

原发性干燥综合征与未折叠蛋白反应

金 洁 侯佳奇 薛 鸾

摘 要 原发性干燥综合征(primary sjögren's syndrome, pSS)是一种主要侵犯外分泌腺的慢性自身免疫性疾病,治疗方法多为经验性用药,缺乏循证医学的证据。有研究认为 pSS 本质上就是一种上皮细胞炎,唾液腺上皮细胞(salivary gland epithelial cells, SGEs)在 pSS 中起着重要的致病作用,它是内质网伸展最广的细胞之一,当细胞受损或处于压力条件下时,便会诱发内质网应激,蛋白质错误折叠率和未折叠率增高,细胞为恢复正常的生理功能,保持内质网的稳态,便会激活相关凋亡通路,诱导细胞凋亡,产生未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)。UPR 通常会激活 3 条信号通路:PERK、IRE1 和 ATF6,以帮助内质网蛋白质的正确折叠,使内质网功能在应激的早期处于一个正常生理平衡状态。当内质网长期、连续应激时,便会激活多条凋亡信号,持续的凋亡会引起细胞的死亡和代谢紊乱,造成严重的损伤。

关键词 原发性干燥综合征 上皮细胞 内质网应激 未折叠蛋白反应 信号通路

中图分类号 R593.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.12.005

原发性干燥综合征(primary sjögren's syndrome, pSS)是一种主要侵犯外分泌腺的慢性自身免疫性疾病,外分泌腺体的上皮细胞是免疫炎症的主要表现部位,所以 pSS 又叫自身免疫性外分泌腺体上皮细胞炎。在我国,该疾病的发生率为 0.33%~0.77%,女性患者多见,发病年龄在 50 岁左右,是发生率最高的自身免疫病之一,仅次于类风湿性关节炎^[1]。因唾液腺和泪腺受损,临床上常常表现出口干、眼干等症状,也有其他外分泌腺体及腺体外器官受累导致多系统的损害,比如肾脏、血管、肌肉、神经等受累,大约 5% 的患者可发生淋巴细胞性恶性肿瘤^[2]。

pSS 的发病机制尚不明确,主要认为与遗传、环境和免疫异常等因素相关。这些因素刺激固有免疫细胞和腺上皮,可导致 T、B 淋巴细胞浸润、增殖、分化,促进炎症的发生,并且可以导致免疫复合物的产生,从而最终造成外分泌腺和腺体外器官的损害。pSS 目前尚无根治方法,改善症状、延缓器官损害为主要治疗目的,针对口干、眼干等干燥症状,常使用人工泪液、促分泌素等,针对存在高球蛋白血症或腺体外损害的患者,常使用糖皮质激素、羟氯喹、硫唑嘌呤等免疫抑制剂治疗,但目前仍无循证医学依据的有效药物。近年来生物制剂治疗 pSS 也越来越具有前景,针对 B 淋巴细胞的靶向治疗也成为研究热点,需要

大规模的实验证实靶向药物的有效性。除此之外,中药的临床实践证明其可以整体改善 pSS 的干燥、乏力、疼痛等症状,并有一定的免疫调节作用。目前 pSS 的发病机制尚未完全明确,治疗方法多为缓解症状的对症治疗,缺乏循证医学依据,仍然需要不停地探索、实验。

近年来,内质网应激在癌症、代谢性疾病、自身免疫病等多种疾病中发挥调控作用,愈发受到关注。在类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、系统性硬化症等自身免疫性疾病中均发现了抗内质网伴侣抗体,说明自身免疫性疾病中的内质网过度应激^[3]。pSS 的治疗多为对症治疗,探索内质网应激在 pSS 中的作用不仅可以进一步研究 pSS 发病机制,甚至也可以为 pSS 的治疗提供新的靶点。

一、上皮细胞在 pSS 的作用

有研究认为 pSS 本质上就是一种上皮细胞炎,上皮细胞在 pSS 中不仅是自身免疫的靶点,并且参与了疾病的病理过程,其通过调节邻近唾液腺导管的浸润性淋巴细胞的位置,帮助维持以及促进淋巴细胞滞留和存活的环境。各种上皮组织的浸润性病变的发生,以及患者组织病变中几种炎性蛋白在上皮中的表达增加,都表明上皮细胞在 pSS 的发病中起着重要的作用^[4]。在 pSS 中,外分泌腺为主要靶点,然而临床和病理研究表明,自身反应性免疫细胞不仅包围和攻击外分泌腺的上皮细胞,而且还包围和攻击支气管、肾上皮和胆管周围的上皮细胞,上皮细胞在干燥综合征的发病中如抗原递呈、细胞凋亡、趋化因子产生起着

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81573925);
浦江风湿青年培育计划项目(SPROG201904)

作者单位:201203 上海中医药大学

通讯作者:薛鸾,教授,博士生导师,电子信箱:xelco@163.com

非常重要的作用^[5]。

pSS 的主要靶器官是外分泌腺,尤其是唾液腺,患者唾液产量的减少与上皮周围免疫细胞的持续积累和腺体结构的逐渐破坏有关。唾液腺上皮细胞(salivary gland epithelial cells, SGECS)作为一种非专业性抗原递呈细胞显示几种高水平的免疫活性分子,可以介导淋巴细胞归巢、抗原递呈和放大上皮与免疫细胞的相互作用。SGECs 会分泌几种趋化因子 CXCL9、CXCL10、CXCL12、CXCL13、CCL19 和 CCL21,可以促进各种炎性淋巴细胞群体的早期吸引^[6]。黏附分子如细胞间黏附分子(ICAM)-1 和血管细胞黏附分子(VCAM)-1 在唾液腺上皮细胞的表达,使 SGECS 这种非专业性抗原递呈细胞与 T 淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA1)和极晚期活化抗原-4(VLA4)结合,SGECs 和 T 细胞之间突触的稳定,有助于介导这些细胞在炎症或病理性损伤部位的滞留。SGECs 还会分泌如 IL-1、IL-6、TNF- α 等促炎性细胞因子,也可以通过上调 MHC II 和共刺激分子 CD40、CD80、CD86 来响应促炎性细胞因子^[4]。这些因素共同造成了炎症环境,调节组织内的炎症过程。

二、UPR 参与 pSS 发病

1. 内质网:内质网是细胞中重要的细胞器,由蛋白质和脂类构成,是由生物膜构成的互相通连的片层隙状或小管状系统。其膜性管道系统是细胞内物质运输的通路,也是蛋白质翻译修饰的重要场所,并且可以为细胞内的酶反应提供充足的反应面积^[7]。内质网的生理机制十分复杂,其正常的生理功能包括蛋白质的合成、钙离子储备相关信号转导、蛋白质的分泌等过程^[8]。内质网包括粗糙型内质网和光滑型内质网,粗糙型内质网的膜上含有核糖体,光滑型内质网的膜上无核糖体。而粗糙型内质网可促进蛋白质合成,并将其运送到生物体内发挥作用的地方,光滑型内质网参加以及调节糖类、脂类的合成,并与蛋白质运输以及生化反应有紧密的联系^[9]。内质网中通常包含许多分子伴侣如热休克蛋白、凝集素等和折叠酶如蛋白质二硫键异构酶、内质网蛋白 57(endoplasmic reticulum protein, ERp57),它们维持内质网中蛋白质折叠的能力,质量控制系统识别错误折叠的蛋白质,通过内质网相关蛋白降解(endoplasmic reticulum associated degradation, ERAD)、自噬等途径改变蛋白质合成和转运到内质网的速率,蛋白质折叠、成熟和质量控制,蛋白质运输和消除错误折叠的蛋白质,从而将正确的蛋白质输送到各种细胞器、细胞表面或进

入细胞外空间^[10]。当蛋白质的加工产生问题时,则会导致错误折叠的蛋白质在内质网中积聚,产生缺氧、蛋白质超载、钙代谢紊乱、细胞内 ATP 水平降低和氧化应激等反应。当蛋白质聚集超过负荷时,则会导致内质网异常。

2. pSS 上皮细胞存在 UPR:分泌细胞的一个共同特征是扩展的内质网,SGECs 的腺泡和导管细胞新陈代谢活跃,是内质网伸展最广的细胞之一,它们可以不断产生唾液,唾液是一种富含蛋白质的液体。唾液成分首先在粗糙型内质网中合成,然后在粗糙型内质网和高尔基复合体中加工,在高尔基复合体中集中和靶向,并储存在分泌颗粒中^[11]。除此之外,在 pSS 的其他免疫系统作用的分泌细胞中,如泪腺、细支气管、胆管和肾小管的上皮细胞也同样存在延伸的内质网。内质网是真核生物体内感受外界变化极其敏感的生物感受器,内质网管腔内的蛋白质折叠过程容易受到各种生理和病理因素的干扰。当 SGECS 受到损伤或者处于炎症环境中时,长期的刺激触发细胞产生更多的蛋白质,内质网和钙稳态就会受到破坏,干扰这些过程所需的能量,内质网系统就会产生压力^[12]。

在稳定状态时,正常的细胞中,大约 1/3 在内质网中生成的蛋白质会产生错误的蛋白质折叠,当细胞受损或者处于压力条件下时,便会诱发内质网产生应激,此时蛋白质错误折叠率和未折叠率升高,细胞为恢复正常的生理功能,保持内质网的稳态,便会激活相关凋亡通路,诱导细胞凋亡,产生 UPR^[13]。UPR 是一个复杂的细胞内信号通路集合,这些信号通路已经进化为可以通过降低蛋白的错误折叠以及非折叠蛋白在内质网中的表达数量来促进蛋白质的正确折叠,从而在应激的早期使内质网功能保持正常的生理平衡状态。除此之外,内质网管腔中拥有高水平的伴侣蛋白,可以阻止错误折叠或未折叠的蛋白。葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)是最重要及含量最丰富的内质网伴侣蛋白之一,也叫结合免疫球蛋白(Bip),属于热休克蛋白 70 家族(Hsp70),其参与了许多细胞过程,包括将新合成的多肽转移到内质网膜上,促进新合成的蛋白质的折叠和组装,维持新的蛋白质处于能够随后折叠和寡聚的状态,调节 DNA 损伤以及调节钙离子的稳态^[14-16]。除了在新合成的蛋白质中发挥作用,GRP78 还负责在蛋白质转位过程中维持内质网的通透性屏障,靶向错误折叠的蛋白质进行逆行转位,使它们能够被蛋白酶体降解,促进内质网钙储存,以及感知该细胞器中的应激条件以激活 UPR。

GRP78/BIP 与特定的内质网定位的 DnaJ (ERdjs) 家族蛋白的相互作用,刺激 GRP78/BIP 依赖 ATP 的底物相互作用,几个 ERdjs 也直接与未折叠的蛋白结合^[17]。

UPR 最初是为了恢复蛋白质的稳态和生理功能。然而,当恢复蛋白质稳定的一系列尝试失败或者内质网应激没有减弱时,压力持续时间过长或细胞损伤过于严重,UPR 信号通常切换到促凋亡模式,致使凋亡信号的持续表达,动态平衡不能恢复,则最终可以引起细胞凋亡,导致细胞的死亡和代谢紊乱。UPR 相关分子表达的改变可以帮助自身免疫病的启动,UPR 和炎症信号的交互作用是内质网应激与免疫反应关联的重点,实质细胞内的内质网稳态的紊乱可以触发和增强炎症反应,UPR 3 种信号通路均可激活 NF- κ B,参与促炎性细胞因子的表达,加速应激诱导的细胞凋亡,导致细胞死亡,损害 pSS 的靶器官。Moustaka 等^[18]研究发现,通过电子显微镜观察到 pSS 患者的 SGECs 内质网广泛地扩张,内质网的广泛扩张是内质网应激的明确标志,揭示了 pSS 靶组织的一个主要细胞器受到严重干扰。然而,目前内质网应激对自身免疫性疾病影响的了解及研究较少,UPR 如何参与到 pSS 的发病需要更多的探索。

三、UPR 激活信号通路

UPR 激活 3 条信号通路,即蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase RNA-like ER kinase, PERK)、肌酸需求酶 1 (inositol-requiring enzyme 1, IRE1) 和转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6)。

1. PERK 信号通路:PERK 是一种 I 型内质网跨膜蛋白激酶,能抑制内质网中普遍的蛋白翻译。正常情况下,PERK 与内质网伴侣蛋白 GRP78/Bip 结合,是处于一个非活性状态。在哺乳动物中,内质网伴侣蛋白 GRP78/Bip 是激活 3 个主要传感器的基础。当内质网应激发生时,内质网伴侣蛋白 GRP78/Bip 与 PERK 解离,此时通过低聚和反式自磷酸化,PERK 信号通路被激活,磷酸化的 PERK 可够使翻译起始因子 eIF2 α 发生磷酸化,使细胞多数蛋白质的合成终止,进而调节细胞周期,减轻内质网负荷。PERK、eIF2 α 磷酸化同时激活 ATF4,上调 ATF4 的表达,ATF4 可以参与氨基酸代谢、抗氧化反应、诱导凋亡、调控自噬等,可以上调凋亡蛋白 CHOP 的表达。CHOP 是内质网应激的一个特定转录因子,在哺乳动物细胞中,

CHOP 处于普遍表达的状态,是内质网压力介导细胞凋亡的主要信号分子^[19-21]。ATF4、CHOP 的 mRNA 和蛋白质的半衰期比较短,只有强烈而且长时间的 PERK 激活才会增加 CHOP 的稳态水平,因此只有过度的内质网应激才会保持持续的压力,从而促进 UPR 的末端 CHOP 的持续表达,持续的 CHOP 表达通过增加促凋亡基因 Bax 的表达,降低抗凋亡基因 Bcl-2 的表达,引起细胞死亡。有研究发现,在 pSS 患者的唇腺组织研究中,与对照组比较,p-PERK/PERK 比值、ATF4 的表达均升高,表明 UPR 的 PERK 信号通路在唾液腺组织中激活^[22]。

2. IRE1 信号通路:IRE1 α 是广泛表达的 I 型跨膜蛋白,其胞质表面是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶以及处理编码 XBP1 mRNA 的核糖核酸内切酶 (RNase) 结构域,存在于内质网膜上。正常情况下,IRE1 与内质网伴侣蛋白 GRP78/Bip 结合在内质网内腔。当内质网应激发生时,IRE1 α 的 N 端和 Bip 分离,随后形成同源二聚体,通过寡聚和自身的磷酸化,导致 RNase 结构域的构象改变,从而使其激活。在 X-box 结合蛋白 1 (XBP1) mRNA 中,RNase 结构域催化非常规剪接,产生另一个羧基末端翻译蛋白质中的结构域 XBP1s,XBP1s 是一个亮氨酸拉链系列转录因子,可控制编码因子的表达,促进 UPR 涉及的许多基因的转录,包括提高蛋白质折叠能力的伴侣蛋白和 ERAD 涉及的蛋白,从而产生调节蛋白质折叠、分泌、ERAD、蛋白质转位到内质网以及脂质合成的功能。XBP1 也被证明在炎症和自身免疫性疾病的 Th17 细胞分化中起作用^[23]。此外,IRE1 α 可能参与了一个混杂的核糖核酸降解过程,称为受调节的 IRE1 依赖性衰变,针对内质网定位的核糖核酸、核糖体核糖核酸和微小核糖核酸^[24]。越来越多的证据表明,除了加工 XBP1 mRNA 外,IRE1 还直接或间接地促进了与粗糙 ER 相关的一部分 mRNA 的快速裂解和破坏,从而减少了新蛋白进入 ER 内腔的过程。在信号传递中 IRE1 也起直接作用,活性磷酸化的 IRE1 与肿瘤坏死因子受体相关因子 2 (TRAF2) 相互作用,随后可以促进 JUN N 末端激酶 (JNK) 的激活,产生细胞凋亡信号,以及 NF- κ B 信号,产生炎症信号^[25]。有实验发现,在自身免疫性疾病系统性红斑狼疮中,与健康对照组比较,患者 XBP1 基因的表达显著上调,证明 IRE1 信号通路参与其发病机制中^[26]。

3. ATF6 信号通路:ATF6 属于内质网膜上的 II 型跨膜蛋白,其 N 端含有碱性亮氨酸拉链的转录激活

功能域,有转录、激活的功能,C 端位于内质网腔内,具有 BIP 结合位点和高尔基体定位信号,可以感应内质网应激^[27]。当内质网应激发生时,蛋白质的错误折叠率增高,ATF6 移位到高尔基体上,并被 Site - 1 和 Site - 2 蛋白酶切割,释放其细胞质尾部中包含的 ATF6(N)转录因子。与 XBP1 一起,ATF6(N)增加了目标的转录,从而扩大了内质网的大小,增加了其蛋白质折叠能力,缓和内质网的压力^[28]。研究表明,在 pSS 患者的活检组织中,观察到 ATF6 α 信号通路活性增加,如 ATF6f 切割片段的产生,以及 ERAD 机械部件(如 EDEM1、p97、SEL1L、gp78、UBE2J1、UBE2G2、HERP 和 DERLIN1)的表达增加^[22]。

四、展 望

唾液腺上皮细胞是 pSS 的重要靶点,也可能参与疾病发展的病理过程。在上皮细胞中,当细胞遭受损伤或者炎症持续存在时,会出现持续的内质网应激中的 UPR 反应。UPR 作为一种复杂的信号通路拥有双面性,在细胞的发育、分化、功能和存活中有着重要作用,可产生积极作用维持细胞稳态,保护细胞功能,反之也有可能对细胞造成不可逆的损伤。所以,UPR 可能是调节 pSS 中内质网应激及其重要治疗的靶点。虽然目前内质网应激的作用机制不完全明确,对 pSS 中的 UPR 反应的研究较少,但是相信在未来,UPR 参与 pSS 唾液腺上皮细胞受损的具体机制会有更多、更全面的研究。有利于了解生物体如何面对压力,也可能为 pSS 的治疗提供新的靶点,改善 pSS 目前的治疗局面。

参考文献

- 罗静,张丽宁,陈嘉琪,等. 原发性干燥综合征中医证候特点及其与疾病活动指数的相关性[J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(6): 674 - 679
- Mariette X, Criswell LA. Primary sjogren's syndrome[J]. N Engl J Med, 2018, 378(10): 931 - 939
- Cao SS, Luo KL, Shi L. Endoplasmic reticulum stress interacts with inflammation in human diseases[J]. J Cell Physiol, 2016, 231(2): 288 - 294
- Asam S, Neag G, Berardicurti O, *et al.* The role of stroma and epithelial cells in primary Sjogren's syndrome[J]. Rheumatology (Oxford), 2019, doi: 10.1093/rheumatology/kez050
- Katsiogiannis S, Tenta R, Skopouli FN. Autoimmune epithelitis (Sjogren's syndrome); the impact of metabolic status of glandular epithelial cells on auto - immunogenicity [J]. J Autoimmun, 2019, 104: 102335
- Manoussakis MN, Kapsogeorgou EK. The role of intrinsic epithelial activation in the pathogenesis of Sjögren's syndrome [J]. J Autoimmun, 2010, 35(3): 219 - 224
- 孟鹭,赵冬冬,吴雨桐,等. 内质网应激介导的胰岛 β 细胞凋亡研究进展[J]. 动物医学进展, 2019, 40(8): 98 - 102
- 练毅,宫丽荣,余剑波,等. 内质网应激介导的细胞凋亡与急性肺损伤的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2021, 27(2): 358 - 360
- Hwang N, Kwon MY, Cha JB, *et al.* Tunicamycin - induced endoplasmic reticulum stress upregulates the expression of pentraxin 3 in human retinal pigment epithelial cells [J]. Korean J Ophthalmol, 2016, 30(6): 468 - 478
- Hetz C, Zhang K, Kaufman RJ. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(8): 421 - 438
- Aps JK, Martens LC. Review: the physiology of saliva and transfer of drugs into saliva [J]. Forensic Sci Int, 2005, 150(2 - 3): 119 - 131
- Liu X, Cheng KT, Bandyopadhyay BC, *et al.* Attenuation of store - operated Ca^{2+} current impairs salivary gland fluid secretion in TRPC1 (- / -) mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(44): 17542 - 17547
- Chong WC, Shastri MD, Eri R. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious nexus implicated in bowel disease pathophysiology [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(4): 771
- Ibrahim IM, Abdelmalek DH, Elfiky AA. GRP78: a cell's response to stress [J]. Life Sci, 2019, 226: 156 - 163
- Gopal U, Pizzo SV. Cell surface GRP78 signaling: an emerging role as a transcriptional modulator in cancer [J]. J Cell Physiol, 2021, 236(4): 2352 - 2363
- Prasad M, Pawlak KJ, Burak WE, *et al.* Mitochondrial metabolic regulation by GRP78 [J]. Sci Adv, 2017, 3(2): e1602038
- Pobre KFR, Poet GJ, Hendershot LM. The endoplasmic reticulum (ER) chaperone BiP is a master regulator of ER functions: getting by with a little help from ERdj friends [J]. J Biol Chem, 2019, 294(6): 2098 - 2108
- Moustaka K, Katsiogiannis S, Tenta R, *et al.* thu0223 | chronic adrenergic stimulation of minor salivary glands of patients with primary sjögren's drives ER stress and activation OF the unfolded protein response [J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78: 389 - 390
- 曹智怡,李玲,范丽丽,等. 酸枣仁 - 合欢花对抑郁模型大鼠行为学及内质网应激 PERK/ATF4/CHOP 通路的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(7): 66 - 72
- 周鹤妍,孙谕莹,黄汉昌. 内质网 - 线粒体结构偶联在内质网应激中的作用及其与阿尔茨海默病的关联性 [J]. 生命科学, 2021, 33(5): 621 - 629
- Zheng Z, Shang Y, Tao J, *et al.* Endoplasmic reticulum stress signaling pathways: activation and diseases [J]. Curr Protein Pept Sci, 2019, 20(9): 935 - 943
- Barrera M - J, Aguilera S, Castro I, *et al.* Pro - inflammatory cytokines enhance ERAD and ATF6 α pathway activity in salivary glands of Sjögren's syndrome patients [J]. Jo Autoimm, 2016, 75: 68 - 81
- Coleman OI, Haller D. ER stress and the UPR in shaping intestinal tissue homeostasis and immunity [J]. Front Immunol, 2019, 10: 2825

(下转第 54 页)

机单链核酸序列库中筛选出特异性与靶物质高度亲和的核酸适体^[7-10]。若利用 SELEX 技术筛选得到的特异性适配体能阻断 PD-1/PD-L1 间的结合,则能为肿瘤逃逸的防治提供新的思路与方向。

参考文献

- 1 Michot JM, Bigenwald C, Champiat S, *et al.* Immune-related adverse events with immune checkpoint blockade: a comprehensive review[J]. *Eur J Cancer*, 2016, 54: 139-148
- 2 薛雯, 贾宇, 江一帆, 等. 免疫检查点抑制剂在肿瘤治疗中的研究进展[J]. *生物技术进展*, 2019, 9(4): 341-349
- 3 Sun C, Mezzadra R, Schumacher TN. Regulation and function of the PD-L1 checkpoint[J]. *Immunity*, 2018, 48(3): 434-452
- 4 Alsaab HO, Sau S, Alzhrani R, *et al.* PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 561
- 5 Curiel TJ, Wei S, Dong H, *et al.* Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell-mediated antitumor immunity[J]. *Nat Med*, 2003, 9(5): 562-567
- 6 Zhu X, Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(57): 97671-97682
- 7 Prodeus A, Abdul-Wahid A, Fischer NW, *et al.* Targeting the PD-1/PD-L1 immune evasion axis with DNA aptamers as a novel therapeutic strategy for the treatment of disseminated cancers[J]. *Mol Ther - Nucl Acids*, 2015, 4(4): e237
- 8 Lai WY, Huang BT, Wang JW, *et al.* A novel PD-L1-targeting antagonistic DNA aptamer with antitumor effects[J]. *Mol Ther - Nucl Acids*, 2016, 5(12): e397
- 9 Yazdian-Robati R, Ramezani M, Khedri M, *et al.* An aptamer for recognizing the transmembrane protein PDL-1 (programmed death-ligand 1), and its application to fluorometric single cell detection of human ovarian carcinoma cells[J]. *Microchim Acta*, 2017, 184(10): 4029-4035

- 10 Wang HY, Lam CH, Li X, *et al.* Selection of PD1/PD-L1 X-aptamers[J]. *Biochimie*, 2018, 145: 125-130
- 11 Kaur J, Kumar A, Kaur J. Strategies for optimization of heterologous protein expression in *E. coli*: roadblocks and reinforcements[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 106: 803-822
- 12 王世山, 陈艳可, 杨俊. 膜蛋白原核表达的基因序列优化[J]. 2015, 31(12): 50-55
- 13 王梓慈, 吴砂, 王薇. 免疫检查点 PD-1/PD-L1 阻断疗法与妇科恶性肿瘤[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(12): 1512-1515
- 14 Tate CG. Overexpression of mammalian integral membrane proteins for structural studies[J]. *FEBS Lett*, 2001, 504(3): 94-98
- 15 Sorensen HP, Mortensen KK. Advanced genetic strategies for recombinant protein expression in *Escherichia coli*[J]. *J Biotechnol*, 2005, 115(2): 113-128
- 16 Kesidis A, Depping P, Lode A, *et al.* Expression of eukaryotic membrane proteins in eukaryotic and prokaryotic hosts[J]. *Methods*, 2020, 180: 3-18
- 17 Rosano GL, Ceccarelli EA. Recombinant protein expression in *Escherichia coli*: advances and challenges[J]. *Front Microbiol*, 2014, 5: 172
- 18 陈云雨, 付正豪, 闫干干, 等. 基于密码子优化策略的新型冠状病毒主蛋白酶在大肠杆菌中的表达条件优化与活性鉴定[J]. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1334-1345
- 19 兰泓, 孔劭凡, 李慎涛, 等. 稀有密码子影响人 RNaseH-Apaf1 融合蛋白原核表达[J]. 2015, 37(4): 72-78
- 20 Liu Y. A code within the genetic code: codon usage regulates co-translational protein folding[J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 145
- 21 赵加玲, 武舒佳, 王红, 等. 结核分枝杆菌 H37Rv 新基因 Rv2742 克隆表达及纯化[J]. *生物工程学报*, 2019, 35(9): 1771-1786

(收稿日期: 2021-05-15)

(修回日期: 2021-06-22)

(上接第 20 页)

- 24 Hwang J, Qi L. Quality control in the endoplasmic reticulum: crosstalk between ERAD and UPR pathways[J]. *Trends Biochem Sci*, 2018, 43(8): 593-605
- 25 Grandjean JMD, Wiseman L. Small molecule strategies to harness the unfolded protein response: where do we go from here? [J]. *J Biol Chem*, 2020, 295(46): 15692-15711
- 26 Wang J, Cheng Q, Wang X, *et al.* Deficiency of IRE1 and PERK

signal pathways in systemic lupus erythematosus[J]. *Am J Med Sci*, 2014, 348(6): 465-473

- 27 王沛, 彭瑜, 张钰. 激活转录因子 6 与心血管疾病关系的研究进展[J]. *解放军医学杂志*, 2021, 46(4): 393-397
 - 28 Liu Q, Korner H, Wu H, *et al.* Endoplasmic reticulum stress in autoimmune diseases[J]. *Immunobiology*, 2020, 225(2): 151881
- (收稿日期: 2021-06-19)
- (修回日期: 2021-07-12)