEV1%及 FEV1/FVC%的相关性分析

急性期组和稳定期组血清 CAP1 浓度与 Predicted FEV1%呈正相关($r = 0.809, P = 0.002$),急性期

附表 3 组 CAP1、FEV1/FVC%、Predicted FEV1%比较
($n = 30, \bar{x} \pm s$)

组别	CAP1/(pg/ml)	Predicted FEV1%	FEV1/FVC%
急性期组	462.48 ± 76.33	44.34 ± 6.63	51.57 ± 7.61
稳定期组	783.19 ± 82.17 ⁽¹⁾⁽²⁾	55.82 ± 7.13 ⁽¹⁾⁽²⁾	67.28 ± 11.94 ⁽¹⁾⁽²⁾
对照组	1265.32 ± 169.84 ⁽¹⁾	78.70 ± 5.02 ⁽¹⁾	96.69 ± 6.40 ⁽¹⁾
F 值	354.821	229.502	203.473
P 值	0.000	0.000	0.000

注:1)与急性期组比较, $P = 0.001$;2)与对照组比较, $P = 0.001$

组和稳定期组血清 CAP1 浓度与 FEV1/FVC%呈正相关($r=0.840, P=0.001$)。见图 1、2。

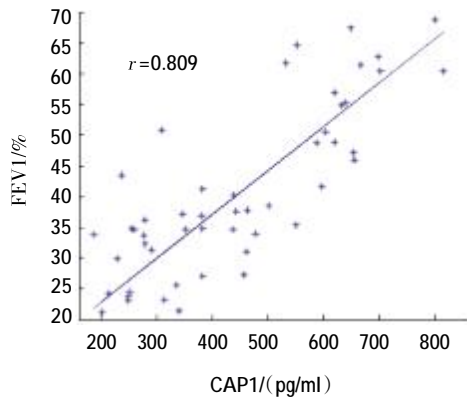


图 1 血清 CAP1 浓度与 Predicted FEV1%的相关性分析

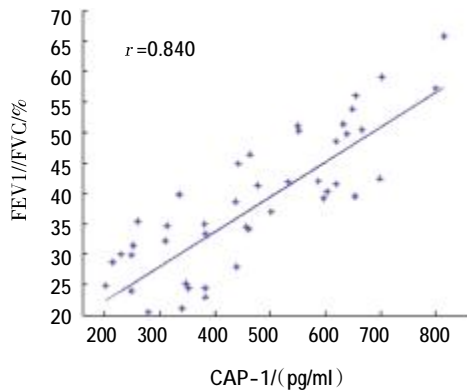


图 2 血清 CAP1 浓度与 FEV1/FVC%的相关性分析

3 讨论

COPD 是一种以持续气流受限为特征的疾病,气流受限呈进行性发展,肺功能逐年下降。气道及其周围组织的慢性炎症导致气道上皮细胞损伤,气道上皮细胞对吸入环境中的有害颗粒和微生物有保护屏障作用,上皮细胞损伤后,为维持屏障的完整性,会启动一系列修复过程,修复过程导致气道壁结构重塑,胶原含量增加及瘢痕组织形成,该病理改变造成气道狭窄,引起固定性气道阻塞。

CAP 是一种多种功能的蛋白质,首先在酵母中被发现,是一种高度保守、广泛分布的、参与细胞骨架重构的蛋白质。其由两部分组成,N-末端结构域为腺苷酸环化酶提供一个结合位点,C-末端结构域具有肌动蛋白结合的活性。CAP 广泛分布于整个细胞质,并集中在细胞膜和迁移成纤维细胞的伪足中^[7-9]。CAP1 是由 CAP1 基因编码的一种肌动蛋白单体结合蛋白,其最初是从芽殖酵母中 *ras* 基因的下流基因克隆^[10-11]。肌动蛋白是细胞保持细胞形态和细

胞运动的基本单位,肌动蛋白的单体通过聚合和解聚完成细胞的运动,通过不同的聚合方式使细胞保持不同的形态。CAP1 能够和肌动蛋白单体结合,在肌动蛋白由单体组合成多聚体,以及多聚体解聚成单体的循环利用过程中起重要的枢纽作用^[6,12]。本研究结果显示,COPD 急性加重期患者血清 CAP1 明显低于稳定期患者,且两者均低于对照组,提示血清 CAP1 与 COPD 急性加重有关。

COPD 是一种发病率高、预后差的慢性呼吸道疾病,如果能早期做出判断,预测 COPD 患者的预后,并据此进行针对性治疗,可有效改善患者的预后。本研究中 COPD 急性加重期患者血清 CAP1 浓度为(462.48 ± 76.33)pg/ml,明显低于稳定期患者(783.19 ± 82.17)pg/ml,与 XIE 等^[13]的研究一致。Pearson 相关分析结果表明,急性期组和稳定期组血清 CAP1 与 FEV1/FVC%呈正相关($r=0.840, P=0.001$),急性期组和稳定期组血清 CAP1 与 Predicted FEV1%呈正相关($r=0.809, P=0.002$),体内 CAP1 水平越低, Predicted FEV1%越低,气流受限越重,病情越重,提示血清 CAP1 可能是 COPD 的保护因素,血清 CAP1 对判断病情严重程度有一定价值。

研究表明,CAP1 在细胞骨架重构和肺泡细胞的迁移中起关键作用,CAP1 作为金属基质蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的生物作用靶点,推测 CAP1 与 MMP-9 结合,当细胞溶解,CAP1 能够进入细胞外环境,成为高效的 MMP-9 底物^[14-15]。MMP-9 是调节细胞外基质降解合成的主要酶类,MMP-9 的增加可引起呼吸道壁细胞外基质降解增加,并能在呼吸道上皮细胞基底膜上打孔,促使炎症细胞游出,聚集于靶器官,从而加重呼吸道壁的炎症反应。XIE 等^[13]研究认为,在 COPD 患者中 CAP1 和 MMP-9 的表达呈负相关,COPD 组与非 COPD 组比较,MMP-9 高表达而 CAP1 度表达。CAP1 与 MMP-9 的相互作用可能在 COPD 气道阻塞中起主要作用。

综上所述,血清 CAP1 可作为评估 COPD 急性加重的有价值的指标之一,为临床诊断及判断病情提供一个新的检测方法。

参 考 文 献:

- [1] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013 年修订版)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36(4): 255-264.

- [2] HUA M, YAN S, DENG Y, et al. CAP1 is overexpressed in human epithelial ovarian cancer and promotes cell proliferation[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 35(4): 941-949.
- [3] PETERS D E, SZABO R, FRIIS S, et al. The membrane-anchored serine protease prostasin (CAP1/PRSS8) supports epidermal development and postnatal homeostasis independent of its enzymatic activity[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(21): 14740-14749.
- [4] GONG Y, YU M, YANG J, et al. The Cap1-claudin-4 regulatory pathway is important for renal chloride reabsorption and blood pressure regulation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(36): 3766-3774.
- [5] LEE S, LEE H C, KWON Y W, et al. Adenylyl cyclase-associated protein 1 is a receptor for human resistin and mediates inflammatory actions of human monocytes[J]. *Cell Metab*, 2014, 19(3): 484-497.
- [6] ZHANG H, LIU Y, LI Y, et al. The expression of CAP1 after traumatic brain injury and its role in astrocyte proliferation[J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 54(4): 653-663.
- [7] JANSEN S, COLLINS A, GOLDEN L, et al. Structure and mechanism of mouse cyclase-associated protein (CAP1) in regulating actin dynamics[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(44): 30732-30742.
- [8] ZHANG H, GHAI P, WU H, et al. Mammalian adenylyl cyclase-associated protein 1 (CAP1) regulates cofilin function, the actin cytoskeleton, and cell adhesion [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(29): 20966-20977.
- [9] ZHANG S, WANG Q, WANG J, et al. Two mutations in the C-terminal domain of influenza virus RNA polymerase PB2 enhance transcription by enhancing cap-1 RNA binding activity[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1819(1): 78-83.
- [10] THILLIER Y, DECROLY E, MORVAN F, et al. Synthesis of 5' cap-0 and cap-1 RNAs using solid-phase chemistry coupled with enzymatic methylation by human guanine-N (7)-methyl transferase[J]. *RNA*, 2012, 18(4): 856-868.
- [11] RAMIREZ-ZAVALA B, MOGAVERO S, SCHOLLER E, et al. SAGA/ADA complex subunit Ada2 is required for Cap, but not mrr1-mediated upregulation of the candida albicans multidrug efflux pump MDR1[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(9): 5102-5110.
- [12] CRISANTE G, BATTISTA L, IWASZKIEWICZ J, et al. The CAP1/Prss8 catalytic triad is not involved in PAR2 activation and protease nexin-1 (PN-1) inhibition[J]. *FASEB J*, 2014, 28(11): 4792-4805.
- [13] XIE S S, HU F, TAN M, et al. Identification of a human cDNA encoding a protein that is structurally and functionally related to the yeast adenylyl cyclase-associated CAP proteins[J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 42(6): 1272-1284.
- [14] ZHOU G L, ZHANG H, WU H, et al. Phosphorylation of the cytoskeletal protein CAP1 controls its association with cofilin and actin[J]. *J Cell Sci*, 2014, 127(Pt 23): 5052-5065.
- [15] PATTERSON M J, MCKENZIE C G, SMITH D A, et al. Ybp1 and Gpx3 signaling in candida albicans govern hydrogen peroxide-induced oxidation of the Cap1 transcription factor and macrophage escape [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19 (18): 2244-2260.

(童颖丹 编辑)