

膜联蛋白A5在围生期疾病中的研究进展

滕萌¹, 于静², 潘一丹¹, 瓮占平^{2*}

¹大连医科大学, 辽宁 大连

²青岛市市立医院, 山东 青岛

Email: sdqdwzp@126.com

收稿日期: 2021年6月7日; 录用日期: 2021年6月28日; 发布日期: 2021年7月9日

摘要

膜联蛋白A5 (Anx A5)是钙依赖的磷脂结合蛋白家族的一员,其广泛存在于组织细胞中,因为其具有的独特结构而参加多种细胞内、外的抗凝、促凋亡等重要功能。近年来研究发现,膜联蛋白A5在妊娠特发疾病如子痫前期、胎儿生长受限等孕妇的血清及胎盘组织中的表达下降,与多种疾病的发生发展密切相关。现就膜联蛋白A5的生物学功能及与各种妊娠相关疾病的关系进行分析与总结,为围生期相关疾病的预防及治疗提供新思路。

关键词

膜联蛋白A5, 围生期疾病, 抗凝, 细胞融合

The Research Progress of Annexin A5 in Perinatal Diseases

Meng Teng¹, Jing Yu², Yidan Pan¹, Zhanping Weng^{2*}

¹Dalian Medical University, Dalian Liaoning

²Qingdao Municipal Hospital, Qingdao Shandong

Email: sdqdwzp@126.com

Received: Jun. 7th, 2021; accepted: Jun. 28th, 2021; published: Jul. 9th, 2021

Abstract

Annexin A5 (Anx A5) is a member of the calcium-dependent phospholipid binding protein family,

*通讯作者。

文章引用: 滕萌, 于静, 潘一丹, 瓮占平. 膜联蛋白 A5 在围生期疾病中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2021, 11(7): 3012-3017. DOI: [10.12677/acm.2021.117438](https://doi.org/10.12677/acm.2021.117438)

which is widely present in tissues and cells. Because of its unique structure, it participates in a variety of important functions inside and outside the cell, such as anticoagulant and pro-apoptosis. In recent years, a large number of studies have showed that the expression of Annexin A5 in the serum and placental tissues of pregnant women with idiopathic pregnancy-related diseases such as preeclampsia, fetal growth restriction has decreased, which is closely related to the occurrence and development of many diseases. The biological function of Annexin A5 and the relationship with various pregnancy-related diseases are analyzed and summarized, which provides new ideas for the prevention and treatment of perinatal-related diseases.

Keywords

Annexin A5, Perinatal Disease, Anticoagulation, Cell Fusion

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

膜联蛋白(Annexins)是在真核细胞中发现的一类蛋白家族,在脊椎动物中 ANX 家族目前已发现有 12 个成员(ANXA1-A11, A13),它们以 Ca^{2+} 依赖的方式与负电荷磷脂膜结合[1] [2]。它们由 70 个氨基酸结构域的一个四重重复序列和一个可变的氨基酸末端(NT)结构域组成,该结构域包含各种分子伴侣的磷酸化位点和结合位点,并被认为是导致 Annexins 功能特异性的因素[2]。膜联蛋白 A5 (Anx A5)主要由胎盘滋养细胞分泌,是一种抗凝物质,可能在围产期疾病的发生、发展中起着重要的作用。现就 Anx A5 的生物学特性及其在围生医学中的研究进行综述,为围产期疾病发病机制的研究及治疗提供新的思路。

2. Anx A5 的生物学特性

2.1. 结构与功能

Anx A5 是 Anx 家族中最多、分布最广的膜联蛋白。它最初是在 1970 年发现于人的胎盘[3],其基因位于染色体 4q26-q28 上,有 13 个外显子,12 个内含子。其蛋白由 320 个氨基酸构成,分子量为 35935Da。X-射线结晶学和低温电镜研究表明,Anx A5 有可溶型和膜结合型两种存在方式。单体 Anx A5 有 4 个重复区域并排列成对,呈突出的圆盘形,在每个凸面上都有与磷脂和 Ca^{2+} 的结合位点[4]。其立体构型非常典型,包含两种类型: II 型和 III 型。II 型即 AB 型,即在 AB 环上的 Ca^{2+} 的结合位点,其结合力最高; III 型即在 N 末端有 B 螺旋(B 位点)和 D 螺旋(D 位点),其与 Ca^{2+} 的结合力不高。大量研究表明,Anx A5 在功能层面上,有促进细胞融合、维持细胞稳定、抗凝等功能,且与早期细胞凋亡有一定的相关性。

2.2. Anx A5 在胎盘中的表达及作用

Anx A5 由血小板和胎盘滋养细胞合成,存在于胎盘绒毛表面的顶端,在母胎血液循环中起重要作用[5]。Anx A5 在 Ca^{2+} 存在时与带负电荷的磷脂如磷脂酰丝氨酸(PS)具有高亲和力,并在滋养层膜的外叶中表达。这样 Anx A5 就在滋养细胞表面的促凝阴离子磷脂周围形成了一个抗血栓的二维屏蔽层,有效地将 PS 这一促凝因素与其他相关促凝因子隔离开来[6]。Anx A5 还可以抑制内皮细胞介导的凝血酶形成,从而起到抗凝血作用[7]。在细胞凋亡过程中,大量 PS 暴露在细胞表面,并能支持促凝血酶复合物的组装,

从而表现出促凝和促炎活性。然而, PS 与 Anx A5 的结合能抑制成熟胎盘细胞凋亡过程中产生的促凝血和促炎活性。

有研究[8]证明, Anx A5 参与了许多与膜相关的过程, 例如囊泡转运、膜聚集、融合和细胞膜修复等。其在与生物膜结合时显示出一种自组织成二维(2D)阵列的结构特性。在聚集的滋养层细胞的质膜子集上, 在 E 钙黏蛋白(E-cadherin)、 α 钙黏蛋白(α -catenin)和 β 钙黏蛋白(β -catenin)附近有一个 Anx A5 簇。钙浓度的升高触发了单体 Anx A5 分子与含有负电荷磷脂的膜表面的结合, 这些分子随后迅速组装成三聚体, 然后自组织成二维有序阵列[9]。通过二维阵列自组织参与调节滋养层融合, 促进 E-cadherin 质膜迁移和细胞聚集, 这是滋养层融合所必需的。

Severine A [10]等通过重组 Anx A5 细胞传递和 RNA 干扰来证明 Anx A5 在合胞体形成中的作用。通过多种免疫共沉淀、免疫定位和邻近实验, 发现在一个分子复合物附近的质膜内侧叶处有一簇 Anx A5 池, 其中包括 E-cadherin、 α -catenin 和 β -catenin, 这三种蛋白质以前被证明在细胞融合过程中发挥重要作用。通过 Anx A5 的敲除和重组实验证明这种 Anx A5 2D 网络介导 E-Cadherin 在质膜中的迁移, 从而触发了人滋养细胞的聚集, 进而促进了细胞融合。

3. Anx A5 在围产期疾病中的研究进展

在胚胎植入胎盘过程中, 胎儿滋养细胞在怀孕早期侵入母体子宫内膜。细胞滋养细胞聚集并融合形成非增殖的、多核的、内分泌活性的合体滋养细胞。细胞滋养细胞在人类妊娠过程中起着至关重要的作用, 它具有分化为合胞体的能力。细胞滋养细胞分化和细胞融合异常对胎儿生长发育和妊娠结局有严重影响。其特点是绒毛膜绒毛体积和表面积的减少, 这在宫内生长受限和子痫前期等围产期疾病的病理特征上都有一定体现[11]。联系到 Anx A5 在功能层面上, 有促进细胞融合、维持细胞稳定、抗凝等功能, 怀疑 Anx A5 与围产期疾病的发生发展具有一定的相关性。

3.1. Anx A5 与胎儿生长受限

胎儿生长受限(FGR)被定义为估计的胎儿体重和/或腹围(AC)小于第 10 个百分点, 其在围产期疾病中的发生率较高。Sifakis S 等[12]的研究采用实时 PCR 和 ELISA 方法分别检测了 18 例胎儿生长受限(FGR)患者和 16 例正常妊娠胎盘组织中 Anx A5 的 mRNA 和蛋白水平。FGR 胎盘的 Anx A5 mRNA 水平明显低于正常妊娠, 而蛋白水平没有明显差异。对从出生体重小于第 3 百分位数的婴儿中获得的 13 例 FGR 影响的胎盘进行了同样的分析, 结果与上述结果相似。继续对 13 例 FGR 影响的胎盘进行组织学评价。62% 例胎盘中, 以血栓性血管病变为主要病理表现, 并伴有基底坏死、蜕膜血管血栓、大量绒毛周围纤维蛋白沉积和广泛的绒毛膜下血栓形成等胎盘血管病变。其余病例以炎症为主要特征, 并伴有病因不明的血管炎、胎儿炎症反应综合征等。对这 62% 例组织学检查主要以血栓性血管病变为特征的病例进行统计学分析, 与对照组相比, 胎盘组织 Anx A5 mRNA 水平显著降低, 而蛋白质水平在两组间差异无显著性。尽管与 FGR 相关的胎盘和对照组的蛋白水平相似, 但推测可能是血流中蛋白的募集、细胞凋亡或转录后修饰的增加影响了 FGR 相关胎盘中的 Anx A5 蛋白水平。仍需要进一步的研究揭示 Anx A5 在 FGR 病理中的作用。

Simone D 等研究[13]证明了 Anx A5 能与磷脂有效结合, 从而抑制 FGR 的发展, 并表示胎盘 Anx A5 表达的下降, 对胎儿宫内发育具有一定的负面影响; Van Eerden 等研究[14]也证明携带 Anx A5 基因 M2 突变的孕妇, 该蛋白表达减少会导致子宫-胎盘循环缺血缺氧, 胎儿所需的营养物质均从胎盘中获取, 如果胎盘氧供不足, 那胎儿的生长发育将受到限制, 出现体重低于正常孕周的足月胎儿的情况, 因此 Anx A5 的变化与 FGR 有着一定的相关性。

3.2. Anx A5 与系统性自身免疫病

系统性自身免疫疾病(AID)是机体自身免疫功能紊乱,对自身抗原产生免疫反应,导致自身组织损伤的慢性炎性疾病,其特点是激活免疫系统,改变机体免疫状态,活化 T 细胞和产生自身抗体。AID 多发于育龄期女性,妊娠期常见的 AID 包括:系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、抗磷脂综合征(antiphospholipid syndrome, APS)等[15]。有研究表明[16] [17],在系统性自身免疫性疾病,特别是系统性红斑狼疮(SLE)和抗磷脂综合征(APS)患者血液系统中 Anx A5 水平不稳定及其功能出现紊乱,与 SLE 和 APS 患者凝血功能的紊乱具有相关性。SLE 和 APS 患者体内 Anx A5 抗体的存在干扰了其抗凝功能,抗凝活性显著降低,这一观察结果与宫内胎儿丢失、子痫前期和动脉及静脉血栓形成的高发生率相关。抗 Anx A5 抗体致病性的直接证据来自于输注抗 Anx A5 抗体导致妊娠 BALB/c 小鼠胎盘血栓形成和组织坏死的研究[18]。注入的抗 Anx A5 抗体可能与抗磷脂抗体的作用类似[19],导致胎盘内 Anx A5 丢失,从而使母胎组织交界处血栓形成,影响营养交换功能,导致胎儿死亡[20]。

近年来还有研究[21]表明,PS 的暴露作为凝血过程的信号,细胞外的 Anx A5 识别信号并粘附在 PS 上形成一道抗凝屏障,防止狼疮相关血栓的形成。由于 Anx A5 是磷脂辅助因子,会被误认为磷脂蛋白复合物,从而成为抗磷脂抗体攻击的目标。另外[22],抗磷脂抗体黏合 $\beta 2$ 糖蛋白 I 对磷脂有更高的亲和力,从而与 Anx A5 竞争黏合磷脂,降低了 Anx A5 的抗凝能力,导致血栓形成,更有甚者导致胎儿宫内死亡。

3.3. Anx A5 与子痫前期

子痫前期(preeclampsia, PE)是一种主要发生在妊娠 20 周以后的临床综合征,主要表现为高血压、蛋白尿等多系统器官功能紊乱。PE 是导致胎儿畸形、胎儿宫内生长受限和孕产妇死亡的常见原因。PE 的发病起源于胎盘的病理生理变化,由于免疫、遗传、内皮细胞功能紊乱等因素,滋养细胞分化异常导致螺旋动脉重铸失败和胎盘浅着床[23],其主要表现为胎盘局部缺血或缺氧,与体内凝血系统和抗凝血系统的失衡密切相关。有研究[24]发现在子痫前期的胎盘滋养细胞中的 Anx A5 的表达与正常胎盘相比染色强度降低,随着 Anx A5 表达的降低,患者血浆纤维蛋白降解产物和凝血酶-抗凝血酶 III 复合物水平升高。这些结果提示子痫前期胎盘中 Anx A5 表达降低可能导致绒毛间隙高凝状态,并可能与宫内生长受限的发生有关。

Hong Xin 等的研究[25]采用蛋白印迹法和免疫组化方法检测孕妇胎盘组织及外周血中的 Anx A5 蛋白表达水平,结果显示子痫前期无论早发型还是晚发型的胎盘组织及外周血中 Anx A5 蛋白水平均低于健康孕妇组,而子痫前期各组之间没有明显统计学差异。然而子痫前期患者外周血的凝血功能未见明显变化,认为这可能与外周血中 Anx A5 下降不明显有关。有研究[26]表明,Anx A5 的抗凝活性同其水平密切相关。活化部分凝血酶时间(APTT)与 Anx A5 水平呈依赖性相关。当 Anx A5 水平 ≥ 30 mg/L 时,才能完全阻止凝血酶复合物的形成。该研究认为子痫前期 Anx A5 的表达下调与血管重铸障碍存在着相关性。特别是 Anx A5 抗凝作用的下降可导致胎盘微循环的凝血功能障碍,与子痫前期的发病、进展有关。

4. 结语

综上所述,虽然各种疾病的发病机制不同,但在多种妊娠相关疾病中 Anx A5 均呈现低表达状态,即使具体的发病机制暂未明确,但可以肯定,低表达的 Anx A5 影响疾病的发生发展过程。因此,深入研究 Anx A5 在围生期疾病中的作用,将为围生期疾病的治疗提供新的思路。或许将来可以通过大样本数据的研究,制定 Anx A5 在不同类型疾病中的范围,通过检测 Anx A5 的含量,在临床症状出现之前早期预测疾病的发生,通过早发现、早诊断、早治疗来改善围生期母儿的预后。

参考文献

- [1] Moss, S.E. and Morgan, R.O. (2004) The Annexins. *Genome Biology*, **5**, 1-8. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-4-219>
- [2] Gerke, V., Creutz, C.E. and Moss, S.E. (2005) Annexins: Linking Ca²⁺ Signalling to Membrane Dynamics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **6**, 449-461. <https://doi.org/10.1038/nrm1661>
- [3] Bohn, H. and Kraus, W. (1979) Isolation and Characterization of a New Placenta Specific Protein (PP10) (Author's Transl). *Archives of Gynecology*, **227**, 125-134. <https://doi.org/10.1007/BF02103286>
- [4] Cookson, B.T., Engelhardt, S., Smith, C., et al. (1994) Organization of the Human Annexin V (ANX5) Gene. *Genomics*, **20**, 463-467. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1201>
- [5] Wu, X.-X., Arslan, A.A., Wein, R., et al. (2006) Analysis of Circulating Annexin A5 Parameters during Pregnancy: Absence of Differences between Women with Recurrent Spontaneous Pregnancy Losses and Controls. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **195**, 971. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.02.034>
- [6] Rand, J.H., Wu, X.X., Quinn, A.S., Chen, P.P., McCrae, K.R., Bovill, E.G., et al. (2003) Human Monoclonal Antiphospholipid Antibodies Disrupt the Annexin A5 Anticoagulant Crystal Shield on Phospholipid Bilayers: Evidence from Atomic Force Microscopy and Functional Assay. *The American Journal of Pathology*, **163**, 1193-1200. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63479-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63479-7)
- [7] Shyu, V.B.H., Hsu, C.E., Wen, C.J., et al. (2017) Novel Injury Site Targeted Fusion Protein Comprising Annexin V and Kunitz Inhibitor Domains Ameliorates Ischemia-Reperfusion Injury and Promotes Survival of Ischemic Rat Abdominal Skin Flaps. *Annals of Plastic Surgery*, **78**, S129-S134. <https://doi.org/10.1097/SAP.0000000000001018>
- [8] Bouter, A., Carmeille, R., Gounou, C., Bouvet, F., Degrelle, S.A., Evain-Brion, D. and Brisson, A.R. (2015) Review: Annexin-A5 and Cell Membrane Repair. *Placenta*, **36**, S43-S49. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.01.193>
- [9] Carmeille, R., Degrelle, S.A., Plawinski, L., et al. (2015) Annexin-A5 Promotes Membrane Resettling in Human Trophoblasts. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1853**, 2033-2044. <https://doi.org/10.1016/j.bbamer.2014.12.038>
- [10] Degrelle, S.A., Gerbaud, P., Leconte, L., et al. (2017) Annexin-A5 Organized in 2D-Network at the Plasmalemma Eases Human Trophoblast Fusion. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 42173. <https://doi.org/10.1038/srep42173>
- [11] Gerke, V. and Moss, S.E. (2002) Annexins: From Structure to Function. *Physiological Reviews*, **82**, 331-371. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2001>
- [12] Sifakis, S., Soufla, G., Koukoura, O., et al. (2010) Decreased Annexin A5 mRNA Placental Expression in Pregnancies Complicated by Fetal Growth Restriction. *Thrombosis Research*, **125**, 326-331. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2009.11.033>
- [13] Ornaghi, S., Vergani, P., Urban, G., Giardini, V., Moltrasio, F. and Leone, B.E. (2011) Immunohistochemical Expression of Annexin A5 in Preeclamptic Placentas. *Placenta*, **32**, 264-268. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2010.12.015>
- [14] Van Eerden, P., Wu, X.-X., et al. (2007) Annexin A5 Levels in Midtrimester Amniotic Fluid: Association with Intrauterine Growth Restriction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **194**, 1371-1376. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2005.11.005>
- [15] De Carolis, S., Moresi, S., Rizzo, F., Monteleone, G., Tabacco, S., Salvi, S., Garufi, C. and Lanzone, A. (2019) Autoimmunity in Obstetrics and Autoimmune Diseases in Pregnancy. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, **60**, 66-76. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2019.03.003>
- [16] Li, X., Chen, L., Liang, X.J., et al. (2012) Annexin A5 Protein Expression Is Associated with the Histological Differentiation of Uterine Cervical Squamous Cell Carcinoma in Patients with an Increased Serum Concentration. *Molecular Medicine Reports*, **6**, 1249-1254. <https://doi.org/10.3892/mmr.2012.1078>
- [17] Avriel, A., Fleischer, S., Friger, M., et al. (2016) Prediction of Antiphospholipid Syndrome Using Annexin A5 Competition Assay in Patients with SLE. *Clinical Rheumatology*, **35**, 2933-2938. <https://doi.org/10.1007/s10067-016-3428-1>
- [18] Wang, X., Campos, B., Kaetzel, M.A. and Dedman, J.R. (1999) Annexin V Is Critical in the Maintenance of Murine Placental Integrity. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, **180**, 1008-1016. [https://doi.org/10.1016/S0002-9378\(99\)70674-5](https://doi.org/10.1016/S0002-9378(99)70674-5)
- [19] Omar, G., Mohamed, F.I., Sadek, H.A. and Mamdouh, A. (2018) Diagnostic Value of Anti-Annexin A5 Antibodies in Seropositive versus Seronegative Antiphospholipid Syndrome Patients. *Egyptian Rheumatologist*, **40**, 111-116. <https://doi.org/10.1016/j.ejr.2017.07.003>
- [20] Rand, J.H., Wu, X.X., Andree, H.A.M., Lockwood, C.J., Guller, S., Scher, J. and Harpel, P.C. (1997) Pregnancy Loss in the Antiphospholipid-Antibody Syndrome—A Possible Thrombogenic Mechanism. *The New England Journal of Medicine*, **337**, 154-160. <https://doi.org/10.1056/NEJM199707173370303>
- [21] Hrycek, A. and Cielik, P. (2012) Annexin A5 and Anti-Annexin Antibodies in Patients with Systemic Lupus Erythe-

-
- matusus. *Rheumatology International*, **32**, 1335-1342. <https://doi.org/10.1007/s00296-011-1793-2>
- [22] Wahezi, D.M., Ilowite, N.T., Wu, X.X., *et al.* (2013) Annexin A5 Anticoagulant Activity in Children with Systemic Lupus Erythematosus and the Association with Antibodies to DOMAIN I of beta2-Glycoprotein I. *Lupus*, **22**, 702-711. <https://doi.org/10.1177/0961203313490241>
- [23] Gathiram, P. and Moodley, J. (2016) Pre-Eclampsia: Its Pathogenesis and Pathophysiology. *Cardiovascular Journal of Africa*, **27**, 71-78. <https://doi.org/10.5830/CVJA-2016-009>
- [24] Shu, F., Sugimura, M., Kanayama, N., *et al.* (2000) Immunohistochemical Study of Annexin V Expression in Placentae of Preeclampsia. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, **49**, 17-23. <https://doi.org/10.1159/000010206>
- [25] Hong, X. and Wang, H.L. (2011) Expression Changes and Clinical Significance of Annexin V in Maternal Blood and Placenta in Patients with Preeclampsia. *Chinese Journal of Obstetrics and Gynecology*, **46**, 88-93.
- [26] Rand, J.H., Wu, X.X., *et al.* (2004) Detection of Antibody Mediated Reduction of Annexin A5 Anticoagulant Activity in Plasms of Patients with the Antiphospholipid Syndrome. *Blood*, **104**, 2783-2790. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-01-0203>