

内质网驻留蛋白 UNC93B1 对胞内 TLR 信号通路的影响及其在自身免疫性疾病中的研究进展

刘轩萌, 段晓妍, 李小婷, 雷雪, 陈莹

(中国医科大学 尘肺研究室, 沈阳 110122)

摘要: 越来越多的研究发现不协调的 93 同系物 B1(uncoordinated 93 homolog B1, UNC93B1)在自身免疫性疾病的发生、发展中起重要作用。UNC93B1 是一种内质网驻留蛋白, 能够参与多种胞内 TLR 信号通路的激活、内质网钙电流的调节, 促进机体自身免疫反应, 增加炎症因子水平, 对自身免疫性疾病的发生、发展具有重要意义。文章对 UNC93B1 对胞内 TLR 信号通路的影响及其在几种重要的自身免疫性疾病如 SLE 等发生、发展中的作用机制进行了系统的综述, 可能为自身免疫性疾病提供新的治疗途径。

关键词: 不协调的 93 同系物 B1; Toll 样受体; 自身免疫性疾病

中图分类号: R539.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)04-0349-04

近年来, 自身免疫性疾病的发病机制成为研究的热门, TLR 信号通路的激活对于自身免疫性疾病发生、发展的重要作用也被多次报道^[1-3]。有大量研究发现, 胞内 TLR 信号通路的激活是需要内质网驻留蛋白不协调的 93 同系物 B1(uncoordinated 93 homolog B1, UNC93B1)参与完成的, UNC93B1 不参与膜上 TLR 通路的激活过程, 仅参与胞内 TLR 信号通路, 即 TLR3、TLR7、TLR8、TLR9 信号通路相关分子的转运及激活, 是胞内 TLR 发挥功能所必需的多通道跨膜蛋白。本文综述了 UNC93B1 对胞内 TLR 信号通路的影响及其在自身免疫性疾病中的研究进展。

1 UNC93B1 的发现及其细胞定位

UNC93B1 是一种具有 12 个跨膜结构域、598 个氨基酸残基的蛋白, 在人和小鼠中 90% 同源, 人源写作 UNC93B1, 小鼠源同系物写作 Unc93b1。2002 年, Kashuba 等^[4]首次在人体中发现了 UNC93B1, 这是一种新型人类基因, 能够编码与秀丽隐杆线虫 UNC93 有关的蛋白质, 通过荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridization, FISH)检测发现 UNC93B1 定位于染色体

11q13 区带。该研究还发现, UNC93B1 在心脏中的表达量最高, 脑、肾脏其次, 肌肉、结肠、小肠、胸腺、脾脏和肺中也均有表达, 在胎盘中的表达量最低。生物信息学分析显示, 小鼠 B 细胞中 Unc93b1 为高表达, 其人类同系物 UNC93B1 在 DC 中高表达。Tabeta 等^[5]发现, 在 RAW264.7 细胞中 Unc93b 可以定位在晚期内体、溶酶体和高尔基体中。

2 UNC93B1 对胞内 TLR 信号通路的影响

有研究显示, 通过激活病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)和损伤相关分子模式(danger-associated molecular pattern, DAMP)可以激活 TLR, 从而引发促炎免疫应答, 促进炎症因子的分泌, 提高机体的免疫水平, 促进疾病的发生、发展^[3]。以往文献显示, UNC93B1 可参与胞内 TLR3、TLR7、TLR8、TLR9 信号通路的激活, 能够调控 TLR3/TLR7/TLR8/TLR9 的包装、离开内质网、进入细胞外壳蛋白复合物 II(coat protein complex II, COP II)囊泡、高尔基体内的切割及转移到内体等过程^[5-9], 在胞内 TLR 发挥作用的过程中起重要作用。

2.1 UNC93B1 与 TLR3 TLR3 由双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)激活, 存在于 DC、NK 细胞、成纤维细胞等中。在自身抗原物质进入细胞后, 活化的 UNC93B1 通过其跨膜结构域与 TLR3 结合并经囊泡运输到高尔基体上, 经组

收稿日期: 2018-03-23

基金项目: 国家自然科学基金(81773376)

作者简介: 刘轩萌(1993-), 女, 硕士生, 主要从事职业性肺疾病与自身免疫性疾病研究

通信作者: 陈莹(E-mail: ychen25@cmu.edu.cn)

织蛋白酶切割后进入细胞内体与自身抗原结合,募集含 IFN- β TIR 结构域衔接蛋白(TIR-domain-containing adaptor inducing IFN- β , TRIF),激活下游信号通路进而分泌炎症因子^[10](图1)。Zhang 等^[11]采用单纯疱疹病毒刺激 UNC93B1 缺陷的成纤维细胞,发现与 WT 组相比,UNC93B1 缺陷组分泌 IFN- β 和 IFN- λ 减少。此外,还有研究发现,Poly(I: C)(聚肌胞苷酸)能够作为 TLR3 的促进剂,与 TLR3 结合并上调 UNC93B1 的表达,因此 UNC93B1 的启动子区域含有能与 Poly(I: C)和 I 型 IFN 诱导型调节元件结合的位点^[12]。UNC93B1 能增加 TLR3 和 TLR9 的蛋白寿命,同时增加其他核酸感应(nucleic acid-sensing, NAS)TLR 的信号转导能力,用 Poly(I: C)处理 B 细胞能够上调 UNC93B1 的单链 DNA(single-stranded DNA, ssDNA)激活^[13]。Franco 等^[14]发现,UNC93B1 是激活内体 TLR3 信号通路的必需分子。

2.2 UNC93B1 与 TLR8 TLR8 由单链 RNA(single-stranded RNA, ssRNA)激活,存在于人体单核细胞、巨噬细胞、骨髓 DC 及 Treg 中,其转运过程与 TLR3 相似,只是在内体与自身抗原结合后募集的是骨髓分化标志物 88(myeloid differentiation marker 88, MyD88)^[15],引起炎症因子的分泌(图1)。Itoh 等^[16]构建了 TLR8 的截短突变体,证实了 TLR8 的跨膜域和 TIR 结构域都是其在细胞内定位所必需的,同时采用免疫共沉淀方法证实 TLR8 的跨膜域是与 UNC93B1 作用的重要结构域。共聚焦成像分析清楚地表明,TLR8 与 UNC93B1 在 WT HeLa 细胞内共定位。在 UNC93B1^{+/+}型的 HEK293 细胞中,CL075 能够诱导 TLR8 介导的 NF- κ B 分泌增加。相反,干扰内源性 UNC93B1 后,CL075 诱导 TLR8 介导的 NF- κ B 分泌减少。

2.3 UNC93B1 与 TLR7 和 TLR9 大量文献表明,TLR7 和 TLR9 的平衡表达对许多自身免疫性疾病如 SLE、银屑病至关重要。TLR7/TLR9 信号通路的激活过程与 TLR8 相同(图1)。TLR7 由 ssRNA 激活,TLR9 由非甲基化 CpG 基序的 DNA 激活,存在于浆细胞样 DC、巨噬细胞等中^[11]。有研究表明,UNC93B1 缺陷患者的髓样来源的 DC 对 TLR7 或 TLR9 配体无反应,缺乏 Unc93b1 的小鼠和缺乏 UNC93B1 的人对病毒感染都高度敏感^[17]。根据以往研究,UNC93B1 N 端的点突变

(D34A)能够增强 TLR7 反应,同时抑制 TLR9 反应^[18],在该位点发生点突变可导致 TLR7 的升高和 TLR9 的降低。因此,研究者认为 UNC93B1 的 N 末端可能与该蛋白对不同 TLR 家族成员的选择性有关,而 D34A 残基可能是激活 TLR7 与 TLR9 信号通路所必需的。此外,表达 Unc93b1 突变体 D34A 等位基因的小鼠能够发生系统性致死性炎症^[7],这是 TLR7 升高和 TLR9 降低的结果,这一点也符合以前的发现^[19]。此外,有学者用 N-乙基-N-亚硝基脲随机诱变 C57BL/6 小鼠(能够通过诱导小鼠 H412R 区域发生错义突变,导致 Unc93b1 缺陷)后提取小鼠的巨噬细胞,发现 Unc93b1 缺陷小鼠的 TLR7/9 无法与 Unc93b1 结合并转运到内体中,也无法与各自的配体结合,Unc93b1 上 H412R 的突变不仅可以导致小鼠先天性免疫缺陷,还能通过组织小鼠 MHC 类抗原提呈途径和交叉途径来影响小鼠的适应性免疫^[3]。其他研究也证实,H412R 位点发生突变后,TLR7/9 不能离开内质网,H412R 突变体中仅能检测到 TLR7/9 的内质网驻留形式^[6]。此外,在表达 Unc93b1 WT 的巨噬细胞中能够检测到切割的 TLR7,但在表达 Unc93b1 H412R 的巨噬细胞中未检测到切割的 TLR7^[8]。Koehn 等^[17]采用小干扰 RNA 对体外培养的人单核细胞衍生 DC 和巨噬细胞中的 UNC93B1 进行干扰,敲低细胞内 UNC93B1 后发现只有 TLR 通路的分泌功能受到了影响。Franco 等^[14]发现,UNC93B1 是激活内体 TLR7 和 TLR9 信号通路的必需分子。

3 UNC93B1 激活胞内 TLR 信号通路对自身免疫性疾病的影响

3.1 SLE SLE 是多系统自身免疫性疾病,可以影响皮肤、心脏及肾脏等多脏器,可导致严重的器官并发症甚至死亡。有研究发现,活动性 SLE 患者的 PBMC 和 B 细胞中 UNC93B mRNA 的表达水平显著高于健康对照组,UNC93B 蛋白表达升高与抗 dsDNA 抗体升高呈显著相关性^[20],同时 Unc93b1 的缺陷可以抑制小鼠 ANA 水平和改善狼疮性肾炎。Unc93b1 缺陷的 B6-FasLpr 和 BXSB 狼疮小鼠自身抗体减少^[21]。Unc93b1 缺陷小鼠的 TLR7/9 无法与 Unc93b1 结合并转运到内体中,也无法与自身抗原结合^[4],同时 UNC93B1 缺陷患者的细胞也不能对 TLR7/9 的激动剂进行应答^[17]。

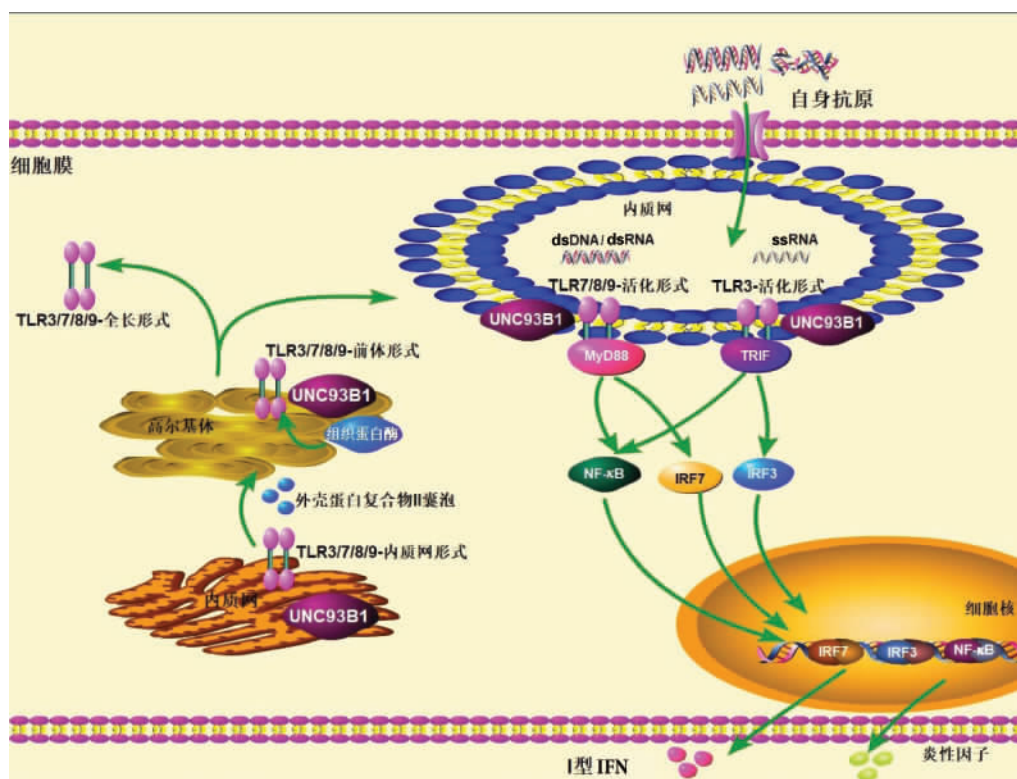


图1 UNC93B1对胞内TLR信号通路的激活过程

注：细胞吞噬自身抗原(dsDNA/dsRNA、ssRNA)后，进入细胞内体的自身抗原能够激活TLR3/TLR7/TLR8/TLR9信号通路，此时位于内质网的UNC93B1与TLR3/TLR7/TLR8/TLR9-内质网结合，包装入囊泡，转移到高尔基体中，在组织蛋白酶的切割下转为TLR活性形式，切割成功后的TLR3/TLR7/TLR8/TLR9进入内体中与自身抗原结合，同时募集下游MyD88、TRIF等，转位入核，刺激机体炎症水平的升高

由于抑制过度活跃的免疫反应是治疗SLE的关键策略，TLR7/9信号通路的激活失败将引起人和小鼠炎症因子分泌减少，机体免疫水平降低，自身免疫性疾病症状相对减轻。

3.2 银屑病 银屑病是一种常见的皮肤慢性炎症性疾病，主要以自身免疫性T细胞的局部激活从而诱导角质形成细胞过度增殖、活化的CD4⁺淋巴细胞和真皮中的嗜中性粒细胞浸润为特征，临床表现为界限清晰的红色和鳞状斑块。Lande等^[22]发现在银屑病中，自身DNA和RNA与阳离子抗微生物肽LL37形成复合物，在DC的溶酶体中与TLR7和TLR9结合，诱导IFN- α 的异常产生。Hirai等^[23]发现，硼替佐米能够通过抑制TLR和UNC93B1的功能并干扰内质网稳态来抑制细胞内TLR的运输，从而抑制浆细胞样DC的活性，这种蛋白酶抑制剂可能对浆细胞样DC相关的疾病如银屑病起到治疗作用。TLR7信号通路的激活能够导致角质形成细胞和如巨噬细胞、DC等的效应细胞激活炎症级联反应异常环境，导致产生IL-1、IL-17、IL-23和TNF- α 等促炎因子，它们在炎症性疾

病的蔓延和进展中起关键作用^[24]。

3.3 自身免疫性甲状腺疾病(autoimmune thyroid disease, AITD) AITD包括格雷夫斯病(Graves' disease, GD)和桥本氏病(Hashimoto's disease, HD)，具有遗传倾向，能够导致甲状腺(以淋巴细胞浸润为特征)、促甲状腺激素受体和不同甲状腺抗原的自身免疫反应。Inoue等^[25]的最新研究表明，TLR7和UNC93B1单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与AITD的发生和预后有关，TLR7 SNP2与HD的严重程度相关，TLR7 SNP4与GD的发展和难治性相关，并且UNC93B1 SNP1与GD的发展相关。TLR信号通路的激活能够引发淋巴细胞的异常激活并刺激和提高AITD患者的免疫水平，这可能与AITD患者的疾病进展有关^[26]。

4 结语

综上所述，UNC93B1通过激活胞内TLR信号通路在SLE、银屑病、AITD等多种自身免疫性疾病的发生、发展中发挥重要作用。最新研究发现，

UNC93B1与内质网上另一种驻留蛋白——基质相互作用蛋白1(stromal interacting protein 1, STIM1)也十分相关,STIM1能够检测内质网中钙的变化,能够与UNC93B1结合调节细胞内 Ca^{2+} 的储备和抗原交叉提呈^[27],可见UNC93B1与其他蛋白的相互作用也可能在调控细胞状态和自身免疫反应中发挥一定的作用。因此,从不同角度和节点靶向调节UNC93B1以探究其在自身免疫性疾病中的作用机制,对该类疾病的预防和治疗具有重要意义。

参考文献

- [1] Jimenez-Dalmaroni MJ, Gerswhin ME, Adamopoulos IE. The critical role of toll-like receptors—from microbial recognition to autoimmunity: A comprehensive review[J]. *Autoimmun Rev*, 2016, 15(1): 1-8.
- [2] Chasset F, Arnaud L. Targeting interferons and their pathways in systemic lupus erythematosus[J]. *Autoimmun Rev*, 2018, 17(1): 44-52.
- [3] Krock E, Rosenzweig DH, Currie JB, *et al.* Toll-like receptor activation induces degeneration of human intervertebral discs[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 17184.
- [4] Kashuba VI, Protopopov AI, Kvasha SM, *et al.* hUNC93B1: A novel human gene representing a new gene family and encoding an unc-93-like protein[J]. *Gene*, 2002, 283(1-2): 209-217.
- [5] Tabeta K, Hoebe K, Janssen EM, *et al.* The Unc93b1 mutation 3 d disrupts exogenous antigen presentation and signaling via Toll-like receptors 3, 7 and 9[J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(2): 156-164.
- [6] Brinkmann MM, Spooner E, Hoebe K, *et al.* The interaction between the ER membrane protein UNC93B and TLR3, 7, and 9 is crucial for TLR signaling[J]. *J Cell Biol*, 2007, 177(2): 265-275.
- [7] Kim YM, Brinkmann MM, Paquet ME, *et al.* UNC93B1 delivers nucleotide-sensing toll-like receptors to endolysosomes[J]. *Nature*, 2008, 452(7184): 234-238.
- [8] Fukui R, Saitoh S, Kanno A, *et al.* Unc93B1 restricts systemic lethal inflammation by orchestrating Toll-like receptor 7 and 9 trafficking[J]. *Immunity*, 2011, 35(1): 69-81.
- [9] Lee BL, Moon JE, Shu JH, *et al.* UNC93B1 mediates differential trafficking of endosomal TLRs[J]. *Elife*, 2013, 2: e00291.
- [10] Matsumoto M, Takeda Y, Tatematsu M, *et al.* Toll-like receptor 3 signal in dendritic cells benefits cancer immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1897.
- [11] Zhang SY, Jouanguy E, Ugolini S, *et al.* TLR3 deficiency in patients with herpes simplex encephalitis[J]. *Science*, 2007, 317(5844): 1522-1527.
- [12] Pirher N, Pohar J, Mancek-Keber M, *et al.* Activation of cell membrane-localized Toll-like receptor 3 by siRNA[J]. *Immunol Lett*, 2017, 189: 55-63.
- [13] Pohar J, Pirher N, Bencina M, *et al.* The role of UNC93B1 protein in surface localization of TLR3 receptor and in cell priming to nucleic acid agonists[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(1): 442-454.
- [14] Franco LH, Fleuri AKA, Pellison NC, *et al.* Autophagy downstream of endosomal Toll-like receptor signaling in macrophages is a key mechanism for resistance to Leishmania major infection[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(32): 13087-13096.
- [15] Fullard N, O'reilly S. Role of innate immune system in systemic sclerosis[J]. *Semin Immunopathol*, 2015, 37(5): 511-517.
- [16] Itoh H, Tatematsu M, Watanabe A, *et al.* UNC93B1 physically associates with human TLR8 and regulates TLR8-mediated signaling[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28500.
- [17] Koehn J, Huesken D, Jaritz M, *et al.* Assessing the function of human UNC-93B in Toll-like receptor signaling and major histocompatibility complex II response[J]. *Hum Immunol*, 2007, 68(11): 871-878.
- [18] Fukui R, Saitoh S, Matsumoto F, *et al.* Unc93B1 biases Toll-like receptor responses to nucleic acid in dendritic cells toward DNA-but against RNA-sensing[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(6): 1339-1350.
- [19] Pisitkun P, Deane JA, Difilippantonio MJ, *et al.* Autoreactive B cell responses to RNA-related antigens due to TLR7 gene duplication[J]. *Science*, 2006, 312(5780): 1669-1672.
- [20] Nakano S, Morimoto S, Suzuki S, *et al.* Up-regulation of the endoplasmic reticulum transmembrane protein UNC93B in the B cells of patients with active systemic lupus erythematosus[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2010, 49(5): 876-881.
- [21] Kono DH, Haraldsson MK, Lawson BR, *et al.* Endosomal TLR signaling is required for anti-nucleic acid and rheumatoid factor autoantibodies in lupus[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(29): 12061-12066.
- [22] Lande R, Gregorio J, Facchinetti V, *et al.* Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide[J]. *Nature*, 2007, 449(7162): 564-569.
- [23] Hirai M, Kadowaki N, Kitawaki T, *et al.* Bortezomib suppresses function and survival of plasmacytoid dendritic cells by targeting intracellular trafficking of Toll-like receptors and endoplasmic reticulum homeostasis[J]. *Blood*, 2011, 117(2): 500-509.
- [24] Jeon YJ, Sah SK, Yang HS, *et al.* Rhododendrin inhibits toll-like receptor-7-mediated psoriasis-like skin inflammation in mice[J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49(6): e349.
- [25] Inoue N, Katsumata Y, Watanabe M, *et al.* Polymorphisms and expression of toll-like receptors in autoimmune thyroid diseases[J]. *Autoimmunity*, 2017, 50(3): 182-191.
- [26] Peng S, Li C, Wang X, *et al.* Corrigendum: Increased Toll-like receptors activity and TLR ligands in patients with autoimmune thyroid diseases[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 551.
- [27] Fahrner M, Stadlbauer M, Muik M, *et al.* A dual mechanism promotes switching of the Stormorken STIM1 R304W mutant into the activated state[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 825.