

pression profile of human bocavirus[J]. Virology, 2010, 403(2): 145-154.

[16] Cecchini S, Negrete A, Virag T, et al. Evidence of prior exposure to human bocavirus as determined by a retrospective serological study of 404 serum samples from adults in the United States[J]. Clin Vaccine Immunol, 2009, 16(5): 597-604.

[17] Shirkoohi R, Endo R, Ishiguro N, et al. Antibodies against structural and nonstructural proteins of human bocavirus in human sera[J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(1): 190-193.

[18] Kantola K, Hedman L, Allander T, et al. Serodiagnosis of human bocavirus infection[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(4): 540-546.

[19] Brieu N, Gay B, Segondy M, et al. Electron microscopy observation of human bocavirus (HBoV) in nasopharyngeal samples from HBoV-infected children[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(10): 3419-3420.

[20] Gurda BL, Parent KN, Bladek H, et al. Human bocavirus capsid structure: insights into the structural repertoire of the parvoviridae[J]. J Virol, 2010, 84(12): 5880-5889.

[21] Kantola K, Hedman L, Arthur J, et al. Seroepidemiology of human bocaviruses 1-4[J]. J Infect Dis, 2011, 204(9): 1403-1412.

[22] 魏旻希, 李少伟, 黄博, 等. 人乳头瘤病毒 16 型病毒样颗粒的制备及其免疫原性研究[J]. 病毒学报, 2009, 25(4): 245-250.

[23] Kahn JS, Kesebir D, Cotmore SF, et al. Seroepidemiology of human bocavirus defined using recombinant virus-like particles[J]. J Infect Dis, 2008, 198(1): 41-50.

[24] 蒿叶霞, 高金明, 金玉. 人博卡病毒 VP2 蛋白的原核表达及血清学检测方法的建立[J]. 中华实验与临床病毒学杂志, 2012, 26(1): 18-21.

[25] Lin F, Guan W, Cheng F, et al. ELISAs using human bocavirus VP2 virus-like particles for detection of antibodies against HBoV[J]. J Virol Methods, 2008, 149(1): 110-117.

[26] Guido M, Zizza A, Bredl S, et al. Seroepidemiology of human bocavirus in Apulia, Italy[J]. Clin Microbiol Infect, 2012, 18(4): 74-76.

[27] Hustedt JW, Christie C, Hustedt MM, et al. Seroepidemiology of human bocavirus infection in Jamaica[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e38206.

[28] Endo R, Ishiguro N, Kikuta H, et al. Seroepidemiology of human bocavirus in Hokkaido prefecture, Japan[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(10): 3218-3223.

[29] Kapoor A, Simmonds P, Slikas E, et al. Human bocaviruses are highly diverse, dispersed, recombination prone, and prevalent in enteric infections[J]. J Infect Dis, 2010, 201(11): 1633-1643.

[30] Lindner J, Zehentmeier S, Franssila R, et al. CD4+ T helper cell responses against human bocavirus viral protein 2 virus like particles in healthy adults[J]. J Infect Dis, 2008, 198(11): 1677-1684.

[31] Kumar A, Filippone C, Lahtinen A, et al. Comparison of Th-cell immunity against human bocavirus and parvovirus B19: proliferation and cytokine responses are similar in magnitude but more closely interrelated with human bocavirus[J]. Scand J Immunol, 2011, 73(2): 135-140.

[32] Chung JY, Han TH, Kim JS, et al. Th1 and Th2 cytokine levels in nasopharyngeal aspirates from children with human bocavirus bronchiolitis[J]. J Clin Virol, 2008, 43(2): 223-235.

[33] Bernstein DI, Sahly HME, Keitel WA, et al. Safety and immunogenicity of a candidate parvovirus B19 vaccine[J]. Vaccine, 2011, 29(43): 7357-7363.

(收稿日期: 2014-01-25)

• 综 述 •

免疫蛋白酶体在自身免疫性疾病中的研究进展

陈耀光 综述, 王昌富 审校

(湖北省荆州市荆州中心医院检验医学部, 湖北荆州 434020)

关键词: 免疫蛋白酶体; 自身免疫性疾病; 综述
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 14. 037 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2014)14-1903-03

免疫蛋白酶体是在 γ -干扰素 (IFN- γ) 诱导下合成的 *LMP2*、*LMP10*、*LMP7* 替换标准蛋白酶体中的 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$ 亚单位形成, 免疫蛋白酶体在 MHC-I 类分子抗原提呈途径、细胞信号转导中发挥重要作用, 影响炎性因子的表达, 在自身免疫性疾病中发挥着重要作用。

1 泛素-蛋白酶体系统与免疫蛋白酶体

1.1 泛素-蛋白酶体系统 (UPS) UPS 由泛素 (Ub)、泛素活化酶 (E1)、泛素结合酶 (E2)、泛素连接酶 (E3)、蛋白酶体及其底物 (蛋白质) 构成^[1]。经过 E1、E2、E3 一系列酶的催化级联反应, 底物蛋白泛素化并形成泛素-底物蛋白复合体, 随后泛素-底物蛋白复合体与 26S 蛋白酶体相偶联, 底物蛋白进入蛋白酶体核心被降解。标准蛋白酶体由一个 20S 核心颗粒和两个 19S 调节颗粒组成, 相对分子质量为 $2\ 000 \times 10^3$ 。20S 核心颗粒由 α 环和 β 环组成, 按 $\alpha 1$ - $7\alpha 1$ - $7\beta 1$ - $7\beta 1$ -7 顺序排成园筒状

结构。 α 亚基构成的环位于 20S 核心颗粒的外部, 发挥守门员的作用, 调节 20S 颗粒的结合部, 使进入核心颗粒内部的蛋白质具有选择性。 β 环位于 20S 核心颗粒的内部, 含有蛋白酶活性位点, 用以催化蛋白质水解反应。

1.2 免疫蛋白酶体 标准蛋白酶体每个 β 环含有 3 个不同的蛋白水解活性位点, 其中的 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 和 $\beta 5$ 亚单位分别具有谷氨酰胺酶样 (PGPH-L)、胰蛋白酶样 (T-L) 和糜凝乳蛋白酶样 (CT-L) 活性, 分别水解酸性氨基酸、碱性氨基酸和疏水氨基酸^[2], 如图 1 所示。IFN- γ 等刺激可诱导低分子量多肽 (*LMP*) 表达 (如 *LMP2*、*LMP10* 和 *LMP7*), 同时抑制 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 和 $\beta 5$ 表达。*LMP2*、*LMP10* 和 *LMP7* 表达替换 20S 核心颗粒中的 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 和 $\beta 5$ 亚单位, 组成新的具有功能活性的免疫蛋白酶体。*LMP2*、*LMP10* 和 *LMP7* 又分别称为 $\beta 1i$ 、 $\beta 2i$ 和 $\beta 5i$, 如图 2 所示^[3]。

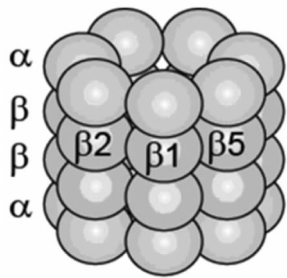


图 1 标准蛋白酶体结构示意图

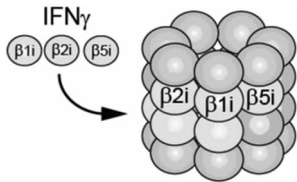


图 2 免疫蛋白酶体结构示意图

2 免疫蛋白酶体的免疫学功能

2.1 MHC-I 类分子抗原提呈 内源性蛋白在胞质中泛素化后经 26S 蛋白酶体降解,被水解成长度为 8~10 个氨基酸残基的短肽链。这些短肽链末端大多为碱性或疏水氨基酸,在内质网中与 MHC-I 类分子结合,随后转运至细胞膜表面,被细胞毒特异性的 CD8⁺ T 细胞识别,激活 T 细胞调节的细胞免疫反应^[4]。研究表明,MHC-I 类分子所提呈的抗原来自于细胞内经蛋白酶体途径产生的多肽。蛋白酶体抑制剂如乳胞素等可阻断细胞的抗原提呈,抗原肽生成减少^[5]。IFN- γ 诱导可迅速提高 LMP2、LMP10 和 LMP7 等蛋白酶体亚单位的表达,LMP2、LMP10 和 LMP7 被优先用于组装成免疫蛋白酶体^[6-7],而免疫蛋白酶体有着比标准蛋白酶体更高的糜蛋白酶样活性。人们在 LMP2、LMP10 和 LMP7 缺失的转基因小鼠中发现抗原提呈缺陷,LMP2、LMP10 和 LMP7 双缺失或全缺失基因敲除小鼠实验进一步证明免疫蛋白酶体在抗原提呈中的重要作用。在淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)感染时,基因敲除小鼠 MHC 抗原表位比野生型减少 50%^[8]。最近的标准蛋白酶体和免疫蛋白酶体的晶体学研究对免疫蛋白酶体增强的抗原提呈有了更深入的认识^[9]:LMP2 的底物结合通道与疏水氨基酸一致,促进 MHC-I 类分子末端形成小的非极性氨基酸;LMP7 介导的肽键水动力学增加活性位点和额外氢键形成的含氧阴离子孔的亲水性增加等。

2.2 免疫蛋白酶体促进 Th 细胞分化 Kalim 等^[10]研究发现,LMP7 具有调控抑制 Th 细胞分化的作用。敲除或抑制 LMP7 具有抑制 Th17 细胞产生和促进 Treg 细胞发育的双向功效。LMP7 抑制阻断 Th17 细胞 STAT3 磷酸化,增强调节性 T 细胞中 SMAD 的磷酸化。LMP7 抑制剂减少 STAT1 磷酸化和 Th1 细胞发育。LMP7 缺乏的小鼠表现为鸡卵清蛋白诱导或皮下注射所致的急性哮喘减轻,同时伴有支气管肺泡灌液中的嗜酸性粒细胞降低,鸡卵清蛋白特异性 IgG 减少,局部和全身性 Th2 细胞因子肺内 Th2 细胞减少,而 Treg 和 Th1 细胞不受影响^[11]。

3 免疫蛋白酶体与自身免疫性疾病

3.1 免疫蛋白酶体在自身免疫性疾病中的作用 目前在免疫蛋白酶体亚单位基因多态性的研究中,LMP2 基因仅发现一个多态性位点,即编码第 60 位的精氨酸转变为组氨酸,LMP7 基

因多态性也只有一个多态位点的变化,即第 2 外显子编码产生的氨基酸在 145 位由赖氨酸转变为谷氨酰胺^[12]。LMP 基因的多态性不仅有着种族地域分布频率的差异性,也与众多的免疫相关性疾病有着风险关联。于亮等^[13]报道云南地区类风湿关节炎(RA)组 LMP7 基因的 rs17587 的 GG 基因型频率明显高于对照组。

近年的研究表明,在许多自身免疫性疾病,如干燥综合征(SS)、多发性硬化症(MS)、RA 等患者血清或者动物模型中的免疫蛋白酶体亚单位组分表达增加。近年研究显示原发性干燥综合征患者唇腺组织内免疫蛋白酶体中 LMP2、LMP10 和 LMP7 等组份 mRNA 表达上调。但在蛋白水平上,组织学和血清中均显示 LMP2 表达下调^[14-15]。国内李珍等^[16]通过免疫组织化学方法观察原发性干燥综合征的唇腺中 LMP7 表达明显增强,提示免疫蛋白酶体与干燥综合征密切相关。Mishto 等^[17]发现 LMP2 蛋白 60HH 突变可延缓 MS 的进展,用免疫组化结果显示 MS 病人的脑组织中 LMP2 的表达升高。这些研究提示免疫蛋白酶体在自身免疫性疾病的发病中有着重要作用。

免疫蛋白酶体亚单位基因多态性可改变其水解后肽段的长度或裂解片段的模式,因而对抗原处理和提呈过程起到了限制性作用,从而影响自身免疫反应的易感性。一些遗传性疾病的发生与 LMP7 基因的突变相关。研究发现,关节、肌肉萎缩、小红细胞性贫血和脂膜炎诱导脂肪代谢障碍综合征(JMP)患者的 LMP7 基因位点 c. 224C>T (p. Thr75Met) 突变^[18]。推测 75 位的苏氨酸突变为蛋氨酸后,改变了 LMP7 的蛋白质的三级结构,从而导致其酶蛋白样活性降低,影响了 MHC-I 类分子抗原提呈过程。CANDLE 综合征与 LMP7 基因突变相关^[19]。

3.2 免疫蛋白酶体抑制剂与自身免疫性疾病的治疗 有研究发现,在动物模型中蛋白酶体抑制剂可减轻自身免疫性疾病的炎症反应,减轻炎症因子的产生,但其严重的毒副作用影响了其应用^[20]。研究者用 X 射线确定了免疫蛋白酶体的晶体结构,研究人员进一步找到一种很有前途的蛋白酶抑制剂,它的活性成分是 PR-957(ONX 0914),其特别之处在于只抑制免疫蛋白酶体,不抑制与免疫蛋白酶体有几乎相同氨基酸序列的标准蛋白酶体^[21-22]。

特异性免疫蛋白酶体抑制剂药物的开发,为自身免疫性疾病的药物治疗提供了更优的选择。新发现一种针对免疫蛋白酶体亚单位 LMP7 抑制剂 RP-957,可以有效的抑制免疫蛋白酶核心组件 LMP7 活性,减轻炎症因子的产生,延缓疾病的进展。该抑制剂在小鼠 RA 动物模型中具有抗感染作用,能降低炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等基因 mRNA 表达水平和血清抗体水平^[21]。LMP7 通过调制多种效应细胞活性,抑制阻断 T 细胞和单核细胞功能。LMP 抑制阻断驱动 TH17 细胞形成的细胞因子和 IL-17 产生。PR-957 所诱导的抗炎反应剂量不到最大耐受剂量的 1/10,而其他的一些非选择性抑制剂如 Muchamuel 等诱导抗炎效应时剂量均达到最大耐受剂量^[21],这大大提高了免疫蛋白酶体选择性抑制剂在 RA 类自身免疫病治疗中的临床应用。

免疫蛋白酶体与免疫系统之间有着复杂的联系,其在抗原提呈、细胞信号转导、免疫炎症反应等方面的作用已受到重视。深入研究免疫蛋白酶体在自身免疫性疾病中的作用具有重要意义,开发特异性的免疫蛋白酶体抑制剂具有广阔的应用

前景。

参考文献

[1] Strieter ER, and Korasick DA. Unraveling the complexity of ubiquitin signaling[J]. ACS Chem Biol, 2012, 7(1): 52-63.

[2] Groll M, Ditzel L, Lowe J, et al. Structure of 20S proteasome from yeast at 2.4 Å resolution[J]. Nature, 1997, 386(6624): 463-471.

[3] Tanaka K. The proteasome: from basic mechanisms to emerging roles[J]. Keio J Med, 2013, 62(1): 1-12.

[4] Rock KL, York IA, Saric T, et al. Protein degradation and the generation of MHC class I-presented peptides[J]. Adv Immunol, 2002, 80(1): 1-70.

[5] Basler M, Kirk CJ, Groettrup M. The immunoproteasome in antigen processing and other immunological functions[J]. Curr Opin Immunol, 2013, 25(1): 74-80.

[6] Akiyama K, Yokota K, Kagawa S, et al. cDNA cloning and interferon gamma down-regulation of proteasomal subunits X and Y[J]. Science, 1994, 265(5176): 1231-1234.

[7] Aki M, Shimbara N, Takashina M, et al. Interferon-gamma induces different subunit organizations and functional diversity of proteasomes[J]. J Biochem, 1994, 115(2): 257-269.

[8] Kincaid EZ, Che JW, York I, et al. Mice completely lacking immunoproteasomes show major changes in antigen presentation[J]. Nat Immunol, 2012, 13(2): 129-135.

[9] Huber EM, Basler M, Schwab R, et al. Immuno- and constitutive proteasome crystal structures reveal differences in substrate and inhibitor specificity[J]. Cell, 2012, 148(4): 727-738.

[10] Kalim KW, Basler M, Kirk CJ, et al. Immunoproteasome subunit LMP7 deficiency and inhibition suppresses Th1 and Th17 but enhances regulatory T cell differentiation[J]. J Immunol, 2012, 189(8): 4182-4193.

[11] Volkov A, Hagner S, Loser S, et al. beta5i subunit deficiency of the immunoproteasome leads to reduced Th2 response in OVA induced acute asthma[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e60565.

[12] Vargas-Alarcon G, Gamboa R, Vergara Y, et al. LMP2 and LMP7 gene polymorphism in Mexican populations; Mestizos and Amerindians[J]. Genes Immun, 2002, 3(6): 373-377.

• 综 述 •

[13] 于亮, 李芹, 林俊, 等. 云南地区汉族人群 PSMB8、PSMB9 及 TAP2 基因多态性与类风湿关节炎的关联研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2013, 30(2): 222-226.

[14] Egerer T, Martinez-Gamboa L, Dankof A, et al. Tissue-specific up-regulation of the proteasome subunit beta5i (LMP7) in Sjogren's syndrome[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(5): 1501-1508.

[15] Krause S, Kuckelkorn U, Dorner T, et al. Immunoproteasome subunit LMP2 expression is deregulated in Sjogren's syndrome but not in other autoimmune disorders[J]. Ann Rheum Dis, 2006, 65(8): 1021-1027.

[16] 李珍, 罗玉凤, 曹金伶, 等. 免疫蛋白酶体系基在干燥综合征唇腺中的表达[J]. 中国医学科学院学报, 2011, 33(2): 146-150.

[17] Mishto M, Bellavista E, Ligorio C, et al. Immunoproteasome LMP2 60HH variant alters MBP epitope generation and reduces the risk to develop multiple sclerosis in Italian female population[J]. PLoS One, 2010, 5(2): e9287.

[18] Agarwal AK, Xing C, DeMartino GN, et al. PSMB8 encoding the beta5i proteasome subunit is mutated in joint contractures, muscle atrophy, microcytic anemia, and panniculitis-induced lipodystrophy syndrome[J]. Am J Hum Genet, 2010, 87(6): 866-872.

[19] Torrelo A, Patel S, Colmenero I, et al. Chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature (CANDLE) syndrome[J]. J Am Acad Dermatol, 2010, 62(3): 489-495.

[20] Ahmed AS, Li J, Ahmed M, et al. Attenuation of pain and inflammation in adjuvant-induced arthritis by the proteasome inhibitor MG132[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(7): 2160-2169.

[21] Muchamuel T, Basler M, Aujay MA, et al. A selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP7 blocks cytokine production and attenuates progression of experimental arthritis[J]. Nat Med, 2009, 15(7): 781-787.

[22] Singh AV, Bandi M, Aujay MA, et al. PR-924, a selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP-7, blocks multiple myeloma cell growth both in vitro and in vivo[J]. Br J Haematol, 2011, 152(2): 155-163.

(收稿日期: 2014-01-12)

多重耐药的鲍曼不动杆菌的致病性的研究进展*

王厚照 综述, 张 玲 审校

(厦门大学附属成功医院/解放军第 174 医院检验科, 福建厦门 361003)

关键词: 鲍曼不动杆菌; 致病性; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 14. 038 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2014)14-1905-03

由鲍曼不动杆菌引发的感染已经成为了现代卫生系统的一个严峻的挑战。这种细菌具有极强的获取耐药基因的能力, 但是其引发临床感染的机制十分复杂。鲍曼不动杆菌多重耐药机制已经为人所熟知, 但是其致病性和潜在的毒理性的研究

还刚刚起步。在这篇文章中, 研究者对鲍曼不动杆菌的致病性进行综述。

1 鲍曼不动杆菌

鲍曼不动杆菌是一类革兰阴性杆菌的非发酵菌, 属于卡他

* 基金项目: 厦门市科技创新项目(3502Z20134024); 全军医学科技青年培育项目(13QNP047)。 作者简介: 王厚照, 男, 医师, 主要从事微生物检验方面研究。