

[文章编号] 1005-6661(2011)01-0099-04

• 综述 •

无脊椎动物纤维蛋白原相关蛋白研究进展

刘琴, 李石柱, 张仪, 周晓农*

[摘要] 无脊椎动物的天然免疫是当今研究的热点之一。研究表明, 在无脊椎动物免疫防御作用中, 纤维蛋白原相关蛋白 (Fibrinogen-related proteins FREPs) 起重要作用, 被认为是参与免疫防御最重要的分子之一。本文从 FREPs 的分子结构、分子多态性及功能 3 方面介绍了 FREPs 研究的最新进展, 为理解无脊椎动物的天然免疫及宿主和寄生虫的生物共进化学机制提供了理论依据。

[关键词] 纤维蛋白原相关蛋白; 无脊椎动物; 多态性; 功能

[中图分类号] Q959.1; R38 **[文献标识码]** A

Progress in fibrinogen-related proteins of invertebrates

Liu Qin, Li Shi-zhu, Zhang Yi, Zhou Xiao-nong*

National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, Shanghai 200025, China

* Corresponding author

[Abstract] The innate immunity of invertebrate is one of the focuses of current research. The results show that fibrinogen-related proteins (FREPs) play an important role in invertebrates immune defense which is considered one of the most important molecule to participate in immune defense. This article introduces the latest research on FREPs from three aspects namely molecular structure, molecular polymorphisms and function. This will provide a theoretical basis to understand the innate immune mechanisms of invertebrate and co-evolution in host and parasites.

[Key words] Fibrinogen-related proteins; Invertebrate; Polymorphy; Function

全面了解寄生虫与宿主的相互作用是研究生物进化的一个重大挑战。一方面, 寄生虫产生有害物质, 它们是宿主进化的主要动力; 另一方面, 寄生虫要与宿主共进化, 以避免被消除。这就是适合宿主-寄生虫系统的红皇后假说 (Red Queen hypothesis)^[1], 即这种竞赛将会导致进化机制产生多样性和多态性分子, 这些多态性分子在宿主-寄生虫的相互作用中发挥重要作用^[2-3]。

对于脊椎动物宿主, 最明显的例子是通过特殊抗原多样性的特定受体产生获得性的免疫系统, 这主要由机体的基因重排和突变实现^[2]。对于无脊椎动物和寄生虫的相互作用, 情况则完全不同。早先的研究普遍认为无脊椎动物没有获得性免疫系统, 它们的免疫系统是非特异性的天然免疫, 其主要是由不变的表面膜识别受体 (Pattern recognition receptors, PRR) 识别病原体相关分子模式分子 (Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)^[4]。然而, 最近对棘皮动物 (海胆)、昆虫 (果蝇和冈比亚按蚊) 以及软体动物 (光滑双脐螺) 等无脊椎动物的研究所提供的新证据证实, 无脊椎动物的免疫分子序列具有多态性和特异性^[3]。这一结果表明, 个体或群体免疫分子的多态性能帮助

无脊椎动物宿主抵御寄生虫侵袭。

研究表明, 在无脊椎动物免疫防御作用中, 纤维蛋白原相关蛋白 (Fibrinogen-related proteins FREPs) 起着重要作用, 被认为是参与免疫防御最重要的分子之一^[5]。FREPs 能特异性结合 N-乙酰-D-葡萄糖胺和 N-乙酰-D-半乳糖胺, 并能激活免疫应答^[6]。实验证明, 按蚊和埃及伊蚊的 FREPs 基因家族中的 FREP8、FREP9 及 FREP39 能对细菌及疟原虫产生免疫应答^[7]。无脊椎动物, 特别是螺类的 FREPs 是一类来源于血淋巴的具有特异分子结构的血凝素, 其家族的部分成员能结合到寄生虫表面, 并能加速寄生虫表面抗原的溶解, 在螺类天然免疫中起着重要作用^[8]。例如, 光滑双脐螺的某些 FREPs 转录子在感染藐小棘隙吸虫时显著上调, 某些 FREPs 基因产物能参与溶解吸虫抗原和结合到孢子表面^[8-9]。

目前, 国内外对无脊椎动物的 FREPs 分子的研究主要集中在以下 3 个方面。

1 FREPs 的分子结构

FREPs 是一种钙依赖的乳糖, 其典型分子结构是在 N 末端含有 1 个或 2 个免疫球蛋白超家族 (Immunoglobulin superfamily, IgSF) 结构域, 在 C 末端含有纤维蛋白原 (Fibrinogen, FBG) 结构域^[7]。位于 N 末端的 IgSF 结构域在脊椎动物免疫系统已被广泛了解, IgSF 通过蛋白间的相互作用而识别表面抗原^[10]。在无脊椎动物行使内部防御功能的血凝素及螺类的防御分子 (Molluscan defense molecule, MDM) 中已经发现了几个 IgSF 成员。例如, 静水锥螺 (*Lymnaea stagnalis*) 的 MDM 含有 5 个 C2 型的

[基金项目] 上海市自然科学基金 (10ZR1433400); 中国博士后基金项目 (20070420422)

[作者单位] 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所、卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室 (上海 200025)

[作者简介] 刘琴, 女, 博士, 副研究员。研究方向: 寄生虫及媒介生物分子生物学

* 通信作者, E-mail: xiaonongzhou1962@gmail.com

IgSF结构域^[11-12]。位于 C末端的 FBG 结构域与纤维蛋白的 β 和 γ 链高度同源,含有 220~250 个氨基酸残基,其中有 40 个氨基酸高度保守,而这 40 个高度保守的氨基酸中有 24 个氨基酸是疏水性的氨基酸,并且是固定不变的^[13]。在 FBG 结构域中有 4 个芳香族氨基酸(其中包含 3 个酪氨酸(Tyr)和 1 个组氨酸(His))通过乙酰基团特异性介导蛋白质和碳水化合物的相互作用^[14-15](图 1)。



基酸信号肽、含 134个氨基酸 N末端 IgSF结构域、43个氨基酸的连接区以及 202个氨基酸的 C末端的 FBG 结构域组成。与其他 FREPs显著不同的是, FREP14由单座子编码,并且在曼氏血吸虫侵袭的早期或后期阶段并不上调表达,仅在 *E. paraensei* 侵袭的后期上调表达^[29]。FREPs基因的这些变化均在某种程度上显示了其在 mRNA和 DNA水平存在显著的多态性。

3 FREPs的分子功能

当前,对无脊椎动物 FREPs的功能研究报道并不多,但有证据表明,无脊椎动物 FREPs具有非自身识别的能力。例如,一些学者通过体外表达扇贝、文昌鱼等无脊椎动物的 FREPs蛋白,证实其 FREPs蛋白能凝聚鸡红细胞以及人的 A、B、O型血的红细胞,这种凝聚具有钙依赖性,能被乙酰基含水化合物特异性阻断,并且这些重组蛋白在有钙离子的条件下能凝集革兰阳性金黄色葡萄球菌及革兰阴性大肠埃希菌等细菌^[13, 15, 30-31]。

最近, Roger等^[2, 32]鉴定了一类新的曼氏血吸虫黏糖蛋白抗原,对其进行功能和多态性研究后推测其可能与螺的 FREPs蛋白相互作用。Dong等^[17]研究了按蚊中最具有抗疟原虫潜能的 FREPs蛋白——FBN⁹,结果表明其不仅能与革兰阳性菌和革兰阴性菌相互作用,而且能强烈凝聚蚊虫肠上皮细胞中的啮齿动物及人的疟原虫,这一结果提示 FREPs蛋白具有防御活性并能与病原体直接作用。此外, FBN⁹能形成二聚体,并能以不同的亲和力结合到细菌表面^[17]。这进一步为 FREPs的天然免疫功能提供了新证据。

4 小结

无脊椎动物的天然免疫及宿主与寄生虫的共进化机制是当前研究的热点和焦点。FREPs作为最大的免疫和模式识别基因家族之一,在无脊椎动物天然免疫中起着重要作用,其被认为是参与免疫防御最重要的分子之一。FREPs的研究正逐步进行,并取得了一系列进展。但迄今为止, FREPs的研究仍有很多问题亟待解决。例如,是否所有的 FREPs基因都在基因组上聚集成束? 已知 FREPs多态性形成无明显特征的多形体,但这些多形体是否会进一步产生分化? 这些都是值得研究的问题。随着对 FREPs研究的深入,无脊椎动物的天然免疫机制及宿主和寄生虫的生物共进化机制之谜也必将解开。

【参考文献】

- [1] Roger E, Gourbal B, Gnanou C, et al. Expression analysis of highly polymorphic mucin proteins (Sn PoMuc) from the parasite *Schistosoma mansoni* [J]. *Mol Biochem Parasitol* 2008, 157(2): 217-227.
- [2] Roger E, Gnanou C, Pierce RJ, et al. Controlled chaos of polymorphic mucins in a metazoan parasite (*Schistosoma mansoni*) interacting with its invertebrate host (*Biomphalaria glabrata*) [J]. *PLoS Negl Trop Dis* 2008, 2(11): e330.
- [3] Ebert D. Host-parasite coevolution: Insights from the *Daphnia*-parasite model system [J]. *Curr Opin Microbiol* 2008, 11(3): 290-301.
- [4] Medzhitov R, Janeway CA. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition [J]. *Cell* 1997, 91(3): 295-298.
- [5] Dong Y, Aguilar R, Xi Z, et al. *Anopheles gambiae* immune responses to human and rodent *Plasmodium* parasite species [J]. *PLoS Pathog* 2006, 2(6): e52.
- [6] Bilej M, De Baetselier P, Van Dijk E, et al. Distinct carbohydrate recognition domains of an invertebrate defense molecule recognize Gram-negative and Gram-positive bacteria [J]. *J Biol Chem* 2001, 276(49): 45840-45847.
- [7] Christophides GK, Zdobnov E, Barillas-Mury C, et al. Immunity-related genes and gene families in *Anopheles gambiae* [J]. *Science* 2002, 298(5591): 159-165.
- [8] Matricon GM, Letocart M. Internal defenses of the snail *Biomphalaria glabrata* [J]. *J Invertebr Pathol* 1999, 74(3): 248-254.
- [9] Zhang SM, Loker ES. The FREP gene family in the snail *Biomphalaria glabrata*: additional members and evidence consistent with alternative splicing and FREP retrosequences. Fibrinogen-related proteins [J]. *Dev Comp Immunol* 2003, 27(3): 175-187.
- [10] Dixit R, Roy U, Patole MS, et al. Molecular and phylogenetic analysis of a novel family of fibrinogen-related proteins from mosquito *Aedes albopictus* cell line [J]. *Comput Biol Chem* 2008, 32(5): 382-386.
- [11] Zhang SM, Adema CM, Kepler TB, et al. Diversification of Ig superfamily genes in an invertebrate [J]. *Science* 2004, 305(5681): 251-254.
- [12] Hoek RM, Smit AB, Frings H, et al. A new Ig-superfamily member molluscan defence molecule (MDM) from *Lymnaea stagnalis* is down-regulated during parasitosis [J]. *Eur J Immunol* 1996, 26(4): 939-944.
- [13] Zhang H, Wang L, Song L, et al. A fibrinogen-related protein from bay scallop *Argopecten irradians* involved in innate immunity as pattern recognition receptor [J]. *Fish Shellfish Immunol* 2009, 26(1): 56-64.
- [14] Kairies N, Beisel HG, Fuentes-Prior P, et al. The 2.0 Å crystal structure of tachylectin 5A provides evidence for the common origin of the innate immunity and the blood coagulation systems [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001, 98(24): 13519-13524.
- [15] Wang XG, Zhao Q, Christensen BM. Identification and characterization of the fibrinogen-like domain of fibrinogen-related proteins in the mosquito *Anopheles gambiae* and the fruitfly *Drosophila melanogaster* genomes [J]. *BMC Genomics* 2005, 6(114): 1-15.
- [16] Adams MD, Celniker SE, Holt RA, et al. The genome sequence of *Drosophila melanogaster* [J]. *Science* 2000, 287(5461): 2185-2195.
- [17] Dong Y, Dimopoulos G. *Anopheles* fibrinogen-related proteins provide expanded pattern recognition capacity against bacteria and malaria parasites [J]. *J Biol Chem* 2009, 284(15): 9835-9844.
- [18] Jiang Y, Loker ES, Zhang SM. In vivo and in vitro knockdown of FREP2 gene expression in the snail *Biomphalaria glabrata* using RNA interference [J]. *Dev Comp Immunol* 2006, 30(10): 855-866.
- [19] Waterhouse RM, Kriventseva EV, Meister S, et al. Evolutionary dynamics of immune-related genes and pathways in disease-vector mosquitoes [J]. *Science* 2007, 316(5832): 1738-1743.
- [20] Leonard PM, Adema CM, Zhang SM, et al. Structure of two FREP genes that combine IgSF and fibrinogen domains with comments on diversity of the FREP gene family in the snail *Biomphalaria glabrata* [J]. *Gene* 2001, 269(1/2): 155-165.
- [21] Zdobnov EM, von Mering C, Letunic I, et al. Comparative genome and proteome analysis of *Anopheles gambiae* and *Drosophila melanogaster* [J]. *Science* 2002, 298(5591): 149-159.

- [22] Zhang SM, Loker ES. Representation of an immune responsive gene family encoding fibrinogen-related proteins in the freshwater mollusc *Biomphalaria glabrata*: an intermediate host for *Schistosoma mansoni* [J]. *Gene* 2004, 341: 255-266.
- [23] Zhang SM, Zeng Y, Loker ES. Characterization of immune genes from the schistosome host snail *Biomphalaria glabrata* that encode peptidoglycan recognition proteins and gram-negative bacteria binding protein [J]. *Immunogenetics* 2007, 59(11): 883-898.
- [24] Waterhouse RM, Wyder S, Zdobnov EM. The *Aedes aegypti* genome: a comparative perspective [J]. *Insect Mol Biol* 2008, 17(1): 1-8.
- [25] Hu X, Lee EC, Baker NE. Molecular analysis of scabrous mutant alleles from *Drosophila melanogaster* indicates a secreted protein with two functional domains [J]. *Genetics* 1995, 141(2): 607-617.
- [26] Zhang SM, Leonard PM, Adema CM, et al. Parasite-responsive IgSF members in the snail *Biomphalaria glabrata*: characterization of novel genes with tandemly arranged IgSF domains and a fibrinogen domain [J]. *Immunogenetics* 2001, 53(8): 684-694.
- [27] Zhang SM, Zeng Y, Loker ES. Expression profiling and binding properties of fibrinogen-related proteins (FREPs), plasma proteins from the schistosome snail host *Biomphalaria glabrata* [J]. *Innate Immun* 2008, 14(3): 175-189.
- [28] Hertel LA, Adema CM, Loker ES. Differential expression of FREP genes in two strains of *Biomphalaria glabrata* following exposure to the digenetic trematodes *Schistosoma mansoni* and *Echinostoma parvum* [J]. *Dev Comp Immunol* 2005, 29(4): 295-303.
- [29] Zhang SM, Nian H, Zeng Y, et al. Fibrinogen-bearing protein genes in the snail *Biomphalaria glabrata*: characterization of two novel genes and expression studies during ontogenesis and trematode infection [J]. *Dev Comp Immunol* 2008, 32(10): 1119-1130.
- [30] Fan C, Zhang S, Li L, et al. Fibrinogen-related protein from amphioxus *Branchiostoma belcheri* is a multivalent pattern recognition receptor with a bacteriolytic activity [J]. *Mol Immunol* 2008, 45(12): 3338-3346.
- [31] Wang H, Song L, Li C, et al. Cloning and characterization of a novel C-type lectin from Zhikong scallop *Chlamys farreri* [J]. *Mol Immunol* 2007, 44(5): 722-731.
- [32] Roger E, Mita G, Mone Y, et al. Molecular determinants of compatibility polymorphism in the *Biomphalaria glabrata*/*Schistosoma mansoni* model: new candidates identified by a global comparative proteomics approach [J]. *Mol Biochem Parasitol* 2008, 157(2): 205-216.

[收稿日期] 2010-09-29 [编辑] 沈怡平

[文章编号] 1005-6661(2011)01-0102-02

• 病例报道 •

1起外出务工人员急性血吸虫感染调查

王忠堤¹, 高邦兵², 刘进²

[摘要] 本文报道了 1起外出务工人员急性血吸虫感染的调查及处理过程。

[关键词] 急性血吸虫病; 外出务工人员; 调查

[中图分类号] R532.21 [文献标识码] D

Survey on acute schistosomiasis among migrant workers: a case report

Wang Zhong-di¹, Gao Bang-bing², Liu Jin²

1 Xianning Municipal Center for Disease Control and Prevention, Hubei Province, Xianning 437100, China; 2 Jiayu Center for Disease Control and Prevention, Hubei Province, China

[Abstract] The survey and treatment process of an endemic situation of acute schistosome infection among migrant workers were reported in this paper.

[Key words] Acute schistosomiasis; Migrant workers; Survey

2010-06-07湖北省咸宁市嘉鱼县报告急性血吸虫病 2例, 其调查及处理情况如下。

1 病例资料

1.1 患病及诊治情况 患者程某与罗某均为嘉鱼县人, 无血吸虫病史。于 2010年 3月初前往江西省南昌市新建县团湖农场(血吸虫病流行区)务工, 从事螃蟹养殖工作, 于 5月 15日返乡。2例患者分别于 2010-05-17及 2010-05-30出现发热、畏寒、

咳嗽、头痛、腹胀及恶心、呕吐等症状, 就诊于嘉鱼县人民医院, 以上呼吸道感染收治, 未见好转。于 2010-06-05以急性血吸虫病疑似病例转入嘉鱼县血吸虫病防治医院救治, 2010-06-07确诊为急性血吸虫病, 其中程某为急性血吸虫病临床诊断病例, 罗某为确诊病例。经病原学及其他综合治疗, 2例患者于 2010-06-20痊愈出院。

1.2 实验室检查 2名患者嗜酸性粒细胞均异常增高, 血吸虫病免疫学检查均呈阳性反应。其中程某间接血凝试验(IIHA)滴度为 1:10, ELISA阳性, 粪检未查到血吸虫卵, 嗜酸性粒细胞 39%; 罗某 IIHA滴度为 1:2, ELISA阳性。

(下转第 104页)

[作者单位] 1湖北省咸宁市疾病预防控制中心(咸宁 437100); 2湖北省嘉鱼县疾病预防控制中心