

· 综述 ·

唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素9:
调节中性粒细胞凋亡的一种新型分子褚萨萨¹ 朱进² 汪茂荣³

【摘要】 唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素 (Siglec) 是免疫受体超家族中的主要成员, 表达于各类免疫细胞, 能够识别特定的唾液酸。中性粒细胞作为重要的天然免疫细胞, 参与早期炎症反应的发生、发展, 细胞凋亡在调节中性粒细胞数量的过程中发挥着关键作用。本文就Siglec-9在调节中性粒细胞的招募、凋亡, 影响其炎症应答, 促进细胞自噬以及Siglec-9在中性粒细胞引起临床疾病方面的研究进展作一综述。

【关键词】 唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素9; 中性粒细胞; 细胞凋亡; 炎症

Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins-9: a novel regulator of neutrophil apoptosis Chu Sasa¹, Zhu jin², Wang Maorong³. ¹Liver Diseases Centre of PLA, 81st Hospital of PLA, Clinical College, Affiliated to Anhui Medical University, Nanjing 210002, China; ²Liver Diseases Centre of PLA, 81st Hospital of PLA, Nanjing 210002, China; ³Huadong Medical Institute of Biotechniques, Nanjing 210002, China
Corresponding author: Wang Maorong, Email: maorongwang@126.com

【Abstract】 Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins (Siglecs) are members of the major superfamily of immune receptors differentially which presented on the surface of hematopoietic cells and recognized sialic acid. Neutrophils are recognized as one of the key effector cells of the innate immune system during the development of the early inflammatory responses. Apoptosis plays a key role in the regulation of the number of neutrophils. This paper reviews the role of Siglec-9 in the regulation of neutrophil recruitment, apoptosis, inflammatory responses, autophagy and recent progress of Siglec-9 in clinical diseases.

【Key words】 Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins-9; Neutrophil; Apoptosis; Inflammation

唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素 (Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins 9, Siglec-9) 是免疫球蛋白超家族的重要成员, 可通过识别含有唾液酸的糖链结构介导细胞与细胞或病原体间的相互作用。近年研究显示, Siglecs家族在细胞活化、增殖以及细胞凋亡中发挥着重要作用; 同时, 在固有免疫和适应性免疫中也发挥重要的调控作用, 并参与免疫耐受的调控。中性粒细胞是机体防御的主要炎症反应细胞, 对炎症反应的发生、发展以及转归均有重要影响。中性粒细胞作为重要的天然免疫细胞, 参与早期炎症反应的发生、发展, 细胞凋亡在调节中性粒细胞数量的过程中发挥着关键作用。研究表明, Siglec-9调节中性粒细胞凋亡, 促进中性粒细胞的自噬。中性粒细胞通过凋

亡被单核巨噬细胞识别吞噬, 进而限制中性粒细胞介导的组织损伤, 促进炎症消散。另有研究表明, LPS以Siglec-9依赖的方式诱导活性氧 (ROS) 的产生^[1]。本文就Siglec-9在调节中性粒细胞凋亡及其临床应用方面的进展综述如下。

一、Siglec-9的结构特点及表达

Siglecs是免疫球蛋白超家族成员, 其共同特点是具有结合唾液酸的能力。Siglecs分为两类, 一类是保守Siglecs, 包括唾液酸黏附素 (Siglec-1, CD169)、CD22 (Siglec-2)、髓磷脂相关的糖蛋白 (myelin associated glycoprotein, MAG, Siglec-4) 和Siglec-15, 另一类为CD33相关Siglecs。类似于其他免疫球蛋白超家族成员, Siglecs是胞外2~17个免疫球蛋白结构域组成的细胞表面跨膜分子^[2], 包括含有唾液酸识别位点的N端V区结构域, 在胞质区包含免疫受体酪氨酸抑制基序ITIMs (immunoreceptor tyrosinebased inhibitory motifs, ITIMs)^[3-4], 通过募集酪氨酸磷酸酶如SH2结构域蛋白酪氨酸磷酸酶SHP1、SHP2传递负向调节信号^[5]。少部分Siglecs, 如Siglec-14、Siglec-15和Siglec-16, 其胞质区与免疫受体酪氨

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2017.02.002

基金项目: 军队特需药品保密专项“十二五”计划课题 (No. 2013ZX 09J13110-05B)

作者单位: 210002 南京市, 安徽医科大学解放军八一临床学院全军肝病中心¹; 210002 南京市, 解放军八一医院全军肝病中心²; 210002 南京市, 南京军区军事医学研究所³

通信作者: 汪茂荣, Email: maorongwang@126.com

酸化活化基序 (immunoreceptor tyrosinebased activation motifs, ITAMs) 相关, 跨膜区带有正电荷氨基酸, 通过募集脾酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, SYK) 活化受体^[2]。与其他免疫球蛋白超家族相比, Siglecs的特性是其高特异性的配体唾液酸化碳水化合物, 不同于大部分其他免疫受体结合蛋白。在人体中, 已经发现14种Siglecs: 唾液酸黏附素 (Siglec-1, CD169)、CD22 (Siglec-2)、CD33 (Siglec-3) 和髓磷脂相关的糖蛋白 (MAG, Siglec-4) 以及CD33相关的Siglec (Siglec5-11)^[6-7]。然而, 炎症过程中Siglecs配体及其表达机制仍未明确^[8]。除Siglec4表达于神经细胞, 大部分Siglecs家族表达于造血细胞^[9-11]。

Siglec-9属于I型跨膜蛋白, 是免疫球蛋白超家族的重要成员, 表达于免疫细胞表面, 主要介导抑制性信号^[5, 12-13]。Siglec-9主要由胞外区、跨膜区和胞内区构成, 胞外区含有一个N末端的V区和两个C端的免疫球蛋白样结构域^[14], V区介导唾液酸 (SIA) 的识别, 胞内区含有两个ITIM^[5]。近膜基序为ITIM, 远膜基序为ITIM样结构^[15]。近膜基序ITIM酪氨酸磷酸化, 募集抑制性磷酸酶类, 如Src同源区2, 包括酪氨酸磷酸酯酶1 (SHP-1)、SHP-2和SH2肌醇磷酸酶 (Src homology 2 domain containing inositol polyphosphate 5-phosphatase, SHIP)^[16], 从而介导下游酪氨酸激酶磷酸化, 并向胞内传递抑制性或是致死性信号^[17-18]。这两个酪氨酸基序为调节免疫系统细胞活性提供了可能。Siglec-7和Siglec-9在细胞外、跨膜和细胞内的区域具有超过80%的同源性, 但具有不同的表达模式, Siglec-7表达于NK细胞, 在CD8⁺ T细胞和单核细胞中低表达, 而Siglec-9高表达于中性粒细胞和单核细胞表面, 在NK细胞、淋巴细胞亚群中低表达^[11]。在骨髓分化过程中, 中幼粒细胞表面出现Siglec-9的表达。Siglec-9可特异性识别并结合末端为 α 特异性识别和 α 特异性识别唾液酸糖蛋白^[19]。

二、中性粒细胞的凋亡、自噬与感染

在炎症反应中, 中性粒细胞是重要的效应细胞。延迟中性粒细胞凋亡与急性和慢性炎症疾病均有关。中性粒细胞是人类血液中含有最多的白细胞, 其在循环血液存在时间少于24 h, 由骨髓以一定的速度产生。通过不适当的活化中性粒细胞可以释放ROS、蛋白酶和其他组织损伤分子, 具有很强的组织损伤作用^[20]。此外, 激活的中性粒细胞可释放多种细胞因子和趋化因子, 可以调节免疫系统^[20]。因此, 中性粒细胞的产生与消除需维持动态平衡, 为保持这种平衡, 循环的中性粒细胞通过细胞凋亡和肝脏、脾脏和骨髓的巨噬细胞清除。大量的中性粒细胞在免疫反应中形成抵抗感染的第一道防线, 中性粒细胞能快速迁移至感染和炎症部位吞噬入侵的微生物, 并且产生NADPH氧化酶, 肽水解酶类和抗菌肽造成致死性的杀菌环境^[21]。

1. 中性粒细胞凋亡: 细胞凋亡是指为维持内环境稳定, 由基因控制的细胞自主、有序的死亡。中性粒细胞主

要有两种凋亡途径, 即内源性途径和外源性途径。内源性途径主要受线粒体调节, 由线粒体外膜破裂释放细胞色素C, 或由其他促凋亡因素进入细胞内启动。外源性途径通过Fas配体、TNF- α 或TRAIL激活。另外有第三种凋亡途径为吞噬作用诱导细胞死亡 (phagocytosis-induced cell death, PICD), 其特征是微生物死亡加速感染部位中性粒细胞死亡^[22-23]。中性粒细胞凋亡的形态学特征改变包括细胞膜起泡、细胞体皱缩、胞质空泡形成和核皱缩^[24]。胱冬蛋白酶8 (caspase-8) 和胱冬蛋白酶9 (caspase-9) 分别启动外源性和内源性细胞凋亡途径, 激活胱冬蛋白酶3 (caspase-3), 在细胞凋亡过程诱发许多生化和生理变化^[24]。

内源性途径在控制中性粒细胞凋亡中发挥重要作用。启动老化中性粒细胞的细胞内信号机制尚未明确, 此过程中的关键事件是线粒体外膜通透性 (mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP)。中性粒细胞包含线粒体, 依赖糖酵解产生ATP, 故线粒体在中性粒细胞的作用限于细胞凋亡^[25]。MOMP由Bal-2家族的Bax和Bak介导, 这些蛋白寡聚体化, 嵌入线粒体外膜, 干扰细胞器跨膜电位, 调节细胞色素C、第二线粒体来源的半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶激活剂 (Smac/DIABLO) 以及高温需要蛋白 (HtrA) 家族成员Htra2/Omin从膜间隙快速释放入胞液, 凋亡蛋白酶活化因子 (APAF)、细胞色素C形成凋亡体, 募集和活化caspase-9, 诱导caspase-3活化, 从而触发下游级联反应, 同时Smac/DIABLO, Htra2/Omin通过结合和钝化各种前存活因子间接激活内源性途径^[26]。

外源性途径为死亡受体介导的途径^[27]。死亡受体属于TNF受体超家族成员的跨膜受体, 通过结合配体发生寡聚化, 暴露于衔接蛋白结合的死亡结构域 (death domain, DD), 激活衔接蛋白, 活化caspase引起细胞凋亡。死亡配体包括Fas受体、TNF受体以及肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)^[28], Fas与受体结合后激活, 激活的Fas通过DD结合Fas相关死亡结构域 (Fas-associated protein with death domain, FADD), 寡聚化形成死亡诱导信号复合体 (death-inducing signaling complex, DISC), 进而募集活化caspase-8, 激活效应凋亡蛋白酶caspase-3, 引发细胞凋亡级联反应, 导致细胞凋亡^[29]。

2. 中性粒细胞自噬: 自噬是一种进化保守, 发生在真核细胞内的一种稳态过程, 双层膜包裹形成自噬体, 随后与溶酶体结合使细胞组分和细胞内大分子降解, 循环利用细胞组分的分解过程。自噬是重要的代谢途径, 溶酶体降解代谢产物和不需要物质以维持细胞的动态平衡^[30]。自噬有3种形式: 大分子自发吞噬、微自噬和分子伴侣介导的自噬^[31]。大分子自发吞噬作用通常简称为自噬, 表现为一部分细胞质被隔离膜吞噬, 形成双层膜结构的自体吞噬体。

自体吞噬体的外膜与溶酶体融合性形成自噬溶酶体,通过溶酶体酶发挥降解作用^[32]。

自噬是在严密调控下进行的,自噬通过生长因子刺激,负向调节I类磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K/Akt)通路,上调mTOR通路。mTOR存在于高分子复合物(mTORC1):这种多蛋白复合物是由营养相关的信号,包括氨基酸和生长因子激活,通过与ULK1复合物相互作用负性调控细胞自噬。自噬通过活化5-磷酸腺苷激活蛋白激酶,需消耗细胞能量。升高AMP水平,AMPK抑制雷帕霉素靶蛋白复合体1(mTORC1)和活化ULK1,激活Beclin-1和促进mATG9转运。自噬体的形成也通过自噬基因Beclin-1调节(ATG6)。Beclin-1结合大分子复合物,包括HVPS34、II型磷脂酰肌醇-3激酶(PI3KC3)、p150和自噬相关基因14表达蛋白(ATG14L)。自噬体形成过程中,Beclin-1复合物产生PI3P,募集包括WIP12在内的辅助蛋白。自噬体延伸需要两个泛素共轭系统,ATG5-12共轭体系和ATG8(LC3)共轭系统。自噬相关蛋白LC3-II与自噬体的成熟相关^[33]。

自噬通过再生代谢前体细胞以及清除细胞碎片维持细胞完整性,有利于维持细胞和组织内环境的稳定。中性粒细胞在清除细菌过程中发挥决定性作用,自噬是吞噬作用和降解过程中主要的降解过程之一,自噬同样负责清除入侵的病原体,包括细菌,病毒和寄生虫等^[34]。另外,自噬同样参与由于蛋白错误折叠引起的疾病中多聚泛素蛋白聚集物的清除^[35]。越来越多的资料显示,自噬在疾病的发生发展过程中发挥着重要作用。自噬作为抑制机制,导致病变细胞死亡、限制细胞数量或者减少DNA的突变概率,防止疾病发生;自噬作为保护机制,保护病变细胞免受治疗药物的作用,延缓细胞凋亡。

3. 中性粒细胞和感染:中性粒细胞是血细胞中寿命最短的终末分化细胞,在趋化因子作用下,由血液快速迁移到感染部位,对入侵的病原微生物做出反应。中性粒细胞对控制细菌、真菌感染及避免炎症扩散非常重要^[36]。如敲除中性粒细胞的小鼠感染金黄色葡萄球菌时清除细菌的能力降低。同样,感染白色念珠菌的小鼠引起真菌扩散及高病死率。另外,中性粒细胞减少症的患者易感染细菌和真菌。

炎症反应是机体的一种防御反应,根据是否与细菌感染相关可分为感染性炎症和无菌性炎症。无论是感染性或无菌性炎症,中性粒细胞均发挥着重要作用。通过吞噬作用、去颗粒或者释放胞内成分如DNA、组蛋白、溶解蛋白形成中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)杀灭病原体。另外,中性粒细胞表面存在受体识别病原相关分子模式或损伤相关分子模式,启动信号级联反应,产生炎性介质,建立适当的反应抵抗病原体。这一

过程放大炎症反应,引起更多的中性粒细胞迁移至感染病灶。在感染部位,中性粒细胞捕获病原体形成吞噬体,随后与细胞颗粒形成吞噬溶酶体。通过结合氧化(ROS)和非氧化(酶类、肽水解酶类和抗菌肽)机制杀灭病原体。尽管中性粒细胞对清除病原体非常重要,但是活化的中性粒细胞同样引起过度的炎症反应和组织损伤。

三、Siglec-9调节中性粒细胞凋亡和自噬

中性粒细胞的转归影响炎症的发生发展,其转归方式有两种,分别为凋亡和自噬。细胞凋亡是调节控制固有免疫和适应性免疫的重要方式,可能有利于治疗炎症反应性疾病。细胞凋亡是最常见的中性粒细胞生理性死亡方式,但其他形式的凋亡同样存在。例如,在人类原始中性粒细胞,观察到一种caspase非依赖性细胞死亡方式,这种中性粒细胞死亡方式由Siglec-9介导。

1. Siglec-9对中性粒细胞凋亡的影响:与Fas受体和一些死亡受体相比, Siglecs不同之处在于其胞质尾区含有两个免疫受体酪氨酸基序ITIM,可以结合和激活蛋白磷酸酶类,不含死亡结构域,故不能通过死亡结构域相关的蛋白激活caspase-8,可能是存在GM-CSF情况下, Siglec-9激活SHP-1,发生酪氨酸磷酸化^[37],并不是GM-CSF促进Siglec-9表达或启动死亡受体介导的细胞凋亡信号通路。研究表明, Siglec-9介导的中性粒细胞凋亡呈时间和浓度依赖性,但是与Fas受体相比, Siglec-9介导的细胞凋亡作用稍弱。然而GM-CSF预处理的细胞, Fas受体介导的细胞凋亡无明显改变,但是Siglec-9介导的中性粒细胞凋亡作用明显增强。当无GM-CSF时, Siglec-9引起磷脂酰丝氨酸(phosphatidyl serine, PS)再分配,为中性粒细胞凋亡的特征,而且Siglec-9可加速DNA碎片裂,与自发性细胞凋亡相关。由此可见,缺乏协同刺激信号情况下Siglec-9启动中性粒细胞预凋亡通路。GM-CSF曾被认为是中性粒细胞的存活因子, GM-CSF与Siglec-9作用促进中性粒细胞凋亡是出人意料的发现。GM-CSF增强 Siglec-9酪氨酸磷酸化^[17],激活SHP-1通过与p85调节亚基相互作用灭活磷酸肌醇酯3-激酶(PI3K)。PI3K通路是许多细胞重要的抗凋亡信号通路,通过PI3K通路调节caspase, Siglec-9以caspase依赖方式诱导中性粒细胞凋亡^[17]。Caspase-3在中性粒细胞凋亡中发挥重要的作用^[38]。研究显示,除GM-CSF外,其他细胞因子如IFN-β或IFN-γ与Siglec-9作用同样可以促进中性粒细胞凋亡。

2. Siglec-9对中性粒细胞自噬的影响: Siglec-9除介导caspase依赖性中性粒细胞凋亡,还介导caspase非依赖性的中性粒细胞自噬性细胞死亡。体外研究表明, Siglec-9介导的caspase非依赖性的中性粒细胞自噬性细胞死亡在促炎性细胞因子存在时激发,如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和(或)干扰素γ(IFN-γ)。透射电子显微镜

下分析可见中性粒细胞呈现特征性的多液泡状结构。自噬性细胞死亡的形态学改变为胞质空泡形成、核皱缩和线粒体肿胀,其特征性表现是胞质空泡形成。

尽管以上为体外实验结果,但同样具有临床意义。炎症性疾病如脓毒症和类风湿性关节炎患者分离的中性粒细胞,在缺乏细胞因子刺激的情况下, Siglec-9仍然可以介导中性粒细胞自噬样细胞死亡^[17]。现象发生的可能机制是caspase受到抑制,由于自噬性细胞死亡与caspase失活有关^[37]。从炎症性疾病患者分离的中性粒细胞显示,自发凋亡延迟可以支持这种机制。另外,活性氧的产生可能是发生自噬性细胞死亡的重要因素。ROS主要来源于线粒体和烟酰胺腺嘌呤磷酸二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶。在炎症反应过程中,ROS对清除感染部位的中性粒细胞有重要作用。活性氧可作为抗微生物效应分子和作为信号分子调节NF- κ B的转录活性,形成中性粒细胞外诱捕网和自噬。

3. Siglec-9调节炎症性细胞因子:目前为止,CD33相关 Siglecs的功能主要是通过阻断活化通路抑制免疫反应或诱导细胞凋亡,对炎症反应及相应的信号通路仍不明确。研究显示,脂多糖、肽多糖、未甲基化CpG DNA以及双链RNA刺激时,表达Siglec-9的细胞IL-10的产生明显增加,TNF- α 表达水平降低。此结果提示Siglec-9发挥重要的抗炎作用^[39]。

Siglec-9通过不同机制调节促炎症性细胞因子和抗炎性细胞因子。当ITIM单个或两个酪氨酸突变时,IL-10产生也不增加,不能结合SHP-1和SHP-2,表明SHPs在Siglec-9调节IL-10方面有重要作用^[39]。当ITIM单个酪氨酸突变,Siglec-9部分抑制TNF- α 的产生,两个酪氨酸突变时无抑制效应,表明SHPs在Siglec-9调节TNF- α 方面发挥部分作用^[39]。

四、静脉注射免疫球蛋白抗Siglec-9自身抗体在中性粒细胞凋亡中的作用

静脉注射免疫球蛋白(intravenous immune globulin, IVIG)最初用于免疫缺陷性疾病(丙种球蛋白缺乏血症),目前越来越多地用于自身免疫性疾病和慢性炎症性疾病的治疗,如格林-巴利综合征、特发性血小板减少性紫癜和川崎病;尽管已得到广泛应用,但其确切的免疫调节机制仍未完全清楚。IVIG包含自身抗体,能够与免疫活性细胞表面的分子发生反应,与控制自身反应性和免疫耐受有关^[40-41]。例如,IVIG治疗中毒性表皮坏死松解症与Fas受体自身抗体的存在有关^[42-43]。

IVIG含有抑制性或拮抗性抗体,其对细胞的效应呈剂量依赖性^[44]。拮抗性抗体能阻断Fas以caspase依赖的方式诱导中性粒细胞凋亡^[44]。研究表明,通过抗-Fas自身抗体、抗-Siglec-8自身抗体和抗-Siglec-9自身抗体,IVIG有调节白细胞和组织细胞的能力^[18]。IVIG可激活中性粒细胞表面的

Siglec-9,引起caspase依赖性和caspase非依赖性细胞死亡。IVIG通过激活中性粒细胞表面表达的Siglec-9,从而引起中性粒细胞凋亡,同时也证明IVIG中含有Siglec-9的激动型抗体。IVIG中的抗-Siglec-9自身抗体可以介导中性粒细胞死亡,当去除IVIG中的抗-Siglec-9自身抗体,IVIG诱导中性粒细胞凋亡的能力减弱或消失。另外,研究表明在促炎症性细胞因子GM-CSF和IFN- γ 存在的情况下,IVIG介导中性粒细胞死亡的效率显著提高,这种细胞死亡需要ROS参与,而非caspase^[45]。由此说明,自噬性细胞凋亡在促炎症性细胞因子存在时发挥更大作用,同时caspase也并非IVIG发挥作用的唯一途径。

五、Siglec-E抑制中性粒细胞募集

中性粒细胞是血液中最丰富的白细胞,在宿主防御细菌和真菌感染方面具有重要作用,尤其是肺部疾病,肺泡毛细血管形成巨大的网络,使血循环中60%的中性粒细胞聚集在肺部毛细血管床。由于毛细血管的管径小于中性粒细胞的直径,导致中性粒细胞发生变形和速度减慢。慢行的中性粒细胞通过上调黏附受体和激活整联蛋白,在趋化因子的作用下迁移至邻近组织,杀伤病原体。Siglec-E是表达于小鼠骨髓细胞的唾液酸结合的免疫球蛋白样凝集素,与人类中性粒细胞的Siglec-9同源,两者具有相似的生物学性质。

1. Siglec-E促进 β 2整联蛋白依赖性NADPH氧化酶活性:已知机体产生ROS的关键酶是NADPH氧化酶。研究表明,ROS通过抑制中性粒细胞募集发挥抗炎作用。注入LPS后,Siglec-E负向调节 β 向整联蛋白依赖性中性粒细胞募集。CD11b依赖性整联蛋白配体以唾液酸依赖方式结合纤维蛋白原后,Siglec-E促进ROS产生^[46]。Siglec-E促进ROS产生主要通过激活Akt来介导^[46]。Akt是激活NADPH氧化酶的关键激酶^[47],促进NADPH氧化酶磷酸化,使中性粒细胞释放大量ROS^[46]。由此可知,Siglec-E通过调节NADPH氧化酶活性和产生ROS作为中性粒细胞的抑制受体。这暗示着人类Siglec-9是治疗脓毒症和急性肺损伤的新靶点。

2. Siglec-E抑制 β 2整联蛋白信号转导通路:雾化吸入LPS诱导的急性肺部气道炎症模型中,Siglec-E缺乏型小鼠中性粒细胞募集到气道的速度较野生型小鼠更加迅速,数量更多。当组织注入LPS,中性粒细胞黏附到血管内皮,但并未渗出。腹腔注射LPS时,Siglec-E表达缺失小鼠可明显观察到中性粒细胞募集到肺毛细血管床。由此表明,Siglec-E有调节中性粒细胞募集的作用。目前已经证实,雾化吸入LPS诱导的急性肺部气道炎症模型中,CD11b是重要的调控蛋白^[48]。当注射CD11b拮抗剂后,Siglec-E缺陷型小鼠中性粒细胞募集数量减少。这些结果表明Siglec-E通过调节CD11b信号通路介导中性粒细胞募集^[49]。与其他整联蛋白相比,内向信号通路可以调节CD11b,引起来自胞内

的表面表达和增加整联蛋白和配体的亲和力^[50-51]。然而尚无证据表明, Siglec-E直接参与这条通路。相反, 有证据表明Siglec-E可调节CD11b依赖性外向内信号转导通路。纤维蛋白原为Siglec-E配体, 当Siglec-E被纤维蛋白原激活, 抑制p38 MAP激酶和Syk-Tyr³¹⁷的磷酸化^[46, 51]。p38 MAP激酶是中粒性细胞募集的调控分子^[52], Syk与fMLP协同作用参与中性粒细胞的黏附。由此可知, Siglec-E通过调控CD11b外向内信号转导通路而抑制中性粒细胞募集^[49]。

六、展望

中性粒细胞是炎症反应重要的效应细胞, 其转归主要有凋亡和自噬, 其结果影响炎症的发展。中性粒细胞的产生与消除在体内维持着动态平衡, 既有利于机体的防御反应, 又有利于减弱炎症反应, 若延迟凋亡的中性粒细胞不能及时被吞噬细胞清除, 中性粒细胞进一步坏死会加重炎症反应。因此, 适时干扰中性粒细胞凋亡和自噬可成为中性粒细胞浸润为主的炎性疾病治疗的有效措施。Siglecs是免疫受体超家族中的主要成员, 表达于各类免疫细胞, 能够识别特定的唾液酸。Siglecs在造血系统显示特异性的表达模式, 表明其特异性效应。Siglec-9是主要表达于中性粒细胞的抑制性唾液酸受体, 可以调控中性粒细胞的凋亡和自噬, 影响其炎症应答, 进而影响炎性疾病的发生发展^[53]。IVIG激活中性粒细胞上Siglec-9的配体, 传递Siglec-9的抑制性或致死性信号, 导致中性粒细胞发生凋亡或自噬, 干扰炎症性疾病的进程, Siglec-9可能成为治疗脓毒症等中性粒细胞浸润性炎性疾病的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Läubli H, Alisson-Silva F, Stanczak MA, et al. Lectin galactoside-binding soluble 3 binding protein (LGALS3BP) is a tumor-associated immunomodulatory ligand for CD33-related Siglecs[J]. *J Biol Chem*, 2014,289(48):33481-33491.
- [2] Macauley MS, Crocker PR, Paulson JC. Siglec-mediated regulation of immune cell function in disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014,14(10):653-666.
- [3] Daëron M, Jaeger S, Du Pasquier L, et al. Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs: a quest in the past and future[J]. *Immunol Rev*, 2008,224:11-43.
- [4] Barrow AD, Trowsdale J. You say ITAM and I say ITIM, let's call the whole thing off: the ambiguity of immunoreceptor signalling[J]. *Eur J Immunol*, 2006,36(7):1646-1653.
- [5] Crocker PR, Paulson JC, Varki A. Siglecs and their roles in the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007,7(4):255-266.
- [6] Crocker PR, Varki A. Siglecs, sialic acids and innate immunity[J]. *Trends Immunol*, 2001,22(6):337-342.
- [7] Crocker PR. Siglecs: sialic-acid-binding immunoglobulin-like lectins in cell-cell interactions and signalling[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2002,12(5):609-615.
- [8] Jia Y, Yu H, Fernandes SM, et al. Expression of ligands for Siglec-8 and Siglec-9 in human airways and airway cells[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015,135(3):799-810.
- [9] Rashmi R, Bode BP, Panesar N, et al. Siglec-9 and SHP-1 are differentially expressed in neonatal and adult neutrophils[J]. *Pediatr Res*, 2009,66(3):266-271.
- [10] Higuchi H, Shoji T, Iijima S, et al. Constitutively expressed Siglec-9 inhibits LPS-induced CCR7, but enhances IL-4-induced CD200R expression in human macrophages[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2016,80(6):1141-1148.
- [11] Jandus C, Boligan KF, Chijioke O, et al. Interactions between Siglec-7/9 receptors and ligands influence NK cell-dependent tumor immunosurveillance[J]. *J Clin Invest*, 2014,124(4):1810-1820.
- [12] Avril T, Attrill H, Zhang J, et al. Negative regulation of leucocyte functions by CD33-related siglecs[J]. *Biochem Soc Trans*, 2006,34(Pt 6):1024-1027.
- [13] Varki A, Angata T. Siglecs--the major subfamily of I-type lectins[J]. *Glycobiology*, 2006,16(1):1R-27R.
- [14] Secundino I, Lizcano A, Roupé KM, et al. Host and pathogen hyaluronan signal through human siglec-9 to suppress neutrophil activation[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016,94(2):219-233.
- [15] Shlapatska LM, Mikhalep SV, Berdova AG, et al. CD150 association with either the SH2-containing inositol phosphatase or the SH2-containing protein tyrosine phosphatase is regulated by the adaptor protein SH2D1A[J]. *J Immunol*, 2001,166(9):5480-5487.
- [16] Avril T, Floyd H, Lopez F, et al. The membrane-proximal immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif is critical for the inhibitory signaling mediated by Siglecs-7 and -9, CD33-related Siglecs expressed on human monocytes and NK cells[J]. *J Immunol*, 2004,173(11):6841-6849.
- [17] von GS, Yousefi S, Seitz M, et al. Siglec-9 transduces apoptotic and nonapoptotic death signals into neutrophils depending on the proinflammatory cytokine environment[J]. *Blood*, 2005,106(4):1423-1431.
- [18] von GS, Simon HU. Cell death modulation by intravenous immunoglobulin[J]. *J Clin Immunol*, 2010,30(Suppl 1):S24-S30.
- [19] Zhang JQ, Nicoll G, Jones C, et al. Siglec-9, a novel sialic acid binding member of the immunoglobulin superfamily expressed broadly on human blood leukocytes[J]. *J Biol Chem*, 2000,275(29):22121-22126.
- [20] Thieblemont N, Wright HL, Edwards SW, et al. Human neutrophils in auto-immunity[J]. *Semin Immunol*, 2016,28(2):159-173.
- [21] McCracken JM, Allen LA. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease[J]. *J Cell Death*, 2014,7(8):15-23.
- [22] Kobayashi SD, Braughton KR, Whitney AR, et al. Bacterial pathogens modulate an apoptosis differentiation program in human neutrophils[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100(19):10948-10953.
- [23] Kobayashi SD, Voyich JM, Buhl CL, et al. Global changes in gene expression by human polymorphonuclear leukocytes during receptor-mediated phagocytosis: cell fate is regulated at the level of gene expression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002,99(10):6901-6906.
- [24] Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008,9(3):231-241.
- [25] Maïanski NA, Geissler J, Srinivasula SM, et al. Functional characterization of mitochondria in neutrophils: a role restricted to apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2004,11(2):143-153.
- [26] Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death[J]. *Science*, 2004,305(5684):626-629.
- [27] Fox JL, MacFarlane M. Targeting cell death signalling in cancer:

- minimising 'Collateral damage'[J]. *Br J Cancer*,2016,115(1):5-11.
- [28] 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制[J]. *国际妇产科学杂志*,2014,(2):103-107.
- [29] Jia LT, Chen SY, Yang AG. Cancer gene therapy targeting cellular apoptosis machinery[J]. *Cancer Treat Rev*,2012,38(7):868-876.
- [30] Dong Z, Liang S, Hu J, et al. Autophagy as a target for hematological malignancy therapy[J]. *Blood Rev*,2016,30(5):369-380.
- [31] Chen Y, Klionsky DJ. The regulation of autophagy -- unanswered questions[J]. *J Cell Sci*,2011,124(Pt 2):161-170.
- [32] Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation[J]. *Nature*,2011,469(7330):323-335.
- [33] Ryter SW, Choi AM. Autophagy in lung disease pathogenesis and therapeutics[J]. *Redox Biol*,2015,4(4):215-225.
- [34] Chargui A, El MMV. Autophagy mediates neutrophil responses to bacterial infection[J]. *APMIS*,2014,122(11):1047-1058.
- [35] Lamark T, Johansen T. Aggrephagy: selective disposal of protein aggregates by macroautophagy[J]. *Int J Cell Biol*,2012,(7):736905.
- [36] Sônego F, Castanheira FV, Ferreira RG, et al. Paradoxical Roles of the Neutrophil in Sepsis: Protective and Deleterious[J]. *Front Immunol*,2016,7(1):155-156.
- [37] von GS, Simon HU. Autophagic-like cell death in neutrophils induced by autoantibodies[J]. *Autophagy*,2007,3(1):67-68.
- [38] Duquette SC, Fischer CD, Feener TD, et al. Anti-inflammatory effects of retinoids and carotenoid derivatives on caspase-3-dependent apoptosis and efferocytosis of bovine neutrophils[J]. *Am J Vet Res*,2014,75(12):1064-1075.
- [39] Ando M, Tu W, Nishijima K, et al. Siglec-9 enhances IL-10 production in macrophages via tyrosine-based motifs[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2008,369(3):878-883.
- [40] Bayry J, Thirion M, Misra N, et al. Mechanisms of action of intravenous immunoglobulin in autoimmune and inflammatory diseases[J]. *Neurol Sci*,2003,24(Suppl 4):S217-S221.
- [41] Kaveri SV. Mechanisms of action of intravenous immunoglobulins[J]. *Bull Acad Natl Med*,2012,196(1):39-47, 48.
- [42] Trautmann A, Akdis M, Schmid-Grendelmeier P, et al. Targeting keratinocyte apoptosis in the treatment of atopic dermatitis and allergic contact dermatitis[J]. *J Allergy Clin Immunol*,2001,108(5):839-846.
- [43] Prins C, Kerdel FA, Padilla RS, et al. Treatment of toxic epidermal necrolysis with high-dose intravenous immunoglobulins: multicenter retrospective analysis of 48 consecutive cases[J]. *Arch Dermatol*,2003,139(1):26-32.
- [44] Altnauer F, von GS, Späth P, et al. Concurrent presence of agonistic and antagonistic anti-CD95 autoantibodies in intravenous Ig preparations[J]. *J Allergy Clin Immunol*,2003,112(6):1185-1190.
- [45] von GS, Schaub A, Vogel M, et al. Immunologic and functional evidence for anti-Siglec-9 autoantibodies in intravenous immunoglobulin preparations[J]. *Blood*,2006,108(13):4255-4259.
- [46] McMillan SJ, Sharma RS, Richards HE, et al. Siglec-E promotes β 2-integrin-dependent NADPH oxidase activation to suppress neutrophil recruitment to the lung[J]. *J Biol Chem*,2014,289(29):20370-20376.
- [47] Hoyal CR, Gutierrez A, Young BM, et al. Modulation of p47PHOX activity by site-specific phosphorylation: Akt-dependent activation of the NADPH oxidase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2003,100(9):5130-5135.
- [48] Moreland JG, Fuhrman RM, Pruessner JA, et al. CD11b and intercellular adhesion molecule-1 are involved in pulmonary neutrophil recruitment in lipopolysaccharide-induced airway disease[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*,2002,27(4):474-480.
- [49] McMillan SJ, Sharma RS, McKenzie EJ, et al. Siglec-E is a negative regulator of acute pulmonary neutrophil inflammation and suppresses CD11b β 2-integrin-dependent signaling[J]. *Blood*,2013,121(11):2084-2094.
- [50] Hughes BJ, Hollers JC, Crockett-Torabi E, et al. Recruitment of CD11b/CD18 to the neutrophil surface and adherence-dependent cell locomotion[J]. *J Clin Invest*,1992,90(5):1687-1696.
- [51] Frommhold D, Mannigel I, Schymeinsky J, et al. Spleen tyrosine kinase Syk is critical for sustained leukocyte adhesion during inflammation in vivo[J]. *BMC Immunol*,2007,8(10):31-32.
- [52] Haddad EB, Birrell M, McCluskie K, et al. Role of p38 MAP kinase in LPS-induced airway inflammation in the rat[J]. *Br J Pharmacol*,2001,132(8):1715-1724.
- [53] Yousefi S, Perozzo R, Schmid I, et al. Calpain-mediated cleavage of Atg5 switches autophagy to apoptosis[J]. *Nat Cell Biol*,2006,8(10):1124-1132.

(收稿日期: 2016-04-21)

(本文编辑: 孙荣华)

褚萨萨, 朱进, 汪茂荣. 唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素9: 调节中性粒细胞凋亡的一种新型分子[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2017,11(2):111-116.