

βB2 晶状体蛋白在晶状体内外功能的研究进展

相芬芬¹, 张俊洁², 李闻捷¹

基金项目: 中国上海市科委基金资助项目 (No. 11ZR1447500)
作者单位: (200433) 中国上海市, 第二军医大学长海医院¹ 检验科;² 妇产科
作者简介: 相芬芬, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: βB2 晶状体蛋白功能研究。
通讯作者: 李闻捷, 男, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 晶状体蛋白功能与老年性白内障病因学. wenjieli@pku.org.cn
收稿日期: 2011-11-16 **修回日期:** 2011-12-08

Advances in functional research of βB2-crystallin in lens and extralenticular tissues

Fen-Fen Xiang¹, Jun-Jie Zhang², Wen-Jie Li¹

Foundation item: Shanghai Municipal Science & Technology Commission, China (No. 11ZR1447500)

¹Department of Laboratory Diagnosis; ²Department of Obstetrics and Gynecology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Wen-Jie Li. Department of Laboratory Diagnosis, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China. wenjieli@pku.org.cn

Received: 2011-11-16 Accepted: 2011-12-08

Abstract

• βB2-crystallin is the most abundant β-crystallins and mainly expresses in the lens. Its regular structure and water-soluble ingredient point to an important role for lens high refractive index and transparency. Also, βB2-crystallin has been reported to express in some extralenticular tissues such as retina, brain, and testis, and has a certain influence on the related function of these tissues.

• **KEYWORDS:** βB2-crystallin; lens; expression

Xiang FF, Zhang JJ, Li WJ. Advances in functional research of βB2-crystallin in lens and extralenticular tissues. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(1):69-71

摘要

βB2 晶状体蛋白是 β 族晶状体蛋白中含量最高的一类, 主要高表达于晶状体内, 其正常结构及其水溶性成分水平对维持晶状体的高折射系数和透明至关重要。新近研究发现, βB2 晶状体蛋白不仅仅表达于晶状体内, 在晶状体外组织如睾丸、脑、视网膜等也存在较高水平的表达, 并对这

些组织或细胞的某些相关功能有一定影响。

关键词: βB2 晶状体蛋白; 晶状体; 表达

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2012. 01. 21

相芬芬, 张俊洁, 李闻捷. βB2 晶状体蛋白在晶状体内外功能的研究进展. *国际眼科杂志* 2012;12(1):69-71

0 引言

晶状体蛋白是哺乳动物晶状体细胞质中主要的结构蛋白, 根据其在电场中的迁移能力要分为 α, β, γ 共 3 大类。目前对于 α 晶状体蛋白的特性及生物作用机制已有较深入的研究, 其中最重要一点是 α 晶状体蛋白可以通过与错误折叠或变性的蛋白质结合而发挥分子伴侣功能, 从而阻止其非特异性聚集, 维持晶状体的透明性^[1,2]。然而对 β 族晶状体蛋白的生物学特性及其功能还所知较少, 以往主要被认为是一种结构蛋白, 但随着研究的深入, 发现 βB2 晶状体蛋白可能不仅仅是一种结构蛋白, 其在晶状体外也有较高水平的表达, 并对视网膜神经节细胞的再生及小鼠生殖功能有一定影响。我们对 βB2 晶状体蛋白的研究进展做一综述。

1 βB2 晶状体蛋白结构特点及生物特性

1.1 βB2 晶状体蛋白结构特点 β 晶状体蛋白含有若干种多肽, 其中约有 6 种多肽是基因产物, 其它则是翻译后修饰衍生物或是高分子量聚合物 (HMW)。此 6 种多肽又分为酸性蛋白 βA (βA1/3, βA2, βA4) 和碱性蛋白 βB (βB1, βB2, βB3) 两类^[3,4]。其中 βB2 晶状体蛋白是 β 族晶状体蛋白中含量最高的一种晶状体蛋白。小鼠 βB2 晶状体蛋白基因 (Crybb2, Gene ID: 12 961) 位于 5 号染色体, 包含 4 个“Greek key”基序, 为 β 和 γ 晶状体蛋白超家族所共有的一段关键区域^[5], 对应蛋白质由 205 个氨基酸组成, 分子质量 23 379. 20D, 等电点 6. 54。在人类, 该相应的晶状体蛋白 (Crybb2) 位于人染色体的 22q11. 2^[6]。

1.2 βB2 晶状体蛋白生物特性 βB2 晶状体蛋白基因是一个出生后表达基因, 在哺乳类主要表达于晶状体内, 其表达主要在出生后 1wk 内快速增长, 在晶状体蛋白总量中所占比例逐渐增加^[7]。βB2 晶状体蛋白在低浓度时易形成二聚体^[8], 高浓度时常与其它 β 类晶状体蛋白形成异寡聚体^[9], 相对于其它晶状体蛋白, 随晶状体的老化, βB2 晶状体蛋白仍可保持较高的水溶性, 而 α 晶状体蛋白的 C-末端以及 βA3/A1 和 βB1 的 N-末端大部分会被切除而水溶性降低, 变成水不溶性蛋白。此外, βB2 晶状体蛋白所承受的翻译后修饰作用比其它晶状体蛋白要少, 即具有更强的抗氧化修饰及抵抗脱酰胺作用修饰等能力^[10,11]。

表1 小鼠 β B2 晶状体蛋白等位基因突变

核苷酸位置	碱基替换	氨基酸位置	氨基酸替换	突变结果(参考文献)
内含子 5:-57	A→T		剪接作用致 6 号外显子前多出 19 氨基酸	进行性白内障发生(13)
560	T→A	187	缬氨酸→谷氨酸	进行性白内障发生(14)
577-588	缺失	195-198	4 个氨基酸缺失(谷氨酰胺、丝氨酸、缬氨酸、精氨酸)	进行性白内障发生(15) 雄性小鼠生育力降低(20)

2 β B2 晶状体蛋白在晶状体中的作用

β B2 晶状体蛋白在晶状体中的高表达,对于维持晶状体透明、延缓白内障的发生起到重要作用。晶状体的透明性依赖于晶状体蛋白的可溶性,而氧化、受热、脱氨基作用等因素可以修饰晶状体蛋白,导致晶状体蛋白变性,变成不溶性蛋白,进而导致白内障的发生。由于 β B2 晶状体蛋白对于外界的氧化、热变性、糖基化修饰作用耐受力较强,其在晶状体中的高表达对于保持晶状体透明至关重要^[10]。另有研究发现, β B2 水溶性蛋白含量随晶状体的老化呈反常年龄依赖性增高^[12],由 α 族晶状体蛋白的伴侣作用随老化进程而逐渐下降,造成 HMW 聚合物逐步由水溶性变为不溶性。而此时 β B2 晶状体蛋白水溶性成分的增加,将有助于弥补 α 族晶状体蛋白的伴侣蛋白作用下降所带来的不利影响,延迟晶状体结构发生改变的时间,这对于维持晶状体的正常空间结构及透光性起到重要的作用。另外,基因突变相关研究表明,哺乳动物 β B2 晶状体蛋白三个位点的突变均可引起进行性白内障的发生^[13-15],它们均是影响到了 6 号外显子即第 4 个“Greek key”基序所致(表 1)^[16]。

为进一步研究 β B2 晶状体蛋白的功能,本课题组成成功构建了 β B2 晶状体蛋白基因敲除小鼠^[17],并发现 β B2 晶状体蛋白基因敲除的小鼠刚出生时晶状体发育正常,随年龄增长,小鼠晶状体的质量、直径和正常小鼠比较明显减少;小鼠在生后数月内发生皮质性白内障,其程度随年龄增长而加重^[18],这与 β B2 晶状体蛋白在出生后表达的特点及其抗氧化修饰能力、老化晶状体中的高水溶性等特点相符合。

3 β B2 晶状体蛋白在晶状体外的表达及功能

3.1 β B2 晶状体蛋白在晶状体外的表达研究

由于 β B2 晶状体蛋白在晶状体内的高含量,很长时间以来人们都没有发现其在晶状体外的表达及功能。1998 年 Dirks 等^[19]报道 β B2 晶状体蛋白 mRNA 在大鼠脑、睾丸和肺等组织的表达;2000 年 Magabo 等^[20]又研究了 β B2 晶状体蛋白在大鼠、牛和人的视网膜、脑和睾丸中的表达,发现 β B2 晶状体蛋白可以在大鼠的脑、睾丸及人的视网膜中检测到,而在人的脑及睾丸中未检测到 β B2 晶状体蛋白的表达;Ganguly 等^[15]利用原位杂交和免疫组织化学的方法进一步研究了 β B2 晶状体蛋白在脑中的分布,并发现在脑内 β B2 晶状体蛋白主要表达于小脑、嗅觉区、大脑皮质和海马区。另外,本课题组研究 β B2 晶状体蛋白在小鼠卵巢中的表达,免疫组织化学结果显示其在卵巢中有较高水平的表达,以间质表达量最高,卵泡内也可见其表达;表达趋势同在晶状体中表达趋势相一致:即在小鼠出生后,其在

小鼠卵巢中的表达量逐渐增高,1mo 后维持在一个较高水平^[21]。

3.2 β B2 晶状体蛋白对小鼠生殖功能的影响

研究证明 β B2 晶状体蛋白在小鼠睾丸中的表达对雄性小鼠的生殖功能有一定影响。2007 年 Duprey 等^[22]研究 β B2 晶状体蛋白在小鼠睾丸中的表达特点为:小鼠刚出生时, β B2 晶状体蛋白在睾丸中即存在表达,但表达量较低,随着小鼠成熟,其表达量逐渐增高,在成熟睾丸内维持一个较高水平的表达;并发现 β B2 晶状体蛋白基因突变的 Swiss Webster 系雄性小鼠生育能力降低,表现为睾丸内精子数量减少、精子活力降低,而在 β B2 晶状体蛋白基因突变的 C57BL/6 品系小鼠未发现明显的生育能力降低现象。此外,本课题组采用免疫印记及免疫荧光等方法检测到了 β B2 晶状体蛋白在 C57BL/C 品系小鼠的睾丸内的表达,并且利用 β B2 晶状体蛋白基因敲除小鼠研究发现该基因敲除后的 C57BL/C 雄性小鼠生殖能力明显下降,表现为小鼠精子计数减少、活力下降,小鼠睾丸外观减小、重量减轻,小鼠生仔数目轻度减少、窝数减少等。目前, β B2 晶状体蛋白影响雄性小鼠生精功能的作用机制还不甚清楚,还有待于更深一步的研究。

3.3 β B2 晶状体蛋白在视网膜神经节细胞再生中的作用

新近研究表明, β B2 晶状体蛋白在视网膜中的表达与视神经节细胞的再生密切相关: β B2 晶状体蛋白可参与轴突的延伸,促进神经节细胞的再生^[23,24]。Liedtke 等^[23]做了视网膜神经节细胞体外培养实验,发现在视网膜视神经节细胞再生过程中细胞上清液中 β B2 晶状体蛋白含量明显上调。我们认为 β B2 晶状体蛋白通过自身内分泌机制分泌,起到促神经轴突生长因子作用,可应用于神经变性疾病中。

4 结语

β B2 晶状体蛋白在老化晶状体中的高水溶性不仅在维持晶状体的透明、延缓白内障的发生中起到重要作用,其在晶状体外组织也存在广泛表达,并参与了这些组织或细胞某些功能的调控,这对维持机体某些正常的生理功能起到重要作用,而具体作用机制还不甚清楚。随着对 β B2 晶状体蛋白研究的深入,将进一步揭示其在晶状体外组织发挥功能的作用机制,为相关疾病的治疗提供新的思路 and 解决方案。

参考文献

- 1 Horwitz J. Alpha-crystallin. *Exp Eye Res* 2003;76(2):145-153
- 2 Horwitz J. The function of alpha-crystallin in vision. *Semin Cell Dev Biol* 2000; 11(1):53-60
- 3 Berbers GA, Hoekman WA, Bloemendal H, et al. Homology between the primary structures of the major bovine beta-crystallin chains. *Eur J*

- Biochem* 1984;139(3):467-479
- 4 Lampi KJ, Ma Z, Shih M, *et al.* Sequence analysis of betaA3, betaB3, and betaA4 crystallins completes the identification of the major proteins in young human lens. *J Biol Chem* 1997;272(4):2268-2275
- 5 Inana G, Piatigorsky J, Norman B, *et al.* Gene and protein structure of a beta-crystallin polypeptide in murine lens: relationship of exons and structural motifs. *Nature* 1983;302(5906):310-315
- 6 Brakenhoff RH, Aarts HJ, Schuren F, *et al.* The second human beta B2-crystallin gene is a pseudogene. *Exp Eye Res* 1992;54(5):803-806
- 7 Aarts HJ, Lubsen NH, Schoenmakers JG. Crystallin gene expression during rat lens development. *Eur J Biochem* 1989;183(1):31-36
- 8 Hejtmancik JF, Wingfield PT, Sergeev YV. Beta-crystallin association. *Exp Eye Res* 2004;79(6):377-383
- 9 Trinkl S, Glockshuber R, Jaenicke R. Dimerization of beta B2-crystallin; the role of the linker peptide and the N- and C-terminal extensions. *Protein Sci* 1994;3(9):1392-1400
- 10 Zhang Z, David LL, Smith DL, *et al.* Resistance of human betaB2-crystallin to *in vivomodification*. *Exp Eye Res* 2001;73(2):203-211
- 11 Bloemendal H, de Jong W, Jaenicke R, *et al.* Ageing and vision: structure, stability and function of lens crystallins. *Prog Biophys Mol Biol* 2004;86(3):407-485
- 12 李闻捷, Joseph-Fu S.-C. 晶体蛋白 β B2 对眼晶体老化的影响. *中国病理生理杂志* 2004;20(10):1905-1907
- 13 Chambers C, Russell P. Deletion mutation in an eye lens beta-crystallin. An animal model for inherited cataracts. *J Biol Chem* 1991;266(11):6742-6746
- 14 Graw J, Loster J, Soewarto D, *et al.* Characterization of a new, dominant V124E mutation in the mouse alphaA-crystallin-encoding gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(12):2909-2915
- 15 Ganguly K, Favor J, Neuhauser-Klaus A, *et al.* Novel allele of crybb2 in the mouse and its expression in the brain. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(4):1533-1541
- 16 Graw J. Genetics of crystallins: cataract and beyond. *Exp Eye Res* 2009;88(2):173-189
- 17 张军,黄才国,李闻捷,等. 晶体蛋白基因敲除小鼠模型的建立. *第二军医大学学报* 2006;27(11):1246-1249
- 18 薛炼,姚雯颖,张军,等. β B2 晶体蛋白基因敲除与小鼠年龄相关性白内障. *国际眼科杂志* 2009;9(3):28-30
- 19 Dirks RP, Van Genesen ST, KrUse JJ, *et al.* Extralenticular expression of the rodent betaB2-crystallin gene. *Exp Eye Res* 1998;66(2):267-269
- 20 Magabo KS, Horwitz J, Piatigorsky J, *et al.* Expression of betaB(2)-crystallin mRNA and protein in retina, brain, and testis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(10):3056-3060
- 21 张俊洁,张薇薇,姚雯颖,等. β B2 晶体蛋白在小鼠卵巢组织中的表达. *现代检验医学杂志* 2009;24(2):1-3
- 22 Duprey KM, Robinson KM, Wang Y, *et al.* Subfertility in mice harboring a mutation in betaB2-crystallin. *Mol Vis* 2007;13:366-373
- 23 Liedtke T, Schwamborn JC, Schroer U, *et al.* Elongation of axons during regeneration involves retinal crystallin beta b2 (crybb2). *Mol Cell Proteomics* 2007;6(5):895-907
- 24 Fischer D, Hauk TG, Muller A, *et al.* Crystallins of the beta/gamma-superfamily mimic the effects of lens injury and promote axon regeneration. *Mol Cell Neurosci* 2008;37(3):471-479