

自身免疫性疾病中的铁蛋白抗体及可能的产生机制

郝山凤*

天津医科大学总医院, 天津 300052

摘要: 多项研究发现多种自身免疫性疾病中存在铁蛋白抗体, 并且推测抗体的产生可能是由于某种微生物的铁蛋白与体内的铁蛋白产生了交叉抗原反应。本文就自身免疫性疾病中发现铁蛋白抗体的研究以及微生物铁蛋白对宿主免疫的影响两方面进行综述。

关键词: 铁蛋白; 自身抗原; 微生物铁蛋白; 宿主免疫

一、前言

血清铁蛋白在没有感染及炎症的情况下可以反映体内的铁储备, 也可以作为急性反应相蛋白判断炎症反应的严重程度^[1], 但铁蛋白作为自身抗原的角色鲜为人知, 多项研究发现多种自身免疫性疾病中存在铁蛋白抗体, 并且推测抗体的产生可能是由于某种微生物的铁蛋白与体内的铁蛋白产生了交叉抗原反应。本文就自身免疫性疾病中发现铁蛋白抗体的研究以及微生物铁蛋白对宿主免疫的影响两方面进行综述。

二、多种自身免疫性疾病中发现铁蛋白抗体

D.Mewar等运用噬菌体文库展示技术筛选出铁蛋白重链(FTH)为风湿性关节炎(RA)患者的自身抗原, 并用ELISA检测了血清铁蛋白抗体水平, 发现16%RA患者血清铁蛋白抗体阳性, 而健康献血者的阳性率仅有2.7%, 病例对照骨关节炎及系统性红斑狼疮(SLE)患者的阳性率均为2.1%, 差异具有统计学意义; 并且铁蛋白抗体水平与关节损伤的严重性呈正相关^[2]。

Baerlecken NT等运用蛋白芯片也筛选出铁蛋白可能为巨细胞动脉炎/风湿性多肌痛(GCA/PMR)的自身抗原。并用ELISAs检测患者、健康对照、病例对照血清中的针对FTH N-末端27个氨基酸肽段的抗体水平以及针对的人表皮葡萄球菌铁蛋白N-末端27个氨基酸肽段的抗体水平。

结果显示: 92%未治疗的GCA和/或PMR患者($n = 36$)、69%的疾病爆发期患者($n = 32$)、55%的治疗后和非活动患者($n = 117$)抗体阳性; 而病例对照组SLE抗体阳性率为29%($n = 38$), RA 3%($n = 36$), 迟发性RA 0%($n = 31$), 非霍奇金淋巴瘤(B细胞性) 6.5%($n = 46$); 正常对照组抗体阳性率仅为1%($n = 100$)。在使用表皮葡萄球菌铁蛋白肽的ELISA结果显示, 89%未经治疗的GCA和PMR患者抗体为阳性($n = 27$)^[3]。

之后K.Große等进一步确定铁蛋白的抗原表位, 将FTH分割成五个小的肽段, 分别检测GCA/PMR患者、病例对照及正常对照血清中针对上述五个肽段的抗体水平。结果显示将不同肽段的抗体水平联合分析与FTH蛋白抗体相比较, 可使GCA/PMR爆发期患者诊断敏感性由53%提升至74%同时没有增加假阳性^[4]。随后该研究小组又使用大动脉炎(TA)患者的血清进行上述试验, 发现使用不同肽段抗体联合检测的阳性率为62%, 正常对照未检出^[5]。

免疫相关性血细胞减少症是由T淋巴细胞调控失衡导致B淋巴细胞数量、亚群、功能异常, 进而产生抗骨髓造血细胞自身抗体并破坏或抑制之, 最后导致外周血细胞减少^[6]。本课题组使用重组cDNA表达文库血清学分析技术筛选出铁蛋白轻链(FTL)可能为患者的自身抗原^[7]; 并且进一步筛选出抗原表位, 用抗原表位肽段与外周血单个核细胞共培养能明显刺激IL-4产生, 即能激活Th2细胞^[8]。

由此可见, 多种自身免疫性疾病中均发现铁蛋白抗体, 铁蛋白可能为某些自身免疫性疾病的自身抗原。

三、微生物铁蛋白与宿主免疫

地球上几乎所有生命形式都依赖铁, 但是游离铁的芬顿效应形成的自由基会导致细胞和组织损伤, 而储铁蛋白在避免游离铁的芬顿效应及维持生物铁稳态方面发挥了重要作用^[9]。在微生物中研究更为深入的是细菌的储铁蛋白, 它

*通讯作者: 郝山凤, 1982年6月, 女, 汉族, 山西省太谷县人, 现任天津医科大学总医院血液内科副主任医师, 博士研究生。研究方向: 免疫相关性血细胞减少症靶抗原研究。

主要有以下三种形式。铁蛋白, 细菌铁蛋白及Dps蛋白(DNA binding proteins from starved cells, 饥饿细胞的DNA结合蛋白)。尽管这三种类型的储铁蛋白进化为截然不同的家族, 但它们彼此之间仍有着密切的联系, 因此保留了许多结构和功能上的相似性。它们由24个(铁蛋白和细菌铁蛋白)或12个(Dps蛋白)相同(或相似)的亚基组成了近似球形的蛋白壳铁储存库。每个铁蛋白和细菌铁蛋白可容纳至2000~3000个铁原子, 而每个Dps蛋白仅能储存500个铁原子。细菌铁蛋白(Bfr)比铁蛋白更常见, 并且在铁蛋白出现前约十年就已在细菌中发现, 但这些蛋白的生理目的尚不完全清楚^[10]。第一个Dps蛋白是通过分析培养了3天的大肠杆菌中合成的蛋白质, 发现了一种饥饿状态下诱导的DNA结合蛋白, 这种蛋白被命名为Dps, 它在饥饿细胞中大量存在, 是一种非特异性的DNA结合蛋白, 可以避免DNA被氧化还原^[11]。Dps如同铁蛋白一样可以在其腔内以氢氧化物的形式储存铁离子, 在细菌铁稳态中发挥作用^[12]。

铁蛋白样蛋白(ferritin like protein, flp)属于Dps, 有研究显示在李斯特菌细胞胞浆及细胞壁上检测到flp, 在该菌中称为Frm, 并在感染李斯特菌致病株的小鼠的血清中检测到针对Frm的特异性抗体, 但在感染突变型Frm李斯特菌的小鼠的血清中未检测到, 从而确定李斯特菌Frm为致病性单核细胞增生性李斯特菌感染小鼠体液反应的靶抗原。Frm突变的李斯特菌菌株对过氧化氢非常敏感, 表明Frm能够保护李斯特菌免受活性氧的影响, 并且动物研究表明, Frm促进了感染李斯特菌小鼠的发病, 因此, Frm基因的调控表达可能对该细菌的生活方式具有重要意义^[13]。之后有研究用Frm-MAb对宿主小鼠进行预免疫, 可促进宿主先天性免疫细胞(例如巨噬细胞, 自然杀伤细胞和嗜中性粒细胞)对染菌细胞的吞噬及杀伤作用, 从而控制细菌进入宿主器官并减少全身性感染^[14]。

结核分枝杆菌(Mtb)蛋白Rv3841属于细菌铁蛋白, 它在Mtb的生长中起关键作用。但是, 尚不清楚Rv3841是否可以诱导针对Mtb的保护性免疫。Choi等研究了Rv3841在树突状细胞(DC)成熟中的作用及其在T细胞免疫发展中的作用。研究发现Rv3841可以通过上调共刺激分子和增加促炎细胞因子的分泌来激活DC, Rv3841对DC的激活是由Toll样受体4(TLR4)介导的, 继而激活了促分裂原激活的蛋白激酶(MAPK)和NF- κ B信号通路; 并且成熟的Rv3841 DC细胞可以促使Th0向Th1极化; Rv3841还可特异性地引起Mtb感染小鼠的CD4+CD44^{high}CD62L^{low} T细胞的扩增; 此外, 被成熟的Rv3841 DC细胞激活的T细胞可以抑制分枝杆菌的生长, 因此Rv3841可以诱导DC成熟和保护性免疫反应, 这一发现可能为研发结核疫苗提供了新的思路^[15]。

Wang等用细粒棘球绦虫重组抗原铁蛋白免疫小鼠, 可以刺激小鼠BMDC细胞成熟, 促进T细胞增殖, 释放大量的Th1型及Th2型细胞因子, 激活Th1型或Th2型细胞, 引发免疫应答。研究者通过扫描式电子显微镜发现铁蛋白较其他抗原可以诱导DC产生更多的树突数量; 并通过透射电子显微镜发现DC中出现了许多溶酶体和吞噬体, 它们被抗原刺激。它揭示了DC捕获了一些外源抗原, 并且这些外源抗原被大量吞噬溶酶体分解为一些小片段肽, 在细胞中可见大量的细胞器, 例如线粒体, 高尔基体和粗面内质网, 并且粗面内质网的簇排列在DC的边缘。而这些外源性抗原即可能为细粒棘球绦虫的铁蛋白^[16]。

幽门螺杆菌的细菌铁蛋白是该病原体的主要毒力因子, 使用克隆纯化幽门螺杆菌细菌铁蛋白刺激小鼠腹膜巨噬细胞可使巨噬细胞活力的增加^[17]。

由此我们不难看出某些微生物铁蛋白可以作为微生物的致病抗原引起宿主的免疫应答, 这些免疫应答或为体液免疫, 或为细胞免疫, 或为固有免疫; 免疫应答有些可以起到保护性免疫的作用, 有些作用尚不明确。而在某些人类自身免疫性疾病中检测出铁蛋白抗体, 而铁蛋白在生物界属于具有高度保守序列的蛋白质, 因此有理由推测抗体的产生可能是由于某种微生物的铁蛋白与体内的铁蛋白产生了交叉抗原反应, 但是目前尚无研究证实该推测, 未来研究若能证实上述推测并且筛选出具体微生物种类将对揭示某些自身免疫性疾病的病因具有重大意义, 进而对其治疗也产生重大影响, 遂对铁蛋白的探索之路依旧漫长而任重道远。

参考文献:

[1]Kernan KF, Carcillo JA. Hyperferritinemia and inflammation. *International immunology*. 2017;29(9):401-9. doi:10.1093/intimm/dxx031.

[2]Mewar D, Moore DJ, Young-Min S, Bertolaccini ML, Khamashta MA, Watson PF et al. Antiferritin antibodies discovered by phage display expression cloning are associated with radiographic damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2005;52(12):3868-72. doi:10.1002/art.21483.

[3]Baerlecken NT, Linnemann A, Gross WL, Moosig F, Vazquez-Rodriguez TR, Gonzalez-Gay MA et al. Association

of ferritin autoantibodies with giant cell arteritis/polymyalgia rheumatica. *Ann Rheum Dis.* 2012;71(6):943-7. doi:10.1136/annrheumdis-2011-200413.

[4]Große K, Schmidt RE, Witte T, Baerlecken NT. Epitope mapping of antibodies against ferritin heavy chain in giant cell arteritis and polymyalgia rheumatica. *Scandinavian Journal of Rheumatology.* 2013;42(3):215-9.

[5]Grosse K, Witte T, Moosig F, Hoyer BF, Lansche C, Schmidt RE et al. Association of ferritin antibodies with Takayasu arteritis. *Clin Rheumatol.* 2014;33(10):1523-6. doi:10.1007/s10067-014-2764-2.

[6]Liu H, Fu R, Wang Y, Liu H, Li L, Wang H et al. Detection and analysis of autoantigens targeted by autoantibodies in immunorelated pancytopenia. *Clinical & developmental immunology.* 2013;2013:297678. doi:10.1155/2013/297678.

[7]Hao S, Fu R, Wang H, Shao Z. Screening novel autoantigens targeted by serum IgG autoantibodies in immunorelated pancytopenia by SEREX. *International journal of hematology.* 2017;106(5).

[8]Hao S, Zhang Y, Hua L et al. Antibodies specific to ferritin light chain polypeptide are frequently detected in patients with immunerelated pancytopenia. *Molecular Medicine Reports,* 2020, 22(3).

[9]Moreira AC, Mesquita G, Gomes MS. Ferritin: An Inflammatory Player Keeping Iron at the Core of Pathogen-Host Interactions. *Microorganisms.* 2020;8(4). doi:10.3390/microorganisms8040589.

[10]Chareyre S, Mandin P. Bacterial Iron Homeostasis Regulation by sRNAs. *Microbiology spectrum.* 2018;6(2). doi:10.1128/microbiolspec.RWR-0010-2017.

[11]Almiron M, Link AJ, Furlong D, Kolter R. A novel DNA-binding protein with regulatory and protective roles in starved *Escherichia coli*. *Genes & development.* 1992;6(12B):2646-54. doi:10.1101/gad.6.12b.2646.

[12]Minato T, Teramoto T, Kakuta Y, Ogo S, Yoon KS. Biochemical and structural characterization of a thermostable Dps protein with His-type ferroxidase centers and outer metal-binding sites. *FEBS open bio.* 2020. doi:10.1002/2211-5463.12837.

[13]Mohamed W, Darji A, Domann E, Chiancone E, Chakraborty T. The ferritin-like protein Frm is a target for the humoral immune response to *Listeria monocytogenes* and is required for efficient bacterial survival. *Molecular genetics and genomics : MGG.* 2006;275(4):344-53. doi:10.1007/s00438-005-0090-8.

[14]Mohamed W, Sethi S, Darji A, Mraheil MA, Hain T, Chakraborty T. Antibody targeting the ferritin-like protein controls *Listeria* infection. *Infection and Immunity.* 2010;78(7):3306-14. doi:10.1128/IAI.00210-10.

[15]Choi S, Choi HG, Shin KW, Back YW, Park HS, Lee JH et al. Mycobacterium tuberculosis Protein Rv3841 Activates Dendritic Cells and Contributes to a T Helper 1 Immune Response. *Journal of immunology research.* 2018;2018:3525302. doi:10.1155/2018/3525302.

[16]Wang Y, Wang Q, Lv S, Zhang S. Different protein of *Echinococcus granulosus* stimulates dendritic induced immune response. *Parasitology.* 2015;142(7):879-89. doi:10.1017/S0031182014002005.

[17]Soleimani N, Mohabati Mobarez A, Tavakoli-Yaraki M, Farhangi B. Evaluation of nitric oxide production and proliferation activity of recombinant Bacterioferritin of *Helicobacter pylori* on macrophages. *Microbial pathogenesis.* 2016;100:149-53. doi:10.1016/j.micpath.2016.07.008.