

甘露糖受体的结构特征和免疫功能

张小磊 赵鲁杭*

(浙江大学医学院生物化学与遗传学系, 杭州 310058)

摘要 甘露糖受体可以通过其胞外 3 个结合区域使组分内化。它可以介导糖蛋白递呈和蛋白糖基化。甘露糖在维持内环境稳定方面发挥作用, 同时还有识别病原体和抗原递呈功能。

关键词 甘露糖受体; 模式识别受体; 内环境稳定; 抗原递呈; 抗原识别

甘露糖受体(MR)最早是在 20 世纪 70 年代发现的, 当时人们认为它的作用是清除内源性糖蛋白, 由于其可识别末端为甘露糖、海藻糖和 N-乙酰葡萄糖胺的糖链^[1], 所以人们称它为甘露糖受体。自从 MR 首次报道以来, 人们对它的结构和功能的研究一直持续不断, 现在人们发现它可以识别暴露在病原体表面的甘露糖残基, 内化甘露糖基化抗原, 从而增强抗原递呈作用。以下我们将对此作详细论述。

1 结构特征

MR 的相对分子质量约为 175 kDa, 属于 I 型跨膜蛋白受体, 它是甘露糖受体家族中第一个发现的, 这类受体结构特征相似, 从 N 端到 C 端依次为: 胞外富含半胱氨酸区域(CR)、II 型纤维连接蛋白区域(FN II)、C 型凝集素样区域(CTLD)、跨膜区域和胞质内尾巴结构 5 个结构域。MR 家族共有 4 个成员: MR、磷脂酶 A₂ 受体(PLA₂R)、Endo180 和 DEC205 (CD205)。

MR、PLA₂R 和 Endo180 受体含有 8 个 CTLD, 而 DEC205 含有 10 个 CTLD。序列分析和糖结合研究显示只有 MR 和 Endo180 含有糖识别结构域, MR 结合糖的结构域是 CTLD4 和 CTLD5, 而 Endo180 是 CTLD1 和 CTLD2。MR 的 CR 结构域也可识别硫酸化糖。序列分析显示 DEC205、Endo180 和 PLA₂R 缺少糖结合所需的氨基酸, 预测这些受体的 CR 结构域不具有这个功能。

在无钙离子的水环境中, MR 是一个单聚链状不对称分子。钙离子可以引起沉降系数的改变从而形成聚集体。蛋白质水解实验显示, CTLD1 和 CTLD2, CTLD4 和 CTLD5, CTLD7 和 CTLD8 紧密连接, 而将 CTLD3 和 CTLD6 与其相邻的结构域疏远开来^[2], 这种结构特征使得受体具有配体结合特性。West 等发

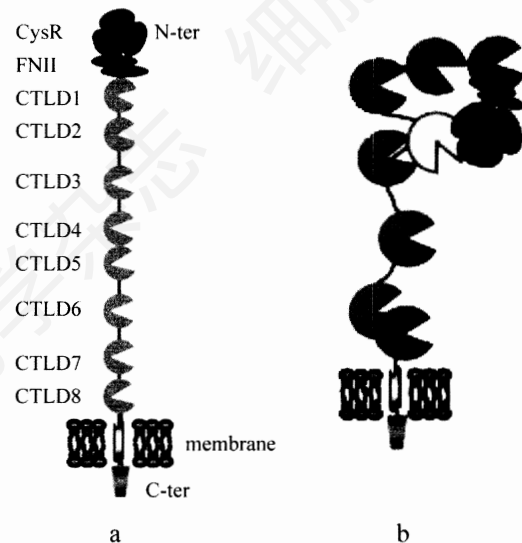


图 1 甘露糖受体的两种结构^[4]

现^[3], MR 家族成员与鸡卵黄 IgY 受体具有相似的结构特征, 见图 1a, 推测 MR 与 IgY 受体具有相似的配体结合功能。在低 pH 环境下, IgY 受体可以结合 IgY, 而在中性 pH 环境中, IgY 则与受体结合位点分离。Boskovic 等^[4]进一步研究发现, 在低 pH 环境下, MR 的构象发生改变, 如图 1b 中所示, CTLD4 与 CR 结构域紧密连接, 形成袋状结构, 从而便于 MR 与配体结合。

1.1 CR 结构域

MR 的 CR 结构域是具有凝集素活性的区域, 它可以结合 SO₄-4-N-乙酰半乳糖胺, SO₄-3-N-乙酰半乳糖胺和 SO₄-3-半乳糖, 因此它可以结合由腺垂体分泌的糖蛋白类激素, 如促黄体生成素, 硫酸软骨素 A 和 B, 硫酸化 Lewis^a 和 Lewis^x 血型寡糖。CR 结构域折叠呈 β-三叶草型结构, 配体结合部位位于第三片叶子

收稿日期: 2007-03-19 接受日期: 2007-06-01

* 通讯作者。Tel/Fax: 0571-88208237, E-mail: zhaoluhang@263.net

的中间袋装结构。结构域内有一个色氨酸 117 残基,它可以与配体的半乳糖环状结构交错结合,在与配体的结合过程中起重要作用。

1.2 FNII 结构域

FNII 结构域是甘露糖受体家族中最保守的一个结构域,有 44%~63% 的氨基酸序列具有同源性。目前推测 FNII 结构域主要功能为结合胶原蛋白。PLA₂R FNII 结构域可以结合 I 和 IV 型胶原蛋白,Endo180 的 FNII 结构域具有结合 V、I 和 IV 型胶原蛋白的能力,但是 MR 的 FNII 结构域却不具备这个功能。其结合的具体分子机制尚不清楚。

1.3 CTLD

CTLD 又称为 C 型糖类识别区域,它与 CR 结构域一样,具有糖结合特性,介导甘露糖受体结合以甘露糖、海藻糖和 N-乙酰葡萄糖胺为末端的糖类。但是不同的是 CR 结构域与糖结合不依赖钙离子,而 CTLD 对糖类的识别依赖于钙离子。虽然 CTLD4 单独可以结合单糖,但是作为整个受体结合配体需要 CTLD4、CTLD5、CTLD6、CTLD7 和 CTLD8 的参与,CTLD4、CTLD5、CTLD6、CTLD7 和 CTLD8 与天然糖蛋白配体的结合亲和力接近于完整的 MR。对 CTLD4 的研究^[5]发现,CTLD4 结合糖需要 2 个 Ca²⁺ 参与。一个 Ca²⁺ 位于一个保守的结合位点上,直接与糖作用。另外一个 Ca²⁺ 则存在于 CTLD4 特有的环状结构上,推测这个环可能是作为 pH 感受器介导 Ca²⁺ 在胞浆的释放。胞浆内 Ca²⁺ 的释放可以使糖配体与受体分离。

1.4 胞浆尾巴

MR 最初在内质网内合成时无活性,自高尔基体分泌后才成为具有生物活性的分子。MR 在胞内的靶向运输由胞质尾巴的一个酪氨酸模体介导,该模体与在低密度脂蛋白(LDL)受体中发现的模体结构相似。MR 从早期内涵体中的再循环是双芳香模体介导的,这个模体由内吞模体上的酪氨酸和一个相邻的苯基丙氨酸组成。而当胞吞小室 pH 值降低的时候,MR 与配体分离,重新回到细胞质膜上。

2 组织分布及调控

MR 最早发现于肝枯否细胞,后来发现在小鼠组织细胞内广泛分布。在血管周围小胶质细胞,固有层和真皮层巨噬细胞,腹膜巨噬细胞,肺泡巨噬细胞上都可检测到 MR 的表达。在淋巴组织脾红髓,淋巴结副皮质和胸腺皮质的巨噬细胞中也可见 MR 的

表达。MR 不仅仅表达在巨噬细胞上,同时在未成熟树突状细胞(DC),在肝和淋巴组织的上皮细胞,肾血管系膜细胞,气管平滑肌细胞,视网膜上皮细胞和 Kaposi 肉瘤细胞等都可检测到 MR 的表达。

大部分的 MR 分布在胞内的内吞途径上,只有 15% 分布于细胞表面。在 MR 阳性细胞表面和小鼠血清中存在一种可溶性 MR(sMR)。与完整的 MR 相比较,sMR 不含跨膜区和胞质区,但保留钙离子依赖的甘露糖结合活性。sMR 的功能尚不清楚,Martinez-Pomares 等^[6]认为 sMR 可结合 CR-Fc⁺ 细胞,如位于脾边缘区嗜金属巨噬细胞(metallophilic M ϕ)、淋巴结被膜下淋巴窦中的 M ϕ 以及淋巴结生发中心的细胞。这样,sMR 便可将所结合的抗原直接转运至脾白髓或淋巴结滤泡区 CR-Fc⁺ 细胞,实现甘露糖化抗原的提呈。

MR 的表达受细胞因子的调控。在炎症恢复期腹膜巨噬细胞中,白介素 4 (IL-4)、IL-13、IL-10 可以上调 MR 的表达,而干扰素 γ (IFN- γ) 则可以下调 MR 的表达。地塞米松和 1,25 二羟维生素 D₃ 也可以上调 MR 的表达。体外培养的小鼠 DC 细胞中,可以检测到 MR 的表达,但是在体内的次要淋巴器官 T 细胞区域却几乎检测不到 MR,MR 在体内 DC 细胞中的表达尚有待进一步研究。

对 MR 在人体内的表达及其调控的研究甚少。皮肤真皮,扁桃体黏膜固有层和扁桃体 T 细胞区中报道过 MR 的表达^[7]。体外实验显示,表面活性蛋白 D 和表面活性蛋白 A 能提高 MR 在这些细胞表面的表达^[8]。在人单核细胞衍生的巨噬细胞上,也检测到 MR 的高表达。流式细胞检测显示,真皮 DC 细胞亚群,CD1a^{hi} 和 CD1a^{low} 都能表达 MR^[9]。

3 免疫功能

3.1 维持内环境稳定

Simpson 等^[10]认为肝特异型 MR 上的 CTLD 和 CR 两个结构域可以与促黄体生成素(LH)结合,从而介导糖蛋白促黄体生成素的清除。这种特异性清除是由于肝内受体的选择性多聚化引起的,但是具体机制尚不清楚。

在 MR 缺陷小鼠中的实验,结果却与 Simpson 等^[10]的研究结果相冲突。Lee 等^[11]观察到,在 MR 基因缺陷小鼠中,LH 可以正常的被清除。但是他们同时也观察到,在 MR 基因缺陷小鼠中,甘露糖和 N-乙酰葡萄糖胺的清除延缓,提示 MR 在血清糖蛋白的清

除过程中起重要的调节作用。同时还发现在炎症反应初期, MR 表达受到抑制, 但是在后期, 其表达升高, 提示 MR 在清除炎症反应产物的过程中起一定作用。

研究显示^[12]在人淋巴结, MR 通过与 L- 选择素以受体和配体结合的方式相互作用, 从而使淋巴细胞可以黏附在淋巴管内皮上, 这种作用对淋巴细胞在淋巴结内存活具有重要作用。

3.2 免疫监督

3.2.1 识别病原体 MR 可以通过 CTLD 识别许多微生物及其产物, 如: 白念珠菌, 卡氏肺孢子虫, HIV (gp120), 分支杆菌脂阿拉伯甘露聚糖, 利什曼原虫, 肺炎链球菌。虽然普遍认为 MR 可以增强细胞对病原体的吞噬作用, 但是关于其吞噬病原体机制探讨的文献报道很少。而最近的研究发现似乎与之前的理论存在矛盾。Swain 等^[13]发现 MR 基因缺失小鼠并不会增加对卡氏肺孢子的致病性, 而 Lee 等^[14]也发现 MR 在对白念珠菌的吞噬过程中和播散性念珠菌感染后的宿主防御过程中不起作用。Le Cabec 等^[15]的研究或许可以给以上的矛盾一个解释, 他们发现 MR 并非专职的吞噬受体, 而是一种结合受体, 需要另外的物质介入来触发吞噬作用。

3.2.2 MR 与细胞活化 一般生理情况下认为, MR 在识别抗原后不会引起细胞活化和促炎细胞因子的释放, 因为 MR 胞质尾缺少信号转导模体。但是有学者研究发现, MR 可以在信号转导过程中发挥作用进而活化细胞。

Nigou 等^[16]在人单核源 DC 中的实验发现, 抗人 MR 单克隆抗体 19.2 可以诱导抑制 IL-12 的分泌, 提示 MR 参与细胞活化的调控。在相似的细胞体系中, Chiappa 等^[17]发现, 抗 MR 单克隆抗体 PAM-1 可以诱导不成熟 DC 表型和功能的成熟, 从而诱导抗炎细胞因子 IL-10、IL-1 受体拮抗剂和 II 型 IL-1 受体的分泌。

Zhang 等^[18]发现卡氏肺孢子虫可以通过 MR 激活人肺泡巨噬细胞的 NF- κ B 的信号转导通路。Yamamoto 等^[19]以白念珠菌刺激鼠腹膜巨噬细胞, 利用反义核酸抑制 MR 表达, 实验结果发现 MR 可以引起特定的细胞因子如 IL-1 β 、IL-6 和 GM-CSF 的产生。

3.2.3 MR 与抗原递呈 在小鼠外周非淋巴组织中, 可见大量表达 MR 的抗原递呈细胞, Linehan^[20]提出 MR 是主要的抗原捕获受体, 也是一个高效抗原递呈受体。而在人不成熟单核源 DC 中, 也可见 MR 的

大量表达, 表明其与抗原内化密切相关。

MR 识别抗原后, 与之形成 MR- 抗原复合物, 随之被内吞到被膜小泡。部分甘露糖化复合物被转运到 MHC II 类分子小室, 在某些蛋白酶作用 and 低 pH 值条件下, 形成 MHC II- 抗原肽复合物被转运至 APC 表面。抗原被内吞后, MR 在内体酸性环境中释放配体, 继续参与配体的内吞。在 MR 存在的环境下, 抗原递呈的效率比无 MR 的环境高 100 倍。

Ramakrishna 等^[21]发现, 抗 MR 单克隆抗体与黑色素瘤抗原 pmel17 融合蛋白可以诱导 pmel17 在人 DC HLA I 类分子和 HLA II 类分子中的递呈, 表明 MR 既可通过 MHC I 类途径也可通过 MHC II 类途径来递呈抗原。

3.2.4 CR 结构域配体 在小鼠中 CR 结构域配体主要是唾液酸黏附素硫酸化糖形和 CD45^[22], 它们分布在次要淋巴组织中, 如脾边缘区嗜金属巨噬细胞, 淋巴结被膜下淋巴窦内巨噬细胞和脾骨髓 B 细胞区巨噬细胞中。淋巴毒素缺陷小鼠 B 细胞不能诱导 CR 结构域配体的表达^[23], 提示 CR 结构域配体的表达需要 B 细胞上的膜淋巴毒素与其位于间质细胞上的受体相互作用诱导。

外来刺激作用可以改变 CR 结构域配体的分布。卵清蛋白刺激作用下, CR 结构域配体可以出现在 B 细胞滤泡中^[24], 这类表达 CR 结构域配体的细胞外表与 DC 相似, 具有树突状形状, 可以将抗原递呈给幼稚 T、B 细胞。CR 结构域配体应对刺激时的迁移能力和其表型的改变, 提示其可能参与捕获和递呈抗原。

4 小结

现在知道很多模式识别受体如 MR、DC-SIGN、 β - 葡聚糖受体、Dectin-1 相应都有内吞配体, 因此, 病原体的识别和应答可能比之前认为的更为复杂, 此过程可能需要多个受体和介质的共同参与。而单个受体在此过程中, 可能只进行病原识别, 但是不能直接介导其在胞内的信号转导。

目前关于 MR 的研究, 还不是很全面, 进一步需要通过单个受体研究或者多个受体共同作用, 研究 MR 的潜在功能。MR 对 DC 和巨噬细胞状态的活化功能, 以及 MR 与配体相互作用介导特异的免疫应答的机制, 也需要进一步阐释。

MR 可以视为具有典型内吞受体功能的受体。因为它可以清除内源性分子, 维持内环境稳定; MR

还可以促进 DC 对甘露糖化抗原的抗原递呈; 同时它还可以增强抗原捕获, 递呈给获得性免疫系统。但是这些研究都是基于体外培养的细胞, 在自然状态下研究潜在的 MR 阳性抗原递呈细胞的分布和功能, 同时更加深入研究这些受体的内吞配体, 将促进这个研究领域的发展。

参考文献(References)

- [1] Pontow SE *et al. Int Rev Cytol*, 1992, **137B**: 221
- [2] Napper CE *et al. J Biol Chem*, 2001, **276**: 14759
- [3] West AP *et al. Immunity*, 2004, **20**: 601
- [4] Boskovic J *et al. J Biol Chem*, 2006, **281**: 8780
- [5] Feinberg H *et al. J Biol Chem*, 2000, **275**: 21539
- [6] Martinez-Pomares L *et al. J Biol Chem*, 1998, **273**: 23376
- [7] Engering A *et al. J Immunol*, 2002, **168**: 2118
- [8] Kudo K *et al. J Immunol*, 2004, **172**: 7592
- [9] Turville SG *et al. Nat Immunol*, 2002, **3**: 975
- [10] Simpson DZ *et al. Biochem J*, 1999, **343 Pt 2**: 403
- [11] Lee SJ *et al. Science*, 2002, **295**: 1898
- [12] Irjala H *et al. J Exp Med*, 2001, **194**: 1033
- [13] Swain SD *et al. Infect Immun*, 2003, **71**: 6213
- [14] Lee SJ *et al. Infect Immun*, 2003, **71**: 437
- [15] Le Cabec V *et al. J Leukoc Biol*, 2005, **77**: 934
- [16] Nigou J *et al. J Immunol*, 2001, **166**: 7477
- [17] Chieppa M *et al. J Immunol*, 2003, **171**: 4552
- [18] Zhang J *et al. Infect Immun*, 2004, **72**: 3147
- [19] Yamamoto Y *et al. Infect Immun*, 1997, **65**: 1077
- [20] Linehan SA. *BMC Immun*, 2005, **6**: 4
- [21] Ramakrishna V *et al. J Immunol*, 2004, **172**: 2845
- [22] Martinez-Pomares L *et al. J Biol Chem*, 1999, **274**: 35211
- [23] Yu P *et al. J Immunol*, 2002, **168**: 5117
- [24] Martinez-Pomares L *et al. J Exp Med*, 1996, **184**: 1927

Structural Characteristic and Immune Function of Mannose Receptor

Xiao-Lei Zhang, Lu-Hang Zhao*

(Department of Biochemistry and Genetics, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract The mannose receptor can potentially internalize compounds that are recognized by three binding sites located in its extracellular region. It is subject to proteolytic processing and glycosylation. The MR has been implicated in homeostatic processes, pathogen recognition and antigen presentation.

Key words mannose receptor; pattern recognition receptor; homeostasis; pathogen recognition; antigen presentation

Received: March 19, 2007 Accepted: June 1, 2007

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-571-88208237, E-mail: zhaoluhang@263.net