

· 综 述 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.01.040

蛋白质糖基化修饰在自身免疫反应中的研究进展*

王 健 综述, 李 晞[△] 审校

广西医科大学第一附属医院检验科, 广西南宁 530021

关键词: 糖基化修饰; 糖链基团; 自身免疫; 系统性红斑狼疮

中图分类号: R392

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)01-0128-04

糖链基团具有广泛的生物活性,在机体结构与功能等方面起重要作用。蛋白质糖基化修饰是最常见的翻译后修饰之一,目前已知蛋白序列有半数以上属于糖基化蛋白^[1]。蛋白质附着的聚糖不仅影响蛋白质结构组成、性质稳定等方面,而且在细胞信号传导、免疫调节、肿瘤发生及转移等环节也发挥重要功能^[2-3]。近年来随着糖组学及糖蛋白组学的研究进展,糖链基团在免疫及自身免疫反应中的调节作用及功能机制逐渐成为免疫学的研究热点。本文就蛋白质糖基化修饰在机体自身免疫反应中的研究进展进行综述。

1 糖基生物功能与免疫系统

糖链及其糖基化蛋白几乎涉及机体免疫网络全部环节,大部分免疫细胞膜表面免疫相关受体都由糖蛋白构成,包括 Toll 样受体、T 细胞受体、B 细胞受体、主要组织相容性复合体(MHC) I 类/II 类分子等。糖链基团在这些受体中的功能具有多样性,例如通过基因敲除抑制 T 细胞表面复杂型 N-聚糖合成,能提高 T 细胞受体信号传导,使 T 细胞更容易被激活,能诱发系统性红斑狼疮(SLE)样疾病^[4];抗原提呈细胞 MHC II 类分子复杂型 N-聚糖缺失,会显著降低其抗原提呈功能,进而影响 T 细胞的抗原识别与活化^[5];而体内和体外实验都显示,诱导去除 Toll 样受体核心岩藻糖位点能直接影响它们的信号传导作用,损害天然免疫应答能力^[6]。

聚糖结合蛋白(GBPs)是能特异识别糖链基团的受体蛋白,又称凝集素。糖链基团与 GBPs 结合,调节免疫细胞分子间的相互作用,参与机体天然免疫和获得性免疫反应,诱导免疫应答或免疫耐受^[7]。巨噬细胞、树突状细胞等可以通过其表面 C 型凝集素受体(CLRs)识别带有甘露糖和岩藻糖的结构,如 HIV 病毒表面糖蛋白糖链基团,通过信号传导激活免疫细胞或病原体内化降解^[8]。B 细胞受体的 CD22 分子属唾液酸信号受体家族,能通过识别 α -2,6 连接唾液酸基团在 B 细胞抗原识别及细胞活化方面起着重要调控

作用,CD22 的多态性研究直接表明其遗传变异与自身免疫性疾病的易感性有关^[9]。

糖链结构能辅助机体免疫系统识别“自我”与“非我”成分。从 20 世纪 90 年代提出的病原识别相关分子模式(PAMPs)和危险识别相关分子模式(DAMPs),到近年热门的识别外源性微生物聚糖的甘露糖结合凝集素模式^[10],糖基化修饰结构是这些分子模式均有的共性。此外,唾液酸化糖链结构还作为自我识别相关分子模式(SAMPs),结合免疫细胞表面的唾液酸信号受体、CD24 等 SAMPs 识别受体,向免疫细胞传递抑制信号而调节免疫效应,唾液酸聚糖识别模式的破坏会导致自身免疫应答损害^[11]。抗原提呈细胞表面的 C 型凝集素受体也是一种重要的 SAMPs 受体,与抗原提呈细胞诱导免疫耐受,避免淋巴细胞异常活化有关^[12]。在这些研究的基础上,自身免疫性疾病的发生可能与 SAMPs 介导免疫耐受的缺失相关,IgG 分子连接糖链的改变,也许决定其 DAMPs 或 SAMPs 的角色,进而导致自身免疫反应或免疫耐受的结果。

2 糖基化修饰参与自身免疫反应调控

尽管许多研究都证实了糖基化改变对免疫系统病原模式识别存在影响,但当前对糖链结构影响机体免疫耐受、自身免疫反应及慢性炎症改变等的具体机制仍在探索阶段。在多种炎性自身免疫性疾病如 SLE、自身免疫性脑脊髓炎、多发性硬化症的研究中发现,效应 T 细胞表面的糖链结构 N-乙酰葡萄糖胺及其分支聚糖与相应凝集素受体结合,可以通过调节 T 细胞(Treg)的信号传导,抑制促炎 T 辅助细胞 Th1/Th17 分化,对 T 细胞在自身免疫性疾病的作用有直接影响。与之相反,该类 N-聚糖分支的减少会促进促炎 T 细胞分化和自身免疫应答^[13-15]。目前已知 T 细胞受体糖蛋白分子的 N-聚糖分支结构主要由 GnT5 糖基转移酶促进合成,GnT5 通过调节 N-聚糖生物合成来调节 T 细胞的发育、分化、免疫应答或耐受。动物实验发现 GnT5 缺陷小鼠易诱发自身免疫性疾病,

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81660275);广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S2017022)。

[△] 通信作者,E-mail:2721743@qq.com。

本文引用格式:王健,李晞.蛋白质糖基化修饰在自身免疫反应中的研究进展[J].检验医学与临床,2021,18(1):128-131.

如 SLE、多发性硬化症、炎性肠病及 1 型糖尿病等自身免疫性疾病^[14]。而另一项研究发现 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶靶基因的过表达,能减轻实验动物自身免疫性脑脊髓炎,提示促进 N-聚糖生物合成能抑制 T 细胞活化、增殖及 Th17 的体外分化而缓解病情^[16]。

免疫球蛋白连接不同的糖基化修饰可以显著调节其自身生物学功能,对机体免疫应答和自身免疫反应进行调控。有研究显示过敏性紫癜肾炎和 IgA 肾病血清 IgA 较链区连接 O-聚糖糖基化水平存在显著异常,表现为唾液酸基与半乳糖基明显减少,提示 IgA 糖基化修饰的异常可能与免疫复合物在肾小球基底膜堆积而引起炎症反应相关^[17]。静脉注射免疫球蛋白 IgG (IVIGs) 越来越多地用于治疗自身免疫性疾病和全身性炎症性疾病,其介导的免疫调节和抗炎作用与 IgG 分子唾液酸化密切相关,IVIGs 的抗炎效应主要由 IgG Fc 段连接的 α -2,6 唾液酸结构调控,其机制与唾液酸基诱导巨噬细胞、树突状细胞免疫耐受及巨噬细胞的抑制性 Fc 受体表达相关^[18]。

凝集素受体在调节炎症反应和自身免疫反应中也发挥重要作用。不同的凝集素受体通过识别相应糖链,能诱导树突状细胞、T 细胞或 B 细胞免疫耐受或活化,而某些自身免疫反应可能与凝集素受体识别模式相应改变有关。致脑炎肽常用于诱发小鼠自身免疫性脑脊髓炎,而甘露糖化的致脑炎肽却抑制该病的发生及缓解症状,其机制可能是甘露糖基与未成熟树突状细胞表面甘露糖受体结合诱导产生免疫耐受,对促炎细胞因子 IL-2、IL-7 及 TNF- α 的调节也很重要^[19]。经口途径以富含甘露糖基抗原肽致敏,通常表现为诱导免疫耐受,其机制与前述相符,甘露糖通过结合凝集素受体诱导黏膜固有层树突状细胞免疫耐受^[20]。Siglec-G 是 B 细胞表面的唾液酸结合凝集素家族成员之一,向 B 细胞传导抑制性信号,该信号受体敲除的小鼠能诱发 B 细胞介导的自身免疫反应,表现为自身抗体水平升高并伴有肾脏损害^[21]。

3 蛋白质糖基化修饰与 SLE

3.1 糖基化修饰与 SLE 发病机制 SLE 发病机制目前尚未明确,可能与遗传倾向、环境因素、激素水平及免疫因素等有关。近年来的研究发现蛋白质糖基化修饰的改变可能也参与 SLE 的发病机制,蛋白质异常糖基化修饰可能导致新抗原表位的产生,这些表位会激活免疫细胞,打破免疫耐受平衡,导致慢性自身免疫性疾病的产生。ALAM 等^[22]在 SLE 患者的研究中发现,组蛋白容易受到非酶糖基化的影响,引起蛋白构象改变和氧化应激的增加,体外实验也显示,该类糖化组蛋白能更好地与抗 DNA 抗体结合,提示异常糖基化修饰的组蛋白可能触发机体自身免疫反应并产生能与 DNA 交叉反应的抗糖化组蛋白抗体,这也许与 SLE 的发病机制相关。在更早的一些动物模型研究中发现,SLE 模型小鼠病变的肾脏细胞糖基

化修饰水平也发生变化,二天线和少甘露糖等简单糖链明显增高,而岩藻糖基和半乳糖基等复杂型糖链表达下降,异常的糖基化修饰如甘露糖基升高,通过 MBL 途径激活补体系统从而引起免疫损伤,提示糖基化修饰水平的改变可能参与 SLE 发病机制^[23]。

3.2 糖蛋白与 SLE 疾病活动度 SLE 疾病活动度对患者临床分期及治疗方案选择至关重要,在 SLE 研究领域一直属于热点。以往研究思路多集中于抗 DNA 抗体、抗核小体抗体、补体 C3/C4 及其他活动度评分标准。近年也有研究发现随着 SLE 疾病活动度的改变,其糖蛋白或糖基化修饰亦发生相应变化。SJOWALL 等^[24]对 15 例 SLE 患者从疾病活动期到缓解期进行了追踪研究,检测血清 IgG 糖基化水平和类型变化,发现 IgG 岩藻糖基团与 SLE 疾病活动度呈正相关,其机制可能与岩藻糖基化的 IgG 分子通过吞噬细胞表面凝集素受体诱导慢性炎症的发生有关。另外一项动物实验发现,唾液酸糖基化修饰的 IgG 自身抗体却可以减轻 SLE 模型小鼠的症状,减少狼疮肾炎的发生,研究者认为唾液酸化的抗原抗体复合物能抑制树突状细胞激活和 IL-6 的产生,下调 Th17 细胞的分化,从而减轻自身免疫性疾病的病理进展^[25]。SLE 患者肾损害程度与尿液中一些糖蛋白标记相关,单核细胞趋化因子 1 (MCP1) 和 α 1 酸性糖蛋白 (AGP) 在 SLE 肾炎活动期较缓解期明显增高,提示该类糖蛋白可作为预测狼疮肾病进展的生物学标记^[26]。

3.3 SLE 治疗与糖改变 SLE 治疗策略目前仍以糖皮质激素和免疫抑制剂为主,而治疗过程中相关糖蛋白靶点和糖基化修饰也逐渐进入了研究范围。P 糖蛋白 (P-gp) 是一类细胞表面跨膜转运蛋白,其糖链结构属于 N-聚糖,P-gp 能将多种细胞内药物,包括糖皮质激素和免疫抑制药物等,转运至细胞外,P-gp 的过表达或功能亢进被认为与 SLE 耐药性有关^[27]。有研究显示 SLE 活动期表达 P-gp 较正常显著增高,其表达水平及活性与 SLE 预后相关,P-gp 抑制剂可以逆转耐药和改善疾病转归,为难治型 SLE 提供新的治疗策略^[28]。内切糖苷酶 S (EndoS) 是一类糖苷水解酶,可以水解 IgG 重链区连接的 N-聚糖结构,干扰 IgG 自身抗体介导的促炎过程,缓解自身免疫模型疾病活动^[29]。体外研究显示,其机制可能是 EndoS 水解免疫复合物 (ICs) Ig 分子连接的部分糖链,ICs 分子大小和糖基化修饰的改变减轻其本身致炎特性,如 Fc 受体介导的免疫吞噬、 α -干扰素的产生、补体激活及趋化作用等^[30]。探讨与 SLE 治疗相关的糖蛋白或糖基化改变,可以为 SLE 精准治疗提供研究基础。

4 小结

随着糖组学和糖蛋白组学研究领域的不断深入,分析技术如亲和层析、凝集素芯片、色谱技术及质谱技术等日渐完善,越来越多的研究者认识到,与蛋白

质、脂类及核酸一样,糖类对机体的生物学作用同样有不可或缺的意义。尤以糖类在免疫系统及自身免疫应答中具有多方面、多环节的重要影响为主,其通过免疫识别调节机体对病原微生物侵袭的防御,通过免疫调控对自身炎症反应、免疫应答及肿瘤的发生与转移的影响,不同的凝集素受体家族通过识别特异的糖类配体而发挥多样性的免疫调节功能等,都逐渐成为当前糖组学和糖蛋白组学研究的热点。通过对糖基及其复合物在自身免疫性疾病中的表象、功能及机制的深入研究,可以为探讨自身免疫性疾病的发病机制,以及作为分子靶标研发新的治疗药物和精准治疗策略提供坚实的理论基础。

参考文献

- [1] KRISTIC J, LAUC G. Ubiquitous importance of protein glycosylation[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1503: 1-12.
- [2] ZHOU J Y, OSWALD D M, OLIVA K D, et al. The glycoscience of immunity[J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(7): 523-535.
- [3] RODRIGUES J G, BALMANA M, MACEDO J A, et al. Glycosylation in cancer: selected roles in tumour progression, immune modulation and metastasis[J]. *Cell Immunol*, 2018, 333: 46-57.
- [4] SZABO E, HORNING A, MONOSTORI E, et al. Altered cell surface n-glycosylation of resting and activated t cells in systemic lupus erythematosus[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4455-4459.
- [5] JONES M B, RYAN S O, JOHNSON J L, et al. Dendritic cell-specific MgAt₂ knockout mice show antigen presentation defects but reveal an unexpected CD11c expression pattern[J]. *Glycobiology*, 2016, 26(9): 1007-1013.
- [6] NAKAYAMA K, WAKAMATSU K, FUJII H, et al. Core fucose is essential glycosylation for CD14-dependent Toll-like receptor 4 and Toll-like receptor 2 signalling in macrophages[J]. *J Biochem*, 2019, 165(3): 227-237.
- [7] FARHADI S, HUDALLA G A. Engineering galectin-glycan interactions for immunotherapy and immunomodulation[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2016, 241(10): 1074-1083.
- [8] BERMEJO-JAMBRINA M, EDER J, HELGERS L C, et al. C-type lectin receptors in antiviral immunity and viral escape[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 590-595.
- [9] CLARK E A, GILTIAIY N V. CD22: a regulator of innate and adaptive B cell responses and autoimmunity[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2235-2239.
- [10] GARRED P, GENSTER N, PILELY K, et al. A journey through the lectin pathway of complement-MBL and beyond[J]. *Immunol Rev*, 2016, 274(1): 74-97.
- [11] LAUBLI H, VARKI A. Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins (Siglecs) detect self-associated molecular patterns to regulate immune responses[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(4): 593-605.
- [12] LAKHTIN M V, LAKHTIN V M, CSS C A, et al. Lectins and glycoconjugates in presentation of antigens and protection against pathogens[J]. *Klin Lab Diagn*, 2018, 63(10): 619-625.
- [13] SU L E, LI C F, MORTALES C L, et al. Increasing cell permeability of N-acetylglucosamine via 6-acetylation enhances capacity to suppress T-helper 1 (TH1)/TH17 responses and autoimmunity[J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): 0214253.
- [14] CHIEN M W, FU S H, HSU C Y, et al. The modulatory roles of N-glycans in T-cell-mediated autoimmune diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3): 780-784.
- [15] ARAUJO L, KHIM P, MKHIKIAN H, et al. Glycolysis and glutaminolysis cooperatively control T cell function by limiting metabolite supply to N-glycosylation [J]. *Elife*, 2017, 6: e21330.
- [16] LIU R, MA X, CHEN L, et al. MicroRNA-15b suppresses Th17 differentiation and is associated with pathogenesis of multiple sclerosis by targeting O-GlcNAc transferase[J]. *J Immunol*, 2017, 198(7): 2626-2639.
- [17] NAKAZAWA S, IMAMURA R, KAWAMURA M, et al. Evaluation of IgA1 O-glycosylation in henoch-schönlein purpura nephritis using mass spectrometry [J]. *Transplant Proc*, 2019, 51(5): 1481-1487.
- [18] GALEOTTI C, KAVERI S V, BAYRY J. IVIG-mediated effector functions in autoimmune and inflammatory diseases[J]. *Int Immunol*, 2017, 29(11): 491-498.
- [19] LOMAKIN Y, BELOGUROV A J, GLAGOLEVA I, et al. Administration of myelin basic protein peptides encapsulated in mannoseylated liposomes normalizes level of serum TNF-alpha and IL-2 and chemoattractants CCL2 and CCL4 in multiple sclerosis patients [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 2847232.
- [20] ZHOU Y, KAWASAKI H, HSU S C, et al. Oral tolerance to food-induced systemic anaphylaxis mediated by the C-type lectin SIGNR1[J]. *Nat Med*, 2010, 16(10): 1128-1133.
- [21] MULLER J, LUNZ B, SCHWAB I, et al. Siglec-G deficiency leads to autoimmunity in aging C57BL/6 mice[J]. *J Immunol*, 2015, 195(1): 51-60.
- [22] ALAM S, ARIF Z, ALAM K. Glycated-H2A histone is better bound by serum anti-DNA autoantibodies in SLE patients: glycated-histones as likely trigger for SLE? [J]. *Autoimmunity*, 2015, 48(1): 19-28.
- [23] HASHII N, KAWASAKI N, ITOH S, et al. Alteration of N-glycosylation in the kidney in a mouse model of systemic lupus erythematosus: relative quantification of N-glycans using an isotope-tagging method[J]. *Immunology*, 2009, 126(3): 336-345.
- [24] SJOWALL C, ZAPF J, LOHNEYSEN S V, et al. Altered glycosylation of complexed native IgG molecules is associated with disease activity of systemic lupus erythematosus[J]. *Lupus*, 2015, 24(6): 569-581.
- [25] BARTSCH Y C, RAHMÖLLER J, MERTES M M, et al.

al. Sialylated autoantigen-reactive IgG antibodies attenuate disease development in autoimmune mouse models of lupus nephritis and rheumatoid arthritis[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1183-1186.

- [26] SMITH E M, JORGENSEN A L, MIDGLEY A, et al. International validation of a urinary biomarker panel for identification of active lupus nephritis in children[J]. Pediatr Nephrol, 2017, 32(2): 283-295.
- [27] GAO H, WANG Q, YU X, et al. Molecular mechanisms of glucocorticoid resistance in systemic lupus erythematosus: a review[J]. Life Sci, 2018, 209: 383-387.
- [28] KANSAL A, TRIPATHI D, RAI M K, et al. Persistent expression and function of P-glycoprotein on peripheral

blood lymphocytes identifies corticosteroid resistance in patients with systemic lupus erythematosus [J]. Clin Rheumatol, 2016, 35(2): 341-349.

- [29] SJOGREN J, LOOD R, NAGELI A. On enzymatic remodeling of IgG glycosylation; unique tools with broad applications[J]. Glycobiology, 2020, 30(4): 254-267.
- [30] LOOD C, ALLHORN M, LOOD R, et al. IgG glycan hydrolysis by endoglycosidase S diminishes the proinflammatory properties of immune complexes from patients with systemic lupus erythematosus: a possible new treatment? [J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(8): 2698-2706.

(收稿日期: 2020-04-15 修回日期: 2020-09-29)

• 综述 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2021.01.041

新型冠状病毒的流行现状与研究进展

陈运春¹, 柯海霞¹, 邱聪颖¹, 黄燕¹, 蒙夏玲¹综述, 胡建东^{2△}审校
海南省海口市中医医院: 1. 检验科; 2. 内科, 海南海口 570216

关键词: 新型冠状病毒; 新型冠状病毒肺炎; 流行病学

中图分类号: R512.99

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)01-0131-04

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)引起的新型冠状病毒肺炎(COVID-19)对整个世界乃至人类健康体系造成了巨大影响, 目前对 SARS-CoV-2 甚至冠状病毒的了解还不够充分。

1 流行病学

冠状病毒是一类包膜 RNA 病毒, 冠状病毒的系统分类为冠状病毒科, 属于冠状病毒属。由于冠状病毒有广泛宿主特征, 以及其自身的复杂基因组进化结构, 在生物进化的过程中很容易发生重组和遗传变异, 呈现出生物遗传上的多样性。新亚型和新的冠状病毒不断结合存在, 使该冠状病毒至少能够同时发生一种跨越亲属型的感染, 预防和早期治疗困难较大^[1]。

冠状病毒在各地甚至世界上的感染极为普遍, 通过飞沫传播, 有明显的季节性, 冬季是其感染的高峰期^[2]。已知的冠状病毒共有 6 类, 其中 4 种人冠状病毒(HCoV-229E、HCoV-OC43、HCoV-NL63、HCoV-HKU1)通过感染上呼吸道细胞而导致感冒。严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)导致致命性肺炎是因病毒感染呼吸道纤毛上皮细胞, 病死率大约为 10%; 中东呼吸系统综合征病毒(MERS-CoV)引起病毒性肺炎是因冠状病毒直接感染肺不带纤毛的细胞, 病死率一般为 30% 左右。

SARS-CoV-2 通过感染下呼吸道导致 COVID-19, 传染源主要是患者, 无感染症状的人也可能是传

染源, 消化道等^[3-5]传播方式尚不清楚, 人群的易感性较高。目前公认的传播途径主要是飞沫传播以及密切接触, 其他传播方法及其条件还没有直接的证据来支持其传播性^[5]。从疾病传播性的角度看, 早期发热患者一般体温不高或正常, 轻症发热患者感染病例较多, 传染性明显增大, 对行走传染源的防控难度大大提高。QIU^[6]研究表明 30%~60% 的 COVID-19 患者无症状或仅有轻微的症状, 但其传染病毒的能力并不低, 这些隐性感染者也很有可能直接引发新一轮的疫情。

2 临床表现与症状

不能忽视 SARS-CoV-2 在患者体内越来越长的潜伏期, 可能在无症状的情况下, 存于患者身体内数周或者更长时间^[7]。有研究报道潜伏期为 21~24 d^[8-10]。病毒传播性与 SARS 相近, 毒性比 SARS 轻。无症状者、轻症者、重症者都有传播性, 特别无症状者难以防控。

COVID-19 患者主要症状: 全身发热、乏力、咳嗽。少数患者症状表现为鼻塞、流涕、咽痛及严重腹泻。轻症患者临床仅表现为低热、无力等症状, 无急性肺炎表现, 老年患者及患有慢性基础病的患者预后差。感染 SARS-CoV-2 可能会导致轻、中、重型呼吸疾病, 主要包括严重感染性肺炎、急性呼吸窘迫综合征、脓毒性出血和感染性休克等。部分 COVID-19 患者早期发病并不凶险, 但后期又突然加速, 患者迅速进入

△ 通信作者, E-mail: hamlethu@163.com。

本文引用格式: 陈运春, 柯海霞, 邱聪颖, 等. 新型冠状病毒的流行现状与研究进展[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(1): 131-133.