

肝素结合蛋白分泌机制及其早期诊断脓毒症研究进展

许 程 综述,徐元宏[△] 审核
(安徽医科大学第一附属医院检验科,安徽合肥 230041)

关键词: 肝素结合蛋白; 脓毒症; 生物标志物
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.01.043 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)01-0100-02

肝素结合蛋白(HBP)是存在于中性粒细胞嗜苯胺蓝颗粒和分泌颗粒中的一种蛋白分子^[1]。由 Shafer 等^[2]发现,因其带正电荷,具有杀菌活性,相对分子量为 37×10^3 而被命名为 CAP37。后来 Gabay 等^[3]将其命名为天青杀素。1991 年, Flodgaard 等^[4]发现其具有极强的结合肝素能力,将其命名为肝素结合蛋白,二者结合后 HBP 的活性明显受抑制^[5]。HBP 作为中性粒细胞分泌的重要颗粒蛋白,具有显著的杀菌活性、趋化特性及调节炎症反应作用,逐渐成为研究的热点。有研究报道,HBP 可辅助诊断局部感染,如急性细菌性脑膜炎、儿童尿路感染等。近期研究发现脓毒症患者血浆 HBP 水平明显升高,可以作为严重脓毒症早期预警生物标志物,与疾病的严重程度有关^[6-10]。在此,本研究对中性粒细胞释放 HBP 机制及其对脓毒症早期诊断价值进行阐述。

1 HBP 生物学特性

HBP 为 222 个氨基酸组成的单链蛋白质,含 8 个半胱氨酸残基,在第 100、114 和 145 位天冬氨酸上有糖基化位点,与中性粒细胞弹性蛋白酶同源率为 45%,与其他颗粒衍生丝氨酸蛋白酶同源率为 30%~37%^[11]。HBP 具有带大量正电荷的氨基酸残基,且集中在该蛋白的一侧,使得其具有明显的电极性。同时,其 20~44 位氨基酸残基组成一个 V 字型疏水口袋结构,该结构对内毒素脂质 A 具有高亲和力^[12]。

HBP 最初因其杀菌活性被发现,后来研究发现 HBP 对炎症反应及凝血功能具有重要调节作用。HBP 可诱导血管内皮细胞骨架重排及细胞间隙的形成,影响其通透性,导致血管渗漏^[13-14]。作为一种趋化物质,HBP 可激活单核/巨噬细胞,释放 TNF- α 、IFN- γ 等炎性介质^[15-18]。

2 HBP 分泌机制

HBP 在中性粒细胞成熟过程中已经被合成,约 74% 储存于嗜苯胺蓝颗粒中,18% 在分泌小泡中,8% 存在于质膜上。中性粒细胞受刺激物激活后,HBP 可大量释放,关于其产生释放机制的研究相对较少,目前已知 HBP 可能释放机制如下。

2.1 M 蛋白-纤维蛋白原- β_2 整合素复合物机制 M 蛋白存在于链球菌细胞壁表面,是其重要的毒力因子。M 蛋白与纤维蛋白原结合,形成 M 蛋白-纤维蛋白原复合物,在二价阳离子存在条件下,该复合物被中性粒细胞表面 β_2 整合素识别并结合,构象改变,中性粒细胞聚集、活化,M 蛋白氨基末端动员 HBP 释放。M 蛋白诱导 HBP 释放依赖细胞表面受体样结构,酪氨酸激酶抑制剂、磷脂酰肌醇-3 激酶抑制剂等作用于跨膜信号转导途径的分子及 β_2 整合素抑制剂可阻断 M 蛋白诱导的 HBP 释放效应^[19-21]。

2.2 p38-丝裂原活化蛋白激酶(p38-MAPK)信号通路 链球

菌溶血素(SLO)是溶血性链球菌产生的一种细胞溶解外毒素。SLO 通过对中性粒细胞膜进行穿孔,激活细胞,引发细胞外钙离子内流进入细胞内,激活 p38-MAPK 信号通路,诱导 HBP 释放^[22]。

2.3 白三烯受体途径 白三烯 B₄(LTB₄)是花生四烯酸代谢产物之一,可被中性粒细胞膜表面 BLT1 受体识别并结合,激活细胞内磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)信号通路,诱导 HBP 释放^[23]。

3 HBP 诊断早期脓毒症临床价值

脓毒症是导致危重患者死亡的重要原因,且近年来其患病率仍在上升,早期诊断对于降低病死率,改善预后至关重要^[24]。众所周知,凝血功能紊乱、全身炎症反应失衡是造成脓毒症时器官功能障碍乃至衰竭的重要原因^[25]。研究表明,炎症反应早期,中性粒细胞趋化、游走、激活引起的病理生理过程是造成内皮细胞损伤的始动因素^[26],据此推测,HBP 可能在脓毒症的发生发展中起着重要作用。

HBP 主要由中性粒细胞受刺激时释放入血,正常人血浆 HBP 浓度很低,一般不超过 10 ng/mL,脓毒性休克患者血浆 HBP 水平显著升高,HBP 可以用于预测休克和循环衰竭的发生^[27-28]。Linder 等^[29]认为血浆 HBP 水平大于 15 ng/mL 是严重脓毒症诊断的最佳实验室指标,敏感性达 87.1%,特异性 95.1%,阳性预测值 88.4%,阴性预测值 94.5%。Akesson 等^[30]发现脓毒症组血浆 HBP 水平明显高于对照组,动态检测 HBP 水平可辅助判断脓毒症转归,HBP 水平与疾病严重程度有关,高 HBP 水平使患者死亡风险增加。脓毒症患者在出现血压降低前,HBP 水平已升高,对 338 名严重脓毒症患者的调查研究发现,143 名患者在发生器官衰竭前仅有 HBP 升高的表现,其中 80% 血浆 HBP 浓度大于 30 ng/mL,平均在 10.5 h 后出现器官衰竭。

黄爱蓉等^[31]发现,HBP 高于 6.79 ng/mL 对预测脓毒症患儿的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 84.21%、84.09%、69.57% 和 92.50%,联合检测 HBP 和剩余碱可提高特异度。对此,我们还需要更多的研究去验证其临床应用价值。

综上所述,HBP 是中性粒细胞释放的一种颗粒蛋白,其产生释放机理还需要进一步研究^[32]。HBP 作为临床新兴炎症标志物,具有高灵敏度及特异度的优点,如何将 HBP 与传统炎症标志物结合,以寻找更加快速、特异、灵敏的诊断脓毒症的指征,仍需要进一步探索研究。随着对 HBP 研究的深入,有理由相信 HBP 将会作为相当有价值的生物标志物在脓毒症的诊断中发挥更大的作用。

参考文献

- [1] Tapper H, Karlsson A, Morgelin M, et al. Secretion of heparin-binding protein from human neutrophils is determined by its localization in azurophilic granules and secretory vesicles[J]. *Blood*, 2002, 99(5): 1785-1793.
- [2] Shafer W ML, Spitznagel J. Cationic antimicrobial proteins isolated from human neutrophil granulocytes in the presence of diisopropyl fluorophosphate[J]. *Infect Immun*, 1984, 45(1): 29-35.
- [3] Gabay J, Scott R, Campanelli D, et al. Antibiotic proteins of human polymorphonuclear leukocytes[J]. *Clin Res*, 1989, 37(2): A563.
- [4] Flodgaard H, ? stergaard E, Bayne S, et al. Covalent structure of two novel neutrophil leucocyte - derived proteins of porcine and human origin[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1991, 197(2): 535-547.
- [5] McCabe D, Cukierman T, Gabay JE. Basic residues in azurocidin/HBP contribute to both heparin binding and antimicrobial activity [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(30): 27477-27488.
- [6] Linder A, Akesson P, Brink M, et al. Heparin-binding protein: A diagnostic marker of acute bacterial meningitis[J]. *Crit Care Med*, 2011, 39(4): 812-817.
- [7] Kjölmark C, Akesson P, Linder A. elevated urine levels of heparin-binding protein in children with urinary tract infection[J]. *Pediatric Nephrology*, 2012, 27(8): 1301-1308.
- [8] Holub M, Beran O. Should heparin-binding protein levels be routinely monitored in patients with severe sepsis and septic shock [J]. *Critical Care*, 2012, 16(3): 1-2.
- [9] Linder A, Arnold R, Zindovic M, et al. Heparin-binding protein improves prediction of severe sepsis in the emergency department [J]. *Critical Care*, 2013, 17(4): 3-4.
- [10] Chew MS, Linder A, Santen S, et al. Increased plasma levels of heparin-binding protein in patients with shock: a prospective, cohort study[J]. *Inflamm Res*, 2012, 61(4): 375-379.
- [11] Pohl J, Pereira HA, Martin NM, et al. Amino acid sequence of CAP37, a human neutrophil granule-derived antibacterial and monocyte-specific chemotactic glycoprotein structurally similar to neutrophil elastase[J]. *FEBS Lett*, 1990, 272(1): 200-204.
- [12] Iversen LF, Kastrop JS, Bjorn SE, et al. Structure of HBP, a multifunctional protein with a serine proteinase fold[J]. *Nat Struct Biol*, 1997, 4(4): 265-268.
- [13] Gautam N, Olofsson AM, Herwald H, et al. Heparin-binding protein (HBP/CAP37): A missing Link in neutrophil-evoked alteration of vascular permeability[J]. *Nat Med*, 2001, 7(10): 1123-1127.
- [14] Linder A SO, Akesson P. Roles of heparin-binding protein in bacterial infections[J]. *J Innate Immun*, 2010, 2(5): 431-438.
- [15] Pereira HA, Ruan X, Kumar P. Activation of microglia: A neuroinflammatory role for CAP37[J]. *Glia*, 2003, 41(1): 64-72.
- [16] Soehnlein O, Xie X, Ulbrich H, et al. Neutrophil-derived heparin-binding protein (HBP/CAP37) deposited on endothelium enhances monocyte arrest under flow conditions[J]. *J Immunol*, 2005, 174(10): 6399-6405.
- [17] Schou M, Djurup R, Norris K, et al. Identifying the functional part of heparin-binding protein (HBP) as a monocyte stimulator and the novel role of monocytes as HBP producers[J]. *Innate Immun*, 2011, 17(1): 60-69.
- [18] Soehnlein O, Zernecke A, Eriksson EE, et al. Neutrophil secretion products pave the way for inflammatory monocytes[J]. *Blood*, 2008, 112(4): 1461-1471.
- [19] Herwald H, Cramer H, Morgelin M, et al. M protein, a classical bacterial virulence determinant, forms complexes with fibrinogen that induce vascular leakage[J]. *Cell*, 2004, 116(3): 367-379.
- [20] Linder A, Johansson L, Thulin P, et al. Erysipelas caused by group A streptococcus activates the contact system and induces the release of heparin-binding protein[J]. *J Invest Dermatol*, 2010, 130(5): 1365-1372.
- [21] Mcnamara C, Zinkernagel AS, Macheboeuf P, et al. Coiled-coil irregularities and instabilities in group A Streptococcus M1 are required for virulence[J]. *Science*, 2008, 319(58): 1405-1408.
- [22] Nilsson M, Sorensen OE, Morgelin M, et al. Activation of human polymorphonuclear neutrophils by streptolysin O from Streptococcus pyogenes leads to the release of proinflammatory mediators [J]. *Thromb Haemost*, 2006, 95(6): 982-990.
- [23] Di Gennaro A, Kenne E, Wan M, et al. Leukotriene B-4-induced changes in vascular permeability are mediated by neutrophil release of heparin-binding protein (HBP/CAP37/azurocidin) [J]. *FASEB J*, 2009, 23(6): 1750-1757.
- [24] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008[J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34(1): 17-60.
- [25] Gando S. Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome[J]. *Crit Care Med*, 2010, 38(2): 35-42.
- [26] Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(3): 159-175.
- [27] Dankiewicz J, Linder A, Annborn M, et al. Heparin-binding protein: an early indicator of critical illness and predictor of outcome in cardiac arrest[J]. *Resuscitation*, 2013, 84(7): 935-939.
- [28] Beran O, Herwald H, Dzipová O, et al. Heparin-binding protein as a biomarker of circulatory failure during severe infections: a report of three cases[J]. *Scand J Infect Dis*, 2010, 42(8): 634-636.
- [29] Linder A, Christensson B, Herwald H, et al. Heparin-binding protein: an early marker of circulatory failure in sepsis[J]. *Clin Infect Dis*, 2009, 49(7): 1044-1050.
- [30] Linder A, Akesson P, Inghammar M, et al. Elevated plasma levels of heparin-binding protein in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock[J]. *Crit Care*, 2012, 16(3): R90.
- [31] 黄爱蓉, 金益梅, 何时军. 血液肝素结合蛋白联合碱剩余对脓毒症患儿的预测价值[J]. *中华危重症医学杂志: 电子版*, 2013, 6(5): 16-19.
- [32] 吴凯, 李霖, 江华. 肝素结合蛋白的特性及在临床诊断中的应用 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2013, 11(1): 213-213.

(收稿日期: 2014-08-08)