

文章编号: 1004-0374 (2010) 05-0454-05

NOD 样受体在炎症反应中的调控作用

席琼, 胡巢凤*

(暨南大学医学院病理生理教研室, 广州 510632)

摘要: 天然免疫(innate immunity)是机体免疫系统直接抵御病原体入侵的最初阶段, 通过机体自身的特异性模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRRs)来识别病原体特有的保守结构病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)。细胞内NOD样受体(NLRs)是胞浆型PRRs中的一个重要家族, 病原体侵袭细胞可上调其表达, 启动机体的免疫应答和炎症反应, 在机体天然免疫应答中发挥独特的功能。最近有研究证明, NLRs的突变与一些人类免疫性疾病相关, 并且在细菌感染和炎症反应的控制中起重要作用。该文将讨论NLRs在炎症疾病中的调控作用。

关键词: NLRs; 炎症小体; 炎症; 调控

中图分类号: R392.11

文献标识码: A

Regulation of NOD like receptors in the inflammation

XI Qiong, HU Chao-feng*

(Department of Pathophysiology, Jinan University Medical School, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The innate immune system is the first line of defense against microorganisms, and recognizes pathogens through pattern recognition receptors (PRRs) that detect conserved microbial components called pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). Nod-like receptors (NLRs) are an important family of intracellular pattern recognition receptors, which trigger immune and inflammatory responses after infection, playing a special role in innate immune system. Recently, some studies show that mutations in NLRs are associated with human immune diseases, and play an important role in infectious and inflammatory responses. In this review, we will discuss the regulation of NLRs in inflammation.

Key words: NLRs; inflammasome; inflammation; regulation

NOD样受体(NOD like receptors, NLRs)是一类含有核苷酸结合寡聚域(nucleotide-binding oligomerization domain, NOD)的蛋白质家族,广泛存在于人类的细胞胞浆内。NOD蛋白与植物抗病蛋白(disease resistance proteins, R蛋白)结构和功能有高度同源性, R蛋白能识别病原体的不同结构,激发植物抗病原体的防御反应,最终导致细胞死亡^[1]。NOD蛋白为胞浆内的模式识别受体,其结构包括:(1)中央的核苷酸结合寡聚化区域(NACHT),是NLRs家族共同拥有的结构,对于NLRs的寡聚化和活化非常重要;(2)N末端效应结合区域,即N-末端蛋白-蛋白相互作用的结构域,如半胱氨酸蛋白酶激活和募集结构域(caspase activation and recruitment domain, CARD);(3)C末端富含亮氨酸的重复序列(LRRs),可以识别受体^[2]。

1 NLRs 的分类及信号转导

在人类, NLRs 家族由 22 种胞内模式识别分子组成, 分布于多种组织细胞, 包括单核细胞、巨噬细胞、T 细胞、B 细胞、小肠的树突样细胞和潘氏细胞。最近人类 NLRs 被分为以下 5 类: (1) NLRA, 包括 CIITA, 含有酸性结构域; (2) NLRB, 包括 NAIP, 在 N 端含有 3 个杆状病毒抑制重复结构域(baculoviral inhibitory repeat domain, BIR); (3) NLRC, 包括 NOD1、NOD2、NLRC3~NLRC5, 含有 CARD 结构域; (4) NLRP, 包括 NLRP1~NLRP14,

收稿日期: 2009-11-06; 修回日期: 2009-12-18

基金项目: 广东省自然科学基金项目(06025159); 广东省教育厅自然科学研究项目[粤财教(2005)126]

*通讯作者: E-mail: thcf@jnu.edu.cn Tel 020-85228079

含有 pyrin 结构域, 其中 NLRP1 分子 LRR 结构域的 C 端比其他 NLRP 成员多出 1 个 FIIND 和 1 个 CARD 结构域, 而 NLRP10 缺少一个 LRR 结构域; (5) NLRX, 与其他 NLRs 亚族成员的 N 末端没有很强同源性的 NLR 家族^[3]。

NOD1 和 NOD2 通过 CARD-CARD 募集含丝氨酸-苏氨酸激酶的 RIP2 [receptor-interacting protein (RIP)-like interacting caspase-like apoptosis-regulatory protein (CLARP) kinase] 激活 NF- κ B 和促分裂素原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 信号途径。而包含 PYD 的 NLRP 蛋白与 ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing CARD) 结合引起 caspase-1 的激活, 引起炎症反应^[4]。NLRs 与炎症因子之间以及 NLRs 成员之间形成复杂的网络共同调节免疫应答, 加强机体炎症反应和抗微生物感染的能力。

虽然发现 NLRs 的许多成员可促进炎症的发展, 但持续或病理条件下的炎症刺激, 可造成全身性炎症反应综合征 (SIRS)、器官功能障碍综合征 (MODS)、感染性休克等疾病, 近年来研究证实, 该家族的某些成员在炎症刺激下可抑制 NF- κ B、IL-1 β 的激活, 从而抑制炎症反应, 对维持机体稳态起重要作用, 并为治疗相关疾病提供了有利的条件。

2 炎症小体

炎症小体是多蛋白复合物, 包括 NLRs、胞内接头蛋白 ASC 和前炎性 caspase, 并且是 caspase-1 活化所必需的反应平台, 调控 IL-1 β 、IL-18、IL-33 等促炎细胞因子的加工及活化, 参与天然免疫系统的激活。NLRP 家族成员如 NLRP1 和 NLRP3 等作为炎症小体的主要支架。不同的炎症小体作为一种分子平台导致相同的结果, 即激活促炎性半胱氨酸蛋白酶-1 (caspase-1) 和半胱氨酸蛋白酶-5 (caspase-5)。活化的 caspase-1, 调控 IL-1 β 、IL-18 和 IL-33 的加工和分泌。IL-1 β 能够使机体对感染和损伤产生全身或局部的反应, 在慢性和急性炎症反应中起着重要的作用。NLRP 家族成员在细菌感染后触发炎症小体的募集, 可能通过细菌产生的毒素或细菌分泌系统感受膜干扰信息或转运细菌成分进入胞质, 因此在调节炎症小体的募集中有重要的作用^[5]。

3 NLRs 的促炎作用

3.1 NOD1

NOD1 蛋白分布于全身各种组织细胞, 可识别

肽聚糖。还有报道指出 NOD1 可识别胞外微生物, 如铜绿色假单胞菌和幽门螺杆菌 (HP)^[6, 7]。研究显示 NOD1 缺陷小鼠更容易感染 HP, 与野生型小鼠相比其死亡率明显增高^[7]。人类 NOD1 基因的多态性与哮喘和特发性湿疹发病率及 IgE 水平升高有着密切联系^[8]。NOD1 介导的对皮肤和黏膜表面细菌产物的识别可能影响 Th2 的极化和 IgE 的浓度^[9]。Opitz 等^[10]研究得出 siRNA 导致 NOD1 基因沉默可以使肺炎衣原体感染诱导的白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8) 释放显著减少; 此外, 在高度表达 NOD1 及 NOD2 的 HEK293 细胞内, 肺炎衣原体感染诱导 NF- κ B 的活化显著增强, 故认为 NOD1 在肺炎衣原体感染的炎症反应中可能起重要作用。NOD1 突变导致疾病的机制并不十分清楚, Geddes 等^[11]认为 NOD1 突变产生的特异性疾病是 NF- κ B 激活增强的结果, 致使一些调整亚型丧失。在诸如哮喘和炎症性肠疾病中, NOD1 亚型的表达发生改变, 导致异常炎症的发生。

3.2 NOD2

NOD2 又称 CARD15、NLRC2, 其主要分布于上皮细胞和抗原呈递细胞 (APCs), 作为细菌细胞壁成分的胞内感受器, 其识别的最小基序为胞壁酰二肽 (muramyl dipeptide, MDP), 通过 NF- κ B 途径激活下游的炎症介质和促炎因子, 从而介导炎症反应。有研究证实, 肺炎链球菌通过 NOD2 受体诱导 NF- κ B 活化, 在肺组织中参与了肺炎链球菌感染的免疫防御反应^[12]。

迄今为止, 至少发现 58 种疾病相关性 NOD2 突变或致病性 NOD2 突变。NOD2 突变所致的疾病主要有: (1) Crohn's 病 (CD), 一种病因不明的小肠炎性疾病。2001 年, 在 CD 患者中用连锁分析和连锁不平衡图谱鉴定出敏感性 NOD2 基因多态性。NOD2 基因位于 16q12, 可诱导 NF- κ B 激活、介导细胞凋亡以及影响肠道先天性防御因子, 如小肠潘氏细胞防御素的表达^[13]。在 CD 患者中主要有三种 NOD2 的多态性, 即 Arg702Trp (SNP8)、Gly908Arg (SNP12) 的两种错义突变和 Leu1007fsinsC (SNP13) 的移码突变^[14]。它们在 NOD2 的 LRR 区域里或附近, 因此, 能影响配体的结合, 使 NOD2 不能识别胞壁酰二肽、NF- κ B 活性降低、肠黏膜控制细菌感染的反应丧失, 从而诱发异常强烈的炎症反应。但许多有 NOD2 突变的患者仍然保持健康, 甚至在前 10~15 年无症状直至发病, 因此, 推断可能有其他因素导致本病的发生, 或许是与 NOD2 突变有关

联的基因或环境因素^[15]。(2)Blau 综合征(BS),一种常染色体显性遗传病,临床上主要表现为不依赖病原微生物刺激的无菌性炎症反应,包括肉芽肿性关节炎、葡萄膜炎和皮疹。迄今为止,发现NOD2的四种错义突变与该病的发生有关,位于编码NACHT区域的R334Q和R334W,以及L469F和E383。这些突变可以使NOD2的功能放大,在缺乏病原刺激的情况下,机体免疫系统异常持续性激活^[14]。(3)早发型肉瘤(EOS),EOS表现为不同器官的肉芽肿,特别是关节、眼睛和皮肤,因其与BS表现特征几乎相同,故认为BS和EOS属同一种疾病^[5]。EOS与NOD2中R334W的突变有关,可放大NOD2的功能,但其他的肉芽肿性炎症,如成人肉瘤病和Wegener's肉芽肿均与NOD2无关^[1]。

此外,有研究发现转染NOD2正常基因及NOD2突变基因(3020insC)的肠上皮细胞株Caco2,用鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)感染,结果发现转染正常NOD2基因的细胞其胞内细菌数量明显少于NOD2突变基因的细胞,提示NOD2还可以阻止鼠伤寒沙门氏菌的入侵,并且还能产生上皮细胞的防御反应^[16]。除了与炎症有关外,近来发现NOD2还与一些恶性疾病有关,包括早发型乳腺癌、非霍奇金淋巴瘤、黑色素瘤和肺癌,以及移植后排斥反应^[11]。

3.3 NLRC4(IPAF)

NLRC4蛋白也称为IPAF,与NLRP1和NLRP3是同源染色体,可形成炎症小体,识别胞浆鞭毛素并导致caspase-1的激活。有研究显示NLRC4在胞内病原体,如鼠伤寒沙门菌、肺炎军团菌等感染时激活caspase-1,后者能够介导活性IL-1 β 的生成。在军团菌肺炎的感染中,NLRC4不仅对分泌IL-1 β 起重要作用,还能控制胞内细菌再复制^[16]。在鼠伤寒沙门菌的病例中,NLRC4可通过鞭毛素识别胞内病原体,并将ASC作为下游连接分子激活caspase-1,随后导致巨噬细胞的死亡和IL-1 β 的分泌。而NLRC4缺陷性巨噬细胞感染沙门氏菌后,可致宿主细胞死亡^[15]。

3.4 NLRP1

NLRP1在多种细胞中低表达,但在免疫T细胞和朗格汉斯细胞内高表达。由其是否含有LRR区域而将NLRP1分为两种变体,不含LRR区域的NALR1不需要结合MDP使自身激活并结合ATP,使机体对白癣的易感性增加^[1]。NLRP1多态性也与多种自身炎症有关,如自身免疫性甲状腺炎、成人自身

免疫性糖尿病、风湿性关节炎、银屑病、恶性贫血、系统性红斑狼疮以及艾迪森病。有研究证实炭疽杆菌能造成NLRP1结构和功能的破坏,携带*Nlrp1*等位基因编码蛋白NLRP1b的小鼠对炭疽杆菌更加敏感^[17]。

3.5 NLRP3(cryopyrin)

NLRP3(cryopyrin)能够感受外源性、内源性的配体,通过接头蛋白ASC募集caspase-1以形成炎症复合体,参与caspase-1的活化与IL-1 β 前体的成熟过程。NLRP3是炎症小体的主要组分^[1],NLRP3对李斯特菌、金黄色葡萄球菌等细菌感染,以及ATP、尼日利亚菌素、MDP、病毒RNA、咪唑啉、尿酸结晶、石棉、硅酸盐和 β 淀粉酶均有反应^[11]。NLRP3突变可导致常染色体显性疾病如家族性寒冷自发炎症综合征(FCAS)、Muckle-wells综合征和慢性婴儿期皮肤关节综合征(CINCA)。上述疾病均为自身炎症综合征。在这些疾病中,最常见突变为R260W,NLRP3可过度激活caspase-1和其突变体,并从粒\单细胞中释放IL-1 β 。最近发现Blau综合征也是由NOD2的NACHT区突变引起的,该区相当于NLRP3的R260W,并且NLRP3炎症小体在无ATP参与的情况下,活化caspase-1,促进IL-1 β 释放,诱发痛风及假痛风慢性关节炎的发生与发展^[17]。研究证实NLRP3炎症小体与类风湿关节炎有关,而其炎症小体的其他组分,如Pyrin的突变也能导致IL-1 β 的大量产生,导致常染色体隐性家族性地中海发热(FMF)^[1]。

4 NLRs的抗炎作用

4.1 NLRP2

NLRP2广泛表达于组织和肿瘤细胞系中。有报道称NLRP2在造血祖细胞和间质祖细胞的分化中起正调节作用^[17]。最近发现,NLRP2可以通过与ASC的相互作用控制I κ B的激活,从而抑制NF- κ B信号,因此可调节炎症反应。NLRP2蛋白可抑制由多种刺激诱导的NF- κ B的激活^[18]。NLRP2和NLRP7、NLRP10一起组成了PYPAFs抗炎亚族^[19]。在HEK293T细胞中,TNF- α 刺激的p65或过度表达NF- κ B的p65均可导致NLRP2的上调,并形成NF- κ B-NLRP2启动子复合物。因此,NLRP2可能作为负反馈环控制NF- κ B的激活,从而参与抗炎过程^[18]。

4.2 NLRP3(Cryopyrin)

虽然NLRP3的促炎作用已被证实,但最近发现,NLRP3在TNF和TNF相关因子6介导的

NF- κ B 的激活中发挥抑制作用^[18]。研究证实 FAS 相关因子 1 (FAF1) 和 NLRP3 相互作用后, 通过干扰 ASC 与 NF- κ B 活化相关的因子募集与激活, 从而抑制 PYPAF-NF- κ B 信号途径。FAF1 可能形成 NLRP3-ASC 复合体, 该复合体可抑制 NF- κ B 的激活途径。该抑制因子的成员还包括 NLRP2 和 NLRP10, 它们均属于抗炎 PYPAF 亚族蛋白, 有抑制 NF- κ B 激活的作用^[20]。

4.3 NLRP7 (PYPAF3)

NLRP7 在组织中广泛表达并被脂多糖 (LPS) 或促炎因子诱导。NLRP7 是第二种可以抑制 caspase-1 依赖的 IL-1 β 分泌的成员。但与 NLRP2 不同的是, NLRP7 对 NF- κ B 激活没有作用。而是通过抑制 procaspase-1 和 pro-IL-1 β 的激活过程, 抑制 ASC 介导的 IL-1 β 的释放, 因此 NLRP7 是 IL-1 β 分泌调节的反馈分子, 抑制炎症反应过程^[19]。

4.4 NLRP10 (PYNOD, NOD8)

NLRP10 包括一个 N 端 PYD 和 C 端 NOD, 但缺少 LRRs, 于是又命名为 PYNOD。PYNOD 在 HEK293 细胞中抑制由 ASC 和 CARD12 Δ LRR (截短 LRR 的 CARD12) 诱导的 NF- κ B 的激活, 但其并不抑制由 MEK1 或 MyD88 的 cDNA 转染诱导的 NF- κ B 激活, 也不抑制由 TNF- α 刺激的 NF- κ B 的激活。IL-1 β 作为促炎因子可被 caspase-1 激活, CARD12 Δ LRR 的表达或高剂量的 ASC 可刺激 caspase-1 介导的 IL-1 β 的分泌。PYNOD 不能诱导 caspase-1 介导的 IL-1 β 的自我成熟, 却抑制由高剂量 caspase-1 诱导的 ASC 和 caspase-1 复合体或 CARD12 Δ LRR 诱导的 IL-1 β 的释放。PYNOD 抑制 NF- κ B 激活的能力仅仅发生于 ASC 介导的情况下, 说明 ASC 是 PYNOD 的直接靶点^[21]。

4.5 NLRP12 (Monarch-1)

NLRP12 首先在骨髓系和单核细胞系中发现, 作为防御入侵微生物的第一道防线。NLRP12 是第一个被发现可干扰 TLR2 和 TLR4 激活的 NOD 家族蛋白, 因此可通过与 IRAK-1 的结合阻断 TLR 信号通路, 并抑制 IRAK-1 的高度磷酸化^[22]。有研究证实 NLRP12 在单核细胞中抑制前炎症因子和趋化因子的产物。结核分枝杆菌和牙龈红棕色单胞菌等的活体细菌都导致 NLRP12 的减少, 这些结果说明 NLRP12 在 TLRs 和细胞因子引起的炎症反应中可能发挥负调节功能。氧化亚氮可以诱导 NLRP12 的表达, 使其抑制 NF- κ B 的激活, 并抑制促炎因子和

趋化因子的表达, 从而减弱炎症反应。在 THP-1 细胞中, NLRP12 的沉默促进了 NF- κ B 激活, 从而证实内源性 NLRP12 在单核细胞中抑制 NF- κ B 激活, 并且促炎因子 IL-6 和 IL-1 β 在 NLRP12 沉默后的 THP-1 单核细胞中增高。这些发现均证实了 NLRP12 在控制炎症反应中的负调节作用。除了抑制经典 NF- κ B 的激活外, NLRP12 也可以抑制非经典 NF- κ B 的激活^[22]。MyD88、IRAK-1、TRAF6 和 p65 的过量表达可导致大量 NF- κ B 的产生; 共转染 NLRP12 的表达质粒导致 MyD88、IRAK-1 和 TRAF6 诱导的 NF- κ B 减少, 而 p65 诱导的 NF- κ B 并未减少, 说明 NLRP12 作用在上游 p65 表达。有研究证明 NLRP12 在结核感染反应中对 IL-6 因子的表达起负调节作用, 并在 TLR2、TLR4 和 TNFR 介导的细胞因子分泌中起负调节作用^[21]。

5 小结与展望

近年来, 通过对 NLRs 及其结构、功能的认识, 使我们对哺乳动物宿主识别微生物的机制有了更深入的认识。虽然 NLRs 在炎症反应中的调控作用已得到确定, 但仍需进一步明确 NLRs 在炎症疾病的作用及其相关机制, 这些研究将为炎症疾病的诊断和防治、新药的靶点设计以及新型疫苗的开发提供新的思路。

[参考文献]

- [1] Rebecca JM, Michael BS, Michael FM. NOD-like receptors and inflammation. *Arthritis Res Ther*, 2008, 228 (10): 1-14
- [2] Inohara N, Nunez G. Nod intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3 (5): 371-82
- [3] Ting JP, Lovering RC, Alnemri ES. The NLR gene family: a standard nomenclature. *Immunity*, 2008, 28 (3): 285-7
- [4] Roland NW, Martina P, Thomas AK, et al. Evaluation of Nod-like receptor (NLR) effector domain interactions. *PLoS ONE*, 2009, 4 (4): 4931
- [5] Brodsky IE, Monack D. NLR-mediated control of inflammasome assembly in the host response against bacterial pathogens. *Semin Immunol*, 2009, 7 (5): 1-9
- [6] Travassos LH, Carneiro LA, Girardin SE, et al. Nod1 participates in the innate immune response to *Pseudomonas aeruginosa*. *J Biol Chem*, 2005, 280 (44): 36714-8
- [7] Viala J, Chaput C, Boneca IG, et al. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* cag pathogenicity island. *Nat Immunol*, 2004, 5 (11): 371-82
- [8] Holt PG, Sly PD. Interactions between respiratory tract infections and atopy in the aetiology of asthma. *Eur Respir J*, 2002, 19 (5): 538-45
- [9] Thirumala DK, Mohamed L, Gabriel N. Intracellular NOD-

- like receptors in host defense and disease. *Immunity*, 2007, 27 (4): 549-59
- [10] Opitz B, Forster S, Hocke AC, et al. Nod1-mediated endothelial cell activation by *Chlamydia pneumoniae*. *Circ Res*, 2005, 96 (3): 319-26
- [11] Geddes K, Magalhães JG, Girardin SE. Unleashing the therapeutic potential of NOD-like receptors. *Nat Rev*, 2009, 8 (6): 465-79
- [12] Opitz B, Puschel A, Schneck B, et al. Nucleotide-binding oligomerization domain proteins are innate immune receptors for internalized *Streptococcus pneumoniae*. *J Biol Chem*, 2004, 279 (35): 36426-32
- [13] Kobayashi KS, Chamaillard M, Ogura Y, et al. Nod2-dependent regulation of innate and adaptive immunity in the intestinal tract. *Science*, 2005, 307 (2): 731-4
- [14] Borzutzky A, Fried A, Chou J, et al. NOD2-associated diseases: bridging innate immunity and autoinflammation. *Clin Immunol*, 2009, 24 (5): 1-11
- [15] Carneiro LA, Travassos LH, Girardin SE. Nod-like receptors in innate immunity and inflammatory diseases. *Ann Int Med*, 2007, 39 (8): 365-98
- [16] Stephen EG, Ivo GB, Jerome V, et al. NOD2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem*, 2003, 278 (11): 8869-72
- [17] Carneiro LA, Magalhaes JG, Tattoli I, et al. Nod-like proteins in inflammation and disease. *J Pathol*, 2007, 39 (1): 581-93
- [18] Fontalba A, Gutierrez O, Fernandez-Luna JL. NLRP2, an inhibitor of the NF- κ B pathway, is transcriptionally activated by NF- κ B and exhibits a nonfunctional allelic variant. *J Immunol*, 2007, 179 (5): 8519-24
- [19] Kinoshita T, Wang Y, Hasegawa M, et al. PYPAF3, a PYRIN-containing APAF-1-like protein, is a feedback regulator of caspase-1-dependent interleukin-1 β secretion. *J Biol Chem*, 2005, 280 (23): 21720-5
- [20] Takeshi K, Chiaki K, Mizuho H, et al. Fas-associated factor 1 is a negative regulator of PYRIN-containing Apaf-1-like protein 1. *Int Immunol*, 2006, 18 (10): 1701-6
- [21] Yetao W, Mizuho H, Ryu I, et al. PYNOD, a novel Apaf-1/CED4-like protein is an inhibitor of ASC and caspase-1. *Int Immunol*, 2004, 16 (6): 777-86
- [22] Kristi LW, John DL. The CATERPILLER protein monarch-1 is an antagonist of toll-like receptor, tumor necrosis factor α , and mycobacterium tuberculosis-induced pro-inflammatory signals. *J Biol Chem*, 2005, 280 (48): 39914-24