

The Important Role of Aspartate Protease in Parasitic Infection and Immunity

Yuexin Sun¹, Shaojie Wang¹, Yuning Mao¹, Yingying Bai¹, Xiaojing Sun²

¹Department of Medical Technology, Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi

²Department of Pathogenic Biology, School of Basic Medicine Science, Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi
Email: 364169014@qq.com

Received: Jan. 30th, 2019; accepted: Feb. 11th, 2019; published: Feb. 18th, 2019

Abstract

Aspartate protease is a kind of important alkaline proteolytic enzymes, which widely exists in a variety of animals and plants, and participates in the metabolism and immune regulation of the body. In this paper, we briefly discussed the structure and function of aspartate protease and its important role in parasitic infection and immunity, so as to lay a foundation for the study of its potential therapeutic targets and candidate vaccines.

Keywords

Aspartate Protease, Parasite, Immunity

天冬氨酸蛋白酶在寄生虫感染与免疫中的重要作用

孙悦馨¹, 王少杰¹, 毛玉宁¹, 白莹莹¹, 孙晓敬²

¹西安医学院医学技术系, 陕西 西安

²西安医学院基础医学部, 病原生物学教研室, 陕西 西安
Email: 364169014@qq.com

收稿日期: 2019年1月30日; 录用日期: 2019年2月11日; 发布日期: 2019年2月18日

摘要

天冬氨酸蛋白酶是一类重要的碱性蛋白水解酶, 广泛存在于多种动植物体内, 参与机体的新陈代谢和免疫调节。本文简要论述了天冬氨酸蛋白酶的结构、功能及其在寄生虫感染和免疫中的重要作用, 从而为

研究其潜在的治疗靶点和候选疫苗奠定基础。

关键词

天冬氨酸蛋白酶, 寄生虫, 免疫

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

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

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



Open Access

1. 引言

天冬氨酸蛋白酶(Aspartic Proteases)是一类携带磷酰胆碱成分的蛋白酶分子,广泛分布于多种生物中,包括病毒、真菌、寄生虫、哺乳动物及植物等,该类蛋白酶以单链的酶原形式合成,经过加工形成具有催化活性的蛋白酶单体或异源二聚体,参与机体的新陈代谢及生物调控作用[1]。包括分泌型天冬氨酸酶和结构型天冬氨酸酶,分泌型天冬氨酸酶底物作用范围广泛,在细胞外起到催化水解蛋白质肽键的作用,可裂解多个底物靶点;而结构型天冬氨酸蛋白酶被认为是真核病原体的结构成分,可干扰宿主体内 B 细胞和 T 细胞增殖通路的关键信号,从而影响体液免疫和细胞免疫水平[2],使病原体在宿主体内能长期生存。两者的主要区别在于分泌型天冬氨酸酶具有信号肽序列,可分泌至胞外发挥功能,而结构型天冬氨酸酶却缺乏信号肽。同样,天冬氨酸蛋白酶在寄生虫入侵宿主细胞、营养吸收、免疫逃避、逸出寄生泡、参与细胞分化和调节致病机制等过程中也发挥了重要的免疫调节作用,因而被认为是抗寄生虫药物研发的极好靶点[3]。本文主要对天冬氨酸蛋白酶的结构、功能及其在寄生虫感染中的重要作用作一综述。

2. 天冬氨酸蛋白酶结构

天冬氨酸蛋白酶基因在不同种属之间具有高度保守性和相似性,具有以 C2 为对称轴的两个双叶型三级结构;典型的天冬氨酸肽链内切酶在其活性中心包含两个天冬氨酸残基,该催化残基位于保守区 Asp-Thr/Ser-Gly (DT/SG)基序内并形成酶活性位点[4]。到目前为止,已有 70 多种真核生物的天冬氨酸蛋白酶得到证实,主要包括胃蛋白酶(Pepsin)、肾素(Renin)、组织蛋白酶 D (Cathepsin D)、逆转录病毒蛋白酶(HIV-1protease)等,其主要分布于哺乳动物的胃(如:胃蛋白酶 pepsin 和凝乳酶 chymosin)、肾(如:肾素, renin)以及溶酶体(如:组织蛋白酶 D 和 E)中[5];在植物体内,天冬氨酸蛋白酶广泛分布于植物的种子、叶片、茎、花等组织中,主要参与前体蛋白加工、蛋白质降解、细胞程序性死亡等过程,同时也参与植物抗病、抗逆、叶片衰老等[6];另外,在其他生物如酵母、真菌、寄生虫和逆转录病毒等也发现了天冬氨酸蛋白酶的存在。如在恶性疟原虫中发现的半胱氨酸蛋白酶(plasmepsin),能够在受染红细胞的纳虫空泡内对血红蛋白进行初步裂解,导致红细胞的破坏。

3. 天冬氨酸蛋白酶功能

天冬氨酸蛋白酶的生物学功能非常广泛,主要包括降解蛋白、抗原以及促进其他酶的活化等。该类蛋白酶都首先以酶原的形式合成,进而被激活为有功能的活性形式,酶原的激活过程复杂;一般认为有三个可能的激活机制:1) 完全自我激活,分为分子间和分子内两种激活过程,如胃蛋白酶原 A 的激活;2) 部分自我加工和部分协助加工,即需要其他蛋白的协助才能被激活等,如组织蛋白酶 D 酶原;3) 完全依赖性加工,如肾素酶原等。整个过程中,因酸性环境中 PS 和酶活性部位的静电平衡被打破,活性位

点在发生构象改变和剪切后被打开，最终，PS 从酶的活性中心被除去，活性位点暴露，天冬氨酸蛋白酶被激活[7]。此外，该家族不同的蛋白酶间分子特性各有不同，如哺乳动物体内肾素能调节血压水平，胃蛋白酶主要参与食物消化，过量表达的组织蛋白酶 D 酶原有促进肿瘤细胞生长的功能，而组织蛋白酶 E 却可抑制肿瘤细胞的生长[8]；植物中天冬氨酸蛋白酶还具有独特的蛋白裂解序列(plant specific sequence, PSS)，可导致蛋白质的裂解，发挥酶活性等。

4. 天冬氨酸蛋白酶在寄生虫感染中的重要作用

4.1. 弓形虫

弓形虫是专性胞内寄生原虫，许多证据表明蛋白酶在弓形虫入侵过程中发挥着极为重要的作用，且弓形虫体内可表达多种蛋白酶，包括半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶、扁菱形蛋白酶等[9]。目前研究发现，弓形虫可表达 7 种天冬氨酸蛋白酶，分别命名为 TgASPI 到 TgASP7 (*Toxoplasma gondii* aspartic proteases)。其中 TgASPI、TgASP2、TgASP3 以及 TgASP5 在弓形虫速殖子中有效表达，TgASPI 目前被发现只存在于犬新孢子虫(*Neospora caninum*)和刚地弓形虫中[10]，是一种膜蛋白，且系统发育分析也表明 TgASPI 与定位于食物泡中的 II 型跨膜天冬氨酸蛋白酶有关，可能参与血红蛋白的降解过程[11]；TgASP3 在弓形虫的速殖子和缓殖子中均有表达，存在信号肽和跨膜结构域，为分泌型的蛋白酶；TgASP5 被证实存在于弓形虫高尔基复合体中，在其肽链的 C 端也存在一个跨膜结构域[12]。研究表明，利用这些天冬氨酸蛋白酶的基因制备 DNA 重组疫苗，均可诱导小鼠产生强的体液免疫和细胞免疫，增强小鼠抗弓形虫感染的能力，从而延长生存时间[13]。可见天冬氨酸蛋白酶在弓形虫的抗感染和免疫过程中发挥了重要作用，被认为是潜在的治疗靶点。

4.2. 血吸虫

在日本血吸虫虫卵、毛蚴和成虫阶段，同样发现了天冬氨酸蛋白酶的存在，并且与虫体的生长、发育、繁殖密切相关，在蛋白代谢过程中发挥重要的作用，它能够降解宿主的血红蛋白，有助于虫体的入侵、增殖和致病。Brindley 等研究表明日本血吸虫天冬氨酸蛋白酶位于肠表皮的消化泡内，与日本血吸虫消化红细胞、降解血红蛋白有关，且通过使用蛋白酶抑制剂抑制血吸虫体内蛋白酶的表达可以显著降低毛蚴入侵宿主的能力[14]，所以深入分析日本血吸虫体内的天冬氨酸蛋白酶，将为血吸虫致病机制研究及血吸虫疫苗开发奠定基础。

4.3. 华支睾吸虫

生物信息学分析显示，华支睾吸虫的天冬氨酸蛋白酶第 1~17 位氨基酸为信号肽序列，为分泌型的蛋白酶[15]。该蛋白酶存在于华支睾吸虫的分泌排泄抗原中，与虫体消化血红蛋白和损伤胆管有关，是破坏宿主细胞和组织的毒性因子[14]；另外，其作为一种分泌抗原，又可成为华支睾吸虫病的诊断有效抗原候选分子和药物作用靶标。

此外，近年来在真菌中也发现了天冬氨酸蛋白酶的存在，研究发现，白假丝酵母菌的致病力也与其细胞表面的分泌型天冬氨酸蛋白酶有关，天冬氨酸蛋白酶能够分解正常宿主细胞的表面蛋白，破坏细胞膜的稳定性，最终导致宿主细胞的死亡，产生炎症反应。

5. 展望

天冬氨酸蛋白酶是生物体内重要的酸性蛋白酶，参与了生物体的多种生理和病理过程，因此阐明该蛋白的结构和功能具有重要意义。随着分子克隆技术和生物信息学的快速发展，越来越多寄生虫的天冬

氨酸蛋白酶被发现, 探索其在寄生虫入侵和致病方面的作用机制将有助于疾病的治疗和预防, 亦有助于丰富人们对寄生虫安全高效候选疫苗的筛选。

基金项目

西安医学院大学生创新基金项目(201711840001);
西安医学院大学生创新基金项目(2016DXS1-49);
陕西省高校科协青年人才托举项目(20160231);
西安医学院国科金培育项目(2017GJFY24);
博士科研启动基金(2016DOC32)。

参考文献

- [1] Li, Y., Kabbage, M., Liu, W., *et al.* (2016) Aspartyl Protease-Mediated Cleavage of BAG6 Is Necessary for Autophagy and Fungal Resistance in Plants. *Plant Cell*, **28**, 233-247.
- [2] Gao, H., Zhang, H.Y., Wang, W.L., *et al.* (2017) Two Membrane Anchored Aspartic Proteases Contribute to Pollen and Ovule Development. *Plant Physiology*, **17**, 219-239. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01719>
- [3] Huang, J., Zhao, X., Cheng, K., *et al.* (2013) OsAP65, a Rice Aspartic Protease, Is Essential for Male Fertility and Plays a Role in Pollen Germination and Pollen Tube Growth. *Journal of Experimental Botany*, **64**, 3351-3360. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert173>
- [4] Chen, H.J., Huang, Y.H., Huang, G.J., *et al.* (2015) Sweet Potato SPAP1 Is a Typical Aspartic Protease and Participates in Ethephon-Mediated Leaf Senescence. *Journal of Plant Physiology*, **180**, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.03.009>
- [5] Sircar, G., Saha, B., Mandal, R.S., *et al.* (2015) Purification, Cloning and Immune-Biochemical Characterization of a Fungal Aspartic Protease Allergen Rhio1 from the Airborne Mold *Rhizopus oryzae*. *PLoS One*, **10**, e0144547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144547>
- [6] Feijoo-Siota, L., Rama, J.L.R., Sánchez-Pérez, A., *et al.* (2018) Expression, Activation and Processing of a Novel Plant Milk-Clotting Aspartic Protease in *Pichia pastoris*. *Journal of Biotechnology*, **268**, 28-39. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.01.006>
- [7] Zannetti, C., Roblot, G., Charrier, E., *et al.* (2016) Characterization of the Inflammasome in Human Kupffer Cells in Response to Synthetic Agonists and Pathogens. *Journal of Immunology*, **197**, 356-367. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502301>
- [8] Fu, J.-H. (2015) Relationship between Soluble IL-2R Level and Intrauterine Infection of Early Pregnant Women with Active Cytomegalovirus Infection. *AJOB Neuroscience*, **4**, 55-56.
- [9] Ge, X., Dietrich, C., Matsuno, M., *et al.* (2005) An Arabidopsis Aspartic Protease Functions as an Anti-Cell-Death Component in Reproduction and Embryogenesis. *EMBO Reports*, **6**, 282-288. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.7400357>
- [10] Buch, F., Kaman, W.E., Bikker, F.J., *et al.* (2015) Nepenthesin Protease Activity Indicates Digestive Fluid Dynamics in Carnivorous Nepenthes Plants. *PLoS One*, **10**, e0118853. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118853>
- [11] Kato, Y., Yamamoto, Y., Murakami, S., *et al.* (2005) Post-Translational Regulation of CND41 Protease Activity in Senescent Tobacco Leaves. *Planta*, **222**, 643-651. <https://doi.org/10.1007/s00425-005-0011-4>
- [12] Raimbault, A.K., Zuily-Fodil, Y., Soler, A., *et al.* (2013) A Novel Aspartic Acid Protease Gene from Pineapple Fruit (*Ananas comosus*): Cloning, Characterization and Relation to Post-Harvest Chilling Stress Resistance. *Journal of Plant Physiology*, **170**, 1536-1540. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.06.007>
- [13] Larson, E.T., Parussini, F., Huynh, M.H., Giebel, J.D., Kelley, A.M., *et al.* (2009) *Toxoplasma gondii* Cathepsin 1 Is the Primary Target of Invasion Inhibitory Compound LHVS. *Journal of Biological Chemistry*, **284**, 26839-26850. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.003780>
- [14] Contour-Ansel, D., Torres-Franklin, M.L., Zuily-Fodi, Y., *et al.* (2010) An Aspartic Acid Protease from Common Bean Is Expressed "On Call" during Water Stress and Early Recovery. *Journal of Plant Physiology*, **167**, 1606-1612. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.06.018>
- [15] Bhalerao, R., Keskitalo, J., Sterky, F., *et al.* (2003) Gene Expression in Autumn Leaves. *Plant Physiology*, **131**, 430-442. <https://doi.org/10.1104/pp.012732>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2330-1724，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：ojns@hanspub.org