

## 综述

# Z突变 $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶缺乏症的研究进展

周卓超，陈颖，朱书仪，沈雯琦，周爱武

上海交通大学医学院细胞分化与凋亡教育部重点实验室，上海 200025

**[摘要]**  $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶 ( $\alpha_1$ -AT) 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族 (Serpin)，是人血浆中最重要的蛋白酶抑制剂，能抑制多种蛋白酶，从而抑制组织的降解。经典的  $\alpha_1$ -AT 缺乏症由 Z 突变 (Glu342Lys) 引起，该突变导致蛋白在肝细胞内形成多聚体并聚积，引起肝细胞损伤，同时由于血浆中该蛋白浓度的减少，破坏了蛋白酶与蛋白酶抑制剂之间的平衡，故可引起肺气肿和新生儿肝炎等疾病。该文主要从  $\alpha_1$ -AT 的分子结构、基因多态性，及其相关疾病的治疗等方面概述 Z 突变所致的  $\alpha_1$ -AT 缺乏症的致病机制和相关预后的研究进展。

**[关键词]**  $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶； $\alpha_1$ -抗胰蛋白酶缺乏症；Z突变；多聚体；肺气肿；新生儿肝炎

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2017.08.026 **[中图分类号]** Q71 **[文献标志码]** A

## Research progress of $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency of mutant Z

ZHOU Zhuo-chao, CHEN Ying, ZHU Shu-yi, SHEN Wen-qi, ZHOU Ai-wu

Key Laboratory of Cell Differentiation and Apoptosis of Ministry of Education, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

**[Abstract]**  $\alpha_1$ -Antitrypsin ( $\alpha_1$ -AT) belongs to serine protease inhibitor (Serpin) superfamily and is the main protease inhibitor in human circulation. It can inhibit many proteases to protect tissues from degradation. The mutant Z (Glu342Lys) of  $\alpha_1$ -AT predisposes to the early onset of emphysema due to decreased functional  $\alpha_1$ -AT in the lung and to neonatal hepatitis due to accumulation of  $\alpha_1$ -AT polymers in the endoplasmic reticulum of hepatocytes, which disrupts the balance between protease and protease inhibitors. This paper reviews recent research progress on the pathogenic mechanism and the prognosis of  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency.

**[Key words]**  $\alpha_1$ -antitrypsin;  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency; mutant Z; polymer; emphysema; neonatal hepatitis

$\alpha_1$ -抗胰蛋白酶 ( $\alpha_1$ -antitrypsin,  $\alpha_1$ -AT) 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族 (serine protease inhibitor, Serpin)<sup>[1]</sup>，是人血浆中最重要的蛋白酶抑制剂，主要由肝脏合成分泌，能抑制多种蛋白酶，包括中性粒细胞弹性蛋白酶 (neutrophil elastase, NE)、组织蛋白酶 G (cathepsin G) 和蛋白酶 3 (proteinase 3, PR3)，从而抑制组织的降解<sup>[2]</sup>。

$\alpha_1$ -抗胰蛋白酶缺乏症 ( $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency, AATD) 是一种严重的基因紊乱性疾病，为常染色体共显性遗传<sup>[3]</sup>。经典的 AATD 由纯合的 Z 突变体 (Glu342Lys) 引起，约占临床 AATD 患者的 95%<sup>[4]</sup>，Z 基因的携带频率从美国人的 4% 到爱尔兰人的 25% 不等<sup>[5]</sup>。Z 突变导致  $\alpha_1$ -AT 蛋白折叠异常，只有 10% ~ 15% 能正确折叠后以有活性的单体形式分泌到细胞外，大部分 Z 突变  $\alpha_1$ -AT 蛋白不能正确折叠，形成多聚体滞留在肝细胞内质网中，致使血浆中  $\alpha_1$ -AT 的含量减少，对 NE 活性的调节功能下降，导致肺气肿；同时由于多聚体在内质网内的形成和堆积，诱发肝细胞的损伤和坏死，临幊上常导致新生儿肝炎，婴

幼儿和成人的肝硬化、肝癌等疾病<sup>[6]</sup>。

## 1 $\alpha_1$ -AT 的结构、功能及基因多态性

### 1.1 $\alpha_1$ -AT 的蛋白结构

$\alpha_1$ -AT 是一种由 394 个氨基酸残基组成的单链糖蛋白，相对分子质量约 52 000，是 Serpin 超家族的一员。Serpin 成员都具有相对保守的二级和三级结构，一个主要结构域通常由 3 个  $\beta$ -折叠和 8 ~ 9 个  $\alpha$ -螺旋 (分别命名为 A ~ J) 组成。 $\beta$ -折叠 A 是 3 个  $\beta$ -折叠中最大的，由 5 个片层结构组成，贯穿 Serpin 蛋白分子的长轴<sup>[7]</sup>。

### 1.2 $\alpha_1$ -AT 的构象变化

在各种条件下，Serpin 超家族成员有以下多种构象：  
① 具有活性的亚稳态构象 (native form)。② 反应活性环 (reactive center loop, RCL) 被切断嵌入  $\beta$ -折叠 A 的超稳态构象 (cleaved form)。③  $\beta$ -折叠 A 结构和超稳态构象

[作者简介] 周卓超 (1993—)，女，2012 级临床医学八年制学生；电子信箱：zhouzhuochao@sjtu.edu.cn。

[通信作者] 周爱武，电子信箱：awz20@shsmu.edu.cn。



中的类似，但 RCL 未被切断的无活性超稳态构象 (latent form) <sup>[8]</sup>。

Serpin 超家族对丝氨酸蛋白酶抑制的反应过程及反应特征如下：①丝氨酸蛋白酶识别 Serpin 蛋白分子 RCL 上的反应活性键，在发挥抑制活性时 Serpin 会发生显著的构象变化，与之形成初始非共价结合复合物。②丝氨酸蛋白酶活性位点上的丝氨酸切断 Serpin 蛋白分子 RCL 上的反应活性键，然后以反向平行的方式嵌入  $\beta$ -折叠 A 的 2 个中心片层之间，形成了  $\beta$ -折叠 A 的 s4A。Serpin 蛋白分子和底物蛋白酶形成共价结合的复合物，属于“自杀性”抑制底物机制。形象的比喻是：Serpin 蛋白分子像一个鼠夹，在抓住底物蛋白酶之后将其拖拽至鼠夹底部。这个过程中，Serpin 蛋白分子由亚稳态结构转换成相对稳定的结构。③共价复合物形成之后存在 2 条相互竞争的支路：一条是蛋白酶将酶解反应进行到底，最终得到仍有活性的蛋白酶和超稳态构象的 Serpin 蛋白分子。另一条是 Serpin 蛋白分子 RCL 嵌入  $\beta$ -折叠 A，将底物蛋白酶拖拽至底部使其活性位点构象变化，失去酶解活性<sup>[1]</sup>。

### 1.3 $\alpha_1$ -AT 的生理功能

$\alpha_1$ -AT 主要由肝脏细胞合成并分泌入血，少数也可由肺泡上皮细胞、肠上皮细胞、中性粒细胞和肺泡巨噬细胞合成，是血浆  $\alpha_1$ -球蛋白的主要部分<sup>[2]</sup>，正常人血浆中含量为 1.5 ~ 3.5 g/L<sup>[6]</sup>。 $\alpha_1$ -AT 是急性期反应蛋白，在炎症反应时水平升高<sup>[9]</sup>。其底物主要是血液循环及肺脏中调控炎症反应的 NE。炎症反应时 NE 清除异源性物质，消化受损组织并帮助伤口愈合，但若与其抑制剂  $\alpha_1$ -AT 失衡则会导致肺部组织降解和炎症恶化。 $\alpha_1$ -AT 也可抑制因子 X a (factor X activated)、纤维蛋白溶酶 (plasmin)、凝血酶 (thrombin) 等，是人类血浆中最重要的蛋白酶抑制剂，承担了血浆对 NE 抑制能力的 90% 以上<sup>[9]</sup>。

### 1.4 $\alpha_1$ -AT 基因的多态性

$\alpha_1$ -AT 基因位于 14q31-32.3，大小约 12 200 bp，为常染色体共显性遗传<sup>[3]</sup>。 $\alpha_1$ -AT 等位基因表达蛋白酶抑制物 (protein inhibitor, Pi) 基因。 $\alpha_1$ -AT 基因具有多型性，目前已发现 150 多个等位基因变体<sup>[10]</sup>。其等位基因可以分为 4 种：①正常型 (血浆  $\alpha_1$ -AT 浓度正常，功能也正常)。②缺陷型 (血浆  $\alpha_1$ -AT 浓度减少)。③缺如型 (血浆  $\alpha_1$ -AT 检测不到)。④无功能型 (血浆  $\alpha_1$ -AT 浓度正常，但功能异常)<sup>[11]</sup>。

AATD 患者中最常见的  $\alpha_1$ -AT 突变体是导致蛋白水平中等程度下降的 S 突变 [ $\alpha_1$ -AT (Glu264Val)] 和蛋白水平严重下降的 Z 突变 [ $\alpha_1$ -AT (Glu342Lys)]，其出现频率分

别为 0.02 和 0.05<sup>[2]</sup>。野生型命名为 M 型  $\alpha_1$ -AT，表现为正常的血浆  $\alpha_1$ -AT 水平。PiM (即 M 型  $\alpha_1$ -AT 基因) 在人群中的出现频率约为 0.93，包括 M1 (ala<sup>213</sup>)、M1 (val<sup>213</sup>)、M2 ~ M5 等<sup>[3]</sup>。S 突变和 Z 突变相对于 M 型呈显性遗传，无论是纯合子还是与 M 型的杂合子，均表现为遗传性血浆  $\alpha_1$ -AT 水平低下。纯合的 PiZZ 变体是经典 AATD 的主要原因，PiZZ 个体中血浆的  $\alpha_1$ -AT 水平仅为 PiMM 的 10%，PiMZ 为 PiMM 的 60%，PiSZ 为 PiMM 的 33%<sup>[9]</sup>。

AATD 最初在北欧高加索人中发现，之后传遍欧洲，然后又通过移民传到美国和其他国家。严重的 Z 突变等位基因约存在于 1/25 的北欧高加索人群中，其中 1/2 000 的人为纯合子<sup>[1]</sup>。

目前已发现的导致  $\alpha_1$ -AT 缺陷的基因变体共有 100 多种。常见的有 S (Glu264Val) 突变体，最常见于伊比利亚血统的人群；蛋白呈轻度聚合，也可与 Z 变体杂合；PiSS 纯合子个体中蛋白呈中轻度分泌减少。Z (Glu342Lys) 突变体在北欧人群中被发现，有严重的肝细胞内多聚体堆积和循环中蛋白含量减少。还有其他个例报道的如 King's (His334Asp) 突变体，以及其他无明显症状的表型<sup>[12-13]</sup>。

## 2 Z 突变 $\alpha_1$ -AT 的相关疾病

### 2.1 Z 突变与 ATDD

Z 突变型个体的  $\alpha_1$ -AT 基因外显子 V 发生单个碱基替代，造成 342 位 Glu 被 Lys 替代，使原有的较为牢固的 Glu342 与 Lys290 之间的盐桥和 Glu342 与 Thr203 之间的氢键丢失， $\alpha_1$ -AT 分子的稳定性受到影响。在 ZZ 纯合子的  $\alpha_1$ -AT 合成细胞内， $\alpha_1$ -AT mRNA 转录正常，但由于  $\alpha_1$ -AT 分子的错误折叠，大量  $\alpha_1$ -AT 多聚体蓄积在门静脉周围的肝细胞内质网中。约 70% 的  $\alpha_1$ -AT 通过内质网相关降解途径降解，15% 结构有效的分泌入血，剩下的形成多聚体以包涵体形式滞留在内质网。内质网负荷反应会引起炎症因子 IL-8、IL-6 的释放，引起急性或慢性炎症反应，造成肝病或肺部疾病<sup>[9]</sup>。细胞外的多聚体已被发现存在于肺泡腔、脂膜炎患者的皮肤和血管炎患者的肾脏<sup>[14]</sup>。

Z 突变引起的  $\alpha_1$ -AT 缺陷相关的疾病纷繁复杂，从致病机制上来讲，主要可以分为 3 类：①  $\alpha_1$ -AT 多聚体在肝细胞内质网上堆积导致肝细胞损伤引起的肝脏疾病。②人体血浆中  $\alpha_1$ -AT 的含量不足以平衡 NE 等蛋白水解酶的作用而导致组织破坏引起的肺部疾病。③血浆和局部组织中  $\alpha_1$ -AT 多聚体的致炎作用引起的疾病<sup>[1]</sup>。

Z 突变 (Glu342Lys) 引起的  $\alpha_1$ -AT 功能缺陷也是一种典型的构象病。蛋白构象病往往伴随着由于蛋白构象变化



引起的正常功能的丧失 (loss of function) 和由于蛋白致病构象所带来的病理反应 (gain of function)<sup>[6]</sup>。 $\alpha_1$ -AT 在肺组织中由于正常功能丧失而致病, 而在另一靶向组织如肝组织中由于蛋白致病构象所带来的病理反应而致病。同时,  $\alpha_1$ -AT 缺失也是经典的临床表现受外界诱因影响巨大的单基因缺失疾病。有研究<sup>[12]</sup>表明, 吸烟能够抑制  $\alpha_1$ -AT 活性, 促进炎症介质释放, 诱发多聚体的形成, 与本类疾病有密切的关系。

值得注意的是, 突变的  $\alpha_1$ -AT 聚积的严重程度与多聚体的形成速度直接相关。未折叠蛋白到中间体的转变过程的动力学分析显示, Z突变  $\alpha_1$ -AT 比野生型快 1.5 倍<sup>[15]</sup>。S突变引起的  $\alpha_1$ -AT 多聚体形成速度比 Z突变慢得多, 因此在 AATD 中 Z突变最常见, 也最严重, 而 S突变致病轻微。

## 2.2 多聚体形成机制模型

典型的 Z突变  $\alpha_1$ -AT (Glu342Lys) 是 AATD 患者中最常见的突变体。Glu342 在 RCL 底部 P17 的位置, 和 Lys290 形成高度保守的盐桥, 和 Thr203 形成高度保守的氢键, 加上主链组装的效应, 最终使 RCL 在此形成一个 U 转角并以 Glu342 为铰链支点<sup>[7]</sup>。Z突变导致  $\alpha_1$ -AT 的错误折叠、亚稳态分子构象的稳定性降低以及 Z突变  $\alpha_1$ -AT 的多聚。主要有以下几个不同的多聚体模型被提出。  
① Lomas 等<sup>[16]</sup>在 1992 年提出了经典的 loop-sheet 模型, 他们研究发现 Z  $\alpha_1$ -AT 多聚体的串珠状超级结构。1999 年他们又开展了一项关于神经源性 Serpin 突变体的多聚导致家族性早衰型痴呆的研究, 证实 Serpin 多聚体的串珠状超级结构<sup>[17]</sup>。由此他们推测 Serpin 的多聚是通过一个分子的 RCL 嵌入另一个分子的  $\beta$ -折叠 A 连接形成, Z突变导致  $\beta$ -折叠 A 不稳定、RCL 的 U 转角进一步嵌入  $\beta$ -折叠 A 方向, 形成中间态 ( $M^*$ ), 使  $\beta$ -折叠 A 的 s4A 的空间位置下半部分空出。通过一个  $M^*$  分子的 RCL 嵌入另一个  $M^*$  分子的  $\beta$ -折叠 A 下半部分开放部位, 连接形成多聚体。但这个模型只是个概念, 没有直接证据证明这个分子间连接的存在。② 2008 年 Yamasaki 等<sup>[18]</sup>根据抗凝血酶二聚体的晶体结构提出了  $\beta$ -发夹模型。其中一个分子的  $\beta$ -折叠 A 中的 s4、s5 嵌入另一个分子的  $\beta$ -折叠 A, 并占据此分子的 s4/5A 空间位置从而形成多聚体<sup>[12]</sup>。③最新的一个模型是 s4/5B 交换模型, 是根据  $\alpha_1$ -AT 三聚体的晶体结构提出的, 其中一个分子 C 端的 s4/5B 结构域嵌入并取代另一个分子的 s4/5B 结构域, 从而形成多聚体<sup>[19-20]</sup>。此三聚体的晶体结构中分子的连接方式可能与体内  $\alpha_1$ -AT 多聚体中分子间的连接方式一致, 但 Z突变如何导致  $\alpha_1$ -AT 的错误折叠、降低亚稳态分子构象的稳定性等问题, 该研

究中没有实验证据, 该模型仅是推测的模型。

最新研究已经证明了  $\alpha_1$ -AT 的折叠顺序<sup>[7]</sup>: N端首先折叠成球蛋白状, 包括  $\beta$ -折叠 A/B; 接着是 s5A 嵌入中心  $\beta$ -折叠 A; 一旦 s5A 的亚稳态构象形成, C 端 (包括 s1C、s4/5B) 开始组织入核心结构域, RCL 处于暴露于溶剂的构象。只有 s1C/s4/5B 组装好后, RCL 才可能嵌入  $\beta$ -折叠 A 形成无活性超稳态构象或超稳态构象, 因此不能由 s5A 上半部分不稳定的畸变构象的中间态直接折叠成最终的多聚体。这和 Dolmer 等<sup>[21]</sup>的肽段折叠实验相符。因此, s4/5B 交换模型的多聚结构是正确的, 但最初基于  $\alpha_1$ -AT 三聚体晶体结构推测的折叠中间态是不合理的。

## 3 AATD 的治疗

目前, 对于 AATD 尚无特效疗法。对严重患者采取对症治疗, 最好的方法是减少 Z突变  $\alpha_1$ -AT 蛋白的产生。

对 AATD 的对症治疗包括: ①静脉增强疗法, 即静脉输注含纯化  $\alpha_1$ -AT 的血浆, 使血浆  $\alpha_1$ -AT 浓度达 11  $\mu\text{mol/L}$ , 重建下呼吸道中 NE 和抗 NE 比例的平衡<sup>[22]</sup>。②给予  $\alpha_1$ -AT 缺乏引起的肺气肿患者支气管扩张药, 类固醇和吸氧。③禁止患者吸烟, 从而延缓疾病的进程。④严重肝病患者考虑肝脏移植<sup>[12]</sup>。

上述治疗方法在北美和欧洲的大部分地区长期应用, 已有 20 多年的历史, 但其是否有效目前仍有争议<sup>[23]</sup>。

### 3.1 $\alpha_1$ -AT 相关肺气肿的治疗

**3.1.1 戒烟** 吸烟暴露通过氧化甲硫氨酸使  $\alpha_1$ -AT 失活<sup>[24]</sup>, 并增加炎症细胞因子的释放, 从而诱发体内和体外 Z突变  $\alpha_1$ -AT 的多聚化<sup>[25]</sup>。这说明蛋白质的构象同时受体液环境及疾病相关基因序列的影响, 存在基因—环境的交互平衡<sup>[12]</sup>。

**3.1.2 肺气肿的一般治疗** 一般治疗包括使用支气管扩张剂 (拟交感神经药、抗胆碱能药、茶碱、黏液溶解剂); 当怀疑有细菌感染时, 间断性应用抗生素; 另外还有激素治疗和机械通气等。目前暂无针对性治疗方法。

**3.1.3 静脉增强疗法** 该疗法最早由 Wewers 等人在 1987 年提出, 并在后来被发现不仅能提高血浆中  $\alpha_1$ -AT 含量, 还能提高支气管肺泡腔液中  $\alpha_1$ -AT 的浓度<sup>[26]</sup>。患者按 60 mg/kg 静脉注入  $\alpha_1$ -AT, 能使血浆  $\alpha_1$ -AT 稳定在 0.8 g/L 以上 (预定的保护性阈值) 水平至少 1 周。由于近年来检测技术的发展, 保护性阈值 (即需要采取  $\alpha_1$ -AT 替代治疗的  $\alpha_1$ -AT 最低阈值) 根据 6 000 多个个体的数据被重新定义为 0.5 g/L<sup>[27]</sup>, 小于该阈值为严重  $\alpha_1$ -AT 缺乏。



$\alpha_1$ -AT 支持治疗的目的在于延缓肺气肿的进程，提高健康相关的生命质量 (HRQoL)<sup>[28]</sup>。

**3.1.4 维甲酸治疗** 已有研究发现，维甲酸受体激动剂帕罗伐汀 (palovarotene) 可以减轻肺气肿小鼠的炎症，促进组织修复和功能改善，但对 CT 提示有肺气肿的 262 名 AATD 患者 (其中 133 名为对照组，129 名为实验组) 为期 1 年的随机双盲对照试验发现，帕罗伐汀对中重度肺气肿患者的症状无明显改善<sup>[29]</sup>。

**3.1.5 氧分压循环** 氧分压循环是一种间歇性低氧，使组织暴露在不断转换的低氧环境和高氧环境中。已有动物实验证实，间歇性的低氧可以在一定条件下减轻膈肌疲劳<sup>[30]</sup>。因此，最近针对以氧气为基础的呼吸训练及其机制的研究成为 AATD 治疗方面的研究热点，具有良好的前景<sup>[31]</sup>。

**3.1.6 肺减容术或肺移植** 肺减容术 (LVRS) 一般指切除慢性阻塞性肺病 (COPD) 患者肺气肿最严重的 20% ~ 30% 肺组织<sup>[29]</sup>。对于  $\alpha_1$ -AT 相关肺气肿患者，在内科治疗无效且肺移植较难实现的情况下，为改善患者严重的气流阻塞症状，肺减容手术是部分患者一种较为理想的选择，可用于肺移植患者的替代选择，或向肺移植过渡的桥梁<sup>[1]</sup>。

## 3.2 $\alpha_1$ -AT 相关肝病的治疗

长期以来，针对  $\alpha_1$ -AT 相关肝病的治疗主要是对症支持治疗和肝移植。随着对细胞内损伤机制了解的不断深入，多种针对性的治疗方案成为研究的重点。

在基因治疗方面，向 PiZZ 模型鼠体内注射携带小干扰 RNA (siRNA)、核酶及其他抑制突变基因转录翻译元件的腺病毒载体的方案已取得成功，而使 Z 突变基因受抑制的同时引入正常基因并使之表达的治疗方案也取得了新的进展<sup>[32]</sup>。

在蛋白质分子水平方面，针对减少内质网堆积、阻滞多聚化、增加分泌以及提高降解水平等多个环节的研究也有了一定进展，部分增强自噬途径的药物已经进入临床试验阶段<sup>[32]</sup>。

此外，研究者针对多聚体的形成与肝内聚积的机制设计了一些新颖的治疗方法<sup>[33]</sup>。

**3.2.1 具有活性的短肽阻滞胞内多聚化过程** 具有活性的短肽能与  $\alpha_1$ -AT 相连，在体外实验中阻滞多聚体的生成<sup>[34]</sup>。

Duvoix 等<sup>[6]</sup> 针对  $\alpha_1$ -AT 结构中的一个疏水性口袋设计小分子。该组发现在  $\beta$ -折叠 A 的 2 号链上引入 Thr114Phe，能够填满空腔，从而减缓多聚化的速度，增加  $\alpha_1$ -AT 的分泌，并且已在爪蟾卵母细胞系统的体外实验中

证实。目前他们已经找出 10 余种能通过该途径阻滞多聚体生成的小分子，但发现该过程同样会抑制  $\alpha_1$ -AT 的活性，加重病情。后来他们又从体外实验发现了一种单克隆抗体 (4B12) 能够阻止  $\alpha_1$ -AT 多聚化，且不影响其对 NE 的抑制作用，单抗 4B12 可以识别可能是 A/C/G/H/I 融合螺旋上的不连续表位，通过改变蛋白的动力学来发挥作用。基于单抗 4B12，他们研究出一种单链抗体 (scFv)，其在内质网及蛋白分泌途径的表达可以减少胞内 60% Z 突变  $\alpha_1$ -AT 多聚体的形成，增加  $\alpha_1$ -AT 分泌并保留其抑制功能。这种新方式为小分子阻滞蛋白多聚化并保留功能提供了新靶点<sup>[35]</sup>。

4-苯基丁酸 (4-phenylbutyrate, 4-PBA) 是美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的临幊上用于人体尿素代谢失调的口服药。作为一个化学分子伴侣，4-PBA 被发现能成倍增加  $\alpha_1$ -AT 蛋白在 PiZ 转基因小鼠血浆中的含量。但遗憾的是，在 10 位患者身上进行的为期 14 d 的 4-PBA 口服治疗方案研究发现，它并不能促进  $\alpha_1$ -AT 缺失患者  $\alpha_1$ -AT 的分泌<sup>[36]</sup>。

**3.2.2 提高肝细胞自噬能力** Wang 等<sup>[37]</sup> 正采用药物卡马西平 (carbamazepine, CBZ) 来刺激肝细胞内的降解途径以清除细胞内多聚体，目前结果显示 PiZ 小鼠口服 CBZ 可以同时缓解肝细胞内 Z 突变  $\alpha_1$ -AT 的负荷和肝硬化。该药已进入临床 II / III 期试验 (NCT01379469)，用于 AATD 引起的严重肝病患者。

2016 年，Tang 等<sup>[38]</sup> 通过 Z 突变和野生型小鼠模型的实验得出结论，熊去氧胆酸 (UDCA) 侧链缩短的 norUDCA 能增加  $\alpha_1$ -AT 缺乏个体肝细胞的自噬，减少  $\alpha_1$ -AT 在肝内的积聚和肝脏损伤。

**3.2.3 Z 突变  $\alpha_1$ -AT 基因沉默** 目前，已经有 2 家制药公司 (Arrowhead Research Corporation 和 Alnylam Pharmaceuticals Inc.) 发现了用 siRNA 使 Z 突变  $\alpha_1$ -AT 基因沉默的方法。该治疗方法可以同时减少表达 Z 突变  $\alpha_1$ -AT 蛋白的转基因小鼠血浆中  $\alpha_1$ -AT 和肝细胞中  $\alpha_1$ -AT 聚合体的含量，延缓肝纤维化过程。该应用在非人类个体中可以降低血液中 80% 的  $\alpha_1$ -AT 量，对于治疗 Z 突变  $\alpha_1$ -AT 相关肝病具有广阔前景，并已进入临床 I / II 期试验 (NCT02503683)<sup>[1]</sup>。

**3.2.4 使用干细胞技术造模** 现有的基因工程的治疗是通过基因工程将正常人  $\alpha_1$ -AT cDNA 置入患者足够数目的细胞内，包括单核巨噬细胞和肺泡巨噬细胞的前体细胞。

新近的研究通过分离 AATD 患者的成纤维细胞来生成特异的人类诱导多能干细胞 (hiPSCs)，使其进一步分化为肝细胞样细胞，从而可以直接观察  $\alpha_1$ -AT 的关键致病特点，并进一步使用 hiPSCs 纠正 PiZZ 患者的基因缺陷 (Glu342Lys)。这一方法保留了  $\alpha_1$ -AT 的正常结构、功能



和分泌，并已在老鼠的肝脏损伤模型中验证有效<sup>[39]</sup>。

### 3.2.5 肝脏移植 肝脏移植适用于肝病晚期患者。

## 4 总结与展望

最常见的AATD是由纯合的PiZZ突变体(Glu342Lys)引起，氨基酸的替换导致了蛋白质空间构象改变，在内质网内形成多聚体，进而不能有效地分泌到细胞外进入血循

环，使得血液中 $\alpha_1$ -AT含量减少，活性降低。多聚体在肝细胞内的聚积容易引发肝炎、肝硬化等，血液中 $\alpha_1$ -AT含量的减少会破坏蛋白酶-蛋白酶抑制剂的失衡，导致NE大量破坏肺泡壁引起肺气肿。目前，针对 $\alpha_1$ -AT缺乏引起的肺部疾病和肝脏疾病等的治疗还是以预防和对症治疗为主，不过随着分子技术的不断进步，相信会有更多针对该病的分子机制所研制的靶向药物诞生，来改善这一类疾病的预后。

## 参·考·文·献

- [1] Lomas DA, Hurst JR, Goopptu B. Update on alpha-1 antitrypsin deficiency: new therapies[J]. J Hepatol, 2016, 65(2): 413-424.
- [2] 徐凌, 蔡柏蔷. $\alpha_1$ 抗胰蛋白酶研究的新进展[J]. 国际呼吸杂志, 2001, 21(1): 30-32.
- [3] Zuo L, Pannell BK, Zhou T, et al. Historical role of alpha-1-antitrypsin deficiency in respiratory and hepatic complications[J]. Gene, 2016, 589(2): 118-122.
- [4] Hughes VA, Meklemburg R, Bottomley SP, et al. The Z mutation alters the global structural dynamics of  $\alpha_1$ -antitrypsin[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e102617.
- [5] Flotte TR, Mueller C. Gene therapy for alpha-1 antitrypsin deficiency[J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(R1): R87-R92.
- [6] Duvoux A, Roussel BD, Lomas DA. Molecular pathogenesis of alpha-1-antitrypsin deficiency[J]. Rev Mal Respir, 2014, 31(10): 992-1002.
- [7] Huang X, Zheng Y, Zhang F, et al. Molecular mechanism of Z  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency[J]. J Biol Chem, 2016, 291(30): 15674-15686.
- [8] Tucker HM, Mottron J, Goldsmith EJ, et al. Engineering of plasminogen activator inhibitor-1 to reduce the rate of latency transition[J]. Nat Struct Biol, 1995, 2(6): 442-445.
- [9] Bashir A, Shah NN, Hazari YM, et al. Novel variants of SERPIN1A gene: interplay between alpha1-antitrypsin deficiency and chronic obstructive pulmonary disease[J]. Respir Med, 2016, 117: 139-149.
- [10] Hatipoğlu U, Stoller JK.  $\alpha_1$ -Antitrypsin deficiency[J]. Clin Chest Med, 2016, 37(3): 487-504.
- [11] Zorzetto M, Ferrarotti I, Campo I, et al. Identification of a novel alpha-1-antitrypsin null variant (Q0Cairo)[J]. Diagn Mol Pathol, 2005, 14(2): 121-124.
- [12] Goopptu B, Dickens JA, Lomas DA. The molecular and cellular pathology of  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency[J]. Trends Mol Med, 2014, 20(2): 116-127.
- [13] Salahuddin P. Genetic variants of  $\alpha_1$ -antitrypsin[J]. Curr Protein Pept Sci, 2010, 11(2): 101-117.
- [14] Fra A, Cosmi F, Ordóñez A, et al. Polymers of Z  $\alpha_1$ -antitrypsin are secreted in cell models of disease[J]. Eur Respir J, 2016, 47(3): 1005-1009.
- [15] Knaupp AS, Levina V, Robertson AL, et al. Kinetic instability of the serpin Z  $\alpha_1$ -antitrypsin promotes aggregation[J]. J Mol Biol, 2010, 396(2): 375-383.
- [16] Lomas DA, Evans DL, Finch JT, et al. The mechanism of Z alpha 1-antitrypsin accumulation in the liver[J]. Nature, 1992, 357(6379): 605-607.
- [17] Davis RL, Shrimpton AE, Holohan PD, et al. Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin[J]. Nature, 1999, 401(6751): 376-379.
- [18] Yamasaki M, Li W, Johnson DJ, et al. Crystal structure of a stable dimer reveals the molecular basis of serpin polymerization[J]. Nature, 2008, 455(7217): 1255-1258.
- [19] Yamasaki M, Sendall TJ, Pearce MC, et al. Molecular basis of  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency revealed by the structure of a domain-swapped trimer[J]. EMBO Rep, 2011, 12(10): 1011-1017.
- [20] Bottomley SP. The structural diversity in  $\alpha_1$ -antitrypsin misfolding[J]. EMBO Rep, 2011, 12(10): 983-984.
- [21] Dolmer K, Gettins PG. How the serpin  $\alpha_1$ -proteinase inhibitor folds[J]. J Biol Chem, 2012, 287(15): 12425-12432.
- [22] Marciniuk DD, Hernandez P, Balter M, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency targeted testing and augmentation therapy: a Canadian Thoracic Society clinical practice guideline[J]. Can Respir J, 2012, 19(2): 109-116.
- [23] Dickens JA, Lomas DA. Why has it been so difficult to prove the efficacy of alpha-1-antitrypsin replacement therapy? Insights from the study of disease pathogenesis[J]. Drug Des Devel Ther, 2011, 5: 391-405.
- [24] Lockett AD, Van Demark M, Gu Y, et al. Effect of cigarette smoke exposure and structural modifications on the  $\alpha_1$ -antitrypsin interaction with caspases[J]. Mol Med, 2012, 18: 445-454.
- [25] Alam S, Li Z, Jancicauksiene S, et al. Oxidation of Z  $\alpha_1$ -antitrypsin by cigarette smoke induces polymerization: a novel mechanism of early-onset emphysema[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 45(2): 261-269.
- [26] Sandhaus RA.  $\alpha_1$ -Antitrypsin deficiency - 6: new and emerging treatments for  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency[J]. Thorax, 2004, 59(10): 904-909.
- [27] Ferrarotti I, Thun GA, Zorzetto M, et al. Serum levels and genotype distribution of  $\alpha_1$ -antitrypsin in the general population[J]. Thorax, 2012, 67(8): 669-674.
- [28] Teschl H. Long-term experience in the treatment of  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency: 25 years of augmentation therapy[J]. Eur Respir Rev, 2015, 24(135): 46-51.
- [29] Stolk J, Stockley RA, Stoel BC, et al. Randomised controlled trial for emphysema with a selective agonist of the  $\gamma$ -type retinoic acid receptor[J]. Eur Respir J, 2012, 40(2): 306-312.
- [30] Zuo L, Pannell BK, Re AT, et al.  $P_{O_2}$  cycling protects diaphragm function during reoxygenation via ROS, Akt, ERK, and mitochondrial channels[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 309(11): C759-C766.
- [31] Stoller JK, Aboussouan LS, Kanner RE, et al. Characteristics of  $\alpha_1$ -antitrypsin-deficient individuals in the long-term oxygen treatment trial and comparison with other subjects with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Ann Am Thorac Soc, 2015, 12(12): 1796-1804.
- [32] Teckman JH, Jain A. Advances in  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency liver disease[J]. Curr Gastroenterol Rep, 2014, 16(1): 1-7.
- [33] Lomas DA. Twenty years of polymers: a personal perspective on  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency[J]. COPD, 2013, 10(Suppl 1): 17-25.
- [34] Nyen MP, Prentice T, Day J, et al. An integrative approach combining ion mobility mass spectrometry, X-ray crystallography, and nuclear magnetic resonance spectroscopy to study the conformational dynamics of  $\alpha_1$ -antitrypsin upon ligand binding[J]. Protein Sci, 2015, 24(8): 1301-1312.
- [35] Ordóñez A, Pérez J, Tan L, et al. A single-chain variable fragment intrabody prevents intracellular polymerization of Z  $\alpha_1$ -antitrypsin while allowing its antiproteinase activity[J]. FASEB J, 2015, 29(6): 2667-2678.
- [36] Teckman JH. Lack of effect of oral 4-phenylbutyrate on serum  $\alpha_1$ -antitrypsin in patients with  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency: a preliminary study[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2004, 39(1): 34-37.
- [37] Wang Y, Perlmuter DH. Targeting intracellular degradation pathways for treatment of liver disease caused by  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency[J]. Pediatr Res, 2014, 75(1-2): 133-139.
- [38] Tang Y, Fickert P, Trauner M, et al. Autophagy induced by exogenous bile acids is therapeutic in a model of  $\alpha_1$ -AT deficiency liver disease[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2016, 311(1): G156-G165.
- [39] Yusa K, Rashid ST, Strick-Marchand H, et al. Targeted gene correction of  $\alpha_1$ -antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells[J]. Nature, 2011, 478(7369): 391-394.

[收稿日期] 2016-12-06

[本文编辑] 翟麟平