DOI: 10.13376/j.cbls/2015123
文章编号：1004-0374(2015)07-0898-05

ERAP1与强直性脊柱炎关系研究进展

王冠明[1]*，游玉权[2]，谢永华[1]，陈淑增[1]，林成凤[2]
(1 泉州医学高等专科学校基础医学部，泉州 362100；2 泉州正骨医院，泉州 362000)

摘　要：HLA-B27 作为强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 的一个遗传学标志和致病因子为人们所熟知，但随着基因检测技术的发展，更多与 AS 相关的基因被发现，包括 ERAP1。ERAP1 的主要功能是剪切合适长度的抗原肽，以便 MHC-I 类分子提呈，功能异常的 ERAP1 与 AS 发病相关。在此过程中，ERAP1 与 HLA-B27 密切配合。ERAP1 分子多态性产生异常抗原肽提呈谱和 HLA-B27 分子表达，并通过固有免疫和适应性免疫机制介导 AS 发病。现围绕 ERAP1 基因与 AS 的关系、ERAP1 基因单核苷酸多态性与其功能改变以及 ERAP1 参与 AS 的免疫机制作一综述。

关键词：强直性脊柱炎；ERAP1；单核苷酸多态性；HLA-B27
中图分类号：Q75；R593.23　　**文献标志码：**A

Research progress in the relation between ERAP1 and ankylosing spondylitis

WANG Guan-Ming[1]*, YOU Yu-Quan[2], XIE Yong-Hua[1], CHEN Shu-Zeng[1], LIN Cheng-Feng[2]
(1 School of Preclinical Medicine, Quanzhou Medical College, Quanzhou 362100, China;
2 Quanzhou Orthopedics Hospital, Quanzhou 362000, China)

Abstract: It is well known that HLA-B27 is a hereditary marker and susceptibility factor in ankylosing spondylitis (AS). However, further AS-associated genes including ERAP1 were identified with the development of gene detection techniques. The main function of ERAP1 is trimming peptides to optimal length for MHC-I presentation and ERAP1 dysfunction is involved in the pathological mechanism of AS. ERAP1 functions in close concert with HLA-B27 molecules in AS pathogenesis. ERAP1 polymorphisms result in an abnormal peptide-presenting repertoire and HLA-B27 expression, which contribute to AS development by innate and adaptive immune responses. This review focuses on the association of ERAP1 with AS at the gene level, the SNP-dependent alteration in the function of ERAP1 as well as the immunologic mechanism for ERAP1 in AS susceptibility.

Key words: ankylosing spondylitis; ERAP1; SNP; HLA-B27

强直性脊柱炎 (ankylosing spondylitis, AS) 是一种慢性炎症性关节病，以骶髂关节和脊柱附着点炎症为主要症状，可伴有肠炎、眼部病变等关节外表现。AS 与遗传背景高度相关，其中与人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) -B27 的关系最为密切。虽然高达 95% 的 AS 患者携带 HLA-B27 基因，然而，只有 1%~5% 的 HLA-B27 基因携带者发展为 AS 患者 [1-3]。这表明在 AS 的发展过程中 HLA-B27 并不是唯一因素，也依赖其他基因共同参与。众多研究发现一些非主要组织相容性复合体 (non major histocompatibility complex, non-MHC) 基因包括 RUNX3、IL-23R、ANTXR2、IL-1R2、ERAP1 等也与 AS 相关 [1,4-5]。值得注意的是，在这些 AS 相关基因当中，内质网氨基肽酶 1 (endoplasmic reticulum aminopeptidase 1, ERAP1) 是仅次于 HLA-B27 与 AS 关联度第二高的基因，约占 AS 遗传总风险的 26% [6-7]。ERAP1 基因的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与 AS 风险的相关性

收稿日期：2015-02-10；**修回日期：**2015-03-24
基金项目：福建省教育厅B类项目(JB14142)
***通信作者：**E-mail: jnu10350@sina.cn

已在不同人种中得到证实[1,6,8-11]。

1　ERAP1的功能

ERAP1属于锌金属肽酶(zinc-metallopeptidase) M1家族，也是内质网膜整合蛋白[12]。ERAP1有两个主要功能，第一是修剪抗原肽，协助提呈内源性抗原。内源性抗原肽在细胞质内被蛋白酶复合体降解为较小的肽段，最多含有25个氨基酸。而后，这些肽段被抗原加工相关转运体(transporter associated with antigen processing, TAP)转运到内质网。内质网中的ERAP1从N端将这些肽段精确地修剪为含有8~9个氨基酸的小片段。这样长度的肽段最适合结合MHC-I类分子，包括HLA-B27[12-13]。MHC-I类分子结合抗原肽后，通过高尔基体到达细胞膜，将抗原肽提呈给$CD8^+$T细胞。此外，ERAP1还有清除细胞膜促炎细胞因子受体的作用。这些受体有IL-1R II、IL-6Rα、TNFRI[13-14]。由于ERAP1与HLA-B27在内质网上共同参与了抗原提呈，有理由相信ERAP1也参与了AS的发病。ERAP1功能改变与AS之间的关系近年来得到了广泛关注和深入研究。

2　ERAP1基因与AS关联

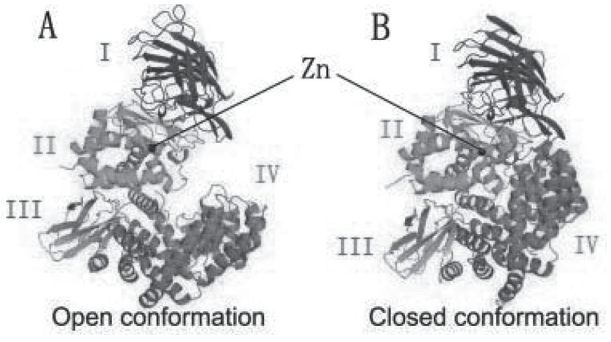
2007年，一项大规模病例对照研究(case-control study)利用全基因组关联扫描(genome-wide association scan, GWAS)技术，通过对1.45万个非同义SNP(non-synonymous SNP, nsSNP)位点进行扫描分析，确认5个位于ERAP1基因上的nsSNP与AS相关[6]。早前的研究计算出每个SNP的优势比(odds ratio, OR)，并区分出各个SNP的高风险等位基因(high risk allele)[2,6]。与高风险等位基因相对的等位基因被认为是保护性等位基因，如研究较多的rs30187的等位基因C被认为起保护性作用，其在健康对照人群中存在的比例高于AS患者[2,9]。然而，由于各SNP间存在连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)[14]，并且各SNP间还有相互作用，似乎较难对某个SNP独立分析，如纯合的rs30187和rs10050860同时存在可以显著提高保护效应，使得AS的风险下降了2/3~3/4[2]。因此，不同SNP组合构成的单体型(haplotype)成为研究的重点。rs27044/10050860/30187-CCT单体型提高AS的风险[15]，由于rs20744与rs17482078存在完全连锁，也有报道rs17482078/10050860/30187-CCT单体型是AS易感型，而与之相对应的TTC单体型则为AS保护型[14]。对俄罗斯人群的研究发现，rs17482078/10050860/2287987-CCT单体型为AS易感型，并认为rs30187和rs27044多态性与AS不相关[16]。在台湾人群则发现rs27037/27980/27044-TCG单体型是AS的主要风险因子[10]。Reeves等[17]的研究则更为深入，不仅罗列出13种不同的单体型，还研究了15种不同的单体型组合在疾病和对照组中的分布。他们认为ERAP1的高度多态性通过影响抗原提呈参与AS发病。

虽然ERAP1基因影响AS，但其对AS的影响有赖于HLA-B27基因。ERAP1多态性在HLA-B27基因缺失的情况下与AS没有关联[2]。体外实验也证明了ERAP1功能改变只在AS相关HLA-B27亚型存在下改变细胞蛋白质表达[18]。这说明ERAP1与HLA-B27密切配合，共同参与AS发病机制。

3　ERAP1多态性与激酶功能改变

3.1　ERAP1正常作用机制

晶体结构解析可以帮助我们很好地认识ERAP1结构与功能的关系[19-20]。ERAP1从N端开始分为4个区，分别跨越的氨基酸序列为1~254、255~527/529、528/530~613/614、614/615~941 (图1)。其中II区为活性区，IV为调节区，II区和IV区之间形成间隙(cavity)，可以容纳不同长度的抗原肽[21]。抗原肽的C端结合调节区，N端与活性区接触，两者之间距离约29Å。这种结构使得ERAP1像“分子尺子”只切割合适长度的抗原肽(9~16个氨基酸为合适长度，短于8个氨基酸将难于处理)。当抗原肽长度不足导致N端与活性区没有接触时，酶的效率将显著下降，直至反应停止。ERAP1有开放(open)和闭合(closed)两种构象，开放时，抗原



A为ERAP1开放构象，B为ERAP1闭合构象。ERAP1分区用不同颜色表示(I区蓝色、II区绿色、III区黄色、IV区紫红色)。

图1　ERAP1开放和闭合构象模式图[19]

肽被 ERAP1 接纳，而后转变为闭合态，此时 ERAP1 为活性状态，可以将氨基酸从抗原肽的 N 端切割。此过程可以重复，直到抗原肽被切割到合适的长度为止 [20-22]。合适长度的抗原肽将与 MHC-I 类分子结合，被提呈到细胞膜表面。

3.2 ERAP1变异体(variants)与功能变化

ERAP1 非同义单核苷酸突变导致相应位置的氨基酸变换，形成变异体，如 rs30187 SNP 导致第 528 位氨基酸由 Lys (K) 变为 Arg (R)，表示为 K528R。一些氨基酸的改变会影响酶功能，rs30187、rs17482078、rs27044 分别对应的氨基酸改变 K528R、R725Q、Q730E 降低了酶活性 [2,23]。ERAP1 切割抗原肽会产生两个效应，一方面，产生供 MHC-I 类分子提呈的抗原肽；另一方面，活性强的 ERAP1 过度切割，产生的抗原肽过短则不能被 MHC-I 分子提呈，造成破坏作用 [24-25]。由 M349/K528/D575/R725/Q730 组成 AS 高风险型 ERAP1 与其对应的 AS 低风险型比较，前者降解 HLA-B27 特异性抗原肽的能力更强 [26]。在胞内条件下，根据功能强弱，可以将 ERAP1 变异体分为正常功能、过强功能和过低功能等 3 种类型 [27]。需要指出的是，ERAP1 活性的高低还有赖于底物的特异性及其浓度 [23]。ERAP1 变异体的功能变化可以从结构上分析：M349V 在酶活性区，可直接影响酶活性；R725Q、Q730E 位于调节区，可以与抗原肽 C 端结合，影响抗原肽序列和长度的特异性；在接合区的 K528R、D575N 影响酶的构象转变，而构象转变对酶的活性非常重要 [23,27-28]。

4 ERAP1参与AS的机制

ERAP1 具有清除膜细胞因子受体和修剪抗原肽的功能。膜受体清除减少会导致游离受体与膜受体的比例失调，从而导致炎症 [13]，但现有研究并未在 AS 患者中发现 ERAP1 SNP 与细胞因子水平存在关系 [29]。因此，本文着重从 ERAP1 修剪抗原肽这一功能来探讨。

4.1 影响抗原肽提呈

ERAP1 对抗原肽的剪切功能决定了它对 MHC 分子提呈的抗原肽谱 (peptide repertoire) 有影响，这在被敲除 ERAP1 基因的小鼠中得到证实 [30-31]。ERAP1 功能的缺失，使得原本与 MHC 分子较好结合的抗原肽表达减少，同时与 MHC 分子结合欠合适的异常肽段表达增加，并最终导致免疫应答产生 [18,32]。ERAP1 的基因多态性使 HLA-B27 提呈的抗原肽谱呈现多样性，并通过抗原肽谱的改变来增强或减弱免疫反应 [28,31,33]。ERAP1 通过影响抗原肽提呈介导 AS 可能存在如下机制：(1) 异常提呈的抗原肽改变 T 细胞受体谱并被特异性的 $CD8^+$T 细胞识别，引起炎症反应；(2) 异常提呈的抗原肽可通过分子模拟导致交叉反应；(3) 降解、破坏病原体来源的抗原，削弱机体对病原体的清除 [7,13,26,34-35]。目前关于 ERAP1 与抗原肽谱的研究都集中于表达 AS 相关 HLA-B27 分子的细胞，这说明 ERAP1 多态性改变抗原肽谱有赖于 HLA-B27 分子，也提示了两者在抗原提呈上的密切关系。

4.2 改变HLA-B27分子表达

完整的 HLA-B27 分子由一条重链 (heavy chain) 和一条轻链 (β 微球蛋白) 构成，具备提呈抗原的能力。当 B27 分子解聚时，重链与轻链分离，形成自由重链 (free heavy chain, FHC)，不能提呈抗原。HLA-B27 来源的 FHC 较容易发生错误折叠和形成同源二聚体 (homodimers) [36]。

ERAP1 影响抗原肽提呈的同时也改变了 HLA-B27 分子的表达。ERAP1 缺失的小鼠细胞膜表面 MHC 分子表达下降 [30]，这种情况同样存在携带 AS 易感型 ERAP1 基因的细胞上 [26]。ERAP1 SNP rs27044 的 AS 易感型等位基因是 C，携带该等位基因的 AS 患者与无该基因的患者比较，前者的外周血单个核细胞表面表达较高的 FHC[18]。这些现象潜在的机制是 ERAP1 功能失当产生与 HLA-B27 分子低亲和力的抗原肽，而该分子结合低亲和力抗原肽后容易发生解聚，发生未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR)，或是形成膜 FHC [13]。蛋白质错误折叠增加内质网压力，引起细胞因子失调，导致炎症反应，这是 AS 的一个病理机制 [36]。

FHC 在 AS 患者炎性滑膜液中的单个核细胞膜表面高表达 [37]，提示其也与 AS 相关。FHC 分子在膜表面可形成同源二聚体，该二聚体可被 NK 细胞以及 Th17 细胞表面的杀伤细胞免疫球蛋白样受体 (killer immunoglobulin-like receptor, KIR) 家族成员 KIR3DL2 结合 [38-39]。NK 细胞和 Th17 细胞的 KIR 受体结合 FHC 后可延长存活时间。AS 患者表达 KIR3DL2 受体的 Th17 和 NK 细胞的比例增加 [38-39]。Th17 细胞通过分泌 IL-17 细胞因子参与了 AS 的病理过程 [40]。

5 小结

ERAP1 在抗原提呈中与 HLA-B27 密切配合，

在 AS 发病过程中扮演了角色。功能失当的 ERAP1 导致了异常的抗原肽谱和 HLA-B27 分子表达，并最终通过适应性免疫和固有免疫机制参与了 AS 发病。认识 ERAP1 与 AS 的联系加深了我们对该疾病的理解，但也存在很多疑问有待于进一步阐明。如何调控 ERAP1 的功能也许可以成为治疗 AS 的一个研究方向。

[参 考 文 献]

[1] Reveille JD, Sims AM, Danoy P, et al. Genome-wide association study of ankylosing spondylitis identifies non-MHC susceptibility loci. Nat Genet, 2010, 42(2): 123-7

[2] Evans DM, Spencer CC, Pointon JJ, et al. Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. Nat Genet, 2011, 43(8): 761-7

[3] Khan MA, Ball EJ. Genetic aspects of ankylosing spondylitis. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2002, 16(4): 675-90

[4] Tsui FWL, Tsui HW, Akram A, et al. The genetic basis of ankylosing spondylitis: new insights into disease pathogenesis. Appl Clin Genet, 2014, 7: 105-15

[5] Joshi R, Reveille JD, Brown MA, et al. Is there a higher genetic load of susceptibility loci in familial ankylosing spondylitis? Arthritis Care Res, 2012, 64(5): 780-4

[6] Burton PR, Clayton DA, Caldon LR, et al. Association scan of 14,500 nsSNPs in four common diseases identifies variants involved in autoimmunity. Nat Genet, 2007, 39(11): 1329-37

[7] Sanz-Bravo A, Campos J, Mazariegos MS, et al. Dominant role of the ERAP1 polymorphism R528K in shaping the HLA-B27 peptidome through differential processing determined by multiple peptide residues. Arthritis Rheumatol, 2015, 67(3): 692-701

[8] Zhang Z, Dai D, Yu K, et al. Association of HLA-B27 and ERAP1 with ankylosing spondylitis susceptibility in Beijing Han Chinese. Tissue Antigens, 2014, 83(5): 324-9

[9] Choi CB, Kim TH, Jun JB, et al. ARTS1 polymorphisms are associated with ankylosing spondylitis in Koreans. Ann Rheum Dis, 2010, 69(3): 582-4

[10] Wang CM, Ho HH, Chang SW, et al. ERAP1 genetic variations associated with HLA-B27 interaction and disease severity of syndesmophytes formation in Taiwanese ankylosing spondylitis. Arthritis Res Ther, 2012, 14(3): R125

[11] Pimentel-Santos FM, Ligeiro D, Matos M, et al. Association of IL23R and ERAP1 genes with ankylosing spondylitis in a Portuguese population. Clin Exp Rheumatol, 2009, 27(5): 800-6

[12] Agrawal N, Brown MA. Genetic associations and functional characterization of M1 aminopeptidases and immune-mediated diseases. Genes Immun, 2014, 15(8): 521-7

[13] Haroon N, Inman RD. Endoplasmic reticulum aminopeptidases: Biology and pathogenic potential. Nat Rev Rheumatol, 2010, 6(8): 461-7

[14] Kadi A, Izac B, Said-Nahal R, et al. Investigating the genetic association between ERAP1 and spondyloarthritis. Ann Rheum Dis, 2013, 72(4): 608-13

[15] Maksymowych WP, Inman RD, Gladman DD, et al. Association of a specific ERAP1/ARTS1 haplotype with disease susceptibility in ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum, 2009, 60(5): 1317-23

[16] Zvyagin IV, Dorodnykh VY, Mamedov IZ, et al. Association of ERAP1 allelic variants with risk of ankylosing spondylitis. Acta Naturae, 2010, 2(3): 72-7

[17] Reeves E, Colebatch-Bourn A, Elliott T, et al. Functionally distinct ERAP1 allotype combinations distinguish individuals with Ankylosing Spondylitis. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(49): 17594-9

[18] Haroon N, Tsui FW, Uchanska-Ziegler B, et al. Endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 (ERAP1) exhibits functionally significant interaction with HLA-B27 and relates to subtype specificity in ankylosing spondylitis. Ann Rheum Dis, 2012, 71(4): 589-95

[19] Nguyen TT, Chang SC, Evnouchidou I, et al. Structural basis for antigenic peptide precursor processing by the endoplasmic reticulum aminopeptidase ERAP1. Nat Struct Mol Biol, 2011, 18(5): 604-13

[20] Kochan G, Krojer T, Harvey D, et al. Crystal structures of the endoplasmic reticulum aminopeptidase-1 (ERAP1) reveal the molecular basis for N-terminal peptide trimming. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(19): 7745-50

[21] Alvarez-Navarro C, Lopez de Castro JA. ERAP1 structure, function and pathogenetic role in ankylosing spondylitis and other MHC-associated diseases. Mol Immunol, 2014, 57(1): 12-21

[22] Gandhi A, Lakshminarasimhan D, Sun Y, et al. Structural insights into the molecular ruler mechanism of the endoplasmic reticulum aminopeptidase ERAP1. Sci Rep, 2011, 1: 186

[23] Evnouchidou I, Kamal RP, Seregin SS, et al. Cutting Edge: coding single nucleotide polymorphisms of endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 can affect antigenic peptide generation in vitro by influencing basic enzymatic properties of the enzyme. J Immunol, 2011, 186(4): 1909-13

[24] Evnouchidou I, Papakyriakou A, Stratikos E. A new role for Zn(II) aminopeptidases: antigenic peptide generation and destruction. Curr Pharm Des, 2009, 15(31): 3656-70

[25] York IA, Chang SC, Saric T, et al. The ER aminopeptidase ERAP1 enhances or limits antigen presentation by trimming epitopes to 8-9 residues. Nat Immunol, 2002, 3(12): 1177-84

[26] Seregin SS, Rastall DP, Evnouchidou I, et al. Endoplasmic reticulum aminopeptidase-1 alleles associated with increased risk of ankylosing spondylitis reduce HLA-B27 mediated presentation of multiple antigens. Autoimmunity, 2013, 46(8): 497-508

[27] Reeves E, Edwards CJ, Elliott T, et al. Naturally occurring

ERAP1 haplotypes encode functionally distinct alleles with fine substrate specificity. J Immunol, 2013, 191(1): 35-43

[28] Garcia-Medel N, Sanz-Bravo A, Van Nguyen D, et al. Functional interaction of the ankylosing spondylitis-associated endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 polymorphism and HLA-B27 *in vivo*. Mol Cell Proteomics, 2012, 11(11): 1416-29

[29] Haroon N, Tsui FW, Chiu B, et al. Serum cytokine receptors in ankylosing spondylitis: relationship to inflammatory markers and endoplasmic reticulum aminopeptidase polymorphisms. J Rheumatol, 2010, 37(9): 1907-10

[30] Hammer GE, Gonzalez F, Champsaur M, et al. The aminopeptidase ERAAP shapes the peptide repertoire displayed by major histocompatibility complex class I molecules. Nat Immunol, 2006, 7(1): 103-12

[31] Blanchard N, Shastri N. Coping with loss of perfection in the MHC class I peptide repertoire. Curr Opin Immunol, 2008, 20(1): 82-8

[32] Hammer GE, Gonzalez F, James E, et al. In the absence of aminopeptidase ERAAP, MHC class I molecules present many unstable and highly immunogenic peptides. Nat Immunol, 2007, 8(1): 101-8

[33] Akram A, Inman RD. Co-expression of HLA-B7 and HLA-B27 alleles is associated with B7-restricted immunodominant responses following influenza infection. Eur J Immunol, 2013, 43(12): 3254-67

[34] Chen B, Li D, Xu W. Association of ankylosing spondylitis with HLA-B27 and ERAP1: pathogenic role of antigenic peptide. Med Hypotheses, 2013, 80(1): 36-8

[35] Zambrano-Zaragoza JF, Agraz-Cibrian JM, Gonzalez-Reyes C, et al. Ankylosing spondylitis: from cells to genes. Int J Inflam, 2013, 2013: 501653

[36] Colbert RA, Tran TM, Layh-Schmitt G. HLA-B27 misfolding and ankylosing spondylitis. Mol Immunol, 2014, 57(1): 44-51

[37] Tsai WC, Chen CJ, Yen JH, et al. Free HLA class I heavy chain-carrying monocytes--a potential role in the pathogenesis of spondyloarthropathies. J Rheumatol, 2002, 29(5): 966-72

[38] Chan AT, Kollnberger SD, Wedderburn LR, et al. Expansion and enhanced survival of natural killer cells expressing the killer immunoglobulin-like receptor KIR3DL2 in spondylarthritis. Arthritis Rheum, 2005, 52(11): 3586-95

[39] Bowness P, Ridley A, Shaw J, et al. Th17 cells expressing KIR3DL2+ and responsive to HLA-B27 homodimers are increased in ankylosing spondylitis. J Immunol, 2011, 186(4): 2672-80

[40] Miossec P, Kolls JK. Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(10): 763-76