

引用本文:方芳,严彩霞,方成志,等.亲环素 A/CD147 信号通路与新生儿缺氧缺血性脑损伤相关性研究进展[J].安徽医药,2023,27(9):1706-1709.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.09.003.



◇ 综述 ◇

## 亲环素 A/CD147 信号通路与新生儿缺氧缺血性脑损伤相关性研究进展

方芳,严彩霞,方成志,张丙宏

作者单位:武汉大学人民医院新生儿科,湖北 武汉 430060

通信作者:张丙宏,男,教授,博士生导师,研究方向为新生儿脑损伤,Email:zbh6288@163.com

基金项目:中央引导地方科技发展专项资金(鄂财教发[2016]109号);湖北省卫生健康委员会科研项目(WJ2019M84);

五师科技计划项目(2019SF023)

**摘要:** 新生儿缺氧缺血性脑损伤(HIBD)是围产期窒息的严重并发症,影响着病儿的早期存活和远期预后。亲环素 A(CypA)/CD147 信号通路参与细胞的增殖、趋化、凋亡、炎症以及神经元代谢等过程,与 HIBD 的发生发展密切相关,因此研究 CypA/CD147 的作用机制对 HIBD 诊断与治疗具有重要意义。该研究阐述了 CypA/CD147 的信号通路与缺血缺氧性脑损伤关系最新研究进展,以期为 HIBD 的治疗提供新的思路与方向。

**关键词:** 缺氧缺血,脑; 亲环素 A; CD147; 信号通路; 婴儿,新生

### Research progress in the relationship between cyclophilin A/CD147 signaling pathway and neonatal hypoxic-ischemic brain damage

FANG Fang, YAN Caixia, FANG Chengzhi, ZHANG Binghong

Author Affiliation: Department of Neonatology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China

**Abstract:** Neonatal hypoxic-ischemic brain damage (HIBD) is a serious complication of perinatal asphyxia, affecting the early survival and long-term prognosis of the newborn. Cyclophilin A (CypA)/CD147 signaling pathway participates in the proliferation, chemotaxis, apoptosis, inflammation, neuronal metabolism and is closely related to the occurrence and development of HIBD. Therefore, the role mechanism of CypA/CD147 is important for HIBD diagnosis and treatment. This article reviews the latest research progress in the relationship between CypA/CD147 signaling pathway and hypoxic-ischemic brain damage, in order to provide a new idea and direction for the treatment of HIBD.

**Key words:** Hypoxia-ischemia, brain; Cyclophilin A; CD147; Signaling pathway; Infant, newborn

新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是各种生理性或病理性因素导致围生期窒息,引起大脑部分或完全缺氧及脑血流减少或中断而导致新生儿脑损伤,是引起新生儿死亡及儿童发育障碍和永久性神经功能缺失(如脑瘫)的重要原因<sup>[1]</sup>。HIBD 发病率约为 3‰,其中约有 60% 病儿存活,30% 病儿遗留有神经功能障碍后遗症<sup>[2]</sup>。由于 HIBD 的分子机制和途径尚未明确,因此没有针对新生儿 HIBD 的特定药物治疗,氧化应激、神经炎症、线粒体功能障碍、谷氨酸兴奋毒性等因素被认为与 HIBD 相关,并最终导致细胞死亡,而神经元细胞死亡是 HIBD 后神经功能缺损的关键因素<sup>[1]</sup>。因此迫切需要阐明 HIBD 后细胞死亡机制并确定 HIBD 的潜在治疗方法。亲环素 A(cyclophilin A, CypA)是亲环素家族中关键成员,在蛋白质折叠

运输、免疫调节、机体炎症、细胞增殖、迁移等过程中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。CD147 又称细胞外基质金属蛋白酶诱导因子(extracellular matrix metalloproteinase inducer, EMMPRIN),是一种高度糖基化的跨膜糖蛋白,属于免疫球蛋白超家族成员,在神经炎症、维护血脑屏障、神经元代谢等过程中具有重要功能<sup>[4]</sup>。CD147 是 CypA 最主要的受体,在氧化应激、炎症、缺氧缺血等刺激下 CypA 可分泌到细胞外,与细胞表面受体 CD147 结合参与多种疾病的发生发展。CypA/CD147 信号通路的生物学功能广泛并与 HIBD 的病理机制相关,有可能为 HIBD 的治疗提供新的干预靶点。本研究就 CypA/CD147 信号通路的生物学功能及其与 HIBD 的关系以及在 HIBD 的诊断、治疗中的作用的研究进展综述如下。

## 1 CypA和CD147蛋白概述

CypA是亲免疫蛋白家族中细胞内分布最广、含量最多的成员,占胞质蛋白总含量的0.1%~0.6%<sup>[5]</sup>。人类CypA基因位于染色体7p13,互补DNA(cDNA)片段全长2 276 bp,编码165个氨基酸,相对分子质量为18 kD。CypA在大脑皮质中的含量最高,在胞质、核膜、线粒体、内质网等亚结构中均有表达,CypA结构高度保守的特性决定其在各种组织中表达差异小。CypA最早是从牛胸腺中分离出的一种胞质蛋白,对细胞免疫抑制剂环孢素A(cyclosporin A, CsA)的亲合力极高,CypA-CsA复合物通过抑制T细胞活化来发挥免疫抑制作用,用于移植后排斥反应<sup>[6]</sup>。随后研究者发现它具有肽酰-脯氨酰顺反异构酶活性,催化反式脯氨酸残基上肽键异构化为顺式,并促进蛋白质折叠和运输,除参与免疫调节、蛋白质折叠和运输、胆固醇代谢等,细胞内的CypA还在钙离子信号转导、血小板活化及胞质分裂等生物过程中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。在氧化应激、炎症、缺氧、缺血等条件下,CypA通过囊泡运输分泌至细胞外,发挥类细胞因子功能,促进细胞增殖、趋化,诱导基质降解、细胞凋亡及活性氧生成等,从而参与中枢神经系统疾病、病毒感染、肿瘤、心血管疾病的发生发展。

CD147是免疫球蛋白超家族的I型跨膜糖蛋白,最先被命名为肿瘤细胞衍生胶原酶刺激因子,后被发现能诱导基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)产生,被称为EMMPRIN<sup>[8]</sup>。因在不同物种、组织和细胞中分离并检测到相同的氨基酸序列,又被称为gp42、BSG、HT7、neurothelin、OX-47、M6、5A11<sup>[9]</sup>。人CD147基因位于染色体19p13.3,由10个外显子组成,跨度约12 kb。其结构包括两个免疫球蛋白结构域、一个跨膜结构域和一个胞质结构域,由于糖基化的不同,在不同组织中的表现各异,体现其功能的多效性<sup>[10]</sup>。除了细胞膜上表达外,还可作为可溶性蛋白由细胞分泌并释放到细胞外发挥生理功能。CD147广泛存在于血小板、内皮细胞、白细胞等多种细胞中,是一种多效分子,对胚胎的植入和正常生育至关重要,也是血脑屏障的构成以及视网膜发育和成熟所必需的。CypA/CD147在细胞迁移、黏附、侵袭、能量代谢、T细胞活化、基质降解等生理病理过程发挥作用,从而影响创伤愈合、心脏肥大和重塑、炎症、血栓形成及肿瘤的发生<sup>[11-13]</sup>。

## 2 CypA/CD147信号通路激活与HIBD的关系

**2.1 破坏血脑屏障** 血脑屏障是维持神经系统结构稳定性的重要部分,由排列在血管壁上的微血管

内皮细胞、星形胶质细胞末端、周细胞以及基底层组成,与神经元和小胶质细胞一起组成神经血管单元。血脑屏障将营养物质从血液运输到大脑,并防止血液中的毒素进入脑实质,维持脑内稳态并适当促进神经元功能<sup>[14]</sup>。正常情况下血脑屏障通过阻止T淋巴细胞进入,维持大脑内的微环境稳态和免疫系统,内皮细胞活化、紧密连接蛋白的丧失和细胞骨架重排可能是缺氧缺血后血脑屏障通透性增加的基础<sup>[15]</sup>。有研究表明CypA激活基质金属蛋白酶(MMP)-9破坏血脑屏障的紧密连接,抑制CypA不仅恢复了血脑屏障的完整性,还逆转和防止了神经元丢失和行为缺陷<sup>[16]</sup>。Pan等<sup>[17]</sup>研究证实,CypA通过激活下游核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)通路,诱导MMP-9表达增加蛋白酶的水解,降解内皮紧密连接蛋白(闭锁连接蛋白-1、密蛋白-5等)和胶原蛋白IV,导致血脑屏障的分解,并且神经元和突触修复需要通过抑制CypA/NF- $\kappa$ B/MMP-9途径使血脑屏障完整性正常。并且CD147被证实是CypA介导血脑屏障破坏的必需分子<sup>[16]</sup>。表明CypA/CD147诱导MMP产生,导致血脑屏障的破坏及通透性增加,诱导外周免疫细胞募集,促进细胞因子释放,最终导致神经元功能障碍,因此CypA、CD147是维持血脑屏障完整性的重要分子,CypA/CD147通路激活参与诱导脑缺氧缺血后的早期血脑屏障损伤。

**2.2 参与氧化应激和炎症** 氧化应激和炎症反应是HIBD致病机理的重要环节,氧化应激在炎症系统之间的相互干扰中起作用,创造了HIBD的“易感窗口”。缺氧缺血发生后,引起外周和中枢免疫系统激活,活化的神经胶质细胞和浸润的白细胞产生多种促炎因子(包括细胞因子、趋化因子、活性氧、兴奋性毒性谷氨酸等)。过量的活性氧引起羟自由基增多并介导蛋白质氧化、脂质过氧化、DNA损伤和线粒体抑制致细胞死亡。释放的炎性因子激活下游通路引发炎症联级反应,致轴突和髓鞘损伤、少突胶质细胞、神经元的丢失,影响大脑发育并产生长期后果,导致神经系统或精神障碍。CypA在氧化应激和炎症增加的情况下分泌,可响应各种细胞中的活性氧,其分泌量随着氧化应激程度的增加而增加<sup>[7]</sup>。p47phox是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶活性部位的关键亚基,Cao等<sup>[18]</sup>表明分泌的CypA通过胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase1/2, ERK1/2)磷酸化启动p47phox的膜易位,激活NADPH氧化酶促进活性氧的产生,并且CD147是介导胞外CypA作用所必需的。白细胞聚集和迁移是炎症反应的重要部分,主要涉及以下

机制:(1)CypA 对人白细胞具有直接的化学吸引, CD147 被确定为白细胞上 CypA 的主要信号受体, 并且 CypA 通过与 CD147 胞外域(残基 22-205)直接结合诱导白细胞趋化<sup>[19]</sup>; (2)CypA 与 CD147 结合是重要的促炎信号, CypA/CD147 激活 NF- $\kappa$ B、ERK1/2 通路诱导肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞介素(IL)-6、IL-1 $\beta$ 、IL-8 等细胞因子分泌, 阻断 CD147 后, 单核细胞的趋化性、促炎因子表达以及 CypA 诱导的信号通路均受抑制<sup>[20]</sup>; (3)CypA 与 CD147 相互作用后激活 NF- $\kappa$ B、蛋白激酶 B (Akt)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号转导途径, 刺激内皮细胞表达血管细胞黏附分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 和 E-选择素。VCAM-1 与淋巴细胞和单核细胞表面整合素  $\alpha$ 4 $\beta$ 1 结合促进白细胞的滚动和黏附<sup>[21]</sup>。以上研究表明 CypA、CD147 是中枢和外周免疫反应的重要介质, 靶向 CypA-CD147 相互作用可能提供一种减轻组织炎症的新方法。

**2.3 诱导细胞凋亡** 神经元细胞凋亡是 HIBD 的重要病理机制, 是导致新生儿发生神经系统后遗症的重要原因。在蛛网膜下腔出血的大鼠模型中发现, CypA/CD147 相互作用激活 ERK1/2、NF- $\kappa$ B 信号转导, 导致脑细胞死亡及神经功能障碍, 抑制 CypA/CD147 通路后颞叶皮层神经元中 p53、胱天蛋白酶-3 (cysteiny aspartate specific proteinase, caspase-3) 表达降低, 并可减轻脑水肿和神经元细胞死亡<sup>[17]</sup>。NF- $\kappa$ B 不仅作为炎症级联反应中最重要的调控因子, 介导脑缺血再灌注的重要信号, 还参与调控下游多种凋亡信号分子如 B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 等, Bcl-2 的下降或 Bax 的升高引起线粒体膜解体, 导致细胞色素 C 释放到细胞质中诱导 caspase-3 发生级联活化致 DNA 断裂和染色质凝聚。NF- $\kappa$ B 通过诱导 p53 的磷酸化和乙酰化以及上调促凋亡 p53 靶基因 PERP 来增加 p53 表达, 刺激线粒体产生高毒性氧自由基引发细胞凋亡<sup>[22]</sup>。以上研究说明 CypA/CD147 信号通路参与线粒体相关凋亡途径, 或可成为合适的治疗靶点。

### 3 CypA/CD147 与 HIBD 的诊治进展

目前 HIBD 的诊断主要依据神经系统、影像学 and 脑电图检查, 存在一定的漏诊和局限性, 可能错过有效的治疗时间窗。因此需要寻找敏感性的生物标志物帮助 HIBD 的早期诊断及病情评估。Kyng 等<sup>[23]</sup>利用新生猪仔制备 HIBD 模型, 发现脑损伤后 CypA 在血浆和脑脊液中均升高, 可作为有希望的候选生物标志物。Patrizz 等<sup>[24]</sup>研究发现血清高 CD147 水平与中风病人的不良预后相关, 并将 CD147 确定

为缺血性卒中的新型临床相关靶点。说明 CypA、CD147 蛋白在 HIBD 的诊断中可能具有重要意义, 有望成为 HIBD 诊断及评估预后的潜在生物标志物。

HIBD 发生最常见的类型表现为白质受损, 可导致终生神经功能障碍, 如脑瘫, 主要原因是成熟少突胶质细胞产生减少导致髓鞘化形成不足<sup>[25]</sup>。动物模型证实抑制 CD147 可改善少突胶质细胞生成并促进缺血性中风后小鼠的白质完整性和功能恢复<sup>[26]</sup>。不仅如此, Jin 等<sup>[27]</sup>发现抑制 CD147 还能防止血脑屏障损伤, 通过减少血栓及炎细胞浸润来改善小鼠急性脑缺血。敲除 CypA 基因或抑制 CypA 通过阻断 NF- $\kappa$ B/MMP-9 通路来防止神经元变性<sup>[28]</sup>。到目前为止, 很明显 CypA 与脑损伤有关, 尽管在一些与缺血性或出血性脑损伤相关的动物实验中, 有学者表明 CypA 可以减弱被破坏的血脑屏障通透性, 减少神经细胞凋亡, 改善脑损伤, 从而改善神经功能, 但 CypA 触发的神经保护的确切机制仍不清楚<sup>[5]</sup>。并且, 更多研究证实细胞外 CypA 是一种促炎因子, 通过 CD147 受体促进神经炎症并导致选择性运动神经元死亡<sup>[29]</sup>。以上研究说明 CypA/CD147 通路激活参与缺氧缺血后继发性脑损伤, 阻止 CypA/CD147 通路的过度激活有望成为治疗 HIBD 的新思路。CsA 已广泛用于免疫抑制治疗, CypA 作为 CsA 体内作用的靶蛋白, 在 CsA 介导的免疫抑制作用中发挥重要作用, 有研究表明 CsA 对缺血性再灌注脑损伤小鼠模型具有神经保护作用<sup>[30]</sup>。因此 CsA 或可为治疗 HIBD 提供一条新思路。进一步研究 CypA/CD147 在 HIBD 中的下游通路及具体机制具有重要意义。

### 4 小结

CypA/CD147 参与各种生物过程, 包括炎症、增殖、趋化、凋亡等, CypA 和 CD147 在中枢系统疾病中的应用是研究热点, 虽然目前的研究结果提示 CypA 及 CD147 可作为急性脑损伤的分子标志物, 有助于疾病严重程度的判断及预后评估, 但 CypA/CD147 信号通路在 HIBD 中具体功能、下游信号转导机制尚未完全阐明, 仍需要进一步深入研究。

### 参考文献

- [1] NOVAK CM, OZEN M, BURD I. Perinatal brain injury: mechanisms, prevention, and outcomes [J]. Clin Perinatol, 2018, 45 (2):357-375.
- [2] ZHAO J, HE L, YIN L. Lncrna NEAT1 binds to mir-339-5p to increase HOXA1 and alleviate ischemic brain damage in neonatal mice [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 20:117-127.
- [3] LIAO Y, LUO D, PENG K, et al. Cyclophilin A: a key player for etiological agent infection [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2021,

- 105(4):1365-1377.
- [4] KUMAR D, VETRIVEL U, PARAMESWARAN S, et al. Structural insights on druggable hotspots in CD147: a bull's eye view [J]. *Life sciences*, 2019, 224:76-87.
- [5] CHEN B, SHEN J, ZHENG GR, et al. Serum cyclophilin A concentrations and prognosis of acute intracerebral hemorrhage [J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 486:162-167.
- [6] LIU SY, ZHANG QZ, HU MQ, et al. Targeting extracellular cyclophilin A via an albumin-binding cyclosporine a analogue [J]. *ChemMedChem*, 2021, 16(24):3649-3652.
- [7] XUE C, SOWDEN MP, BERK BC. Extracellular and intracellular cyclophilin A, native and post-translationally modified, show diverse and specific pathological roles in diseases [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(5):986-993.
- [8] VON UNGERN-STERNBERG SNI, ZERNECKE A, SEIZER P. Extracellular matrix metalloproteinase inducer emmprin (CD147) in cardiovascular disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2):507.
- [9] LI K, NOWAK RA. The role of basigin in reproduction [J]. *Reproduction*, 2020, 159(2):R97-R109. DOI: 10.1530/REP-19-0268.
- [10] GUINDOLET D, GABISON EE. Role of CD147 (emmprin/basigin) in tissue remodeling [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2020, 303(6):1584-1589.
- [11] SU H, YANG Y. The roles of CyPA and CD147 in cardiac remodeling [J]. *Exp Mol Pathol*, 2018, 104(3):222-226.
- [12] SAKAMOTO M, MIYAGAKI T, KAMIJO H, et al. CD147-cyclophilin A interactions promote proliferation and survival of cutaneous T-cell lymphoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15):7889.
- [13] VON UNGERN-STERNBERG SNI, VOGEL S, WALKER-ALLGAIER B, et al. Extracellular cyclophilin A augments platelet-dependent thrombosis and thromboinflammation [J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(11):2063-2078.
- [14] MONTAGNE A, NATION DA, SAGARE AP, et al. Apoe4 leads to blood-brain barrier dysfunction predicting cognitive decline [J]. *Nature*, 2020, 581(7806):71-76.
- [15] TU YF, JIANG ST, CHIANG CW, et al. Endothelial-specific insulin receptor substrate-1 overexpression worsens neonatal hypoxic-ischemic brain injury via mtor-mediated tight junction disassembly [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1):150.
- [16] NAKADA-HONDA N, CUI D, MATSUDA S, et al. Intravenous injection of cyclophilin A realizes the transient and reversible opening of barrier of neural vasculature through basigin in endothelial cells [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):19391.
- [17] PAN P, ZHAO H, ZHANG X, et al. Cyclophilin A signaling induces pericyte-associated blood-brain barrier disruption after subarachnoid hemorrhage [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1):16.
- [18] CAO M, MAO Z, PENG M, et al. Extracellular cyclophilin A induces cardiac hypertrophy via the ERK/p47phox pathway [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020, 518:110990. DOI: 10.1016/j.mce.2020.110990.
- [19] DAWAR FU, WU J, ZHAO L, et al. Updates in understanding the role of cyclophilin A in leukocyte chemotaxis [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 101(4):823-826.
- [20] DAWAR FU, XIONG Y, KHATTAK MNK, et al. Potential role of cyclophilin A in regulating cytokine secretion [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102(4):989-992.
- [21] XIE Y, LI X, GE J. STAT3-CyPA signaling pathway in endothelial cell apoptosis [J]. *Cell Signal*, 2020, 65:109413. DOI: 10.1016/j.cellsig.2019.109413.
- [22] WANG H, ZHANG M, XU X, et al. IKK $\alpha$  mediates UVB-induced cell apoptosis by regulating p53 pathway activation [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 227:112892. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112892.
- [23] KYNG KJ, EDHAGER AV, HENRIKSEN TB, et al. Biomarker discovery by mass spectrometry in cerebrospinal fluid and plasma after global hypoxia-ischemia in newborn piglets [J]. *Neonatology*, 2018, 114(4):307-314.
- [24] PATRIZZ A, DORAN SJ, CHAUHAN A, et al. EMMPRIN/CD147 plays a detrimental role in clinical and experimental ischemic stroke [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(6):5121-5139.
- [25] MOTAVAF M, PIAO X. Oligodendrocyte development and implication in perinatal white matter injury [J]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15:764486. DOI: 10.3389/fncel.2021.764486.
- [26] LIU S, JIN R, XIAO AY, et al. Inhibition of CD147 improves oligodendrogenesis and promotes white matter integrity and functional recovery in mice after ischemic stroke [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 82:13-24.
- [27] JIN R, XIAO AY, CHEN R, et al. Inhibition of CD147 (cluster of differentiation 147) ameliorates acute ischemic stroke in mice by reducing thromboinflammation [J]. *Stroke*, 2017, 48(12):3356-3365.
- [28] NIKOLAKOPOULOU AM, WANG Y, MA Q, et al. Endothelial LRP1 protects against neurodegeneration by blocking cyclophilin A [J/OL]. *Journal of Experimental Medicine*, 2021, 218(4):e20202207. DOI: 10.1084/jem.20202207.
- [29] PASETTO L, GRASSANO M, POZZI S, et al. Defective cyclophilin A induces TDP-43 proteinopathy: Implications for amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia [J]. *Brain*, 2021, 144(12):3710-3726.
- [30] DENG HJ, ZHANG S, GE HF, et al. The effect of cyclosporin a on ischemia-reperfusion damage in a mouse model of ischemic stroke [J]. *Neurol Res*, 2020, 42(9):721-729.

(收稿日期:2022-01-23,修回日期:2022-03-06)