

- 3 Bá Vu'o'ng Lê, Hafida KC, Anne - Sophie V, *et al.* New rat models of iron sucrose - induced iron overload[J]. *Experimental Biology and Medicine*,2011,236:790 - 799
- 4 Rhitajit S, Bibhabasu H, Nripendranath M. Hepatoprotective potential of caesalpinia crista against iron - overload - induced liver toxicity in mice[J]. *Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine*,2012,2012:896341
- 5 Zhang Y, Huang Y, Deng XR, *et al.* Iron overload - induced rat liver injury: Involvement of protein tyrosine nitration and the effect of baicalin[J]. *European Journal of Pharmacology*,2012,680(2012) 95 - 101
- 6 Lu NH, Li XL, L JY, *et al.* Nitrate and oxidative modifications of enolase are associated with iron in iron - overload rats and in vitro [J]. *J Biol Inorg Chem*,2011,16:481 - 490
- 7 Maya OD, Casey B, Ignacio G, *et al.* Safety and efficacy of combined chelation therapy with deferasirox and deferoxamine in a gerbil model of iron overload[J]. *Acta Haematol*,2008,120(2):123 - 128
- 8 Karey D, McCullough, MScN, *et al.* The dose - dependent effects of chronic iron overload on the production of oxygen free radicals and vitamin E concentrations in the liver of a murine model[J]. *Biol Res Nurs*,2007,8(4):300 - 303
- 9 Christelle P, Bruno T, Theodore CI, *et al.* Carbonyl - iron supplementation induces hepatocyte nuclear changes in BALBKJ male mice[J]. *Journal of Hepatology*,1999,30: 926 - 934
- 10 Beatrice A, Benedetta L, Giuseppe L, *et al.* Iron overload enhances the development of experimental liver cirrhosis in mice[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*,2003,35 (2003) :486 - 495
- 11 Emilie C, Emmanuelle A, Nadia F, *et al.* Hephidin induction limits mobilisation of splenic iron in a mouse model of secondary iron overload[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*,2010,1802 (2010) :339 - 346
- 12 Santos M, Schilham MW, Rademakers LHPM, *et al.*, Clevers H: Defective iron homeostasis in $\beta 2$ - microglobulin knockout mice recapitulates hereditary hemochromatosis in man[J]. *J Exp Med* 1996, 184: 1975 - 1985
- 13 Andriopoulos BJ, Corradini E, Xia Y, *et al.* BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism [J]. *Nat Genet*,2009,41:482 - 487
- 14 Meynard D, Kautz L, Darnaud V, *et al.* Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload [J]. *Nat Genet*. 2009,41(4) :478 - 481
- 15 Majda H, Song, Natalie W, *et al.* Bmp6 regulates retinal iron homeostasis and has altered expression in age - related macular degeneration [J]. *The American Journal of Pathology*, 2011,179(1) :335 - 347
- 16 姜晨辉,何欢,王飞,等. 阿魏酸钠对小鼠铁过载性心脏损伤的作用[J]. *南昌大学学报*,2012,52(9) :14 - 18
- 17 Cathew P, Dorman BM, Edward RE, *et al.* A unique rodent model for both cardiotoxic and hepatotoxic effects of prolonged iron overload[J]. *Laboratory Investigations*,1993,69,217 - 222

(收稿日期:2013 - 10 - 31)

(修回日期:2013 - 11 - 25)

内质网氨肽酶与银屑病研究进展

冯燕艳 普雄明

[中图分类号] R751

[文献标识码] A

内质网氨肽酶 1 (ERAP1) 及其异构体内质网氨肽酶 2 (ERAP2) 都属于锌指金属基质肽酶 M1 家族中的“缩宫素酶亚家族”,在人类细胞均由 IFN - γ 和 TNF - α 诱导表达^[1,2]。参与许多生化过程:在细胞内质网中参与内源性抗原肽的修饰及递呈,被认为是内质网中参与内源性抗原肽修饰的关键酶^[3]。ERAP1 还参与细胞因子受体(如促进肿瘤坏死因子受体 1(TNFR1),IL - 6 α 受体和 IL - 1 β 受体胞外结构域)的脱落,使之成为可溶性受体。基于多功能的特性,

ERAP1 又被称为:内质网相关的氨肽酶抗原处理 (ERAAP),脂肪细胞源性的亮氨酸 minopeptidase (A - LAP),氨肽酶调节 TNFR1 脱落 (ARTS - 1) 和嘌呤霉素不敏感的亮氨酸氨肽酶 (PILS - AP),而 ERAP2 特定被称为白细胞衍生的精氨酸氨肽酶 (LRAP)。

一、ERAPs 结构及功能

1. ERAP1 和 ERAP2 基因:ERAP1 基因位于 5q15,序列全长约 47kb,共有 20 个外显子。ERAP2 基因位于染色体 5q15 上 ERAP1 和亮氨酸 - 胱氨酸氨肽酶基因之间,包含 19 个外显子,约 43kb。ERAP1 基因和 ERAP2 基因结构相似,6 号外显子都包括特

基金项目:新疆维吾尔自治区人民医院内科科研项目(20130111)

作者单位:830001 乌鲁木齐,新疆维吾尔自治区人民医院皮肤科

通讯作者:冯燕艳,电子信箱:fymed@163.com

征性的锌蛋白结合基序 HEXXH(X)18E 和决定 gluz-incin 氨基转肽酶活性的 GAMEN 基序,以及 7 号外显子的谷氨酸。ERAP1 基因有 2 个的异构体(较长的 ERAP1-a 和较短的 ERAP1-b),其区别主要在 20 号外显子的不同,在人体细胞中 ERAP1-bmRNA 的含量较 ERAP1-a 更多^[4]。ERAP2 基因的 19 号外显子中包含 47 个氨基酸的编码序列,终止密码子和 3'UTR 区域;10 号外显子 5'的剪接位点内的 SNP rs2248374 不同(A 到 G)可形成不同变种,主要等位基因 A 的杂合子 AG 和纯合子 AA 都表达 ERAP2 蛋白,而最小等位基因 G 的纯合子不能表达 ERAP2 蛋白,影响 MHC-I 类抗原递呈^[5]。

ERAP1 基因具有高度多态性及强连锁不平衡性。近期的 GWAS 研究证实了多个 ERAP1 SNPs 变异与高血压和多种的人类疾病有关。推测这些变异导致的生物学功能的潜在影响可能与 ERAP1 结构的位置有关:rs2287987 (M349V) 位于活性位置,rs17482078 (R725Q) 和 rs27044 (Q730E) 位于 C 端空腔的内部表面可能影响底物序列或特异性长度。Rs26653 (R127P), rs30187 (K528R) 和 rs10050860 (D575N) 位于连接区域能够通过依次改变开放和关闭结构而间接影响酶的特异性和活性。Rs30187 和 rs27044 也在人群中被证实与许多疾病有关。这些多态性可以引起氨肽酶对合成肽底物和几个抗原前体肽的活性明显减低。ERAP2 基因也具有多态性,rs17408150 (N392K) 位于催化位点非常近,并与一些重要的催化残基相互作用^[6]。

2. ERAPs 蛋白结构:ERAP1 蛋白有 3 种晶体结构,都包括 1 个大的开放的结构,形成内部较大的空腔用以容纳多种较长的抗原肽前体,在催化和调控位点结合的长肽底物,可以诱导晶体构象重排,导致酶的激活或进行有效的微调^[7]。ERAP2 的晶体结构与 ERAP1 的主要结构有 49% 的相似^[8]。其晶体结构的不同决定两种酶不同的生物学作用。关键的变化体现在 S1 口袋,ERAP1 蛋白的 Q181 和 ERAP2 的 D198 导致了两种酶在 MHC I 类抗原递呈活性和底物特异性的差异。ERAP1 优先水解疏水残基(亮氨酸和异亮氨酸),而 ERAP2 显示偏好碱性氨基酸残基(精氨酸和赖氨酸)。将 ERAP1 的 Q181 替换为 D,可导致底物特异性明显改变,因为 Q181D ERAP1 更优先选择碱性氨基酸^[9]。

3. ERAPs 在 MHC I 抗原肽递呈中的作用:在细胞质中,蛋白水解酶将内源性蛋白质分解产生具有抗

原位点的肽段,被抗原递呈蛋白相关转录因子(TAP1 和 TAP2)转运至内质网中并由 ERAP 水解到能结合到 MHC I 类分子所需要的长度,并将其递呈于细胞表面供 CD8⁺T 细胞和自然杀伤(NK)识别。而对 8 个氨基酸残基的抗原肽则无作用。由于 TAP1 和 TAP2 传递的抗原肽往往超过 MHCI 类分子结合的合适的长度,ERAPs 对抗原肽的修剪在其递呈中很关键。

研究发现小鼠体内 ERAP1 的缺失或抑制会扰乱 MHC I 类抗原肽的递呈,质谱分析显示 ERAP1 缺乏小鼠 MHC I 类分子递呈的内源性肽长度明显增加,证实了 ER 肽修剪决定了 MHC I 类分子递呈的抗原肽的成分和结构^[10]。

肿瘤细胞 ERAP1 表达的下调或缺失,与肿瘤细胞膜表面 MHC I 类分子表达下调或丢失存在显著关联性,可能通过改变肿瘤细胞相关抗原肽的加工处理与递呈功能,致使机体免疫应答降低。部分肿瘤细胞内高表达 ERAP1,但酶活性明显下降,推测可能与其异常的翻译后修饰有关,而 ERAP1 的高表达可使肿瘤内的血管密度减少,在抑制肿瘤血管生成方面起着重要的作用。

4. ERAP1 和细胞脱落:ERAP1 参与包括肿瘤坏死因子受体 1(TNFR1), IL-6R α 和 IL-1R II 等细胞因子表面受体裂解过程。ERAP1 可与人内皮细胞和上皮细胞表面的 TNFR1 区域结合促进其受体的脱落,免疫印记法显示了 ERAP1 和膜相关性 TNFR I 表达呈负相关,抑制 ERAP1 可以减少 TNFR1 的脱落,ERAP1 高表达的的细胞培养的上清液显示了可溶解的 TNFR1 水平。尽管 ERAP1 表达的变化与 TNFR1 脱落呈正比,但其并不直接催化 TNFR1 胞外区的脱落,而是辅助其他金属蛋白酶在 TNFR1 脱落中起作用。ERAP1 不能作为真正意义上的裂解酶,ERAP1 必须与核蛋白(nucleobindin 2)和 RBMX(RNA-结合基序基因,43kDa 的异质性胞核核糖核蛋白)结合成一复合体,调节 TNFR1 外来体状囊泡的结构的释放和 IL-1 β 介导的可诱导的 TNFR1 的胞外区蛋白裂解。相似的,ERAP1 也可促进 IL-6R 和 IL-1R II 的裂解,ERAP1 通过调节 3 种不同类型细胞因子受体超家族的脱落,在调节天然免疫和炎症反应方面发挥重要作用。

二、ERAPs 与银屑病相关性研究

银屑病是一种常见的表皮过度增生的慢性复发性炎症性皮肤病,属于遗传和环境因素共同作用的多

因素疾病,本病有种族差异,白种人发病率较高,可达 2%~5%,非洲及亚洲群体的发病率较低^[11]。由种族因素影响银屑病的发病差异的具体作用机制尚不是很清楚,但不同种族间的差异主要还是体现在遗传素质的不同,因此,一定程度上可以认为遗传异质性是影响银屑病发病率的一个重要因素^[12]。GWAS 研究通过大样本量证实了与多种疾病相关的候选易感基因和遗传位点。近期 GWAS 报道进行深入分析得出 ERAPs SNP 与一些自身免疫性疾病相关并在随后的病例对照研究中得以验证。

银屑病是典型的常见的包括天然免疫系统和复杂的遗传背景的炎症性皮肤病,可能合并关节炎。其影响到全世界人口的 3%,有相当大的种族差异。以前的连锁分析和关联分析研究鉴定 MHC 区域的 HLA-C 是最可能的候选基因。GWAS 除 HLA-C 外,还鉴定出一些非 MHC 位点,与 CD8⁺ T 淋巴细胞相关的 ERAP1 在多个种族不同人群中均显示与银屑病发病相关^[13,14]。

Sun 等^[13]在前期 GWAS 研究基础上,开展多中心,大样本量的国际合作(中国:21231 例;欧美:7481 例),合并了中国汉族人群样本对 ERAP1 基因(rs151823, $P = 9.32 \times 10^{-9}$, OR = 0.89)位点进行基因分型,分析结果显示该位点等位基因频率在病例组较对照组低,之间的差异也具有统计学意义。而在新疆维吾尔族人群中研究发现,相对汉族人群,该位点等位基因频率在病例组较对照组更低($P = 2.92 \times 10^{-5}$, OR = 0.69),而该位点在德国、美国核心家系和散发病例中均未发现明显差异。随后崔婧等^[15]选取 7717 例银屑病患者和 11831 例正常对照的 ERAP1 基因多态性 rs151823 位点的基因分型资料,采用 χ^2 检验比较各组间基因型和等位基因频率的分布差异,结果显示 ERAP1 基因多态性 rs151823 位点基因型和等位基因频率分布差异在病例组和对照组、早发患者和晚发患者间差异有统计学意义,在家族史阳性患者和家族史阴性患者、急性点滴型患者和慢性斑块型患者间的分布差异均无统计学意义。

牛津大学的 Strange 等^[14]在对合并后病例:对照 = 6523:10639 的欧洲人群银屑病 GWASs 研究中,亦发现 ERAP1 和银屑病的相关性(rs27524, $P_{\text{combined}} = 2.56 \times 10^{-11}$)。而且,通过 Logistic 回归分析发现,该基因和 HLA-C 在统计学上有交互作用。ERAP1 的变异只影响那些携带 HLA-C 危险等位基因的人群对银屑病的易感性。Yang 等^[16]在 379 例汉

族银屑病,595 例关节形银屑病及 1181 例健康对照组通过 MassARRAY 平台进行基因分型,结果显示,与健康对照组相比,rs27524 在寻常型银屑病组及关节型银屑病组均显示出差异($P < 0.05$)。

Lysell 等^[17]在银屑病人群中验证了 MHC 和既往曾报道过的与 AS 相关的 ERAP1 的 SNP(rs26653, rs27524)、与硬皮病相关的 SNP(rs30187)。在将年龄细化分层分析时,发现和对照组相比,当发病年龄在 10~20 组,rs26653 与银屑病相关性最强(OR = 1.59, $P = 0.000$),而在低于 10 岁的患病组则无明显相关性。而且在进行分析时也未发现 ERAP1 rs26653 和 HLA-C*0602 的相互作用。Bergboer 等^[18]在小样本荷兰银屑病患者中发现,ERAP1 与幼年发病的银屑病相关(rs27524, $P = 0.042$)。但也有相反结果,Hinks 等^[19]在发现 ERAP1 与关节痛相关的肌腱骨止点炎症、青少年特发性关节炎有关,而 IL23 基因则与幼年发生的关节性银屑病相关。提示了这些疾病在发病机制上的不同。Julià 等^[20]也在单纯皮肤损害的银屑病患者人群中发现 ERAP1 和 HLA-C 的交互作用。ERAP1 基因的不同变异可导致递呈给 MHC I 类分子的抗原肽的种类发生变化,可导致复杂表型疾病(如银屑病)的不同临床表型。

大多数与多因素疾病相关的 SNP 仅仅能改变疾病发病的归因危险度。大多数鉴定的 SNP 可能位于基因组的非编码区,因而在疾病发展中的致病作用可能来自于蛋白水平的剪接作用或在特定细胞类型上的转录作用。在特定疾病中,ERAP SNPs 与 MHC I 类分子相关,基因-基因间的交互作用支持 ERAPs 在自身免疫性疾病发病中起作用。然而,ERAP 相关 SNPs 如何影响疾病发病机制(包括诊断和相应检查方面的价值)目前仍不知晓。在自身免疫性疾病研究中,选择合适的生物系统和实验动物模型上广泛地研究来展示 ERAPs SNP 位点与疾病的易感性等方面的作用是未来研究的目标。

参考文献

- 1 Tsujimoto M, Hattori A. The oxytocinase subfamily of M1 aminopeptidases[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1751(1): 9-18
- 2 Forloni M, Albini S, Limongi MZ, et al. NF- κ B, and not MYC, regulates MHC class I and endoplasmic reticulum aminopeptidases in human neuroblastoma cells[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(3): 916-924
- 3 Saveanu L, Carroll O, Lindo V, et al. Concerted peptide trimming by human ERAP1 and ERAP2 aminopeptidase complexes in the endoplasmic reticulum[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(7): 689-697
- 4 Kim S, Lee S, Shin J, et al. Human cytomegalovirus microRNA miR

- US4-1 inhibits CD8(+) T cell responses by targeting the amino-peptidase ERAP1[J]. Nat Immunol,2011,12(4):984-991
- 5 Andres AM, Dennis MY, Kretzschmar WW, *et al.* Balancing selection maintains a form of ERAP2 that undergoes nonsense-mediated decay and affects antigen presentation[J]. PLoS Genet, 2010, 6(10):e1001157
 - 6 Evnouchidou I, Kamal RP, Seregin SS, *et al.* Cutting Edge: coding single nucleotide polymorphisms of endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 can affect antigenic peptide generation in vitro by influencing basic enzymatic properties of the enzyme[J]. J Immunol, 2011, 186(4):1909-1913
 - 7 Kochan G, Krojer T, Harvey D, *et al.* Crystal structures of the endoplasmic reticulum aminopeptidase-1 (ERAP1) reveal the molecular basis for N-terminal peptide trimming[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(19):7745-7750
 - 8 Birtley JR, Saridakis E, Stratikos E, *et al.* The crystal structure of human endoplasmic reticulum aminopeptidase 2 reveals the atomic basis for distinct roles in antigen processing[J]. Biochemistry, 2012, 51(1):286-295
 - 9 Goto Y, Tanji H, Hattori A, *et al.* Glutamine-181 is crucial in the enzymatic activity and substrate specificity of human endoplasmic reticulum aminopeptidase-1[J]. Biochem J, 2008, 416(1):109-116
 - 10 Blanchard N, Kanaseki T, Escobar H, *et al.* Endoplasmic reticulum aminopeptidase associated with antigen processing defines the composition and structure of MHC class I peptide repertoire in normal and virus-infected cells[J]. J Immunol, 2010, 184(6):3033-3042
 - 11 Fierabracci A, Ayroldi E. Experimental strategies in autoimmunity: antagonists of cytokines and their receptors, nanocarriers, inhibitors of immunoproteasome, leukocyte migration and protein kinases[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(29):3094-3107
 - 12 Weidemann AK, Crawshaw AA, Byrne E, *et al.* Vascular endothelial growth factor inhibitors: investigational therapies for the treatment of psoriasis[J]. Clin Cosmet Investig Dermatol, 2013, 6:233-244
 - 13 Sun LD, Cheng H, Wang ZX, *et al.* Association analyses identify six new psoriasis susceptibility loci in the Chinese population[J]. Nat Genet, 2010, 42(11):1005-1009
 - 14 Strange A, Capon F, Spencer CC, *et al.* A genome-wide association study identifies new psoriasis susceptibility loci and an interaction between HLA-C and ERAP1[J]. Nat Genet, 2010, 42(11):985-990
 - 15 崔婧, 张丽君, 李珊珊, 等. ERAP1 基因多态性与汉族人群寻常型银屑病表型的相关性研究[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(11):1161-1164
 - 16 Yang Q, Liu H, Qu L, *et al.* Investigation of 20 non-HLA (human leucocyte antigen) psoriasis susceptibility loci in Chinese patients with psoriatic arthritis and psoriasis vulgaris[J]. Br J Dermatol. 2013, 168(5):1060-1065
 - 17 Lysell J, Padyukov L, Kockum I, *et al.* Genetic association with ERAP1 in psoriasis is confined to disease onset after puberty and not dependent on HLA-C*06[J]. J Invest Dermatol, 2013, 133(2):411-417
 - 18 Bergboer JG, Oostveen AM, de Jager ME, *et al.* Paediatric-onset psoriasis is associated with ERAP1 and IL23R loci, LCE3C-LCE3B deletion and HLA-C*06[J]. Br J Dermatol, 2012, 167(4):922-925
 - 19 Hinks A, Martin P, Flynn E, *et al.* Subtype-specific genetic associations for juvenile idiopathic arthritis: ERAP1 with the enthesitis-related arthritis subtype and IL23R with juvenile psoriatic arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2011, 13(1):R12
 - 20 Julià A, Tortosa R, Hernanz JM, *et al.* Risk variants for psoriasis vulgaris in a large case-control collection and association with clinical subphenotypes[J]. Hum Mol Genet, 2012, 21(20):4549-4557

(收稿日期:2013-10-25)

(修回日期:2013-11-12)

高血压的相关危险因素

周 晟 黄抒伟

[中图分类号] R544

[文献标识码] A

高血压是全球性的常见疾病,全球估计大约有9.72亿高血压患者,预计到2025年全球患病人数将达到15亿^[1]。根据大量前瞻性协作研究(prospective study collaboration)和横断面研究(cross-sectional

study)发现高血压及其相关并发症导致的致残率和致死率极高,严重消耗医疗、社会资源,给家庭和国家造成沉重负担。自20世纪50年代以来大量从事流行病学、统计学、临床、社会心理学及科研等的专业人员对其病因、危险因素及预测因子做了大量研究,认为高血压的发病机制难以用单一的遗传因素、环境因素或其他因素来解释,很可能是多种因素相互作用的

作者单位:310053 杭州,浙江中医药大学第二临床医学院

通讯作者:黄抒伟,电子信箱:zhousheng840@qq.com