

调理素的研究进展

刘娜^{1,2}, 刘治^{1,2}, 刘玲^{1,2}, 周鹿蕾^{1,2}, 韩润林^{1,2*}

(1. 血浆脂蛋白免疫学研究中心, 内蒙古农业大学, 呼和浩特 010018;

2. 农业部动物疾病临床诊疗技术重点实验室, 内蒙古农业大学, 呼和浩特 010018)

[收稿日期] 2016-04-19 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2016) 07-0062-04 [中图分类号] S853.2

[摘要] 简述了补体、抗体、C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白、甘露糖凝集素、表面活性蛋白、纤粘蛋白等七类调理素的研究, 报道了新发现的调理素低密度脂蛋白和高密度脂蛋白, 并对抗感染免疫学研究的新视角进行了展望。

[关键词] 脂蛋白; 调理; 吞噬

Research Advances in Oponins

LIU Na^{1,2}, LIU Zhi^{1,2}, LIU Ling^{1,2}, ZHOU Lu-lei^{1,2}, HAN Run-lin^{1,2*}

(1. Research Center of Plasma Lipoprotein Immunology, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China;

2. Key Laboratory of Animal Clinic Diagnosis and Treatment, Ministry of Agriculture of China,

Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

Abstract: In this paper, we provide an overview of the seven major opsonins, including complement (C3b, C4b, and iC3b), antibody, C-reactive protein, serum amyloid, mannose-binding lectin, surfactant protein and fibronectin, as well as the opsonic function of low-density lipoprotein and high-density lipoprotein. The prospects for the new concept of immune response are also mentioned.

Key words: lipoprotein; opsonin; phagocytosis

调理素(opsonin)是机体内促进吞噬作用的物质总称。吞噬细胞通过特定受体识别、结合并吞噬(phagocytosis)靶细胞,以抵抗病原微生物感染、维持内环境稳态^[1-2]。体液中的细胞和细菌因带负电荷而互斥,而调理吞噬可促进病原体的清除。调理素不仅介导吞噬作用,也可协调细胞相关炎症信号转导、配体递呈及受体分布,参与机体炎症反应与抗炎平衡的维持^[3-4]。

现在已明确的调理素有补体(C3b、C4b以及

iC3b)、抗体(IgG和IgM)、C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白、甘露糖凝集素、表面活性蛋白、纤粘蛋白等七类物质。最近研究发现,低密度脂蛋白(或高密度脂蛋白)可作为调理素促进单核细胞对A群链球菌的吞噬^[5-6]。

1 补体及抗体

1.1 补体 Alferd等^[7]通过绵羊红细胞吞噬实验发现C3补体具有调理作用;Alper等^[8]发现C3补体是机体免疫防御体系的重要组成部分,先天性缺陷

作者简介: 刘娜, 硕士, 从事脂蛋白免疫学方面研究。

通讯作者: 韩润林。E-mail: han-runlin@163.com

患者的血清对某些病原微生物无调理作用。

补体在体内以非活性形式存在。C3 补体激活后产生的 C3b、C4b 及 iC3b 等片段都可与病原微生物结合,通过吞噬细胞上的补体受体(complement receptor, CR)介导吞噬作用。该吞噬作用依赖于完整的细胞微管结构及膜转运过程,通常不产生炎症介质^[2,9-10]。

目前已发现与调理作用相关的补体受体有 CR1、CR3、CR4、CRIg。CR1 (CD35) 是 C3b、C4b 的受体,能介导已活化的巨噬细胞的吞噬作用。CR3 (Mac - 1, 由 CD11b 和 CD18 组成) 为 iC3b 受体,可促进吞噬摄取。免疫球蛋白超家族补体受体(complement receptor of the immunoglobulin superfamily, CRIg) 可与 C3b、iC3b 结合,促进黏附及吞噬^[2,9-10]。

此外,Zaragoza 等^[11]发现补体对新型隐球菌调理作用效率因不同菌株而不同,在高调理性菌株中 C3 结合的位点离荚膜较近。

1.2 抗体 抗体作为获得性免疫系统的主要蛋白质,是称为免疫球蛋白(immunoglobulins, Ig)的糖蛋白。体内含量最高的免疫球蛋白 IgG,与细菌表面结合后可发挥调理作用;而初次免疫应答产生的主要免疫球蛋白 IgM 的调理效率更高^[3]。抗体与细菌结合后,Fc 区的活性位点暴露并与细胞表面 Fc 受体(Fc receptor, FcR)结合,细胞伸出伪足而发生吞噬作用,并伴随促炎介质的产生^[1,10]。

补体受体、Fc 受体在调理吞噬中有协同作用。如,与被调理粒子结合的 IgG 水平未达阈值时,该粒子不能被吞噬;但若这些粒子也结合了补体时,则可发生吞噬。另外,巨噬细胞表面 C3b 受体的亲和力,比 Fc 受体要高^[11-13]。

2 急性期蛋白

急性期蛋白(acute - phase protein)中的 C - 反应蛋白(C - reactive protein, CRP)、血清淀粉样蛋白(serum amyloid, SA)可与 IgG 的 Fc 受体结合,介导吞噬作用。发生炎症反应时,体内 CRP 或 SAA 水平可增加 10 至 1000 倍^[4,14-15]。

2.1 C - 反应蛋白 C - 反应蛋白是灵长类、家兔、仓鼠和犬的主要急性期蛋白,能与细胞膜以及细菌、真菌的磷脂酰胆碱结合。CRP 已被证实有调理

作用,如 Szalai 等^[16-17]利用转人 CRP 基因(human CRP transgenic, *hCRPtg*)的小鼠研究了 CRP 的调理素特性:*hCRPtg* 小鼠感染肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*, *S. pneumoniae*)后细菌清除率更高,小鼠存活率增加且存活时间延长;CRP 也可保护小鼠免受鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*, *S. typhimurium*)强毒株感染,使小鼠早期血液清除率增加,肝脏、脾脏内细菌数量下降。

2.2 血清淀粉样蛋白 血清淀粉样蛋白是牛、猫、马等动物的主要急性期蛋白,如犬患细菌性疾病时体内 SA 浓度可升高 20 倍。Shah 等^[18]发现 SA 可促进细胞对大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)的吞噬,也可激活补体。

3 胶原凝集素及纤粘蛋白

哺乳动物的吞噬细胞表达多种表面凝集素,以检测自身及外来碳水化合物。甘露糖凝集素(mannose - binding lectin, MBL)、表面活性蛋白(surfactant protein, SP)等胶原凝集素(collectin)可与胶凝素受体(即 C1q 受体)结合,促进单核细胞或肺内皮细胞的吞噬功能。单个胶原凝集素与碳水化合物的结合较弱,但其低聚物有多个结合位点,因而可产生较强的功能活性。

3.1 甘露糖凝集素 甘露糖凝集素是先天性免疫系统最重要的外源凝集素,主要作为血清蛋白而循环。它可直接发挥调理作用,也可通过激活补体系统来促进吞噬作用。MBL 能与细菌、霉菌、寄生虫、病毒等结合,促进吞噬摄取^[1,4]。研究表明,MBL 缺失小鼠经由尾静脉接种葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)48 h 后,实验组小鼠全部死亡,对照组死亡率仅为 45%。幼龄动物由于获得性免疫系统尚不能产生有效的免疫应答,因而体内凝集素的作用更为重要^[19]。1968 年,Miller 等^[20-22]发现了一例儿童反复腹泻患者细胞吞噬能力不足、身体发育迟缓,但到 1998 年研究者才确定这些症状与患者体内 MBL 水平低下有关。

3.2 表面活性蛋白 表面活性蛋白是一种脂蛋白复合物,可降低肺表面张力而使呼吸流畅。SP 可增强肺泡巨噬细胞的吞噬作用,是肺脏免疫防御的

关键物质。SP对大多数肺部的细菌和病毒有强的调理作用,且主要通过以下三种机制来实现:一是与病原表面结合,直接发挥调理作用;二是作为活化配体,促进细胞对IgG等其他调理素介导粒子的吞噬;三是促使细胞表面与微生物识别有关的受体(如甘露糖受体)的表达增加^[23,24]。

3.3 纤粘蛋白 纤粘蛋白(fibronectin, FN)也称纤维结合蛋白,是广泛存在于细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)、血浆及其他体液中的糖蛋白。FN主要负责细胞粘连,也可与外来粒子结合、发挥调理作用。如,Eriksen等^[25]选用人多形核白细胞以及几种金黄色葡萄球菌菌株进行研究,发现FN可显著促进细胞对菌的吞噬,且这种FN介导的吞噬作用具有浓度依赖性。Toshiaki等^[26]通过大鼠肺泡巨噬细胞吞噬实验、人工感染金黄色葡萄球菌的实验大鼠体内实验,发现FN的调理作用对肺泡巨噬细胞发挥吞噬作用是不可替代的,并提出也可利用FN的调理作用来研究临床肺炎患者的治疗方案。

4 低密度脂蛋白及高密度脂蛋白

血浆脂蛋白(plasma lipoprotein, PLP)是由脂质和载脂蛋白(apolipoprotein, apo)结合形成的,根据密度不同可分为乳糜微粒、极低密度脂蛋白、中间密度脂蛋白、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)和高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)。LDL的功能主要是向外周组织转运胆固醇,主要载脂蛋白为apo B-100。HDL的基本功能是将胆固醇从外周组织转运到肝脏代谢,主要载脂蛋白是apo A-1^[27]。

感染和炎症往往引起LDL氧化得到氧化LDL(oxidized low density lipoprotein, oxLDL)^[23]。B类清道夫受体CD36(class B scavenger receptor CD36)是巨噬细胞表面主要的LDL受体,并可介导细胞摄取HDL。oxLDL可上调CD36的表达,HDL则通过降低过氧化体增生物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR γ)的活性来降低CD36的表达。研究发现,HDL、LDL尤其是oxLDL在抵抗细菌、病毒及寄生虫感染中发挥重要作用^[5,28,29]。

4.1 HDL、LDL可与A群链球菌结合 A群链球

菌(group A *Streptococcus*, GAS)又称化脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*, *S. pyogenes*),可引起人的多种疾病,也可引起牛乳腺炎。链球菌可存活于多形核白细胞(polymorphonuclear neutrophil granulocytes, PMNs)中,且有多种机制逃避宿主的吞噬作用^[30]。I型胶原样蛋白(streptococcal collagen-like protein 1, Scl1)是GAS表面的一种毒力因子,Han等发现rScl1可与LDL的apo B-100特异性结合,Gao等^[31,32]发现rScl1可与人血浆HDL发生疏水性结合。

4.2 LDL、HDL可介导单核细胞吞噬GAS 单核细胞结合血管内皮细胞并穿过血管壁而进入组织、分化为巨噬细胞。巨噬细胞表面有多种清道夫受体;单核细胞则只有I型、II型及CD36等B族清道夫受体,且分化为巨噬细胞后CD36的表达量增加^[33]。

Zhou和Liu等^[5-6]选用U937人单核肿瘤细胞(human U937 monocyte-like cells, U937)进行体外吞噬实验发现:(1)LDL可促进健康人血液吞噬GAS,GAS被U937吞噬1h后全部死亡;(2)LDL(或HDL)与GAS特异性结合后可发挥调理作用,LDL的调理作用最强,HDL次之,而VLDL无调理作用;(3)GAS主要通过Scl1与LDL(或HDL)结合;LDL(或HDL)通过单核细胞CD36受体介导吞噬作用,且CD36与LDL-GAS(或HDL-GAS)复合物有很强的亲和力;(4)不同浓度的LDL(或HDL),调理作用无显著差异。

5 展望

人类生活环境不断变化,主要病原微生物种类也在不断变化;同时,调理素的相关研究也在不断推进。如最近李兆杰等^[3]通过体外吞噬实验推测鱼类卵黄蛋白原(Vitellogenin, Vg)具有调理作用,刘敏等^[34]则证明鱼类Vg的调理作用没有种属特异性,且其诱导的吞噬作用属于I型调理吞噬作用。LDL可介导单核(巨噬)细胞吞噬病原微生物,而oxLDL则可上调CD36受体的表达导致胆固醇大量流入细胞内,形成泡沫细胞,加快动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)^[28,35]。因此,脂蛋白调理作用的研究可能给机体抗感染免疫与动脉粥样硬化

两方面的研究带来新的视角。GAS 主要为人的致病菌, Apo B-100 是人体必需蛋白质, 因此现有的研究局限于体外实验及体外系统^[6]。LDL (或 HDL) 是否能促进细胞吞噬其他病原菌, 仍有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] Tizard I R. 兽医免疫学 [M]. 北京: 中国农业出版社. 2012.
- [2] Campagne M V, Wiesmann C, Brown E J. Macrophage complement receptors and pathogen clearance [J]. *Cell Microbiol*, 2007; 2095-2102.
- [3] Li Z J, Zhang S C, Liu Q H. Vitellogenin Functions as a Multivalent Pattern Recognition Receptor with an Opsonic Activity [J]. *Plos One*, 2008; 1-7.
- [4] Ip W K E, Takahashi K, Ezekowitz R A, *et al.* Mannose-binding lectin and innate immunity [J]. *Immunol Rev*, 2009; 9-21.
- [5] Liu L, Zhou L, Li Y, *et al.* High-density lipoprotein acts as an opsonin to enhance phagocytosis of group A streptococcus by U937 cells [J]. *Microbiol Immunol*, 2015; 419-425.
- [6] Zhou L, Liu L, Yang J, *et al.* LDL acts as an opsonin enhancing the phagocytosis of group A Streptococcus by monocyte and whole human blood [J]. *Medical Microbiology and Immunology*, 2016; 155-162.
- [7] Ehlenberger A G, Nussenzweig V. The role of membrane receptors for C3b and C3d in phagocytosis [J]. *The Journal of experimental medicine*, 1977; 357-371.
- [8] Alper C A, Colten H R, Rosen F S, *et al.* Homozygous deficiency of C3 in a patient with repeated infections [J]. *Lancet (London, England)*, 1972; 1179-1181.
- [9] Park J B. Phagocytosis induces superoxide formation and apoptosis in macrophages [J]. *Exp Mol Med*, 2003; 325-335.
- [10] Underhill D M, Ozinsky A. Phagocytosis of microbes; Complexity in action [J]. *Annu Rev Immunol*, 2002, Vol. 20; 825-852.
- [11] Zaragoza O, Taborda C P, Casadevall A. The efficacy of complement-mediated phagocytosis of *Cryptococcus neoformans* is dependent on the location of C3 in the polysaccharide capsule and involves both direct and indirect C3-mediated interactions [J]. *Eur J Immunol*, 2003; 1957-1967.
- [12] 朱云凤. 单核-巨噬细胞表面的 C3b 受体 [J]. *国外医学 (免疫学分册)*, 1984; 120-124.
- [13] Netski D, Kozel T R. Fc-dependent and Fc-independent opsonization of *Cryptococcus neoformans* by anticapsular monoclonal antibodies; Importance of epitope specificity [J]. *Infection and Immunity*, 2002, 70(6): 2812-2819.
- [14] Du Clos T W. Pentraxins: structure, function, and role in inflammation [J]. *ISRN inflammation*, 2013; 1-22.
- [15] Mold C, Gresham H D, Du Clos T W. Serum amyloid P component and C-reactive protein mediate phagocytosis through murine Fc gamma Rs [J]. *Journal of immunology (Baltimore, Md; 1950)*, 2001, Vol. 166(2): 1200-1205.
- [16] Poon I K H, Hulett M D, Parish C R. Molecular mechanisms of late apoptotic/necrotic cell clearance [J]. *Cell Death Differ*, 2010; 381-397.
- [17] Szalai A J, Briles D E, Volanakis J E. Human C-reactive protein is protective against fatal *Streptococcus pneumoniae* infection in transgenic mice [J]. *Journal of immunology (Baltimore, Md; 1950)*, 1995; 2557-2563.
- [18] Shah C, Hari-Dass R, Raynes J G. Serum amyloid A is an innate immune opsonin for Gram-negative bacteria [J]. *Blood*, 2006; 1751-1757.
- [19] Stuart L M, Ezekowitz R A B. Phagocytosis; Elegant complexity [J]. *Immunity*, 2005, Vol. 22(5): 539-550.
- [20] Shi L, Takahashi K, Dundee J, *et al.* Mannose-binding lectin-deficient mice are susceptible to infection with *Staphylococcus aureus* [J]. *J Exp Med*, 2004; 1379-1390.
- [21] Lucena S, Salazar A M, Gil A, *et al.* The action of Lonomin V (Lonomia achelous) on fibronectin functional properties [J]. *Thrombosis Research*, 2008; 653-661.
- [22] Super M, Thiel S, Lu J, *et al.* Association of low levels of mannann-binding protein with a common defect of opsonisation [J]. *Lancet (London, England)*, 1989; 1236-1239.
- [23] Sano H, Kuroki Y. The lung collectins, SP-A and SP-D, modulate pulmonary innate immunity [J]. *Molecular Immunology*, 2005, Vol. 42(3): 279-287.
- [24] Wright J R. Immunoregulatory functions of surfactant proteins [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2005; 58-68.
- [25] Eriksen H O, Espersen F, Clemmensen I. Opsonic activity of fibronectin in the phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by polymorphonuclear leukocytes [J]. *European journal of clinical microbiology*, 1984; 108-112.
- [26] Yoshida T. Efficacy of fibronectin on opsonic activity by alveolar macrophage and experimental rat pneumonia [J]. *Kansenshogaku zasshi The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases*, 1993; 574-583.
- [27] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学 [M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2012.
- [28] Han R L. Plasma lipoproteins are important components of the immune system [J]. *Microbiol Immunol*, 2010; 246-253.
- [29] Kaji H. High-density lipoproteins and the immune system [J]. *Journal of lipids*, 2013; 684903-684909.
- [30] Medina E, Goldmann O, Toppel A W, *et al.* Survival of *Streptococcus pyogenes* within host phagocytic cells; A pathogenic mechanism for persistence and systemic invasion [J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2003; 597-603.
- [31] Han R, Caswell C C, Lukomska E, *et al.* Binding of the low-density lipoprotein by streptococcal collagen-like protein ScII of *Streptococcus pyogenes* [J]. *Molecular Microbiology*, 2006; 351-367.
- [32] Gao Y, Liang C, Zhao R, *et al.* The ScII of M41-type group A *Streptococcus* binds the high-density lipoprotein [J]. *Fems Microbiology Letters*, 2010; 55-61.
- [33] Febbraio M, Podrez E A, Smith J D, *et al.* Targeted disruption of the class B scavenger receptor CD36 protects against atherosclerotic lesion development in mice [J]. *The Journal of clinical investigation*, 2000; 1049-1056.
- [34] 刘敏. 鱼类卵黄蛋白原调理作用的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- [35] 陈莉娜, 戴亚蕾. 清道夫受体与动脉粥样硬化 [J]. *同济大学学报(医学版)*, 2007; 96-108.