

# C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 4 研究进展

高 洁 顾 刚 陆 林 王晓群

**【摘要】** C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白(C1q/tumor necrosis factor-related proteins, CTRPs)是一类新发现的蛋白超家族,与脂联素具有高度同源性。CTRP 组织分布广泛,生物学功能多样,参与调节物质代谢、血管壁细胞功能、血小板聚集、炎症反应等。CTRP4 是该家族成员之一,其结构特殊,包含 2 个球状 C1q 结构域,缺乏胶原结构域。CTRP4 对肿瘤、代谢、炎症及心血管疾病有重要调节作用。该文介绍 CTRP4 的结构特点、分布表达及其生物学功能。

**【关键词】** C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白 4; 动脉粥样硬化; 肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2016.02.011

## 1 概述

C1q 肿瘤坏死因子相关蛋白(CTRP)超家族是一组分泌性蛋白质,由 Harvey Lodish<sup>[1]</sup>和他同事发现并命名,与脂联素具有序列上的高度同源性。其蛋白结构含有 4 个共同的结构域:N 末端信号肽、短的可变区域、胶原蛋白结构域以及 C 端球状结构域。CTRP 的空间结构多为同源三聚体,也可形成异源六聚体,如 CTRP1 与 CTRP6、CTRP2 与 CTRP7、CTRP2 与脂联素、CTRP9 与脂联素、CTRP10 与 CTRP13 都可形成异源六聚体<sup>[2-4]</sup>。其中,球状 C1q 结构域的三维结构与肿瘤坏死因子(TNF)同源结构域(homology domain, THD)的 C 端非常相似,而 THD 是 TNF 家族成员的特征结构<sup>[5]</sup>,故推测 CTRPs 的生物活性主要由 C1q 介导。

CTRP 蛋白家族成员众多,具有广泛的生物学活性,其分布与表达在不同组织中存在差异<sup>[2,6-11]</sup>。如 CTRP1、CTRP2、CTRP3、CTRP5、CTRP9、CTRP12、CTRP13 通过抑制肝糖原的产生,促进脂肪细胞对葡萄糖的摄取,降低血糖,增加胰岛素的敏感性<sup>[2,12]</sup>。CTRP1 还可促进醛固酮的合成和释放<sup>[13]</sup>。研究发现,肥胖及代谢综合征、2 型糖尿病、高血压患者血清 CTRP1 水平明显上升<sup>[13-15]</sup>。我们课题组的研究证实,血清 CTRP1 是冠状动脉硬化性心脏病(冠心病)及其严重程度的重要预测因子。CTRP1 通过激活 p38-NF- $\kappa$ B 通路,诱导血管

内皮细胞炎症因子的释放和细胞表面黏附分子的表达,增加白细胞与血管内皮的相互作用及白细胞浸润。动物实验证实,腹腔注射 CTRP1 重组蛋白可使小鼠主动脉斑块面积显著增加,而 CTRP1 基因敲除小鼠的斑块进展明显减缓<sup>[16]</sup>。与之相反,Kopp 等<sup>[9]</sup>发现,CTRP3 竞争性结合 Toll 样受体 4(Toll like receptor 4, TLR4)可减轻巨噬细胞、脂肪细胞以及结肠成纤维细胞中脂多糖(LPS)诱导的炎症反应;CTRP9 则通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路,减轻心脏缺血再灌注后梗死心肌面积以及缺氧诱导的心肌细胞的凋亡<sup>[17]</sup>。最近的一项研究也提示,CTRP9 可通过激活 AMPK 通路抑制血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)以及单核细胞趋化因子-1(MCP-1)的表达<sup>[18]</sup>。此外,CTRP1 具有抗血小板聚集的功能;CTRP3、CTRP5、CTRP9 具有舒张血管活性;CTRP3 还可通过激活细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2)和 p38-丝裂原蛋白激活激酶(MAPK)信号通路诱导内皮细胞增生和迁移,调节血管的新生<sup>[19]</sup>;也可通过激活丝氨酸/苏氨酸激酶(Akt)信号通路减轻心肌细胞凋亡,抑制间质纤维化,增加心肌梗死后血管再生。因此,CTRP 在心血管系统中具有多重调节功能,家族各成员相互间的协同、制约和平衡可能是维持心血管稳态的关键。

## 2 CTRP4

### 2.1 CTRP4 的结构特点

谭伟峰等<sup>[20]</sup>利用反向生物学技术,通过双荧光素酶报告基因检测系统(dual luciferase report assay)平台在国际上首先筛选出 CTRP4 基因,它位

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81400211)

作者单位:200025,上海交通大学医学院附属瑞金医院心脏科

通信作者:顾 刚,Email:gugang@medmail.com

于第 11 号染色体,全长 4 746 bp。该基因编码含 329 个氨基酸的蛋白质,相对分子质量为 35 200,理论等电点为 8.38。CTRP4 是一种经典的分泌蛋白,信号肽切割位点位于 16 和 17 号氨基酸之间。CTRP4 是该家族中唯一包含 2 个典型的 C1q 结构域,而缺乏胶原样结构域(该区域存在于其他 CTRPs 家族成员中)的成员。

## 2.2 CTRP4 的表达与分布

研究发现,CTRP4 在小鼠心脏、肝脏、脑、肾脏等组织中高表达。对正常肝组织切片进行免疫组化检测显示,CTRP4 在肝细胞和胆管上皮细胞有较高的表达水平。同样,CTRP4 mRNA 在肝癌细胞系 HepG2 和人类结肠癌细胞系 HT29 亦有少量表达<sup>[21]</sup>。

## 2.3 CTRP4 的生物学功能

### 2.3.1 CTRP4 与肿瘤

CTRP4 的过表达可激活 NF- $\kappa$ B 和白细胞介素-6/信号转导与转录激活因子 3(IL-6/STAT3)信号通路,进而诱导大量肿瘤相关细胞因子如 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的产生<sup>[22]</sup>。而且,CTRP4 在肝癌细胞系 HepG2 和人类结肠癌细胞系 HT29 中有表达,故推测 CTRP4 与肿瘤的发生、发展相关。

NF- $\kappa$ B 诱导和维持慢性炎症的微环境是促进肿瘤形成最主要的机制。促进肿瘤细胞增殖,加速血管新生,并促进上皮细胞-间充质细胞转分化,从而加快肿瘤细胞的远处转移。在某些情况下,NF- $\kappa$ B 还可改变宿主细胞的局部代谢,破坏其免疫防御系统,促进肿瘤的生长<sup>[23]</sup>。

IL-6 是调节 STAT3 通路的主要细胞因子,与 IL-6 受体结合后激活胞质 JAK 酪氨酸激酶,引起 STAT3 的磷酸化,调控细胞凋亡抑制基因 Bcl-xL、Mcl-1、X2AP、C-myc 和 Fas 在内的多种基因转录,参与调节肿瘤细胞的生存、增殖、分化、侵袭、炎症及免疫抑制等<sup>[24]</sup>。这些证据提示 CTRP4 与肿瘤相关,并可能是一种新的肿瘤预测血清标志物和潜在的治疗靶点。

### 2.3.2 CTRP4 与代谢

CTRP4 表达于睾丸、肾脏、脂肪和脑等组织中,在脑组织中主要由神经元表达和分泌。CTRP4 可作用于下丘脑,调节能量代谢,控制摄食和体质量。当给予野生型 C57BL/6 雄性小鼠禁食 16 h,再重新喂食 3 h 后,检测到下丘脑中 CTRP4 的表达升高 2 倍,但是在中枢内其他区域如大脑皮质、小脑、海马区 CTRP4 的表达量无改

变。颅内给予重组 CTRP4 蛋白后,小鼠摄食量与对照组相比明显下降,体质量减轻。研究发现 CTRP4 控制摄食的作用与抑制下丘脑中增进食欲的神经肽基因的表达有关<sup>[25]</sup>。

### 2.3.3 CTRP4 与炎症

炎症性肠病的主要病理改变是肠黏膜屏障的破坏和异常的固有层白细胞浸润。巨噬细胞可以调节固有免疫,维持肠黏膜的稳定,其功能发生改变时,引起大量促炎因子如 TNF- $\alpha$  等分泌,被认为是炎症性肠病发展的因素之一。体内试验发现,CTRP4 转基因小鼠在右旋葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导的结肠炎中有保护作用。体外实验也发现,人重组 CTRP4 可抑制巨噬细胞中 LPS 诱导的 TNF- $\alpha$  炎症因子的表达,提示 CTRP4 对炎症性肠病具有潜在的保护作用,为治疗炎症性肠病提供了新的思路。

### 2.3.4 CTRP4 与心血管疾病

目前尚无 CTRP4 与心血管疾病相关性的报道,但我们此前的研究显示,同家族成员如 CTRP1 的水平与冠心病及其严重程度相关<sup>[26]</sup>。我们尚未发表的研究数据也显示,冠心病患者血清 CTRP4 水平显著升高[冠心病组( $10.14 \pm 5.06$ )  $\mu$ g/L,正常组( $8.73 \pm 2.50$ )  $\mu$ g/L,  $P < 0.05$ ],且与 TNF- $\alpha$  和 IL-6 等促炎因子的水平呈正相关。在体外实验中,用 CTRP4 重组蛋白刺激人脐静脉内皮细胞(human umbilical vascular endothelial cell, HUVEC)后,TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1 等炎症因子的表达增加,细胞表面 VCAM-1、ICAM-1 等黏附分子的表达量上调,提示 CTRP4 参与了动脉粥样硬化的病理过程。我们的预实验显示,在 CTRP4 刺激下,HUVEC 中血管内皮生长因子(VEGF)的表达及分泌明显增加,并可增加血管内皮生长因子受体 2(VEGFR2)的磷酸化水平,刺激内皮细胞增殖,提示 CTRP4 可能还参与了血管新生。

总之,尽管有关 CTRP4 的研究尚不够充分,但均提示其在慢性炎症性疾病中有重要作用。在冠心病患者中,CTRP4 的血清水平升高,与 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症因子水平正相关,提示其在动脉粥样硬化病变的进展中具有潜在的促进作用,但具体生物学功能和作用机制仍待进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Wong GW, Wang J, Hug C, et al. A family of Acrp30/adiponectin structural and functional paralog [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(28): 10302-10307.
- [2] Wong GW, Krawczyk SA, Kitidis-Mitrokostas C, et al.

- Molecular, biochemical and functional characterizations of C1q/TNF family members: adipose-tissue-selective expression patterns, regulation by PPAR-gamma agonist, cysteine-mediated oligomerizations, combinatorial associations and metabolic functions[J]. *Biochem J*, 2008, 416(2): 161-177.
- [3] Peterson JM, Wei Z, Wong GW. CTRP8 and CTRP9B are novel proteins that hetero-oligomerize with C1q/TNF family members[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 388(2): 360-365.
- [4] Wei Z, Peterson JM, Wong GW. Metabolic regulation by C1q/TNF-related protein-13 (CTRP13): activation OF AMP-activated protein kinase and suppression of fatty acid-induced JNK signaling[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(18): 15652-15665.
- [5] Kishore U, Gaboriaud C, Waters P, et al. C1q and tumor necrosis factor superfamily: modularity and versatility[J]. *Trends Immunol*, 2004, 25(10): 551-561.
- [6] Peterson JM, Seldin MM, Tan SY, et al. CTRP2 overexpression improves insulin and lipid tolerance in diet-induced obese mice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): 01-09.
- [7] Peterson JM, Wei Z, Wong GW. C1q/TNF-related protein-3 (CTRP3), a novel adipokine that regulates hepatic glucose output[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(51): 39691-39701.
- [8] Hofmann C, Chen N, Obermeier F, et al. C1q/TNF-related protein-3 (CTRP-3) is secreted by visceral adipose tissue and exerts antiinflammatory and antifibrotic effects in primary human colonic fibroblasts[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(12): 2462-2471.
- [9] Kopp A, Bala M, Buechler C, et al. C1q/TNF-related protein-3 represents a novel and endogenous lipopolysaccharide antagonist of the adipose tissue [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(11): 5267-5278.
- [10] Kopp A, Bala M, Weigert J, et al. Effects of the new adiponectin paralogous protein CTRP-3 and of LPS on cytokine release from monocytes of patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Cytokine*, 2010, 49(1): 51-57.
- [11] 那达祥, 马壮, 罗阳, 等. 脂肪细胞因子 CTRP4 转基因鼠的构建与鉴定[J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(7): 1671-7856.
- [12] Seldin MM, Tan SY, Wong GW. Metabolic function of the CTRP family of hormones[J]. *Rev Endocr Metab Disord*. 2014, 15(2):111-123.
- [13] Jeon JH, Kim KY, Kim JH, et al. A novel adipokine CTRP1 stimulates aldosterone production[J]. *FASEB J*, 2008, 22(5):1502-1511.
- [14] Chalupova L, Zakovska A, Adamcova K. Development of a novel enzyme-linked immuosorbent assay (ELISA) for measurement of serum CTRP1: a pilot study: measurement of serum CTRP1 in healthy donors and patients with metabolic syndrome[J]. *Clin biochem*, 2013, 46(1-2):73-78.
- [15] Pan X, Lu T, Wu F et al. Circulating complement-C1q TNF-related protein 1 levels are increased in patients with type2 diabetes and are associated with insulin sentivity in Chinese subjects[J]. *PLoS One* 2014, 9(5):01-06.
- [16] Lu L, Zhang RY, WangXQ, et al. C1q TNF-related protein 1: an adipokine marking and promoting atherosclerosis[J]. *Eur Heart*, 2015, Dec 24. pii: ehv649.
- [17] 李春明, 陆林, 陈秋静, 等. 血清 CTRP9 水平与冠心病的关系[J]. *国际心血管病杂志* 2013, 40(5):323-325.
- [18] Jung CH, Lee MJ, Kang YM et al. C1q/TNF-related protein-9 inhibits cytokine-induced vascular inflammation and leukocyte adhesiveness via AMP-activated protein kinase activation in endothelial cells[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2016, 419(5):235-243.
- [19] 刘珠慧, 陆林, 沈卫峰 CTRP 蛋白家族与动脉粥样硬化[J]. *国际心血管病杂志*, 2013, 40(02): 85-87.
- [20] 谭伟峰, 王兰兰, 李琦, 等. 人类新基因 CTRP4 的原核表达及多克隆抗体的制备[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(06): 614-617+622.
- [21] Li Q, Wang L, Tan W, et al. Identification of C1qTNF-related protein 4 as a potential cytokine that stimulates the STAT3 and NF-kappaB pathways and promotes cell survival in human cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2011, 308(2): 203-214.
- [22] Grivennikov S, Karin E, Terzic J, et al. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(2): 103-113.
- [23] Xia Y, Shen S, Verma IM. NF-kappaB, an active player in human cancers [J]. *Cancer immunol res* 2014, 2(9): 823-830.
- [24] Yu H, Lee H, Herrmann A, et al. Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological functions [J]. *Nat rev Cancer* 2014, 14(11):736-746.
- [25] Byerly MS, Petersen PS, Ramamurthy S, et al. C1q/TNF-related protein 4 (CTRP4) is a unique secreted protein with two tandem C1q domains that functions in the hypothalamus to modulate food intake and body weight[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(7): 4055-4069.
- [26] 孟华, 陆林, 张瑞岩, 等. 炎症因子 CTRP1 血清水平与冠心病的研究[J]. *国际心血管病杂志*, 2012, 39(04): 242-244.

(收稿:2015-12-18 修回:2016-02-12)

(本文编辑:丁媛媛)