CRP变构及其促炎机制研究进展

姚振宇, 武一, 吉尚戎*

兰州大学生命科学学院, 细胞活动与逆境适应教育部重点实验室, 兰州 730000

* 联系人, E-mail: jsr@lzu.edu.cn

收稿日期: 2017-02-13; 接受日期: 2017-04-24; 网络版发表日期: 2017-08-11

国家自然科学基金(批准号: 31470718)资助

摘要 天然C-反应蛋白是固有免疫系统中一个进化保守的蛋白, 由5个相同亚基通过非共价键形成五聚体结构. C-反应蛋白不仅作为监测炎症的分子标志物, 也是炎症发展的直接参与者. C-反应蛋白主要存在两种不同的构型, 即五聚体和单体. 在炎症微环境, 五聚体能够解离形成单体, 从而贡献局部炎症反应. 为此, 本文对C-反应蛋白如何变构以及促炎反应机制的研究进展展开综述.

关键词 C-反应蛋白, 变构, 炎症

C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是典型的急性期蛋白, 它由5个相同的亚基通过非共价键形成盘状的五聚体结构, 主要由肝脏合成和分泌. 在炎症或组织损伤后48 h内, 其在血浆中浓度可从基础水平的1 $\mu\text{g/mL}$ 迅速升高1000多倍. 由于CRP血浆浓度与炎症之间的相关性, 使得CRP被用作衡量或监视体内感染、组织损伤以及某些炎症疾病的发展, 尤其是作为心血管疾病预测和愈后评价的标志分子受到广泛关注. 然而, 更多证据表明, CRP不仅作为标志分子, 还是固有免疫和适应性免疫的调节分子, 并参与炎症相关的多种疾病的发生和发展, 如动脉粥样硬化和肿瘤. 但是, 人们对于CRP的作用还存在许多争议, 这主要是因为CRP在各研究中的表现自相矛盾, 既表现出抗炎、阻止血栓形成, 又表现出能够促进炎症发展, 促进血栓形成及参与动脉粥样硬化发展的作用.

越来越多的证据表明, CRP存在两种主要的异构

形式, 分别是天然五聚体CRP(pentameric CRP, pCRP)和修饰或单体CRP(modified/monomeric CRP, mCRP), 在一定条件下pCRP能够发生结构重排形成mCRP, 表现出新的抗原表位和较强的促炎功能, Khreiss等人^[1]提出, pCRP必须在细胞膜上经历结构改变形成mCRP, 才能表现出促进内皮细胞活化发生一系列炎症反应的能力. 这或许是CRP进行活性调节, 避免CRP血浆浓度升高引起全身性炎症反应的一种机制, 也可能是临床和动物模型中关于CRP作用争议的主要原因. 为此, 吉尚戎等人^[2,3]、武一研究组^[4-6]对CRP如何变构形成mCRP, mCRP如何与细胞相互作用表现促炎功能进行了细致研究, 提出基于构象变化的、在病理生理条件下可能发生的CRP激活机制, 这一变构激活机制指出CRP促炎活性的表达主要局限于局部的炎症部位, 而不依赖于血浆浓度的变化, 避免了CRP因浓度非特异性波动造成的系统性炎症效应.

引用格式: 姚振宇, 武一, 吉尚戎. CRP变构及其促炎机制研究进展. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 863-870

Yao Z Y, Wu Y, Ji S R. Progress in research of conformation change of C-reactive protein and its pro-inflammatory mechanism (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 863-870, doi: 10.1360/N052017-00023

1 CRP的结构属性

1.1 天然CRP的五聚体结构

天然的人CRP主要是由肝脏合成并分泌,由5个相同的亚基排列形成五聚体结构,属于五聚体蛋白(pentraxins, PTX)家族成员^[7],人CRP基因定位于染色体1 q23-24^[8],编码206个氨基酸的CRP亚基,分子量为23 kD。晶体结构显示^[9],CRP由5个相同的亚基围绕一环形空腔,通过非共价键紧密包装成对称的环形盘状结构,每个亚基具有相同的取向,其结构特征(图1)是含有一个由两个反向平行的 β -折叠片层构成的疏水核心,并通过唯一的链内二硫键(C36-C97)得以稳定。在二硫键的对侧面,每个亚基可以结合两个 Ca^{2+} , Ca^{2+} 对pCRP五聚体的结构完整和稳定性是重要的。当pCRP在不含 Ca^{2+} 的条件下储存,或者加入EDTA,易使pCRP解聚形成其单体^[10,11]。 Ca^{2+} 对CRP的功能发挥是必需的,CRP与配体磷酸胆碱(phosphorylcholine, PC)的结合具有钙依赖性,从CRP与PC和 Ca^{2+} 共结晶的结果显示,CRP每个亚基的PC结合位点距离两个结合的 Ca^{2+} 只有0.4 nm^[12]。 Ca^{2+} 的缺失会导致 Ca^{2+} 结合环负电荷暴露,并且结构变得松散,易于被蛋白酶水解。

CRP盘状五聚体具有两个相反的面,分别称为识别面(recognition face)和效应面(effector face)。识别面能以 Ca^{2+} 依赖的方式结合外源细菌、真菌表面PC,亦可结合内源活化或凋亡细胞表面的PC成分,此外,pCRP也能与不包含磷酸胆碱成分的多糖和多聚阳离子蛋白结合,如组蛋白、白细胞阳离子蛋白。当CRP与配体结合,其亚基可以发生沿轴向的倾转,从而使效应面发生改变,更有利于与补体C1q结合,活化补体经典途径,此外,效应面还可结合某些细胞表面受体,包括Fc γ R, Fc α R, SR-A, LOX-1等^[13],这赋予CRP调节机体免疫应答的能力,CRP也因此被看做是一种模式识别分子^[14]或者抗体的功能祖先^[7]。

在生理pH和离子环境下,两个CRP五聚体可发生自联形成十聚体^[15],或形成分子量在300~500 kD的多亚基网格状结构,被称为CRP分子构型(CRP molecular forms, CRP-mfs)^[16],这些CRP-mfs并未与任何脂蛋白或补体因子形成复合物,其分布与血浆CRP的水平没有明显相关性,其中CRP-mf-4只存在于肥胖受试人群,与体重指数(body mass index, BMI)的增加有显著相关

图1 人CRP亚基晶体结构(PDB:1B09)

Ca^{2+} 标记为绿色;二硫键标记为黄色;PC位点标记为紫色

性,目前,对CRP-mfs的来源、功能和病理学意义还在研究中。

1.2 mCRP是CRP的主要异构形式

将pCRP用含8 mol/L脲-10 mmol/L EDTA溶液处理,或将pCRP在63℃加热5 min可使pCRP解离形成mCRP,表现出新的抗原表位和物理化学性质的改变^[10,17],以及pCRP不同的生物学活性^[3,18,19]。

研究人员对系统性红斑狼疮病人血清进行ELISA检测,发现存在抗mCRP抗体,然而有趣的是在这些患者的血清中表现出低CRP浓度^[20,21]。对病人的肾活检以及尿液分析,发现mCRP抗体在狼疮性肾炎患者中更为普遍,并且与疾病的恶化程度以及肾小管间质损坏程度相关^[21]。

用分别识别pCRP和mCRP的多个单克隆抗体对正常肺、卵巢、睾丸、心血管等组织所做的免疫组化研究中,在这些组织的血管壁中检测到有明显的mCRP存在,而pCRP却很少^[22]。此后,多个研究表明,在动脉粥样硬化斑块部位存在mCRP的沉积,而从中并未检测到明显的pCRP^[4,23]。另外,在循环微粒体表面和急性心肌梗死病人的血浆中也检测到mCRP的存在。

以上证据表明,mCRP是一个天然存在的蛋白,是pCRP的一种重要异构形式,主流的观点认为mCRP的形成来自于pCRP的变构,事实上,mCRP也可在肝外原位合成,报道称U937来源的巨噬细胞能够直接翻译

合成mCRP而不是pCRP^[24].

2 CRP是炎症的直接参与者,并受到构型状态的调节

2.1 CRP的解离释放mCRP的促炎活性

血浆中的CRP主要来自肝脏,在血浆中的半衰期约为19 h,并且在生理和病理情况下相近^[25],因此血浆中CRP的水平直接反映其在体内合成的速率或刺激CRP表达的病理学过程的强度,这使得CRP被认为是炎症或某些疾病发展状态的标志分子.相关证据表明,CRP血浆水平的细微升高可以作为预测心血管疾病风险的一个指标,一些服用抑制素后胆固醇水平恢复正常的人群依然显示出升高的CRP水平,这表明CRP的血浆水平可以有效地作为心血管疾病干预后效果评价的指标^[26].

然而更多的证据显示,CRP不仅作为标志分子还是炎症的直接参与者.相关证据显示,CRP能够结合不同形式的LDL并参与补体的活化,在动脉粥样硬化损伤部位,CRP频繁的和氧化型LDL、末端补体复合物C5b-C9或经典补体成分共定位,这表明CRP可能直接参与炎症或动脉粥样硬化疾病的病理生理过程^[27-31].但是对于CRP在其中具体作用并不清楚,这是因为在体外和体内的相关研究显示出CRP同时具有促炎和抗炎的作用^[32-36],这些矛盾有些可能要归因于商品化CRP中混杂的mCRP,或者在相关研究中所用的商品化抗体可能同时识别pCRP和mCRP,特别是过去频繁用于组织中pCRP检测的单克隆抗体clone-8,目前认为只能识别mCRP,因此,不确定在相关研究中获得的结果反映的是pCRP, mCRP, 还是两者都有.

用分别识别pCRP和mCRP的多个单克隆抗体所做的免疫组化研究表明,在人横纹肌、动脉粥样硬化斑块、人和大鼠(*Rattus norvegicus*)梗死心肌存在mCRP的沉积,并且和炎症细胞共定位,而从中并未检测到明显的pCRP^[4,23,37].将mCRP与HAECs细胞孵育4 h即可使其活化,增加MCP-1和IL-8的分泌以及ICAM-1, VCAM-1, E-选择素的表达,促进中性粒细胞与HAECs的黏附,而pCRP与细胞孵育24 h后才表现出相同的反应,且程度低于mCRP^[1,38-41].实验表明^[18], mCRP和n-LDL, ox-LDL, E-LDL都能够结合,并能促进巨噬细

胞对n-LDL和ox-LDL的吞噬,而pCRP只能结合E-LDL.相比pCRP, mCRP更易于结合补体C1q, 固定化的mCRP与补体C1q结合后能够激活补体经典途径,而pCRP只有在固定化后才显示出与C1q较强的结合能力,但此时的pCRP表现出亚基抗原性.这些结果表明, mCRP是促炎的主要构型,当pCRP经历构型改变解离形成mCRP时可使CRP表达促炎活性.

2.2 CRP的条件变构激活机制

在生理条件下, pCRP较为稳定,能够维持其五聚体构型,这是因为在体外只有用强变性条件处理才能使pCRP解离形成mCRP^[3,18,19],然而,越来越多的证据表明,在非变性条件下, pCRP亦可经历构型解离形成mCRP.本实验室结果表明, pCRP能结合EggPC/lysoPC融合脂质体和凋亡细胞表面含有lysoPC的质膜区域,克服Ca²⁺的稳定效果,导致其结构改变而表达CRP亚基抗原性,但此时的亚基以中间态的形式通过疏水插入与膜相互作用,从而被限制在五聚体构型中,保持天然亚基构型,被称为mCRP_m,这使得此时的CRP仍能被2C10抗体识别(2C10识别五聚体抗原表位),且具有Ca²⁺依赖的PC结合性^[2].电镜显示,大部分pCRP在与脂质体单层膜结合的30 min内,主要呈现出环状五聚体构型,在2 h后,环状结构明显消失,若继续延长孵育至24~48 h, CRP则主要以分离的亚基形式存在^[2].

用外源PLA₂处理(催化lysoPC生成)凋亡细胞,可显著促进pCRP与细胞的结合和亚基抗原表位的表达,而用外源PLD处理或抑制内源PLA₂活性,可起到显著抑制效果,表明lysoPC与pCRP的相互作用能够促进pCRP的结合并诱导其构型部分地解离.除了细胞膜,固定的PnC和多聚赖氨酸也能够诱导pCRP的解离,这表明pCRP与配体的多点结合对于pCRP解离的重要性^[2],而富含PC配体的细胞膜广泛表达于机体内,能够提供紧密排列的配体簇,因此促进pCRP构型解离.膜表面微弱的疏水微环境也能导致pCRP亚基在细胞表面的快速解离^[2].此外,膜曲率也是影响pCRP结合和解离的一种因素^[42].最终,在膜流动性的帮助下mCRP_m之间相互分离,形成mCRP^[2].这种膜诱导的pCRP解离机制可能与病理生理条件下情形相似.

通过比较pCRP在PC-BSA(pCRP不解离形成mCRP_m)和脂质体表面(pCRP解离形成mCRP_m)补体活

化能力,发现pCRP解离形成mCRP_m可表现出显著增强的补体活化能力^[2],并能刺激活化内皮细胞、刺激趋化因子释放、黏附分子表达等多种促炎生物活性^[2]。

随后的研究表明,活化的血小板和凋亡的单核THP-1细胞可通过lysoPC介导pCRP解离形成mCRP,从而表现出促进炎症、促进血栓和动脉粥样硬化斑块形成和发展的能力^[23,43]。外周血中以及THP-1活化后释放的微粒体(microparticles),其表面富含lysoPC,能转化pCRP形成mCRP,并作为mCRP的载体,转运其到内皮细胞,以mCRP依赖的方式刺激内皮细胞活化^[44,45]。β-淀粉样斑块亦可诱导pCRP的解离,在病人大脑皮质中表现出mCRP显著增多^[46]。体内证据显示,在烧伤部位沉积的CRP具有五聚体构型,但却能表达亚基抗原表位^[45]。在LPS诱导的大鼠模型,静脉注射的pCRP能够随迁移的白细胞转移并聚集到炎症部位,但却并不表现促炎活性,而mCRP能够在注射60 min后可促进白细胞迁移与黏附,并通过补体系统的参与加重炎症组织损伤,抑制PLA2或抑制pCRP解离,可抑制局部炎症部位mCRP的形成和白细胞活化、滚动和黏附^[37]。

2.3 mCRP作用于脂筏发挥促炎能力

FcγRIIb(CD16)是mCRP细胞受体,mCRP与中性粒细胞CD16相互作用,能够诱导中性粒细胞活化、黏附和转运^[47,48],抑制中性粒细胞凋亡^[49];与HAECs细胞表面CD16互作,能够促进其活化^[1,50];与单核细胞表面CD16互作,能够刺激细胞活性氧的生成^[37]。然而,功能上封闭CD16只能部分地抑制mCRP对中性粒细胞凋亡的抑制,并且对mCRP诱导的内皮细胞活化只起到轻微的减弱^[1,49]。上述结果表明,在细胞上可能存在其他更加重要的mCRP-细胞互作装置。

脂筏是普遍存在于细胞膜上富含胆固醇、鞘磷脂和其他饱和长链脂肪酸的微区结构,细胞信号网络的许多重要成分,如GPI-连接蛋白、GPCR, EGFR, TCR等,或者组成性的驻留在脂筏,或者在应对刺激时,快速地募集到脂筏微区。实验数据显示,mCRP能够不依赖FcγRs和蛋白聚糖,通过疏水插入的方式显著地结合到含有脂筏成分(卵磷脂/胆固醇/鞘脂)的单层膜中^[3]。使用MβCD和制霉菌素破坏HAECs细胞脂筏区域,能够以浓度依赖的方式抑制mCRP的结合,并且完全阻止mCRP诱导的细胞因子MCP-1, IL-8的释放、活性氧的生成以及黏附分子ICAM-1, VCAM-1, E-选择素的

表达^[3]。此外,mCRP能够与HAECs上的脂筏标志分子小窝蛋白-1(caveolin-1)共沉淀^[3]; FITC-mCRP与U937细胞脂筏标志分子CTxB共定位^[3],这些数据表明,脂筏介导了mCRP的膜插入,并通过与脂筏相联系的信号途径表达促炎功能。

深入研究发现,胆固醇是介导mCRP膜插入的关键成分,mCRP与脂质体或内皮细胞的相互作用依赖于膜上胆固醇浓度^[3]。在mCRP与脂筏的相互作用中,mCRP中的胆固醇结合序列(cholesterol binding sequence, CBS: aa 35~47)和C-端八肽(aa 199~206)介导了mCRP与脂筏的结合。使用8C10单克隆抗体(识别aa 22~45),能够抑制mCRP插入含脂筏的单层膜达40%。使用3H12单克隆抗体(识别aa 199~206)能够减少mCRP插入单层膜超过60%^[3]。这一结果表明,肽段35~47介导了mCRP与胆固醇的结合,而肽段199~206是mCRP插膜的主要决定因素。结构分析发现,肽段35~47主要埋藏在亚基疏水核心内,肽段199~206处于亚基间相互作用区域,只有当pCRP在膜表面解离才能使其得以暴露,参与并调节mCRP的插膜行为,这也解释了细胞膜如何调节CRP的结构和功能,以及mCRP在膜上形成后参与一系列病理生理反应的可能机制^[3]。

2.4 二硫键的还原使mCRP活性得到放大

在以mCRP作为研究对象时,不同的来源或制备方法会产生显著不同的生物学活性。例如,脲变性pCRP获得的mCRP与Cys突变的重组mCRP,尽管他们都表达相同的抗原表位,但后者表现出更强的与LDL结合的能力^[4,18];更强的与补体C1q结合活化补体的能力^[4];显著增强的刺激HAECs细胞活化,进而释放IL-8, MCP-1, 诱导活性氧生成,上调VCAM-1, ICAM-1, E-选择素,促进单核细胞向HAECs细胞黏附的能力^[4]。而还原脲变性来源的mCRP中的二硫键亦可获得相当的效果。

分析后发现,CRP亚基含有两个进化保守的半胱氨酸残基(Cys36, Cys97),形成一个亚基内二硫键,该二硫键只有在CRP五聚体解聚形成CRP单体时才能被还原,这意味着CRP的解离是二硫键还原的先决条件,还原的mCRP表现出更加伸展的构像状态^[11]。Cys36正好处于CBS(aa 35~47)内,推测二硫键的还原或Cys的突变能够使其更好地暴露,由此贡献mCRP放大的促炎活性。事实上,在动脉粥样硬化斑块中,mCRP频繁地与硫氧还蛋白共定位^[4]。

对CBS序列深入研究发现, CBS包含N-端 β -片层和C-端无规则结构, 具有一定程度的灵活性或可塑性, 能够通过疏水作用介导mCRP与多种配体的结合, 包括ApoB、C1q、胆固醇、纤连蛋白、胶原、纤维蛋白原^[6]. 该序列N-端的4个氨基酸残基(aa 35~38)表现出较高进化保守性, 是与配体结合的基础, Leu37为结合各配体所必需; Cys36的保守性以及参与二硫键形成, 表明氧化还原状态对于调节CBS配体结合的重要性^[6]. 使用合成的CBS序列或突变该序列可明显消除或减弱mCRP与这些配体的结合, 抑制mCRP插入富含胆固醇的脂筏结构, 减弱mCRP体外诱导HAECs活化以及体内诱导IL-6合成的能力. 在小鼠(*Mus musculus*)腹膜内注射CBS可显著抑制mCRP诱导的IL-6的释放^[6].

3 CRP连续构型转变调节炎症反应的模型

综上所述, pCRP在细胞表面变构并贡献促炎活性服从以下模型^[2,4-6,18,19]. 首先, pCRP与细胞膜表面多价配体结合, 这种结合能够克服 Ca^{2+} 的稳定作用; 随后, pCRP在膜表面经历构型改变, 表现出三级结构的改变和新抗原表位的表达, 但此时的亚基仍限制于五聚体构型中, 使其成为杂合构型, 即mCRP_m; 之后, pCRP寡聚结构进一步松散, 由于膜的流动性相互分离, 形成mCRP. mCRP内部二硫键将作为分子开关被损伤或活化细胞膜表面暴露的还原剂还原, 暴露CBS, 进而促进与脂筏的结合并通过与脂筏相联系的信号途径, 展现出一系列的促炎活性, 参与炎症或相关疾病的病理生理过程.

这一模型既反映了体内pCRP解离及mCRP来源的可能机制, 也解释了CRP如何通过连续的结构转化使CRP的功能受到精确的调控, 使其活性的表达主要局限于炎症部位, 避免CRP浓度非特异性的波动造成的系统性效应. 同时, 这种构型转换机制可能是临床和动物模型中关于CRP作用争议的主要原因.

4 展望

目前, 对CRP变构机制已经进行了深入研究, 认为pCRP是一个基础形式, mCRP则是一个活化的结构形式, pCRP向mCRP的变构是一个重要的功能调节机制,

使其在体内受到精细的调控, 通过条件性的活化参与局部炎症反应的调节.

虽然变构条件性激活很好地解释了CRP如何调节活性, 使得其系统性表达不引起全身炎症反应, 但如果变构是CRP唯一的功能表现方式, CRP的系统性表达模式似乎是一种浪费, 而局部应激表达似乎更恰当, 暗示还有其他机制. 分析CRP进化保守性发现, 斑马鱼(*Danio rerio*)和人CRP氨基酸序列在半胱氨酸(Cys36和Cys97)所在位置、胆固醇结合序列(aa 35~47)、 Ca^{2+} 结合位点、PC结合位点、补体C1q结合位点都表现出很高的保守性^[51,52]. 但是, 在斑马鱼中存在多个CRP蛋白样基因(*crp1~7*), 且每个基因又可以形成多个转录变种, CRP样蛋白之间高度变异的磷脂结合口袋, 暗示其可能具有不同的磷脂结合特异性, 这对于适应性免疫功能不发达, 缺少多种抗体(如IgG)的斑马鱼来说, CRP样蛋白系统可能是适应性免疫系统的原始模型, 在功能上作为抗体的祖先, 因此, CRP可能构成了连接固有免疫和适应性免疫间的一个纽带^[51-53]. 相关研究表明, pCRP能够不依赖 Ca^{2+} 和PC, 结合人Jurkat T细胞和小鼠naïve T细胞, 在体内和体外, 表现出促进Th₂细胞分化而抑制Th₁细胞分化的功能, 这表明CRP还可能作为一个重要的调节分子, 参与适应性免疫应答的调节^[54]. 但目前, 作为固有免疫分子的CRP参与体液免疫调节的更多细节还不清楚.

另外, CRP变构调节机制的研究可能为构建新的动物模型提供了指导, 即构建只存在某一种CRP构型的模式生物, 减少因体内复杂环境对CRP变构带来的不确定性. 这对于理解CRP不同构型在体内的确切作用和发展治疗手段有很大帮助.

此外, CRP作为炎症和动脉粥样硬化疾病的直接参与者, 以CRP作为靶标, 研发特异性药物, 将可能成为相关疾病治疗的一种策略. 研究显示, 合成的CBS肽能够竞争性的抑制mCRP与多个配体的结合, 抑制mCRP向脂筏的插入, 抑制内皮细胞的活化和相关促炎行为的发生. 另外, 合成的肽201~206能够诱导L-选择素从人中性粒细胞上脱落, 从而抑制中性粒细胞与活化的HAECs细胞黏附. 肽201~206还能够减弱血小板P-选择素的表达, 从而减弱中性粒细胞黏附到血小板的能力^[55]. 因此, CRP来源的肽是否能够作为良好的药物应用于临床值得深入研究.

参考文献

- 1 Khreiss T, József L, Potempa L A, et al. Conformational rearrangement in C-reactive protein is required for proinflammatory actions on human endothelial cells. *Circulation*, 2004, 109: 2016–2022
- 2 Ji S R, Wu Y, Zhu L, et al. Cell membranes and liposomes dissociate C-reactive protein (CRP) to form a new, biologically active structural intermediate: mCRP(m). *FASEB J*, 2007, 21: 284–294
- 3 Ji S R, Ma L, Bai C J, et al. Monomeric C-reactive protein activates endothelial cells via interaction with lipid raft microdomains. *FASEB J*, 2009, 23: 1806–1816
- 4 Wang M Y, Ji S R, Bai C J, et al. A redox switch in C-reactive protein modulates activation of endothelial cells. *FASEB J*, 2011, 25: 3186–3196
- 5 Li H Y, Wang J, Wu Y X, et al. Topological localization of monomeric C-reactive protein determines proinflammatory endothelial cell responses. *J Biol Chem*, 2014, 289: 14283–14290
- 6 Li H Y, Wang J, Meng F, et al. An intrinsically disordered motif mediates diverse actions of monomeric C-reactive protein. *J Biol Chem*, 2016, 291: 8795–8804
- 7 Martinez de la Torre Y, Fabbri M, Jaillon S, et al. Evolution of the pentraxin family: the new entry PTX4. *J Immunol*, 2010, 184: 5055–5064
- 8 Walsh M T, Divane A, Whitehead A S. Fine mapping of the human pentraxin gene region on chromosome 1q23. *Immunogenetics*, 1996, 44: 62–69
- 9 Shrive A K, Gheetham G M, Holden D, et al. Three dimensional structure of human C-reactive protein. *Nat Struct Mol Biol*, 1996, 3: 346–354
- 10 Potempa L A, Maldonado B A, Laurent P, et al. Antigenic, electrophoretic and binding alterations of human C-reactive protein modified selectively in the absence of calcium. *Mol Immunol*, 1983, 20: 1165–1175
- 11 Potempa L A, Yao Z Y, Ji S R, et al. Solubilization and purification of recombinant modified C-reactive protein from inclusion bodies using reversible anhydride modification. *Biophys Rep*, 2015, 1: 18–33
- 12 Pepys M B, Hirschfield G M. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest*, 2003, 111: 1805–1812
- 13 Wu Y, Potempa L A, El Kebir D, et al. C-reactive protein and inflammation: conformational changes affect function. *Biol Chem*, 2015, 396: 1181–1197
- 14 Bottazzi B, Doni A, Garlanda C, et al. An integrated view of humoral innate immunity: pentraxins as a paradigm. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 157–183
- 15 Okemefuna A I, Stach L, Rana S, et al. C-reactive protein exists in an NaCl concentration-dependent pentamer-decamer equilibrium in physiological buffer. *J Biol Chem*, 2010, 285: 1041–1052
- 16 Asztalos B F, Horan M S, Horvath K V, et al. Obesity associated molecular forms of C-reactive protein in human. *PLoS ONE*, 2014, 9: e109238
- 17 Kresl J J, Potempa L A, Anderson B E. Conversion of native oligomeric to a modified monomeric form of human C-reactive protein. *Int J Biochem Cell Biol*, 1998, 30: 1415–1426
- 18 Ji S R, Wu Y, Potempa L A, et al. Interactions of C-reactive protein with low-density lipoproteins: implications for an active role of modified C-reactive protein in atherosclerosis. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38: 648–661
- 19 Ji S R, Wu Y, Potempa L A, et al. Effect of modified C-reactive protein on complement activation: a possible complement regulatory role of modified or monomeric C-reactive protein in atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26: 935–941
- 20 Sjöwall C, Bengtsson A A, Sturfelt G, et al. Serum levels of autoantibodies against monomeric C-reactive protein are correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*, 2004, 6: R87–94
- 21 Tan Y, Yu F, Yang H, et al. Autoantibodies against monomeric C-reactive protein in sera from patients with lupus nephritis are associated with disease activity and renal tubulointerstitial lesions. *Hum Immunol*, 2008, 69: 840–844
- 22 Diehl E E, Haines G K, Radosovich J A, et al. Immunohistochemical localization of modified C-reactive protein antigen in normal vascular tissue. *Am J Med Sci*, 2000, 319: 79–83
- 23 Eisenhardt S U, Habersberger J, Murphy A, et al. Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein on activated platelets localizes inflammation to atherosclerotic plaques. *Circul Res*, 2009, 105: 128–137
- 24 Ciubotaru I, Potempa L A, Wander R C. Production of modified C-reactive protein in U937-derived macrophages. *Exp Biol Med*, 2005, 230: 762–770
- 25 Vigushin D M, Pepys M B, Hawkins P N. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest*, 1993, 91: 1351–1357
- 26 Ridker P M, Danielson E, Fonseca F A H, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med*, 2008, 359: 2195–2207
- 27 Reynolds G, Vance R. C-reactive protein immunohistochemical localization in normal and atherosclerotic human aortas. *Arch Pathol Laborat*

- Med, 1987, 111: 265–269
- 28 Torzewski J, Torzewski M, Bowyer D E, et al. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18: 1386–1392
- 29 Yasojima K, Schwab C, McGeer E G, et al. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*, 2001, 158: 1039–1051
- 30 Jabs W J, Lögering B A, Gerke P, et al. The kidney as a second site of human C-reactive protein formation *in vivo*. *Eur J Immunol*, 2003, 33: 152–161
- 31 Krijnen P A J, Ciurana C, Cramer T, et al. IgM colocalises with complement and C reactive protein in infarcted human myocardium. *J Clin Pathol*, 2005, 58: 382–388
- 32 Mortensen R F. C-reactive protein, inflammation, and innate immunity. *Immunol Res*, 2001, 24: 163–176
- 33 Griselli M, Herbert J, Hutchinson W L, et al. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J Exp Med*, 1999, 190: 1733–1740
- 34 Gershov D, Kim S J, Brot N, et al. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response. *J Exp Med*, 2000, 192: 1353–1364
- 35 Zouki C, Beauchamp M, Baron C, et al. Prevention of *in vitro* neutrophil adhesion to endothelial cells through shedding of L-selectin by C-reactive protein and peptides derived from C-reactive protein. *J Clin Invest*, 1997, 100: 522–529
- 36 Xia D, Samols D. Transgenic mice expressing rabbit C-reactive protein are resistant to endotoxemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 2575–2580
- 37 Thiele J R, Habersberger J, Braig D, et al. Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein localizes and aggravates inflammation: *in vivo* proof of a powerful proinflammatory mechanism and a new anti-inflammatory strategy. *Circulation*, 2014, 130: 35–50
- 38 Pasceri V, Willerson J T, Yeh E T H. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, 2000, 102: 2165–2168
- 39 Venugopal S K, Devaraj S, Yuhanna I, et al. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation*, 2002, 106: 1439–1441
- 40 Schwedler S B, Kuhlencordt P J, Ponnuswamy P P, et al. Native C-reactive protein induces endothelial dysfunction in ApoE^{−/−} mice: implications for iNOS and reactive oxygen species. *Atherosclerosis*, 2007, 195: e76–e84
- 41 Qamirani E, Ren Y, Kuo L, et al. C-reactive protein inhibits endothelium-dependent NO-mediated dilation in coronary arterioles by activating p38 kinase and NAD(P)H oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25: 995–1001
- 42 Wang M S, Messersmith R E, Reed S M. Membrane curvature recognition by C-reactive protein using lipoprotein mimics. *Soft Matter*, 2012, 8: 7909–7918
- 43 Molins B, Peña E, de la Torre R, et al. Monomeric C-reactive protein is prothrombotic and dissociates from circulating pentameric C-reactive protein on adhered activated platelets under flow. *Cardiovasc Res*, 2011, 92: 328–337
- 44 Habersberger J, Strang F, Scheichl A, et al. Circulating microparticles generate and transport monomeric C-reactive protein in patients with myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, 2012, 96: 64–72
- 45 Braig D, Nero T L, Koch H G, et al. Transitional changes in the CRP structure lead to the exposure of proinflammatory binding sites. *Nat Commun*, 2017, 8: 14188
- 46 Strang F, Scheichl A, Chen Y C, et al. Amyloid plaques dissociate pentameric to monomeric C-reactive protein: a novel pathomechanism driving cortical inflammation in Alzheimer's disease? *Brain Pathol*, 2012, 22: 337–346
- 47 Zouki C, Haas B, Chan J S D, et al. Loss of pentameric symmetry of C-reactive protein is associated with promotion of neutrophil-endothelial cell adhesion. *J Immunol*, 2001, 167: 5355–5361
- 48 Heuertz R M, Schneider G P, Potempa L A, et al. Native and modified C-reactive protein bind different receptors on human neutrophils. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37: 320–335
- 49 Khreiss T, József L, Hossain S, et al. Loss of pentameric symmetry of C-reactive protein is associated with delayed apoptosis of human neutrophils. *J Biol Chem*, 2002, 277: 40775–40781
- 50 Khreiss T, József L, Potempa L A, et al. Opposing effects of C-reactive protein isoforms on shear-induced neutrophil-platelet adhesion and neutrophil aggregation in whole blood. *Circulation*, 2004, 110: 2713–2720
- 51 Bello-Perez M, Falco A, Medina R, et al. Structure and functionalities of the human c-reactive protein compared to the zebrafish multigene family of C-reactive-like proteins. *Dev Comp Immunol*, 2017, 69: 33–40
- 52 Chen R, Qi J, Yuan H, et al. Crystal structures for short-chain pentraxin from zebrafish demonstrate a cyclic trimer with new recognition and

- effector faces. *J Struct Biol*, 2015, 189: 259–268
- 53 Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, et al. Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23: 337–366
- 54 Zhang L, Liu S H, Wright T T, et al. C-reactive protein directly suppresses Th1 cell differentiation and alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol*, 2015, 194: 5243–5252
- 55 El Kebir D, Zhang Y, Potempa L A, et al. C-reactive protein-derived peptide 201-206 inhibits neutrophil adhesion to endothelial cells and platelets through CD32. *J Leukocyte Biol*, 2011, 90: 1167–1175

Progress in research of conformation change of C-reactive protein and its pro-inflammatory mechanism

YAO ZhenYu, WU Yi & JI ShangRong

C-reactive protein (CRP) is a highly evolutionarily conserved protein of innate immune system, which consists of five identical subunits that are non-covalently associated as a cyclic pentamer. CRP is not only recognized as a marker, but also directly contributes to the inflammatory process. CRP exists in two major conformationally distinct forms, i.e. native pentameric CRP (pCRP) and modified/monomeric CRP (mCRP). Dissociation of pCRP into mCRP occurs within the inflammatory microenvironment, which may contribute to development of local inflammatory response. Here we review recent progress in the research of conformational change of CRP, which has been related to its distinct functional properties, and also its pro-inflammatory mechanism.

CRP, conformation change, inflammation

doi: [10.1360/N052017-00023](https://doi.org/10.1360/N052017-00023)