

DC-SIGN 与微生物感染的研究进展

Recent advances in research of DC-SIGN and microorganism infection

陈 莉(CHEN Li)^{1,2}, 孟秀娟(MENG Xiu-juan)¹ 综述 李聪智(LI Cong-zhi)¹ 审校

(1 中南大学湘雅医院, 湖南 长沙 410008; 2 宜昌市第一人民医院, 湖北 宜昌 443000)

(1 Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2 The First People's Hospital of Yichang, Yichang 443000, China)

[关键词] 树突状细胞; DC-SIGN; 微生物感染; 免疫调节

[中图分类号] R392.12 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2009)03-0215-04

树突状细胞(dendritic cell, DC)是机体内专职的抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),免疫应答的始动者,处于免疫反应的控制位置。DC 特异性细胞间黏附分子-3 结合非整合素因子(dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin, DC-SIGN, CD209)是 DC 表面特异性的识别受体与黏附受体。1992 年 Curtis 等^[1]在研究人免疫缺陷病毒(HIV)时首先发现 DC-SIGN。1999 年 Geijtenbeek 等^[2-3]利用 ICAM-3-Fc 荧光磁珠在 DC 外膜上也筛选出了 DC-SIGN。本文就 DC-SIGN 的特征及其与微生物感染的关系进行综述。

1 DC-SIGN 的特征

1.1 DC-SIGN 的分子结构 DC-SIGN 属于 C-型外源性凝集素超家族成员,是一种由 404 个氨基酸组成的 II 型跨膜蛋白,其结构为:(1)位于 N 末端的胞质区;(2)跨膜区;(3)位于 C 末端的胞质外区,该区又可分为颈区与碳水化合物识别区(carbohydrate recognition domain, CRD)。DC-SIGN 能通过特殊的依赖 Ca^{2+} 的 CRD 来识别抗原并介导细胞之间的相互接触^[3]。

胞质区为无信号的肽结构域,但该区含有一些内在化基序,如 LL(Leu-Leu)基序、EEE(Glu-Glu-Glu)簇、不完全的免疫受体酪氨酸活化基序 ITAM,其中 LL 基序主要介导各种病原体及抗原的内吞,EEE 簇与 ITAM 基序主要对信号转导进行调节^[4]。跨膜区主要参与 DC-SIGN 在细胞膜上的定位。颈区又称铰链区,由 7 个完全的和 1 个不完

全的重复序列串联而成,每个重复序列含 23 个氨基酸残基,该区可介导 DC-SIGN 形成同源四聚体,使颈区结构构象发生变化,从而增强 DC-SIGN 与配体的亲和力,同时放大配体信号^[5]。CRD 又称凝集素区,一个环状结构突出于 CRD 表面,形成 2 个 Ca^{2+} 结合位点,其中一个 Ca^{2+} 结合位点决定 DC-SIGN 的空间构象,另一个 Ca^{2+} 结合位点调节 DC-SIGN 与碳水化合物配体。CRD 含有 4 个特殊的氨基酸残基(Glu347、Asn349、Glu354、Asn365),这些氨基酸残基通过与 Ca^{2+} 作用而识别特异的碳水化合物结构,当这些位点发生变异时,DC-SIGN 则失去与配体结合的能力^[6]。

1.2 DC-SIGN 的分布与表达 DC-SIGN 主要在外周组织中未成熟的 DC(imature dendritic cell, iDC)表面及淋巴组织中成熟的 DC 表面表达^[7]。在淋巴结、扁桃体、脾脏的 T 细胞富集区亦可见 DC-SIGN 的表达。此外,在直肠、宫颈及子宫这些复层鳞状上皮组织黏膜固有层、皮肤真皮层中的 DC 均有 DC-SIGN 表达;但皮肤表皮层中的朗格汉斯细胞、粒细胞、单核细胞与活化单核细胞、T 细胞与活化 T 细胞、B 细胞与活化 B 细胞、胸腺细胞及 CD34+ 来源的骨髓细胞中均无 DC-SIGN 表达^[3]。除 DC 外,成人胎盘和肺部的巨噬细胞、脑毛细血管内皮细胞以及肝窦与淋巴窦的内皮细胞表面也有 DC-SIGN 表达^[7]。细胞表面 DC-SIGN 的表达水平与该细胞的状态有关,研究发现^[3],在培养第 1 天即可检测到 DC-SIGN,随着细胞的不断成熟,DC-SIGN 的表达水平不断上升,在培养第 7 天,其表达

[收稿日期] 2008-07-08

[作者简介] 陈莉(1980-),女(汉族),湖北省宜昌市人,医师,主要从事病毒性肝炎临床研究。

[通讯作者] 李聪智 E-mail:licongzhi@163.com

水平达最高,此时 DC-SIGN 与病原体的结合及转运效率亦最高,此后随着 DC 的不断成熟 DC-SIGN 的表达水平反而逐渐下降。

2 DC-SIGN 与免疫调节

DC 直接调节辅助性 T 淋巴细胞(helper T lymphocyte,Th)分化成 I 型辅助性 T 淋巴细胞(helper T lymphocyte I,Th1)和 II 型辅助性 T 淋巴细胞(helper T lymphocyte II,Th2)等效应细胞。研究表明^[8-9],DC-SIGN 可通过其 CRD 识别结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*,MTB)细胞壁上的阿拉伯脂甘露糖(ManLAM)抑制脂多糖诱导的 DC 的成熟,并抑制白细胞介素(IL)-12 的分泌,同时使 IL-10 的分泌增加,使机体更易出现免疫耐受。这可能与 DC-SIGN 抑制了 DC 的功能有关,也可能是由于 Toll 受体(Toll-like receptors,TLRs)和 C 型凝集素受体(C-type lectin receptors,CLRs)在内吞抗原时的串扰所致。因为已经有研究表明^[8],DC-SIGN 等其他 CLRs 与 TLRs 发生串扰时,T 细胞的免疫活性受到抑制。而 Sol-Foulon 等研究认为^[9],HIV-1 外膜蛋白通过上调 DC-SIGN 的基因表达水平而增强其与 T 细胞的黏附能力以促使 HIV-1 的传播。但也有研究认为^[10],DC-SIGN 捕获病原体有利于抗原的加工提呈并促使机体产生有效的免疫应答。

3 DC-SIGN 与病原体感染

3.1 DC-SIGN 与 HIV HIV 感染人体后最先接触皮肤黏膜组织中的 iDC,iDC 表面的 DC-SIGN 与含甘露糖结构的 HIV 外膜蛋白 gp120 具有较高的亲和力。DC-SIGN 能够介导 HIV 的转运,增加 HIV 感染 CD4 + T 细胞的机会,但 DC-SIGN 只在 HIV-1 感染的早期介导病毒的入侵。此外,DC-SIGN 可延长病毒对 T 细胞的感染。HIV-1 在体外单独存在 1 天即丧失感染力,而与 DC-SIGN 结合后能在 DC 胞内贮存达 4 天^[11]。由此可见,DC-SIGN 与 HIV-1 结合后,不仅可以富集病毒,还能稳定病毒,维持和延长病毒的感染活性,这可能是导致机体持续性感染的最主要原因之一。

3.2 DC-SIGN 与 HCV 2003 年 Lozach 等^[12]首先证明 DC-SIGN 与丙型肝炎病毒(HCV)E2 外膜蛋白高甘露糖化的糖链具有高亲和力,他们认为

DC-SIGN 不仅能够捕获血液中的 HCV,还能捕获肝脏中的 HCV 并将其转运至临近肝细胞。同时 Pohlmann 等也对 DC-SIGN 与 HCV 的关系进行了研究^[13],发现从外周血等髓系 DC 获得的成熟或未成熟单核细胞来源的 DC(monocyte-derived dendritic cells,MDDCs)可与可溶性 E2 结合,E2 与未成熟 MDDCs 的结合依赖于 DC-SIGN 的存在,但与成熟 MDDCs 的结合仅部分依赖于 DC-SIGN。

3.3 DC-SIGN 与其他病原体 研究表明^[14-17],DC-SIGN 可能为慢病毒的通用受体,它除能介导 HIV 与 HCV 的感染外,还能介导其他多种病原体感染,如严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus,SARS-Cov)、Ebola 病毒、登革热病毒、巨细胞病毒等;同时 DC-SIGN 也可以与烟曲菌、利士曼原虫结合^[18-19]。最近亦有报道^[20]称 DC-SIGN 也与肿瘤的免疫逃避密切相关。

4 DC-SIGN 基因变异与病原体感染

有研究称病原体对机体的感染力有赖于 DC-SIGN 的基因表达水平。启动区控制基因表达水平,据此有学者推测 DC-SIGN 启动区基因变异可能通过影响其基因表达水平而影响机体对某些病原体的感染,多项研究证明了这一点。

2004 年 Martin 等对 DC-SIGN 启动区基因变异与 HIV-1 的关系进行了研究^[21],发现 DC-SIGN 启动区 -336C 的个体较 -336T 的个体更易感染 HIV-1,但此影响只在垂直传播的个体中观察到,在经性传播的个体中并未发现此现象。此后有学者对 DC-SIGN 启动区基因变异与结核的关系进行了研究^[22],也发现 DC-SIGN 启动区 -336C 的个体较 -336T 的个体更易感染 MTB。但是也有研究认为^[23],DC-SIGN 启动区 -336 位点基因突变与机体对 MTB 的易感性之间并无明显关联,他们认为这可能与机体感染 MTB 的程度有关,也可能是由于基因多态性导致连锁不平衡,从而影响了启动区的活性所致。DC-SIGN 启动区基因变异除可影响机体对某些病原体的易感性外,其对疾病的严重程度也有较大影响。2005 年 Sakuntabhai 等研究发现^[24],DC-SIGN 启动区 -336C 的出现频率,登革热患者较登革出血热患者低;同时他们发现 -336C/T 基因突变也可影响 DC-SIGN 启动区内的 Sp1 样结合位点并介导其转录活性。一般而言,Sp1 转录调

节因子提高等位基因 C 的转录频率,但本观察结果却显示,等位基因 C 的转录频率要较等位基因 T 的转录频率低。这可能与细胞表面 DC-SIGN 的基因表达水平降低导致细胞的免疫监视功能下降有关。

DC-SIGN 颈区也可发生变异,但颈区变异的频率较低,且目前还未发现该区变异与机体对 HIV-1、MTB 等病原体的易感性、慢性化或疾病的严重程度之间有直接的相关性^[23-25]。

这些研究表明,DC-SIGN 基因变异,尤其是启动区的变异可能是控制某些疾病转归的关键因素之一。但机体内的某些因素可能影响 DC-SIGN 的有效表达,从而影响 DC-SIGN 与病原体的关系,使疾病的转归改变方向。而目前关于 DC-SIGN 的研究主要还局限于体外,对于活体内该基因的功能以及其他基因对该基因的影响等方面还知之甚少,这还需进一步的研究。

5 结语

目前,艾滋病、慢性肝炎、结核等疾病都是难以治疗的慢性疾病,引起这些慢性疾病的病原体 HIV、HCV、MTB 等都能被 DC-SIGN 识别,同时这些病原体具有潜伏期长,能够感染免疫细胞而抑制细胞免疫的共性,因而 DC-SIGN 可能在病原微生物的慢性感染和免疫逃避中发挥着关键作用。认识 DC-SIGN 介导这些病原体感染的机制,分析 DC-SIGN 在不同个体间的表达差异,研究其编码基因的多态性,为明确这些慢性疾病的感染机制、预防性疫苗的开发以及基因治疗等提供了新的切入点。

[参考文献]

[1] Curtis B M, Schamowske S, Watson A J. Sequence and expression of a membrane-associated C-type lectin that exhibits CD4-independent binding of human immunodeficiency virus envelope glycoprotein gp120 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89(17): 8356 - 8360.

[2] Geijtenbeek T B, van Kooyk Y, van Vliet S J, *et al.* High frequency of adhesion defects in B-lineage acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood, 1999, 94(2): 754 - 764.

[3] Geijtenbeek T B, Torensma R, van Vliet S J, *et al.* Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses [J]. Cell, 2000, 100(5): 575 - 585.

[4] Engering A, Geijtenbeek T B, van Vliet S J, *et al.* The dendritic cell-specific adhesion receptor DC-SIGN internalizes antigen for presentation to T cells [J]. J Immunol, 2002, 168

(5): 2118 - 2126.

[5] Feinberg H, Mitchell D A, Drickamer K, *et al.* Structural basis for selective recognition of oligosaccharides by DC-SIGN and DC-SIGNR [J]. Science, 2001, 294 (5549): 2163 - 2166.

[6] Geijtenbeek T B, van Duijnhoven G C, van Vliet S J, *et al.* Identification of different binding sites in the dendritic cell-specific receptor DC-SIGN for intercellular adhesion molecule 3 and HIV-1 [J]. J Biol Chem, 2002, 277(13): 11314 - 11320.

[7] Bleijs D A, Geijtenbeek T B, Figdor C G, *et al.* DC-SIGN and LFA-1: a battle for ligand [J]. Trends Immunol, 2001, 22 (8): 457 - 463.

[8] Geijtenbeek T B, van Vliet S J, Koppel E A, *et al.* Mycobacteria target DC-SIGN to suppress dendritic cell function [J]. J Exp Med, 2003, 197(1): 7 - 17.

[9] Sol-Foulon N, Moris A, Nobile C, *et al.* HIV-1 Nef-induced upregulation of DC-SIGN in dendritic cells promotes lymphocyte clustering and viral spread [J]. Immunity, 2002, 16(1): 145 - 155.

[10] Figdor C G, van Kooyk Y, Adema G J. C-type lectin receptors on dendritic cells and langerhans cells [J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(2): 77 - 84.

[11] Geijtenbeek T B, Kwon D S, Torensma R, *et al.* DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells [J]. Cell, 2000, 100(5): 587 - 597.

[12] Lozach P Y, Lortat-Jacob H, de Lacroix de Lavaletter A, *et al.* DC-SIGN and L-SIGN are high affinity binding receptors for hepatitis C virus glycoprotein E2 [J]. J Biol Chem, 2003, 278(22): 20358 - 20366.

[13] Pohlmann S, Jie Z, Baribaud F, *et al.* Hepatitis C virus glycoproteins interact with DC-SIGN and DC-SIGNR [J]. J Virol, 2003, 77(7): 4070 - 4080.

[14] Yang Z Y, Huang Y, Ganesh L, *et al.* PH-dependent entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus is mediated by the spike glycoprotein and enhanced by dendritic cell transfer through DC-SIGN [J]. J Virol, 2004, 78(11): 5642 - 5650.

[15] Alvarez C P, Lasala F, Carrillo J, *et al.* C-type lectins DC-SIGN and L-SIGN mediate cellular entry by Ebola virus in cis and in trans [J]. J Virol, 2002, 76(13): 6841 - 6844.

[16] Tassaneeritthep B, Burgess T H, Granelli-Piperno A, *et al.* DC-SIGN(CD209) mediates dengue virus infection of human dendritic cells [J]. J Exp Med, 2003, 197(7): 823 - 829.

[17] Halary F, Amara A, Lortat-Jacob H, *et al.* Human cytomegalovirus binding to DC-SIGN is required for dendritic cell infection and target cell trans-infection [J]. J Immunity, 2002, 17 (5): 653 - 664.

[18] Serrano-Gomez D, Dominguez-Soto A, Ancochea J, *et al.* Dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing nonintegrin mediates binding and internalization of *Aspergillus fumigatus* conidia by dendritic cells and macrophages [J]. J Immunol, 2004, 173(9): 5635 - 5643.

2.4 职业安全知识和防护用品使用情况 见表 3。

表 3 84 名消毒员职业安全知识和防护用品使用情况

	职业安全知识和防护用品使用			防护用品使用		
	护士长培训	消毒员培训班	其他	隔热手套	棉纱手套	无
人数	64	17	3	2	63	19
%	76.19	20.24	3.57	2.38	75.00	22.62

3 讨论

3.1 消毒员学历亟待提高 本调查结果显示,消毒员学历偏低、参差不齐,且年龄结构偏大,二级以下医院尤为明显。

3.2 医学及机械维护知识匮乏 被调查的消毒员中,未接受医学及机械维护知识培训者高达 60.71% 和 100.00%。虽然都取得了上岗证,但由于基础知识差,对培训老师所讲的内容如灭菌器结构、材质等不能理解或不太感兴趣,专业知识未能掌握。

3.3 职业安全及防护意识淡薄 灭菌器安全阀是压力过高时非常重要的安全卸压装置,是避免发生爆炸事故的重要保障。按《消毒技术规范》要求^[2],每日应进行性能检查,确保安全。本项调查结果反映出消毒员安全意识淡薄,加强安全培训迫在眉睫。在防护用品使用方面,消毒员对自身职业防护重视程度不够,易引起烫伤等职业伤害。而安全防护知识主要源于护士长的培训和工作经验积累,说明护士长在培训中的作用至关重要。

3.4 应急处理技术有待进一步提高 本调查结果显示,消毒员掌握紧急状况处理措施欠缺,表明应急

预案在日常培训中未落到实处,甚至形同虚设。

3.5 对策

3.5.1 应提倡实行消毒员准入制度 招聘消毒员时,选择接受过医学专业教育的人员来担任,再通过上岗前培训使其达到一定的专业水平。

3.5.2 加强专业知识培训 包括医院感染的概念及危害、消毒灭菌、微生物学基础知识、各项技术操作规程、质量标准、监测技术、应急预案等。通过培训使消毒员明确消毒供应工作有较强的科学性和技术性,必须用质量管理标准和技术操作规程指导工作。同时,因灭菌器涉及机械、水、电、汽等知识较多,应适当聘请相关专业工程师进行讲解,以确保在灭菌器运行中及时发现故障,及时排除。

3.5.3 充分发挥护士长的作用 护士长应对消毒员个体状况进行全面评估,制定出适合于个体的培训计划并组织实施。采用小讲课、操作示范、分析缺陷等灵活多样的形式进行。对文化程度低、基础差的消毒员宜用通俗易懂、深入浅出的方式讲解,并根据消毒员的接受能力和实际操作水平及时调整教学方法,使消毒员能按《消毒技术规范》操作^[3]。定期进行考核,实行质量追踪,提高整体素质,保障灭菌物品质量。

[参考文献]

- [1] 曹永革,王丽君,孙月兰. 消毒供应中心工作质量缺陷的多环节及防范措施[J]. 中国感染控制杂志,2007,6(4):273-274.
- [2] 中华人民共和国卫生部. 消毒技术规范[S]. 北京,2002:11-15.
- [3] 张佩维,李津津. 供应室消毒员现状的调查分析与对策[J]. 护理与康复,2005,4(4):255.
- [19] Colmenares M, Puig-Kroger A, Pello O M, *et al.* Dendritic cell(DC)-specific intercellular adhesion molecular 3 (ICAM-3)-grabbing nonintegrin (DC-SIGN, CD209), a C-type surface lectin in human DCs, is a receptor for leishmania amastigotes [J]. J Biol Chem, 2002, 277(39): 36766-36769.
- [20] van Gisbergen K P J M, Aarnoudse C A, Meijer G A, *et al.* Dendritic cells recognize tumor-specific glycosylation of carcinoembryonic antigen on colorectal cancer cells through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecular-3-grabbing non-integrin [J]. Cancer Res, 2005, 65(13): 5935-5944.
- [21] Martin M P, Lederman M M, Hutcheson H B, *et al.* Association of DC-SIGN promoter polymorphism with increased risk for parenteral, but not mucosal, acquisition of human immunodeficiency virus type 1 infection [J]. J Virol, 2004, 78(24): 14053-14056.
- [22] Barreiro L B, Neyrolles O, Babb C L, *et al.* Promoter variation in the DC-SIGN-encoding gene CD209 is associated with tuberculosis [J]. Plos Med, 2006, 3(2): 230-235.
- [23] Gomez L M, Anaya J M, Sierra-Filardi E, *et al.* Analysis of DC-SIGN(CD209) functional variants in patients with tuberculosis [J]. Hum Immunol, 2006, 67(10): 808-811.
- [24] Sakuntabhai A, Turbpaiboon C, Casademont I, *et al.* A variant in the CD209 promoter is associated with severity of dengue disease [J]. Nat Genet, 2005, 37(5): 507-513.
- [25] Liu H, Hwangbo Y, Holte S, *et al.* Analysis of genetic polymorphisms in CCR5, CCR2, stromal cell-derived factor-1, RANTES, and dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in seronegative individuals repeatedly exposed to HIV-1 [J]. J Infect Dis, 2004, 190(6): 1055-1058.

(上接第 217 页)