

· 综述 · 文章编号 1000-2790(2008)02-0181-03

NOD 突变在遗传性疾病中的作用

孙丽萍, 胡巢凤

(暨南大学医学院病理生理学教研室 广东 广州 510632)

【摘要】核苷酸结合寡聚化结构域(nucleotide-binding oligomerization domain, NOD)蛋白是一个胞浆蛋白家族,参与对细胞内病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)的识别,作为细胞内受体能识别高度保守的细菌细胞壁成分——肽聚糖,并诱导炎症反应。NOD 基因突变是某些遗传性疾病的易感原因,本文对 NOD 突变在相关疾病中的作用进行综述。

【关键词】NOD 突变, 遗传性疾病, 先天性

【中图分类号】R574 **【文献标识码】**A

0 引言

病原体在漫长的进化过程中保留着高度保守的结构基序,这些基序被称为病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)。PAMPs 可被有限的受体识别,这些受体称为模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRRs),PRRs 识别 PAMPs 后即启动固有免疫应答。现已发现多个不同类型的 PRRs,最常见的是细胞表面受体 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs);另一个识别系统是位于胞浆的核苷酸结合寡聚化结构域(nucleotide-binding oligomerization domain, NOD)蛋白家族,参与对细胞内细菌 PAMPs 的识别并诱导炎症反应,现已发现 20 多个成员,其中最具有代表性的是 NOD1 和 NOD2,另外还有神经元凋亡抑制蛋白(neuronal apoptosis inhibitory protein, NAIP),具有 C 端 FIIND 和 CARD 的 NALP,含 PYD 结构的 cryopyrin 和 PYPAFs (pyrin-containing APAF-1-like proteins)等 15 个成员,以及主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) II 类反式作用因子。

1 NOD 蛋白结构及信号转导

胞浆蛋白 NOD 家族成员含有 3 个不同的功能结构域——中部的核苷酸结合区域(nucleotide-binding domain, NBD;又称为 NOD 区域),C-末端富含亮氨酸的重复序列(leucine-rich repeats, LRRs),及 N-末端的介导嗜同种蛋白-蛋白相互作用区域——caspase 募集区域(caspase-recruitment domain, CARD),pyrin 区域(pyrin domain, PYD),或凋亡重复序列杆状病毒抑制因子(baculovirus inhibitor-of-apoptosis re-

peats, BIRs)^[1]。根据不同的 N-末端区域将 NOD 蛋白分成几个亚群,如 NALPs 含有 PYD;NODs 含有 CARD(NOD1 含 1 个 CARD,而 NOD2 含 2 个 CARDs),NALP 含有 BIR(图 1)。

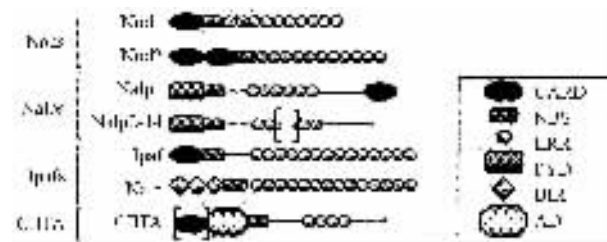


图 1 NOD 蛋白的结构

LRRs 是一个含 20~29 个氨基酸残基序列的区域,为病原细胞之间蛋白-蛋白的相互作用提供支架并调节蛋白的激活^[2]。LRR 区域有结合细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)活性,可激活 NF- κ B 信号通路。NF- κ B 是诱导激发抗菌因子 β -defensin 2 的关键分子^[3]。NBD 区域(又称 NACHT 区)含有很多不同的基序,包括 WalkerA 和 WalkerB 基序,他们分别是 ATP/GTP 酶特异性 P 环和 Mg^{2+} 结合区。这个区域调节 NOD 蛋白的寡聚化并结合 ATP(C II TA 结合 GTP)。LRRs 与 NACHT 区之间形成的分子内复合物可抑制 NOD 蛋白的自身活化^[4]。NOD1 和 NOD2 在 NACHT/LRRs 之外有一个功能不清楚的 NACHT 关联区,它们结构上的不同在于在 N-末端 NOD1 含 1 个 CARD,而 NOD2 含 2 个 CARDs。NALP 的特征是 N 末端含 PYD,但 NALP1 还有一个附加区 FIIND 及形成 C 端延伸的 CARD。含 PYD 结构的 NOD 蛋白包括 DEFCAP (death effector filament-forming Ced-4-like apoptosis protein), cryopyrin 及 PYPAFs (pyrin-containing APAF-1-like proteins)等成员。NAIP 缺乏嗜同种相互作用的区域,其 N-末端是 3 个凋亡重复序列杆状病毒抑制因子(baculovirus inhibitor-of-apoptosis repeats, BIRs)^[5]。C II TA 是另一类缺乏 N-末端嗜同种 EBD 的 NOD 蛋白(只有在树突细胞表达的 C II TA 含有 CARD 结构),其 N-末端含一个转录激活区。C II TA 是一个非 DNA 结合转录协同激活因子,参与调节 MHC II 类基因的表达。

NOD1 和 NOD2 可识别细菌细胞壁的肽聚糖(peptidoglycan, PGN),诱导自身寡聚化,募集 RICK [receptor-interacting protein (RIP)-like interacting caspase-like apoptosis-regulatory protein (CLARP) kinase],激活相同的下游信号通路;RICK 与 IKK 复合物 (IKK γ /IKK α /IKK β ,也即 I κ B 激酶)相互作用,激活 NF- κ B。某些 NOD 蛋白(如 cryopyrin, IPAF)可与 ASK (Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain)结合,通过共同的 IKK 信号通路激活 NF- κ B。

2 NOD 突变与疾病

2.1 NOD2 突变与 Crohn's 病和 Blau 综合征 CARD15/NOD2 主要表达在单核细胞中。NOD2 在肠内上皮细胞的表达使肠道对细菌产物敏感,并促进趋化细胞因子 IL-8 的释放^[6]。NOD2 本身可作为一个抗菌因子^[7]。NOD2 突变与两种

收稿日期 2007-06-21; 接受日期 2007-09-13

基金项目 广东省自然科学基金资助项目(06025159);广东省教育厅
自然科学基金项目[粤财教(2005)126]

通讯作者 胡巢凤. Tel: (020) 85228079 Email: thcf@jnu.edu.cn

作者简介:孙丽萍. 硕士生(导师胡巢凤). Tel: (020) 85220253

Email: slp08@126.com

炎症性疾病有关,即 Crohn's 病(Crohn's disease, CD)和 Blau 综合征(Blau syndrome, BS)。

Crohn's 病的特征是原发性节断性肠内肉芽肿性炎症。由于 CD 的合并症如瘻、穿孔、狭窄和/或梗阻,使 CD 患者的外科治疗累积危险性在发病十年内达到 60%,严重影响了患者的生活质量。CD 表现为一个多因素/寡基因的疾病,位于 16q12 的 IBD 位点 CARD15/NOD2 是炎症性肠病 CD 病的易感基因,这一发现为 CD 是一种遗传病提供了最有力的证据。NOD2 突变引起免疫激活及调控机制异常,导致细胞和组织发生损伤。在欧、美、澳三大洲通过遗传流行病学调查,证实这一突变可能是 30% CD 发生的重要原因,并是这种 CD 亚群的特征性遗传学改变。对 CD 患者 NOD2 基因进行测序,发现其上有 3 个单核苷酸多态性(SNP)与 CD 有显著相关性,这些突变占 NOD2 全部变异的 83%。这三个突变分别是:两个错义突变(Arg702Trp 与 Gly908Arg)及一个因胞嘧啶插入导致的移码突变(3020insC)^[8-10]。CD 突变发生在 NOD2 的 LRRs 或靠近 LRRs 氨基酸残基 3020insC 致使终止密码子提前,导致其蛋白质截短,丢失其最后 33 个氨基酸。这些突变使编码出来的 NOD2 对 NF- κ B 的激活效应明显降低,导致机体先天性免疫低反应,使机体不能有效识别细菌成分,从而诱导机体肠道细菌异常强烈的免疫反应而引起 CD。

当机体携带一个 NOD2 基因突变型时,CD 发病危险性就会增加 2 倍;当同时携带两个 NOD2 基因突变型时,这种危险性就会增加 20~40 倍^[11]。深入观察这组 CD 临床类型和并发症等发现,该类患者多为末端回肠受累,易于发生纤维化和肠狭窄。这一重大发现具有划时代的意义,使 CD 疾病的遗传病因学得到充分肯定,同时将遗传学改变与感染因子和免疫反应异常结合起来,可以较全面地解释这种 CD 亚群的发病机制。

NOD2 编码区发生错义突变与 Blau 综合征(Blau syndrome, BS)也有明显相关。BS 是一种罕见的常染色体显性遗传病,其特点是肉芽肿性关节炎、葡萄膜炎和皮疹。BS 是由 NOD2 的 NACHT 区——相当于 NALP3 的 R260W 突变引起的。实验表明,与 BS 相关的 NOD2 的三个错义突变分别是: G1001A 精氨酸突变为谷氨酸(R334Q), C1000T 精氨酸突变为色氨酸(R334W)和一个 C1405T 亮氨酸突变为苯丙氨酸(L469F)。这三个突变被定位于 NOD 的寡聚化区域内,这些突变导致配体依赖的 NF- κ B 的激活,说明这些是功能放大性突变导致 NOD2 信号的活化,增加 NF- κ B 基础活性。尽管 CD 和 BS 组织学特征都是肉芽肿炎症,但它们的临床表现及遗传方式是完全不同的。通常 CD 突变位于 C-末端 LRRs 或靠近 LRRs,是一种功能缺失突变,而 BS 突变位于 NOD2 的 NOD 区^[12]。

此外,有报道表明, NOD2 基因功能缺失还与各种癌症疾病的发展有关,如:结肠腺癌、乳腺癌、肺癌和 MALT 淋巴瘤等^[13-14]。研究表明,前炎症转录因子如 NF- κ B 的持续活化促进细胞增生而导致恶性转化^[15]。

2.2 NAIP 突变与神经变性疾病 神经变性疾病如帕金森病和脊髓性肌肉萎缩(Spinal Muscular Atrophy, SMA),运动

神经元变性与神经凋亡抑制蛋白(neuronal apoptosis inhibitory protein, NAIP)基因缺失有关。NAIP 在中枢神经系统中高水平表达,通过阻断 caspase-3 和 7 的激活而抑制细胞凋亡。NAIP 基因缺失,使前角运动细胞凋亡过度,导致运动神经元受损,引起继发性肌肉萎缩。NAIP1 基因突变与 SMA 有关,研究发现所有受试的马来西亚 SMA 患者 SMN1(Survival Motor Neuron 1)上的 NAIP 外显子 7 和 8 纯合子均缺乏,而 NAIP 上的外显子 5 的纯合子缺失仅在 I 型患者身上发现^[16]。

NAIP 表达下降与 Down 综合征及阿尔茨海默病的神经元变性有关。研究发现 Down 综合征的胎儿(孕 23 wk)即有脑组织 NAIP mRNA 下调,Down 综合征及阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)的成人患者大脑皮层均有 NAIP 蛋白水平降低。Lesne S 等发现神经营养因子 3(neurotrophin-3, NT-3)使神经元中 NAIP-1 的表达上调,抑制了 β -淀粉样蛋白(β -amyloid protein, β -AP)介导的神经细胞凋亡。因此认为 NT-3 的表达量能代表 β -AP 依赖的神经细胞凋亡的数量,通过干预 NT-3 从而使 NAIP-1 的表达上调,减少 AD 中神经细胞凋亡。

2.3 CII TA 突变与 II 型裸淋巴细胞综合征 CII TA 突变可导致 II 型裸淋巴细胞综合征(type II bare lymphocyte syndrome, BLS)。BLS 是一种遗传性严重免疫缺陷病,为常染色体隐性遗传相关性疾病。此症十分罕见,其特征为 MHC II 类分子的基因表达缺陷。因为 MHC II 类分子是抗原递呈至 T 细胞及抗病原反应所必需的, MHC II 类分子提呈经过加工的抗原给 CD4⁺T 淋巴细胞,在诱发免疫反应中起重要作用, MHC II 类分子不正常表达会引起严重的免疫缺陷疾病。近来有人发现, MHC II 类基因缺陷并非因 MHC II 类基因本身异常,而是决定基因表达的调控子缺陷。实验发现这类患者的任何组织细胞上均不表达 MHC II 类分子,细胞内没有任何类型的 MHC II 类 mRNA,然而 MHC II 类分子的基因却并不缺失,提示 MHC II 类基因的表达异常与其表达调控异常有关,此病实际上是一种基因调节缺陷病。现已证实有两种分子在 MHC II 类基因表达中起重要作用,一种是 CII TA,另一种是促进子结合蛋白复合物,此复合物含有三类分子: RFX(X box binding complex), X2BP(protein binding to the X2 box)和 NF-Y(protein binding to the Y box),这些分子的缺陷将导致 MHC II 类抗原基因转录障碍,使抗原提呈细胞表面缺乏 MHC II 类抗原,导致 APC 细胞向 CD4⁺T 细胞提呈抗原的功能发生障碍,从而形成严重的免疫缺陷。

患者的 B 淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞均低表达或不表达 MHC II 类分子,导致抗原提呈过程受阻。MHC II 类分子也可表达于胸腺基质上皮细胞,若其表达异常将导致 T 细胞阳性选择障碍,影响 CD4⁺T 淋巴细胞分化,使患者体内 CD4⁺T 细胞数量明显偏低。B 淋巴细胞功能也可因 CD4⁺T 细胞功能缺陷而受累。多数 BLS 患者具有严重的免疫缺陷,表现为迟发型超敏反应能力低下,对 TD 抗原的抗体应答反应缺失,对各种微生物的易感性增高,甚至导致重症联合免疫缺陷病(severe combined immunodeficiency disease, SCID),患者出生 6mo 即出现发育障碍,在儿童早期就可死于病原体感染。

2.4 cryopyrin 突变与炎症综合征 编码 cryopyrin 的基因 CIAS1 突变可导致几种反复发作的炎症综合征, 这些常染色体显性疾病包括家族性冷自发性炎症综合征(familial cold autoinflammatory syndrome, FCAS), MW 综合征(Muckle-Wells syndrome, MWs)及新生儿发作的多系统炎症综合征(neonatal-onset multisystem inflammatory disease, NOMID)。

已发现 FCAS 和 MWs 与染色体 1q44 位点相关。FCAS 通常又称为家族性冷荨麻疹(FCU), 表现为暴露在寒冷环境后发生的周期性反复发作的皮疹(100%)、关节痛(96%)、发热(93%)及结膜炎(84%)。通常在出生后 6 mo 发病(95%), 平均每次发作持续 12 h。MWs 临床表现主要是反复发作非瘙痒性荨麻疹, 发生在婴儿期, 有时由于反复发作低热而导致虚弱。其病变主要体征位于关节(关节痛或关节炎)和/或眼睛(结膜炎), 其他病变有感觉神经性耳聋(多在青春期发作), 严重者可发生广泛性淀粉样变性。近来在 FCAS 家族和 MW 家族性疾病中分离出一个基因中的 4 种不同的突变, 这个基因称为 CIAS1, 在外周血白细胞中表达, 编码一个含 pyrin 区域的蛋白, 称为 cryopyrin, 后者具有一个核苷酸结合部位(NBS)和亮氨酸重复序列(LRR)区域。NOMID 也称为慢性婴儿神经、表皮、关节(chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome, CINCA)综合征, 其特征是发热、慢性脑膜炎、眼葡萄膜炎、感觉神经性耳聋、皮肤荨麻疹和特征性关节变形。在 50% 已确诊的 NOMID 综合征病例中发现有 CIAS1 突变, 这增加了遗传异质性的可能性。患有 FCAS, MWs 及 NOMID 患者 cryopyrin 的 NOD 发生错义突变, cryopyrin 基因突变可能导致 NF- κ B 激活失控, 从而引起 FCAS, MWs 及 NOMID。

对 NOD 功能及其基因突变的研究将会加速对某些遗传性疾病发病机制的了解, 并能大力促进 NOD 相关疾病治疗方案的改进和完善。

【参考文献】

- [1] Inohara N, Chamaillard M, McDonald C, et al. NOD-LRR proteins: role in host - microbial interactions and inflammatory disease[J]. *Annu Rev Biochem*, 2005, 74(pp) : 355 - 383.
- [2] Kobe B, Kajava AV. The leucine-rich repeat as a protein recognition motif[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2001, 11(pp) : 725 - 732.
- [3] Uehara A, Fujimoto Y, Fukase K, et al. Various human epithelial cells express functional Toll-like receptors, NOD1 and NOD2 to produce anti-microbial peptides, but not proinflammatory cytokines[J]. *Mol Immunol*, 2007, 44(12) : 3100 - 3111.
- [4] Albrecht M, Domingues FS, Schreiber S, et al. Structural localiza-

tion of disease-associated sequence variations in the NACHT and LRR domains of PYPAF1 and NOD2[J]. *FEBS Lett*, 2003, 554(pp) : 520 - 528.

- [5] Inohara N, Nunez G. NODS: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis[J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(5) : 371 - 382.
- [6] Rosenstiel P, Fantini M, Brautigam K, et al. TNF-alpha and IFN-gamma regulate the expression of the NOD2 (CARD15) gene in human intestinal epithelial cells[J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(pp) : 1001 - 1009.
- [7] Hisamatsu T, Suzuki M, Reinecker HC, et al. CARD15/NOD2 functions as an antibacterial factor in human intestinal epithelial cells[J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(pp) : 993 - 1000.
- [8] Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. A frame shift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease[J]. *Nature*, 2001, 411(6837) : 603 - 606.
- [9] Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease[J]. *Nature*, 2001, 411(6837) : 599 - 603.
- [10] Hampe J, Cuthbert A, Croucher PJ, et al. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations[J]. *Lancet*, 2001, 357(9272) : 1925 - 1928.
- [11] Bonen DK, Cho JH. Crohn's disease associated NOD2 variants share a signaling defect in response to lipopolysaccharide and peptidoglycan[J]. *Gastroenterology*, 2003, 124(2) : 521 - 536.
- [12] Miceli-Richard C, Lesage S, Rybojad M, et al. CARD15 mutations in Blau syndrome[J]. *Nat Genet*, 2001, 29(1) : 19 - 20.
- [13] Rosenstiel P, Hellmig S, Hampe J, et al. Influence of polymorphisms in the NOD1/CARD4 and NOD2/CARD15 genes on the clinical outcome of H. pylori infection[J]. *Cell Microbiol*, 2006, 8(pp) : 1188 - 1198.
- [14] Papaconstantinou I, Theodoropoulos G, Gazouli M, et al. Association between mutations in the CARD15/NOD2 gene and colorectal cancer in a Greek population[J]. *Cancer*, 2005, 114(pp) : 433 - 435.
- [15] Luo JL, Kamata H, Karin M. IKK/NF-kappaB signaling: Balancing life and death — a new approach to cancer therapy[J]. *Clin Invest*, 2005, 115(pp) : 2625 - 2632.
- [16] Zilfalil BA, Zabidi-Hussin AM, Watihayati MS, et al. Analysis of the survival motor neuron and neuronal apoptosis inhibitory protein genes in Malay patients with spinal muscular atrophy[J]. *Med J Malaysia*, 2004, 59(4) : 512 - 514.