

RIP2 的研究进展

蔡 欣 苏 航 徐东刚

受体相互作用蛋白(receptor-interacting protein, RIP)2 属于 RIP 家族成员,在多种组织中均有分布。最初研究发现 RIP2 是 Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs)及 NOD 样受体(NOD-like receptors, NLRs)信号通路的下游因子,通过激活 NF- κ B,及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)信号途径在固有免疫、适应性免疫和炎症反应中发挥重要作用,是固有免疫和适应性免疫信号途径的重要衔接分子。但最近研究证实 RIP2 介导固有性免疫反应不通过 TLRs。此外,RIP2 也显示直接与 T 细胞受体(T-cell receptor, TCR)复合物相互作用转导信号。本文就 RIP2 在固有免疫和适应性免疫反应以及相关疾病中的研究进展进行综述。

一、RIP2 的结构与功能

RIP 与肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)家族成员蛋白的胞外域相作用并且介导下游信号,主要介导核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)和诱导凋亡。迄今为止,有 7 个已知的 RIP 家族成员(RIP1~7)被发现。它们在 N 末端激酶域具有显著相似性,但在 C 末端具有结构差异^[1]。

RIP2 也称为 RICK 或 CARDIAK,是一个丝/苏氨酸蛋白激酶属于 RIP 家族成员之一,最初在 1998 年由 3 个独立的研究小组筛选 RIP 和 CARD 同源蛋白时发现的^[1]。人 RIP2 编码 541 个蛋白残基,表达 61kDa 蛋白,位于染色体 8q21。RIP2 分布于胞质内,在组织表达广泛,其 mRNA 高表达于脾、外周血白细胞、胎盘、睾丸和心脏中^[2]。RIP2 在其 N 末端含有一个信号转导途径中关键的丝/苏氨酸激酶结构域,该结构域可调控自身磷酸化,稳定 RIP2 的表达。随后连接的是中间结构域,位于中间结构域的 293~319 氨基酸与 NF- κ B 必须调节子(NF- κ B essential

modulator, NEMO)具有相互作用,在 RIP2 介导的 NF- κ B 活化中起到重要作用^[3]。通过中间结构域 RIP2 连接其 C 末端,C 末端含胱冬酶募集结构域(caspase activation and recruitment domain, CARD),该结构域是一个同源相互作用结构域,主要介导嗜同种蛋白-蛋白相互作用。RIP2 的结构决定了它可与多种蛋白相互作用,发挥其生理功能。RIP2 可参与多条细胞内信号通路的信号传递,研究表明 RIP2 可与 TRAF 家族成员 TRAF1、TRAF5、TRAF6 特异性地结合,并可募集至多种受体信号复合物包括肿瘤坏死受体 1(TNF-R1)、CD40、Toll 样受体 2(TLR2)和 NOD 样受体^[2,4]。

许多研究发现当感染细菌及病毒时,RIP2 可介导 NF- κ B 的激活并引起炎症反应,在清除福氏志贺菌及防御胞外病原如大肠杆菌、沙门菌和结核分支杆菌方面,RIP2 在固有免疫反应中起到清除胞外细菌的作用^[5]。在乳腺癌 MCF-7 细胞中,过表达的 RIP2 通过其 CARD 结构域诱导 MCF-7 细胞凋亡^[2]。最近研究发现肌细胞及横纹肌肉瘤细胞的分化缺失或不完全分化与 RIP2 过表达相关,敲低 RIP2 在肌细胞 C2C12 和横纹肌肉瘤细胞 RD/18 中的表达则可以促进细胞的分化和抑制增殖,表明 RIP2 对肌细胞及横纹肌肉瘤细胞增殖和分化具有重要调节作用^[6,7]。此外,Adam 等^[8]研究证实 RIP2 是角化细胞增殖刺激因子,表皮细胞生长因子 EGF 和前炎性细胞因子 TNF- α 能有效地诱导 RIP2 在角化细胞中的表达;而与之相反,地塞米松则抑制 RIP2 在损伤的角化细胞中的表达,并减少和延缓表皮细胞分化和阻断划伤愈合,这提示在糖皮质激素处理的患者中,伤口愈合延缓和表皮细胞再生数量减少与抑制 RIP2 的表达相关;同时研究也发现在角化细胞分化过程中 RIP2 基因表达受到调控,细胞分化早期 RIP2 表达下调,但在细胞分化晚期则被诱导高表达;这些资料表明 RIP2 无论是作为角化细胞增殖或是分化、迁移的调节子,在伤口愈合过程中都起到重要作用。

基金资助:国家自然科学基金资助项目(81001175,81071928,81071945)

作者单位:100850 北京,军事医学科学院基础医学研究所

通讯作者:苏航,电子信箱:suhang_lr@sohu.com;徐东刚,电子信箱:xudg@nic.bmi.ac.cn

二、RIP2 与固有免疫反应

固有免疫是机体免疫系统直接抵御病原体入侵的最初阶段,通过机体自身的特异性模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRRs)识别病原体特有的保守结构,即病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, RAMPs),在宿主防御病原体侵袭中起到重要作用。而在模式识别受体中,Toll样受体(toll-like receptors, TLR)是目前研究最清楚的作为胞外的模式识别受体,此外 NOD 样受体(nucleotide binding oligomerization domain-like receptors, NLR)是近年来已被证实为胞内的模式识别受体。

TLR 胞膜外区富含亮氨酸重复序列,能识别广泛存在于病原体细胞表面的分子标志;胞质区与 IL-1 受体同源,称为 Toll/IL-1 抗性区(Toll/interleukin-1 resistant domain, TIR),介导信号转导。目前确定的 TLR 共有 11 种(TLR1~TLR11),其配体各不相同,范围极其广泛^[9]。最初应用 RIP2 基因敲除鼠的研究发现 RIP2 是 TLR 信号通路的下游因子,介导 TLR2、TLR3 和 TLR4 引起的级联反应^[10]。但 Park 等^[11]最近研究发现,在 RIP2 基因敲除鼠以及从 RIP2 基因敲除鼠体内分离的缺失 RIP2 的巨噬细胞对于 NOD1 和 NOD2 激动剂不反应,而对于合成和高度纯化的 TLR 激动剂呈现完好的反应;虽然髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)是 TLR 信号转导通路中的一个关键调节分子,但在 MyD88 缺陷鼠用 Nod1 激动剂对趋化因子的诱导产生没有影响,而在 RIP2 基因敲除鼠中 Nod1 激动剂诱导趋化因子的产生被阻断,因此证实 RIP2 在固有免疫的功能是通过 NOD1 和 NOD2 信号介导的,而不依赖于 TLR 信号。此外,研究也发现虽然 RIP2 和 TLR 信号途径是不依赖的,但当它们特异的细菌刺激子数量有限时,对于最佳的免疫反应起到交互作用。RIP2 和 TLR 信号功能的交互作用是发现在低剂量热灭活的利斯塔菌(heat-killed *Listeria monocytogenes*, HKLM)作用下,RIP2 对于诱导细胞因子的产生有显著作用。目前对于 RIP2 和 TLR 间交互作用的分子机制还不清楚,但可能是由于关键的信号分子的交叉诱导引起的^[11]。

NLR 属于胞内模式识别受体,由 N 端的效应域,中间的寡聚域和 C 端富含亮氨酸的重复序列(LRR)3 个部分组成。根据效应域的不同 NLR 分为 3 类,其中 N 端含有 CARD 结构域属于 NOD 蛋白。NOD 蛋白可以识别细菌细胞壁成分——细菌肽聚糖(pepti-

doglycan, PGN),活化 NF- κ B,参与固有免疫应答并诱导炎症反应。其中最有代表性的是 NOD1 和 NOD2。目前发现 NOD1 识别大多数格兰阴性细菌和某些格兰阳性细菌 PGN 上含有 meso-二胺基庚二酸(meso-DAP)的胞壁酰肽,而 NOD2 识别在所有细菌 PGN 上所产生的胞壁酰二肽(MDP)^[12]。在微环境条件下,NOD1 和 NOD2 识别细菌 PGN 后与下游接头蛋白 RIP2 通过 CARD-CARD 相互作用,进一步 NOD1-RIP2 或 NOD2-RIP2 的复合物募集到 NF- κ B 激酶(IKK)复合物的抑制子上,从而激活 NF- κ B 和 MAPK,引发炎症反应,导致细胞因子、趋化因子和抗微生物肽产生^[3,11]。而最近研究发现抑制 RIP2 的 Tyr 474(Y474)络氨酸磷酸化则降低 MDP 诱导的 TNF- α 表达水平,抑制 NOD2 驱动细胞因子反应^[13]。提示 RIP2 的络氨酸激酶活性可能是炎症性疾病的治疗靶点。

三、RIP2 与适应性免疫反应

1. RIP2 与 NOD 介导的适应性免疫反应:NLRs 参与机体的固有免疫反应,同时通过抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC),包括巨噬细胞和树突状细胞(dendritic cells, DCs)等又连接了适应性免疫反应。研究表明,NOD1 和 NOD2 能够与 TLR 协同促进 DCs 表面 CD80、CD86 和 CD40 的表达,也能协同促进 IL-12 的产生和 T 细胞的分化发育,尤其促进 CD4⁺T 细胞分化成 T 辅助细胞亚型(TH)17 和调节 Th1、Th2 和 Th17 参与的细胞免疫反应。另外,NOD2 能够协同免疫细胞刺激机体产生免疫球蛋白 1(immunoglobulin 1, IgG1)和提高 Th1、Th2 的免疫功能,致使 MDP 作为一个有效的佐剂^[12]。最近研究也显示用 NOD1 或 NOD2 配体刺激引起机体产生 Th2 依赖的抗原特异的适应性免疫反应^[14]。这些研究均表明 NOD1 和 NOD2 在促进机体产生适应性免疫过程中发挥着重要作用。

虽然 RIP2 在 NOD 蛋白介导的固有免疫中的作用是明确的,但其最初在 NOD 信号介导的适应性免疫反应中的作用是有争议的。一些研究表明在 NOD 信号介导的适应性免疫中,是以不依赖 RIP2 的方式发生的:如 Shaw 等^[15]在宿主观察到 NOD2 但不是 RIP2,通过 CD4⁺T 细胞参与机制防御腹膜内鼠弓形虫攻击;Travassos 等^[16]证实 NOD 诱导的细菌自噬是不依赖于 RIP2,而是需要 NOD 蛋白和自噬蛋白 ATG16L1 的直接相互作用;虽然研究表明在这些 NOD 信号介导的适应性免疫反应中,是以不依赖

RIP2 的方式发生,但最近 Joao 等的研究提供了有力的证据表明 RIP2 不仅在固有而且在适应性免疫中对 NOD1 和 NOD2 介导的炎症反应起到重要作用。Joao 等通过 RIP2 缺陷鼠模型研究证实 RIP2 不仅参与 NOD 激活引起的巨噬细胞活化和嗜中性粒细胞募集,而且 NOD1 和 NOD2 激活在体内引起 CD11c^{int} CD11b⁺ 炎性树突细胞激活过程是依赖于 RIP2 的。此外,Nod1 和 Nod2 激活以 RIP2 依赖的方式引起 Th 细胞向 Th2 极化的免疫应答反应及 IgG1 的产生^[12]。这表明 RIP2 在 NOD1 和 NOD2 介导的适应性免疫反应中具有重要作用。

2. RIP2 参与 T 细胞受体信号:与固有免疫比较,适应性免疫主要由特异分化的淋巴细胞或淋巴样细胞介导,这些淋巴细胞发展出高度多态的抗原识别受体,具有更多样的抗原识别能力、更复杂的调控策略和显著的免疫记忆能力。而抗原识别受体的多样化是在体细胞分化成熟过程中通过 DNA 水平上的基因重排来实现的。目前所知的抗原识别模式有两种:一种是借助 B 细胞产生的免疫球蛋白和 T 细胞产生的 TCR;另一种是可变性淋巴细胞受体(variable lymphocyte receptor, VLR)^[17]。

TCR 是 T 细胞表面能够特异性识别抗原和介导免疫应答的分子,是免疫球蛋白超家族的成员之一。当机体受到肿瘤抗原刺激时,由 TCR 对 APC 呈递的靶细胞表面抗原肽主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MSH)复合物进行认知来识别抗原。T 细胞受体引发的信号级联最终激活转录因子 NF- κ B,调节许多 T 细胞功能包括增殖,分化和细胞因子产生。Kobayashi 等发现 RIP2 缺陷的 T 细胞 NF- κ B 的激活明显减弱,CD4⁺ T 细胞中 IL-2 的产生和 CD4⁺ T 细胞的增殖减少,以及 TH1 细胞的分化缺陷,表明 RIP2 在优化 TCR 信号和 T 细胞分化中起到重要作用,是 TCR 介导的适应性免疫反应的信号整合子。另外,Astrid 等研究发现 RIP2 与 TCR 结合后,与 TCR 诱导的 NF- κ B 的信号途径中 1 个含有 CARD 的信号组分-Bcl-10 通过 CARD 域发生相互作用,并诱导 Bcl-10 磷酸化,从而增强 TCR 诱导的 NF- κ B 激活及 IL-2 产生;而在 RIP2 缺陷鼠呈现的 T 细胞增殖及功能缺陷,以及不反应于 TCR 诱导的 NF- κ B 激活也均与缺少 TCR 诱导的 Bcl-10 磷酸化相关,表明 RIP2 诱导的 Bcl-10 的磷酸化在衔接 TCR 和 IKK 信号复合物中发挥重要作用。

四、RIP2 与相关疾病

RIP2 的 1 个显著特征是其表达在转录水平以细胞特异的,时间依赖的方式被调控。RIP2 的表达增加反应于细胞特异的刺激,包括细菌的肽聚糖和脂多糖。而在病理条件下 RIP2 的表达也发生上调,Kalkoff 等发现在败血症病人外周血白细胞中 RIP2 基因的表达比正常人升高 1.8 倍;而 RIP2 的高表达调控 caspase-1 的异常活化也是介导霍奇金病的发病机制之一;此外,在阿尔茨海默病和唐氏综合征中细胞凋亡与 RIP2 的高表达引起的死亡受体途径有关,因此针对这些疾病的 RIP2 靶向治疗有望在临床治疗中使患者受益。另一些研究揭示 RIP2 与自身免疫疾病相关。克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种胃肠道紊乱的自身免疫炎症性疾病,CD 患者显示升高的 NF- κ B 活性,促炎性和抗炎性细胞因子信号网络失调的临床特征。而 Hollenbach 等发现在三硝基苯磺酸诱导的克罗恩病的鼠模型中通过 p38MAPK 抑制剂 SB203580 治疗,可以抑制 RIP2 的表达,下调 p38 和 NF- κ B 活性,并且肠道炎症反应减退,临床症状好转。进一步提示抑制 NOD/RIP2 信号途径将是治疗克罗恩疾病的新靶点。此外,对 RIP2 基因多态性分析研究揭示 RIP2 的基因多态性与多种疾病的易感性密切相关。在日本儿童变异性哮喘研究中,Nakashima 等发现 RIP2 基因启动子区单核苷酸多态性(SNPs) -980T/G 与儿童变异性哮喘的病情进展相关。Zhang 等通过全基因组研究也证实 RIP2 是麻风病的易感基因, RIP2 SNPs rs42490 G/A、RIP2 SNPs rs40457 A/G 与麻风病感染状态相关。而 Li 等在系统性红斑狼疮的易感性研究中,发现 RIP2 在 SNPs rs16900617 和 SNPs rs16900627 的 G 等位基因频率分别与中国人群患系统性红斑狼疮的易感性相关。然而 RIP2 基因多态性是如何在这些疾病的易感性中发挥作用的尚未完全清楚,其参与的精确的作用机制还有待于进一步研究。

五、结 语

RIP2 在固有免疫、适应性免疫和炎症反应中起重要作用,并参与多种疾病发生。尤其在 NOD/RIP2 信号途径中,RIP2 作为其下游因子引起宿主适当的免疫反应,而过于强烈的炎症反应则引起炎症性疾病,因此通过抑制 RIP2 调节免疫反应将减少炎症因子的释放,缓解炎症反应,将为炎症性疾病治疗提供新的策略。此外,关于 RIP2 的生物学功能及在相关疾病中的作用机制还有待于进一步深入研究,以期为

临床相关疾病的预防和治疗开辟新的道路。

参考文献

- Meylan E, Tschopp J. The RIP kinases; crucial integrators of cellular stress [J]. Trends Biochem Sci, 2005, 30 (3): 151 - 159
- McCarthy JV, Ni J, Dixit VM. RIP2 is a novel NF - kappaB activating and cell death - inducing kinase [J]. J Biol Chem, 1998, 273 (27): 16968 - 16975
- Hasegawa M, Fujimoto Y, Lucas PC, *et al.* A critical role of RICK/RIP2 polyubiquitination in Nod - induced NF - kB activation [J]. J EMBO, 2008, 27 (2): 373 - 383
- Strober W, Murray PJ, Kitani A, *et al.* Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2 [J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6 (1): 9 - 21
- Yang Y, Yin C, Pandey A, *et al.* NOD pathway activation by MDP or *Mycobacterium tuberculosis* infection involves the stable polyubiquitination of RIP2 [J]. J Biol Chem, 2007, 282 (50): 36223 - 36229
- Ehlers S, Mueck T, Adams S, *et al.* RIP2 regulates growth and differentiation of normal myoblasts and of rhabdomyosarcoma cells [J]. Eur J Cell Biol, 2008, 87(3): 163 - 172
- Munz B, Hildt E, Springer ML, *et al.* RIP2, a checkpoint in myogenic differentiation, [J] Mol Cell Biol, 2002, 22 (16): 5879 - 5886
- Adams S, Valchanova RS, Munz B. RIP2: A novel player in the regulation of keratinocyte proliferation and cutaneous wound repair? [J]. Exp Cell Res, 2010, 316 (5): 728 - 736
- O'Neill L. Immunology after the Toll rush [J]. Science, 2004, 303 (5663): 14812 - 14821
- Chin AI, Dempsey PW, Bruhn K, *et al.* Involvement of receptor - interacting protein 2 in innate and adaptive immune responses [J]. Nature, 2002, 416 (6877): 190 - 194
- Park JH, KimYG, McDonald C, *et al.* RICK/RIP2 mediates innate immune responses induced through Nod1 and Nod2 but not TLRs [J]. J Immunol, 2007, 178 (4): 2380 - 2386
- Hasegawa M, Fujimoto Y, Lucas PC, *et al.* A critical role of RICK/RIP2 polyubiquitination in Nod - induced NF - kB activation [J]. J EMBO, 2008, 27 (2): 373 - 383
- Tigno - Aranjuez JT, Asara JM, Abbott DW. Inhibition of RIP2's tyrosine kinase activity limits NOD2 - driven cytokine responses [J]. Genes Dev, 2010, 24 (23): 2666 - 2677
- Fritz JH, Ferrero RL, Philpott DJ, *et al.* Nod - like proteins in immunity, inflammation and disease [J]. Nat Immunol, 2006, 7 (12): 1250 - 1257
- Shaw MH, Reimer T, Sanchez - Valdepenas C, *et al.* T cell - intrinsic role of Nod2 in promoting type 1 immunity to *Toxoplasma gondii* [J]. Nat Immunol, 2009, 10 (12): 1267 - 1274
- Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M, *et al.* Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry [J]. Nat Immunol, 2010, 11(1): 55 - 62
- Han BW, Herrin BR, Cooper MD, *et al.* Antigen recognition by variable lymphocyte receptors [J]. Science, 2008, 321 (5897): 1834 - 1837

(收稿:2012 - 04 - 28)

(修回:2012 - 05 - 22)

垂体瘤术后生长激素缺乏症

谢 昊 蒋琬岚 邓 侃 姚 勇 王任直

生长激素(human growth hormone, HGH/GH)是腺垂体分泌的重要激素,对儿童而言,生长激素不可缺少,成人同样需要生长激素来维持体内正常的脂肪、肌肉、骨骼含量及能量平衡。若垂体手术后患者无法足量分泌 GH 时,其体内多个系统、器官就会产生相应的变化,影响机体正常生理功能,这样的情况称为生长激素缺乏症(growth hormone deficiency, GHD)。本文就垂体术后生长激素缺乏对成年患者的影响作出如下综述。

一、生长激素的生理作用

生长激素是垂体细胞合成并分泌的一种肽类激

素,生理状态下受下丘脑分泌的生长激素释放素的调节,呈脉冲式分泌,其分泌还存在着性别、年龄及昼夜的差别,青春期、睡眠状态时 HGH 的分泌量明显增加。

生长激素主要通过胰岛素样生长因子(insulin - like growth factors - 1, IGF - 1)发挥生理作用,IGF - 1 是生长激素经肝脏代谢后,产生的一种结构与胰岛素类似的多肽蛋白,其具体作用可以分成两部分:

1. 促进机体生长:IGF - 1 是机体重要的细胞有丝分裂促进剂,能促使氨基酸进入细胞,加强 DNA、RNA 的合成,加速机体组织细胞的分裂增殖和蛋白质的合成,促进组织的生长发育,尤其是骨、软骨及肌肉等软组织,从而使躯体增高、发育。

2. 影响三大代谢:IGF - 1 能促进蛋白质的合成,增强对重要微量元素的摄取与利用;此外,IGF - 1 有

作者单位:100730 中国医学科学院/北京协和医学院北京协和医院神经外科

通讯作者:姚勇,电子信箱:freetigeryao@yahoo.com.cn