肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 样分子 2 免疫调控途径研究进展

费翔 盛志勇 姚咏明

解放军总医院第四医学中心创伤研究中心, 北京 100048

通信作者: 姚咏明, Email: c_ff@sina.com

【摘要】 肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 (TNFAIP8) 家族是近年来发现的一组新蛋白, 哺乳动物中该家族包括结构上具有高度同源性的 4 个成员, 即 TNFAIP8 样分子 (TIPE)、TIPE1、TIPE2 和 TIPE3。这些成员的结构、功能既有共性又有个性, 涉及炎症、免疫、肿瘤、卒中、血管发生等多种疾病的病理生理过程。研究显示, TIPE2 具有免疫负向调控功能, 促进其表达可减轻脓毒性休克时过度炎症反应, 维持巨噬细胞、中性粒细胞、树突细胞、T 细胞、B 细胞等免疫应答反应。本文通过对 TIPE2 分子的结构特点、功能意义及其免疫调节机制进行综述, 旨在为相关疾病的免疫调理开辟新途径。

【关键词】 肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 样分子 2; 免疫负调控; 固有免疫; 获得性免疫

基金项目: 国家自然科学基金 (81730057, 81842025); 国家重点基础研究计划项目 (2017YFC1103302)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.06.022

Update in immune regulatory pathway of tumor necrosis factor- α -induced protein 8-like 2

Fei Xiang, Sheng Zhiyong, Yao Yongming

Trauma Research Center, Fourth Medical Center of the Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Corresponding author: Yao Yongming, Email: c_ff@sina.com

【Abstract】 The tumor necrosis factor- α -induced protein 8-like (TNFAIP8, TIPE) family is recently identified proteins consisting of four highly homologous mammalian proteins: TIPE, TIPE1, TIPE2, and TIPE3. Although the four members share similar molecular structure and function, involving effects in pathophysiological processes of inflammation, immunity, tumors, stroke, angiogenesis, and other diseases, they have individual characteristics. Many studies have shown that TIPE2 is an essential negative regulator of both innate and adaptive immunity. Up-regulation of TIPE2 expression can alleviate excessive inflammation during septic shock and maintain hemostasis of macrophages, neutrophils, dendritic cells, T cells, and B cells. In this review, we summarize the current literature for structure feature, immune function, and regulatory mechanism of TIPE2, together with its clinical significance in the pathogenesis of immune disorders of a wide array of human diseases. Understanding the basic biology of this new molecule might help us to seek novel strategies for the immunomodulation of human diseases.

【Key words】 Tumor necrosis factor- α -induced protein 8-like 2; Negative regulation; Innate immune; Adaptive immune

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81730057, 81842025); National Key Research and Development Program of China (2017YFC1103302)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.06.022

免疫系统是机体长期进化过程中形成的极其重要的防御体系, 包括固有免疫和适应性免疫系统, 它们在清除外源性抗原的同时防止出现过度的免疫应答, 以求达到免疫反应的平衡, 否则将出现病理性免疫损伤, 如脓毒症早期炎症“风暴”和后期免疫麻痹, 因此, 免疫调控在保持免疫稳态、防治免疫障碍性疾病中具有重要意义^[1]。为了将过度的免疫反应强度和持续时间控制在合适范围内, 机体通常通过至少 3 条途径发挥作用: 第一种是限制免疫细胞的活化和增殖, 包括抗炎细胞因子、抗原受体和 Toll 样受体 (TLR) 信号通路的抑制分子、转录抑制因子等; 第二种是上调参与炎症反应细胞的促凋亡信号, 例如 Fas、Bim、Bax、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 (caspase-8、caspase-10) 等; 第三种是保持或提高免疫负向调控细胞 [如调节性 T 细胞 (Treg)、调节性树突细胞 (DC)、辅助性 T 细胞 2 (Th2)、M2 巨噬细胞] 的数目和功能, 减少其凋亡及死亡。2002 年美国国立卫生研究院 (NIH) 哺乳动物基因采集项目组, 对人类和哺乳动物

基因进行分析, 发现具有高度同源性的 4 个基因, 并将它们归为一个家族, 命名为肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 样蛋白 (TNFAIP8) 家族, 其包括 4 个主要成员, 即 TNFAIP8 样分子 (TIPE)、TIPE1、TIPE2、TIPE3^[2-3]。2008 年, Sun 等^[4]发现 TIPE2 与炎症反应相关, 并具有负向调控免疫应答、促进凋亡的功能。近年来, 随着研究的不断深入, 人们发现 TIPE2 参与了肿瘤、自身免疫紊乱、血管狭窄、脑卒中等多种疾病的病理过程。现对 TIPE2 的结构特点、功能定义及免疫调节机制进行综述, 旨在为相关疾病的免疫调理开辟新途径。

1 TIPE2 胞内定位、组织分布与结构特点

1.1 TIPE2 胞内定位与组织分布: TIPE2 是一种细胞质蛋白, 由 184 个氨基酸残基组成, 相对分子质量为 21 000, 人和小鼠 TIPE2 基因分别定位于 1 号染色体 (1q21.2 ~ 1q21.3) 及 3 号染色体 (3f1 ~ 3f3), 二者氨基酸序列一致性达 94%。通过比较正常小鼠与自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 模型小鼠组织器官 TIPE2 基因表达水平发现, 其表达于胸腺、脾脏、

淋巴结、小肠及脊髓炎症部位,而在心脏、肌肉、睾丸、脊髓、大脑组织表达呈阴性;同时,在所有存在淋巴组织的器官中,例如肺脏、皮肤、结肠,均可见 TIPE2 较弱表达,表明 EAE 模型小鼠炎症部位 TIPE2 表达可能是浸润炎症部位的免疫细胞所致^[4]。进一步观察证实, TIPE2 主要表达于小鼠淋巴系和髓系免疫细胞,但也可能表达于肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 刺激的其他细胞;在人体内, TIPE2 表达部位与小鼠不尽相同,除了髓系和淋巴系细胞, TIPE2 还存在于肝细胞、神经元细胞、鳞状上皮细胞、移行上皮细胞、腺上皮细胞,并且在细胞不同发育阶段表达量不同,例如 TIPE2 在已分化鳞状上皮细胞表达高于未分化鳞状上皮细胞^[5]。以上结果提示,除参与免疫调控外, TIPE2 在人体内可能具有更复杂的功能。

1.2 TIPE2 的结构特点及其与死亡效应结构域(DED)的相关性: DED 在空间上呈六面体束状结构,相当于之前发现的死亡结构域和 caspase 活化募集结构域(CARD)的组合物,同型 DED 蛋白结合可以启动 Fas 等死亡受体介导的程序性细胞死亡。TNFAIP8 是 TIPE 家族中最早发现具有 DED 的成员,小鼠 TIPE2 中的 DED 与其他含有 DED 结构蛋白的一致性/相似性分别为: TNFAIP8 50%/73%, 细胞型 Fas 相关死亡结构域样白细胞介素-1 β 转换酶抑制蛋白(cFLIP) DED I 19%/32%, cFLIP DED II 13%/33%, caspase-8 DED I 19%/40%, caspase-8 DED II 20%/38%。因此,人们推测 TIPE2 可通过 DED 直接结合 caspase-8 启动免疫细胞凋亡过程,以此减轻炎症反应程度达到免疫调控的作用^[6]。之后, Zhang 等^[7]以 0.17 nm 分辨率检测了人 TIPE2 晶体结构,发现 TIPE2 包含 6 个反向平行的 α 螺旋,其中 $\alpha 5$ 含有一个第 153 位脯氨酸构成的扭结状结构,分为 $\alpha 5a$ 和 $\alpha 5b$ 两个螺旋,稍短的 $\alpha 5b$ 构成整个 α 螺旋的束状底座。与之前假设相反, TIPE2 并无 DED,使用蛋白质结构在线比(DALI)方法未发现与 TIPE2 具有同源性的已知蛋白,唯一与 TIPE2 结构相似的是 Z 值 6.9、分辨率 0.36 nm 时含 92 个氨基酸的线状未知蛋白,但是相似性仅存在于 TIPE2 的 $\alpha 3 \sim \alpha 5$ 螺旋。说明 TIPE2 可能含有我们未知的空间结构。TIPE2 结构与 DED 的差异性主要为:① TIPE2 包含约 150 个氨基酸,DED 只有 90 个氨基酸, TIPE2 分子比 DED 大;② TIPE2 与 DED 拓扑结构不同, TIPE2 更像是 DED 的镜像结构(反向对称),前者 N-C 拓扑结构与后者 C-N 拓扑结构相同。TIPE2 显著特点是其中心含有直径为 1 nm、深度为 2 nm 的圆柱状孔洞,虽然其外表面充满电荷(亲水性),但中央孔洞总是疏水性的,这种疏水性在整个 TNFAIP8 家族都存在,并在各物种间高度保守。因此推测,在免疫稳态情况下, TIPE2 中心孔洞可能结合了免疫活化因子,当免疫刺激因素存在时,此孔洞被其他辅因子竞争性结合而释放免疫活性分子以上调免疫应答水平。

2 TIPE2 蛋白可能参与的信号机制

2.1 TIPE2 参与调控磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)的活化:

Thomas 等^[8]发现 TIPE2 具有与 TIPE3 同源的 TH 结构域, TIPE3 通过 TH 结构域参与细胞膜磷脂信号转导以调控肿瘤生长。除了 TIPE3,现有资料证实 TIPE2 也参与了细胞膜上磷脂信号通路。高分辨率蛋白质晶体衍射显示, TIPE2 由 $\alpha 1 \sim \alpha 6$ 的 6 个反向平行 α 螺旋构成,这些螺旋堆积起来构成了 TNFAIP8 家族全都拥有、物种进化上保守的 TH 结构域,但是与 TIPE3 不同, TIPE2 的 N 端不存在 $\alpha 0$ 螺旋。X 射线衍射显示,在 TIPE2 分子 TH 结构域孔洞中心内存在 2 个长条状电子致密体,一直延伸到 TIPE2 蛋白表面。根据电子致密体的尺寸和形状,推测磷脂的尾部可能恰好位于 TIPE2 孔洞中。分子锚定和计算机动态模拟证实磷脂酰肌醇头部游离羟基与 TIPE2 相互作用,在 TIPE2 的组氨酸 74 残基和精氨酸(Arg)91 残基上分别形成氢键及盐键,产生 -56.1 kJ/mol 范德华力。在磷酸肌醇单磷酸盐中, PtdIns3P、PtdIns4P、PtdIns5P 等 3 种单磷酸盐脂质的尾部均嵌入到 TIPE2 疏水孔洞中,其头部基团与 TIPE2 苏氨酸 88、Arg91、Arg95、甘氨酸 182 以氢键结合;而 PtdIns(3,5)P₂、PtdIns(4,5)P₂、PtdIns(3,4)P₂ 等 3 种磷酸肌醇二磷酸盐则通过氢键和疏水键与 TIPE2 中的 Arg75、Arg91、Arg95 结合。以上结果表明,磷脂酰肌醇及其衍生的磷酸盐可以稳定地锚定在 TIPE2 疏水孔洞中。由于 PI3K 是由 PtdIns(4,5)P₂ 合成 PtdIns(3,4,5)P₃ 的限速酶, PTEN(10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源物)则有反作用,因此, TIPE2 可能对 PI3K 发挥正反馈作用而影响 PI3K-PTEN 平衡。

2.2 TIPE2 与转化生长因子- β 激酶 1(TAK1)作用: Oho 等^[9]通过 RAW264.7 巨噬细胞和小鼠脾脏或胸腺来源的原代巨噬细胞观察到, TIPE2 与 TAK1 在胞质内结合,二者结合位点在 TIPE2 分子 101 ~ 140 位氨基酸结构域和 TAK1 200 ~ 291 位氨基酸结构域之间。TIPE2 结合后在巨噬细胞内无法形成 TAK1-TAK1 结合蛋白 1(TAB1)-TAB2 信号复合体,阻断了 TAK1 的磷酸化和泛素化,从而抑制 TAK1 的激酶作用而发挥抗炎效应。采用小干扰 RNA(siRNA)干扰 TIPE2 表达后, TIPE2 对脂多糖(LPS)或 TNF- α 上调 TAK1 活性的抑制作用减弱,给予外源性 TIPE2 多肽和 MTM-TIPE2 重组蛋白复合体(MTM 为一种多结构域穿膜蛋白,可自由穿透细胞膜)也具有结合并抑制 TAK1 的功能。因此, TIPE2 可通过抑制 TAK1 从而减轻 LPS(TLR4 配体)、聚肌胞苷酸[poly(I:C), TLR3 配体]、CpG 寡脱氧核苷酸序列(CpG-ODN, TLR9 配体)等 TLR 激动剂和白细胞介素-1(IL-1)、TNF- α 等促炎细胞因子诱导丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)及核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路活化,进而抑制巨噬细胞的促炎反应。

2.3 TIPE2 与 Rac 相互作用: 吞噬和氧化应激是固有免疫发挥效应的主要方式,单核细胞和中性粒细胞通过将病原体吞噬至包涵体内并产生活性氧,最终杀灭病原体。这一过程初始阶段主要由 TLR 和 Rac 介导,其中 TLR 是启动因素, Rac 则在活化形式(Rac-GTP)和失活形式(Rac-GDP)之间

转换起“分子开关”作用,二者共同发挥调控细胞发育、运动、囊泡运输、凋亡效应。Wang等^[10]使用LPS、Poly(I:C)、酵母多糖A、大肠杆菌、李斯单核细胞增多菌分别刺激小鼠BMDM细胞和RAW264.7细胞发现,在细胞分泌IL-6、TNF- α 、干扰素- β (IFN- β)的同时TIPE2表达明显降低,并且TIPE2可通过其N端赖氨酸(Lys15、Lys16)和Arg24与Rac C端CAAX结构域结合。LPS在显著下调巨噬细胞TIPE2表达的同时促进Rac向胞膜聚集,表明TIPE2抑制了Rac-GTP的功能,进而减弱Rac活化所致下游c-Jun氨基末端激酶(JNK)和P21活化激酶(PAK)的活性。

2.4 TIPE2与促凋亡因子caspase-8结合:作为始动因素之一,caspase-8活化可发出细胞凋亡的信号^[11]。Sun等^[4]采用免疫共沉淀发现,RAW264.7细胞沉淀物中存在caspase-8表达,而在TIPE2敲除细胞内未观察到此现象,表明二者结合的特异性。在静止或LPS活化细胞中均观察到TIPE2与caspase-8紧密结合且差异不大。表明TIPE2与caspase-8结合无需TLR信号刺激。用Fas配体刺激细胞,即使在TIPE2敲除时,caspase-8与Fas相关死亡结构域(FADD)仍能正常结合在死亡诱导信号复合物(DISC)上,caspase-8的裂解也未受影响。因此,TIPE2对于caspase-8的作用可能位于caspase-8或DISC的下游位点。给予caspase-8阻断剂可减弱TIPE2敲除巨噬细胞炎症反应活性,IL-6水平显著下降,表明TIPE2可能通过结合caspase-8而下调caspase-8介导NF- κ B活化效应。

2.5 TIPE2负向调控活化蛋白-1(AP-1)和NF- κ B活化:由于TIPE2缺陷所致促炎免疫效应中大部分细胞因子是T细胞受体(TCR)和(或)TLR信号通路的下游产物,而AP-1和NF- κ B是TCR或TLR活化的重要标志,因此TIPE2可能具有下调AP-1和NF- κ B的功能。王颖等^[12]研究显示,TIPE2可通过抑制AP-1蛋白水平而增加非小细胞肺癌细胞株对顺铂的化疗敏感性。但是也有研究者认为TIPE2与细胞外信号调节激酶(ERK)活化并不相关,Zhu等^[13]发现,在人胃癌细胞过表达TIPE2后可抑制肿瘤细胞生长,促进细胞凋亡,其机制与蛋白激酶B(Akt)及ERK1/2活性降低相关,并伴随促凋亡细胞Bax、caspase-9、caspase-3水平升高。

3 TIPE2的生物学效应

3.1 TIPE2对小鼠生长发育的影响:TIPE2基因突变的纯合子小鼠发育正常,繁殖上遵从孟德尔定律。TIPE2^{-/-}小鼠出生后2个月即出现慢性疾病,表现为消瘦、脾肿大、淋巴细胞增生、多器官炎症反应;11个月时约50%动物死亡。组织学观察发现,小鼠出生后3个月器官(肺、肝、小肠)出现明显单核细胞浸润,其中脾脏微结构(脾红髓、边缘带、脾小梁)因为脾白髓扩大而遭到破坏。TIPE2^{-/-}小鼠血清IL-1、IL-6、IL-12、TNF- α 等促炎细胞因子水平显著升高,同时也出现抗炎细胞因子IL-10。与此相反,4月龄TIPE2^{-/-}小鼠大部分免疫球蛋白变化不明显,仅有IgG2a、IgG2b减少。脾肿大和淋巴细胞增生归因于CD11b⁺、B220⁺、CD4⁺细胞在内的髓系和淋巴系细胞增生,这些细胞都表达早期活化标志物

CD69,提示它们处于明显的活化状态^[4]。

3.2 TIPE2对固有免疫应答的影响

3.2.1 TIPE2对单核/巨噬细胞和DC细胞免疫功能的影响:TIPE2与免疫功能相关性研究始于髓系细胞,目前已明确巨噬细胞、DC细胞免疫功能与TIPE2表达水平密切相关。当以不同的TLR配体/激动剂,如Poly(I:C)、CpG、PGN(TLR2配体),刺激小鼠骨髓来源的巨噬细胞、DC细胞时,细胞中TIPE2 mRNA表达水平明显减少,伴随促炎细胞因子水平上调,且此效应可以被PI3K抑制剂LT294002或Rac抑制剂NSC23766阻断。在LPS刺激TIPE2^{-/-}小鼠骨髓来源巨噬细胞中观察到极高水平的IL-6和IL-12,但TNF- α 水平改变不明显。同时,LPS刺激敲除TIPE2的RAW264.7细胞中IL-6 mRNA和蛋白表达显著增强^[14]。Jiang等^[15]在LPS诱导的小鼠骨髓来源的M1巨噬细胞可观察到TIPE2水平下降,在IL-4诱导的M2巨噬细胞中TIPE2水平上升。在DC细胞中过表达TIPE2后NF- κ B β 亚单位和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTORC1)活化水平下调,DC细胞最终向M2方向转化。另外,TIPE2可调控巨噬细胞对氧化低密度脂蛋白的反应强度,缺乏TIPE2的巨噬细胞可通过激活JNK、NF- κ B、p38MAPK信号通路产生更多的氧化应激和炎症反应的细胞因子。对于体内已经分化成熟的DC细胞,Luan等^[16]在小鼠烫伤模型中发现,无论是在体内还是体外使用siRNA干扰DC细胞中TIPE2表达,其表面共刺激分子[CD80、CD86、组织相容性复合体II(MHC II)]表达上调,与其共培养活化的CD4⁺T细胞增殖和分化能力增强,T细胞分泌IL-2和细胞内活化T细胞核因子(NF-AT)活性升高;若在DC细胞中过表达TIPE2则以上效应减弱。表明在烫伤等急性损伤模型中,TIPE2水平与巨噬细胞、DC细胞固有免疫应答活性呈负相关,在炎症反应早期,如果上调TIPE2表达则可能减轻炎症反应强度,避免过度炎症反应对自身的损伤。

3.2.2 TIPE2对中性粒细胞功能的影响:Fayngerts等^[17]通过TIPE2^{-/-}小鼠和野生型小鼠急性腹膜炎模型观察到,与野生型小鼠相比,TIPE2^{-/-}小鼠腹腔内仅有少量迁移而来的Ly6G⁺中性粒细胞,大部分中性粒细胞仍存在于血循环中。进一步通过Transwell迁移实验观察到,TIPE2^{-/-}小鼠骨髓来源的中性粒细胞和TIPE2缺陷HL-60细胞株均表现出明显的定向迁移缺陷,但是细胞随意运动能力未见变化,以上定向迁移缺陷随细胞恢复表达TIPE2而缓解,表明TIPE2参与中性粒细胞定向趋化运动机制。如果将中性粒细胞面向趋化物(鼠CXCL2或人CXCL8)的一侧称为前缘,背对的一侧称为后缘,TIPE2则通过正反馈前缘胞质侧PI3K作用促使胞膜PtdIns(4,5)P2转化为PtdIns(3,4,5)P3,促进肌动蛋白聚集,但在后缘TIPE2主要通过结合并抑制小GTP酶Rac而增强后缘肌球蛋白收缩。表明在TIPE2参与下中性粒细胞向趋化物定向运动。由于TIPE2^{-/-}中性粒细胞向炎症部位迁移减少,EAE模型TIPE2^{-/-}小鼠神经炎症反应水平下降,症状有所减轻。

3.3 TIPE2对获得性免疫应答的影响

3.3.1 TIPE2对T细胞免疫功能的影响: 黄利红等^[18]利用RNA干扰技术沉默T739小鼠脾脏T淋巴细胞TIPE2基因表达发现,下调TIPE2基因表达后T细胞膜表面CD69表达上调,细胞增殖能力显著增强,细胞分泌IL-2和IFN- γ 水平增加。表明下调TIPE2基因水平可以促进T淋巴细胞增殖和免疫活性。有研究表明, TIPE2参与了微小RNA-21(miR-21)介导T细胞凋亡过程, miR-21被认为是NF- κ B的直接靶标,抑制TIPE2表达下调miR-21水平,进而减少T细胞凋亡^[19]。

3.3.2 TIPE2对B细胞免疫功能的影响: 与TIPE2^{-/-}T细胞免疫活性增强相反, TIPE2^{-/-}小鼠体内B细胞免疫功能未见明显变化,表现为卵白蛋白复合完全弗氏佐剂(OVA)免疫的TIPE2^{-/-}青年小鼠与对照组OVA特异抗体处于同一水平。TIPE2^{-/-}小鼠B细胞受LPS或CpG刺激时, IL-1 β 和TNF- α 水平增加,证实TIPE2^{-/-}B细胞固有免疫能力增强,但抗IgM抗体诱导TIPE2^{-/-}B细胞生成TNF- α 水平以及B细胞增殖、凋亡、抗体合成的能力均未见明显变化。由此可见, TIPE2可能调节B细胞固有免疫反应,而对其体液免疫功能影响不大。需要指出的是, TLR配体刺激TIPE2^{-/-}B细胞合成TNF- α 的能力增强,而巨噬细胞合成TNF- α 的能力不变,说明TIPE2对TNF- α 表达调节具有细胞特异性,转录因子和信号分子在不同细胞中作用的差异可能是TIPE2调节TNF- α 差异表达的原因^[4]。

3.3.3 TIPE2与Treg: 栾樱译等^[20]证实,在静息条件下Treg细胞存在TIPE2 mRNA和蛋白表达;当siRNA干扰TIPE2表达后,经CD3和CD28刺激Treg细胞表面细胞毒性T细胞相关蛋白4(CTLA-4)、叉头翼状转录因子3(Foxp3)表达均下降,并伴随IL-10和转化生长因子- β (TGF- β)分泌减少。由于Treg细胞对效应T细胞发挥抑制功能,因此, TIPE2降低使得Treg细胞对T细胞免疫活性抑制效应减弱, Th1/Th2平衡失调并向Th1方向漂移。进一步分析发现,效应T细胞NF- κ B和NF-AT活性均下降,表明T细胞增殖能力降低。表明TIPE2可能具有抑制Treg免疫活性的功能,从而减轻Treg细胞对效应T细胞的抑制效应,整体上呈现出T细胞免疫活性增强。

4 TIPE2与疾病相关性

4.1 TIPE2与脓毒症: 由于TIPE2可下调固有免疫和获得性免疫反应,从理论上推测其在脓毒症早期、晚期、恢复期具有不同意义。Liu等^[21]通过小鼠脓毒症模型观察草木犀提取物对肺组织的保护作用,发现草木犀提取物在上调肺组织TIPE2、亚铁血红素氧化酶、NF- κ B抑制因子(I κ B)表达的同时抑制TLR4、NF- κ B、髓过氧化物酶、基质金属蛋白酶水平; TIPE2水平可能作为脓毒症严重程度的标志物,提高TIPE2水平可能有助于减轻脓毒症,其具体机制有待进一步探讨。

4.2 TIPE2与肿瘤: Gus-Brautbar等^[22]发现TIPE2通过竞争性结合原癌基因Ras阻碍了Ras/RGL复合体形成,抑制Ras/RGL下游Akt信号通路。由于肿瘤发生时常伴随Ras基因突变,因此, TIPE2具有抑制体细胞癌变及肿瘤发生的

作用。据报道, TIPE2通过抑制Rac1 GTP酶减轻肝细胞癌变,减少F-肌动蛋白(F-actin)聚集和基质金属蛋白酶9、尿激酶纤溶酶原激活物活性;若敲除TIPE2基因则增强Akt和Ral活性,表现为肝癌细胞凋亡较少、迁移能力增强^[23]。另有报道,在人胃癌中TIPE2表达减弱或消失,减少的TIPE2与胃癌预后呈正相关;若TIPE2过表达则可上调原癌基因(N-ras)和p27表达,减少细胞增殖;同时TIPE2也能调控胃癌细胞Akt、ERK1/2、糖原合成酶3 β (GSK3 β)信号通路活性,下调 β -连环蛋白(β -catenin)核转位。随着胃癌细胞中TIPE2表达降低,细胞质中 β -catenin浓度逐渐增加,当其累积到一定水平时可转移至细胞核内,进一步与转录因子家族Tcf/Lefs结合,激活上调G1/S-特异性周期蛋白-D1(cyclinD1)水平及c-myc等原癌基因,最终促进细胞增殖、分化、成熟^[24]。在人结肠癌细胞中, TIPE2通过抑制caspase-8下调TLR4诱导的结肠癌恶变程度;而上调TIPE2水平与结肠癌淋巴结转移及结肠癌Duke分期呈正相关^[25]。与以上现象相反, TIPE2在人肾癌细胞呈高表达,且表达水平与肾癌TNM分期呈正相关^[26]。以上资料表明,在肿瘤发生过程中, TIPE2对肿瘤细胞的影响具有显著细胞特异性。

4.3 TIPE2与脑卒中: 脑卒中是中枢神经系统最常见的血管性疾病,其中白细胞向脑内迁移是脑卒中后脑内炎症反应最重要的环节之一。为了探索大脑中动脉结扎致缺血/再灌注模型中TIPE2对脑内炎症反应的作用, Zhang等^[27]应用TIPE2^{-/-}小鼠制模后观察到, TIPE2缺乏明显增加大脑中动脉结扎2h再灌注不同时间点浸润入脑的Gr1⁺中性粒细胞、CD11b⁺CD45^{high}巨噬细胞、CD3⁺T细胞数目。特别是在再灌注早期,脑组织中中性粒细胞和巨噬细胞数量急剧增多,二者在再灌注48h达峰值,而T细胞在72h达高峰。同时,脑组织中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平明显升高。进一步分析证实, TIPE2在野生型小鼠制模后脑内表达上调,其来源主要是巨噬细胞和小胶质细胞,且TIPE2表达与还原型辅酶II(NADPH)氧化酶活性相关; TIPE2水平下调则明显增大脑缺血性损伤范围。提示TIPE2可能是减轻脑卒中脑内炎症反应程度、改善预后的潜在治疗靶点。

4.4 TIPE2与血管性疾病: 脉络膜血管新生是眼内疾病最具特征的病理性改变,表现为视网膜下新生血管增生,覆盖色素上皮细胞和脉络膜,最终造成视力减退。在其发病进程中,发生于脉络膜上的早期炎症和免疫反应具有重要作用。Suo等^[28]观察了正常和炎症反应状态下视网膜色素上皮细胞TIPE2表达情况,发现其在胞质及核内均有表达,随着炎症反应的发展,细胞活性降低的同时伴有TIPE2表达下降。采用siRNA干扰TIPE2表达后, LPS刺激的色素上皮细胞TNF- α 、IL-1 β 、血管内皮生长因子水平明显升高。考虑到血管内皮生长因子在终末期视网膜血管新生中的重要作用, TIPE2除抗炎之外可能具有抑制血管新生作用。

4.5 TIPE2与风湿性疾病: Zhu等^[29]检测了54例类风湿关节炎患者外周血淋巴细胞以及关节炎模型小鼠脾脏中TIPE2和增殖细胞核抗原(PCNP)水平,发现二者各自对

照组相比水平均升高,活动性类风湿关节炎患者高于静止型类风湿关节炎患者;给予活动型类风湿关节炎患者6个月抗风湿治疗后,二者 TIPE2 表达差异消失。此外,患者外周血淋巴细胞 TIPE2 mRNA 表达与 PCNP 变化趋势相似,说明类风湿关节炎患者 TIPE2 水平与病情严重程度相关。

4.6 TIPE2 与脂代谢疾病: Lou 等^[30]报道 TIPE2 可调控巨噬细胞对氧化低密度脂蛋白的反应强度,缺乏 TIPE2 的巨噬细胞通过激活 JNK、NF- κ B、p38MAPK 信号通路产生更多的氧化应激和炎性细胞因子。在高脂饮食喂养的 Ldlr^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化模型中,骨髓细胞 TIPE2 缺乏可促发粥样斑块形成;降脂药物阿托伐他汀可增强 LPS 诱导 TIPE2 表达,下调 NF- κ B 信号通路活性,减少一氧化氮合酶等表达水平。

5 小结和展望

综上, TIPE2 参与了多种细胞内信号转导过程,涉及肿瘤、免疫、炎症等多个领域。从 TIPE2 蛋白结构特征出发,推测在免疫细胞中 TIPE2 与 PI3K γ -PtdIns(4,5)P2-PtdIns(3,4,5)P3 信号转导通路密切相关,籍以影响免疫细胞趋化、增殖、分泌、凋亡等功能。尽管目前证据显示 TIPE2 蛋白可以结合脂质第二信使分子,但它是脂质分子的靶蛋白或是载体蛋白仍有待澄清。因此,深入开展 TIPE2 研究有利于我们探索其可能干预途径及作用环节,以有效调节机体免疫功能,为最终治疗免疫相关疾病提供新思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 姚咏明,盛志勇.脓毒症研究若干重要科学问题的思考[J].中华危重病急救医学,2016,28(2):102-103. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.003.
- [2] Yao YM, Sheng ZY. Rethink of the major scientific issues in the pathogenesis of sepsis[J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28(2): 102-103. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.003.
- [3] Strausberg RL, Feingold EA, Grouse LH, et al. Generation and initial analysis of more than 15 000 full-length human and mouse cDNA sequences[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(26): 16899-16903. DOI: 10.1073/pnas.242603899.
- [4] Lou Y, Liu S. The TIPE (TNFAIP8) family in inflammation, immunity, and cancer[J]. Mol Immunol, 2011, 49(1-2): 4-7. DOI: 10.1016/j.molimm.2011.08.006.
- [5] Sun H, Gong S, Carmody RJ, et al. TIPE2, a negative regulator of innate and adaptive immunity that maintains immune homeostasis[J]. Cell, 2008, 133(3): 415-426. DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.026.
- [6] Zhang G, Hao C, Lou Y, et al. Tissue-specific expression of TIPE2 provides insights into its function[J]. Mol Immunol, 2010, 47(15): 2435-2442. DOI: 10.1016/j.molimm.2010.06.016.
- [7] Freundt EC, Bidere N, Lenardo MJ. A different TIPE of immune homeostasis[J]. Cell, 2008, 133(3): 401-402. DOI: 10.1016/j.cell.2008.04.017.
- [8] Zhang X, Wang J, Fan C, et al. Crystal structure of TIPE2 provides insights into immune homeostasis[J]. Nat Struct Mol Biol, 2009, 16(1): 89-90. DOI: 10.1038/nsmb.1522.
- [9] Thomas CC, Deak M, Alessi DR, et al. High-resolution structure of the pleckstrin homology domain of protein kinase b/akt bound to phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate[J]. Curr Biol, 2002, 12(14): 1256-1262. DOI: 10.1016/S0960-9822(02)00972-7.
- [10] Oho M, Nakano R, Nakayama R, et al. TIPE2 (tumor necrosis factor α -induced protein 8-like 2) is a novel negative regulator of TAK1 signal[J]. J Biol Chem, 2016, 291(43): 22650-22660. DOI: 10.1074/jbc.M116.733451.
- [11] Wang Z, Fayngerts S, Wang P, et al. TIPE2 protein serves as a negative regulator of phagocytosis and oxidative burst during infection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(38): 15413-15418. DOI: 10.1073/pnas.1204525109.
- [12] Riedl SJ, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2004, 5(11): 897-907. DOI: 10.1038/nrm1496.
- [13] 王颖,刘英宇,张文艳. TIPE2 抑制 AP-1 蛋白增加人非小细胞

- [14] 肺癌细胞系 NCI-H1975 化疗敏感性的机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(1): 40-43. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2018.01.008.
- [15] Wang Y, Liu YY, Zhang WY. TIPE2 sensitizes CDDP to human non-small cell lung cancer cell line NCI-H1975 by suppressing AP-1[J]. Chin J Immunol, 2018, 34(1): 40-43. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2018.01.008.
- [16] Zhu Y, Tao M, Wu J, et al. Adenovirus-directed expression of TIPE2 suppresses gastric cancer growth via induction of apoptosis and inhibition of AKT and ERK1/2 signaling[J]. Cancer Gene Ther, 2016, 23(4): 98-106. DOI: 10.1038/cgt.2016.6.
- [17] Sun H, Zhuang G, Chai L, et al. TIPE2 controls innate immunity to RNA by targeting the phosphatidylinositol 3-kinase-Rac pathway[J]. J Immunol, 2012, 189(6): 2768-2773. DOI: 10.4049/jimmunol.1103477.
- [18] Jiang Y, Li Q, Zhang Y, et al. TIPE2 governs macrophage polarization via negative regulation of mTORC1[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(1): 952-960. DOI: 10.3892/mmr.2017.7991.
- [19] Luan YY, Yao RQ, Tong S, et al. Effect of tumor necrosis factor- α induced protein 8 like-2 on immune function of dendritic cells in mice following acute insults[J]. Oncotarget, 2016, 7(21): 30178-30192. DOI: 10.18632/oncotarget.8398.
- [20] Fayngerts SA, Wang Z, Zamani A, et al. Direction of leukocyte polarization and migration by the phosphoinositide-transfer protein TIPE2[J]. Nat Immunol, 2017, 18(12): 1353-1360. DOI: 10.1038/ni.3866.
- [21] 黄利红,陈江勇,洪斌. 下调 T 细胞肿瘤坏死因子 α 诱导蛋白 8 样分子 2 (TIPE2) 促进 T 细胞增殖并增强其免疫活性[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(7): 886-890, 895.
- [22] Huang LH, Chen JY, Hong B. Down-regulation of TIPE2 promotes the proliferation and immune activity of T lymphocytes[J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2016, 32(7): 886-890, 895.
- [23] Ruan Q, Wang P, Wang T, et al. MicroRNA-21 regulates T-cell apoptosis by directly targeting the tumor suppressor gene TIPE2[J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1095. DOI: 10.1038/cddis.2014.47.
- [24] 栾樱译,姚咏明,董宁,等. 肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白-8 样分子 2 对小鼠调节性 T 细胞免疫调节功能的影响[J]. 中华创伤杂志, 2012, 28(4): 316-321. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2012.04.007.
- [25] Luan YY, Yao YM, Dong N, et al. Regulatory effect of tumor necrosis factor- α induced protein 8 like-2 expression on immunosuppressive activity of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in mice[J]. Chin J Trauma, 2012, 28(4): 316-321. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-8050.2012.04.007.
- [26] Liu MW, Su MX, Wang YH, et al. Effect of Melilotus extract on lung injury via the upregulation of tumor necrosis factor- α -induced protein-8-like 2 in septic mice[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(3): 1675-1684. DOI: 10.3892/mmr.2014.2965.
- [27] Gus-Brautbar Y, Johnson D, Zhang L, et al. The anti-inflammatory TIPE2 is an inhibitor of the oncogenic Ras[J]. Mol Cell, 2012, 45(5): 610-618. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.01.006.
- [28] Cao X, Zhang L, Shi Y, et al. Human tumor necrosis factor (TNF)- α -induced protein 8-like 2 suppresses hepatocellular carcinoma metastasis through inhibiting Rac1[J]. Mol Cancer, 2013, 12(1): 149. DOI: 10.1186/1476-4598-12-149.
- [29] Wu J, Zhang H, Xu C, et al. TIPE2 functions as a metastasis suppressor via negatively regulating β -catenin through activating GSK3 β in gastric cancer[J]. Int J Oncol, 2016, 48(1): 199-206. DOI: 10.3892/ijo.2015.3224.
- [30] Li XM, Su JR, Yan SP, et al. A novel inflammatory regulator TIPE2 inhibits TLR4-mediated development of colon cancer via caspase-8[J]. Cancer Biomark, 2014, 14(4): 233-240. DOI: 10.3233/CBM-140402.
- [31] Zhang Z, Qi H, Hou S, et al. TIPE2 mRNA overexpression correlates with TNM staging in renal cell carcinoma tissues[J]. Oncol Lett, 2013, 6(2): 571-575. DOI: 10.3892/ol.2013.1388.
- [32] Zhang Y, Wei X, Liu L, et al. TIPE2, a novel regulator of immunity, protects against experimental stroke[J]. J Biol Chem, 2012, 287(39): 32546-32555. DOI: 10.1074/jbc.M112.348755.
- [33] Suo LG, Cui YY, Bai Y, et al. Anti-inflammatory TIPE2 inhibits angiogenic VEGF in retinal pigment epithelium[J]. Mol Immunol, 2016, 73: 46-52. DOI: 10.1016/j.molimm.2016.03.013.
- [34] Zhu SB, Liu RM, Sun YC, et al. TIPE2 expression is increased in peripheral blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis[J]. Oncotarget, 2017, 8(50): 87472-87479. DOI: 10.18632/oncotarget.21267.
- [35] Lou Y, Liu S, Zhang C, et al. Enhanced atherosclerosis in TIPE2-deficient mice is associated with increased macrophage responses to oxidized low-density lipoprotein[J]. J Immunol, 2013, 191(9): 4849-4857. DOI: 10.4049/jimmunol.1300053.

(收稿日期: 2019-04-16)