

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.05.031

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2017.05.031>

## NOD1和NOD2与炎性肠病

王雪纯<sup>1</sup> 综述 薛丽英<sup>2</sup> 审校

(河北医科大学 1. 口腔医学院; 2. 病理学研究室, 石家庄 050011)

**[摘要]** NOD1和NOD2蛋白是一类新型胞浆内模式识别受体, 在宿主固有免疫和自噬过程中起着关键的作用, 对维持肠道微生态和黏膜屏障作用至关重要, 研究表明NOD1和NOD2基因多态性和表达异常与炎性肠病的发生密切相关。

**[关键词]** 核苷酸结合寡聚化结构域蛋白; 固有免疫; 自噬; 炎性肠病; 遗传易感基因

## NOD1 and NOD2 proteins in inflammatory bowel diseases

WANG Xuechun<sup>1</sup>, XUE Liying<sup>2</sup>

(1. College of Stomatology; 2. Department of Pathology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

**Abstract** NOD1 and NOD2 proteins are new types of intracellular pattern recognition receptors, which play an important role in innate immune response, autophagy process, regulating intestinal homeostasis and maintaining the gut mucosal barrier. Recent studies demonstrated that NOD1 and NOD2 gene polymorphisms and abnormal expression are closely related to the pathological mechanisms of inflammatory bowel disease.

**Keywords** NODs; innate immunity; autophagy; inflammatory bowel disease; susceptibility gene

固有免疫系统能够识别多种致病微生物并快速应答, 是机体防御病原微生物和内源性应激的第一道防线, 这种快速而非特异性应答依赖于模式识别受体(pathogen recognition receptors, PRRs)家族, 核苷酸结合寡聚化结构域蛋白(nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein, NOD)样受体家族(NOD-like receptors, NLRs)属胞浆内PRRs家族<sup>[1-2]</sup>。NODs是第一个鉴定、也是最广泛研究的NLRs, NOD1(CARD4)和NOD2(CARD15)是NLRC亚型中重要的2种胞浆受体, 在多种组织细胞表达, 其表达水平随不同病理生理状态而发生改变, 与多种炎症疾病的发生发展有关<sup>[3-4]</sup>。本文就NOD1和NOD2与炎性肠病

(inflammatory bowel disease, IBD)的研究进展作一综述。

### 1 NOD1 和 NOD2 的结构与功能

#### 1.1 NOD1 和 NOD2 的结构

NODs蛋白具有共同的3个功能结构域。羧基(C)端的富含亮氨酸重复结构域(leucine-rich repeat, LRR), 与配体病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)识别及结合有关; 中间的核苷酸结合结构域(NACHT或NBD结构域, 也称作NOD结构域), 与NODs的寡聚化有关; 氨基(N)端的胱冬酶募集域(caspase

收稿日期 (Date of reception): 2017-02-17

通信作者 (Corresponding author): 薛丽英, Email: xueliying123@163.com

recruitment domain, CARD), 与其他含有CARD结构域的蛋白的结合有关。NOD1的N端含1个CARD结构域, 而NOD2的N端含2个串联的CARD结构域(图1)。

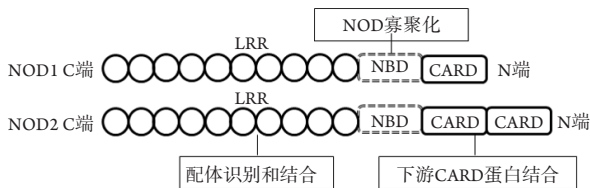


图1 NODs蛋白结构模式图

Figure 1 Structure of NOD proteins

## 1.2 NOD1 和 NOD2 的功能

### 1.2.1 NODs 与固有免疫

NODs是固有免疫的胞质受体, 能识别病原菌体PAMP, 在宿主防御病原体的过程中起关键性的作用。NOD1在各种组织细胞广泛表达, 而NOD2主要表达在单核巨噬细胞、肠道黏膜上皮及Paneth细胞和树突状细胞(dendritic cells, DCs)。无病原体配体存在的情况下, NODs的LRR结构域结合在其NBD结构域上阻碍其寡聚化, 使NODs保持非活性单体状态。无活性的NODs还可以通过与热休克蛋白伴侣蛋白HSP70或HSP90形成复合物, 进一步稳定避免降解。NODs蛋白可以通过LRR识别配体, NOD1受体识别部分革兰阳性菌(包括芽孢杆菌和李斯特菌)和所有革兰阴性细菌中的 $\gamma$ -D-谷氨酰基-二氨基庚二酸(iE-DAP); NOD2受体识别所有的革兰阳性和阴性细菌中的保守基序胞壁酰二肽(muramyl dipeptide, MDP)。一旦识别和结合适当的配体, NODs单体发生构象变化并通过NOD结构域寡聚化, 进而通过CARD结构域招募并激活受体相互作用蛋白2(receptor-interacting protein 2, RIP2)(一种丝氨酸/苏氨酸激酶), 通过泛素化或磷酸化修饰下游分子级联转导细菌信号, 磷酸化的NF- $\kappa$ B抑制剂 $\alpha$ (I $\kappa$ B $\alpha$ )在K48处聚泛素化并从NF- $\kappa$ B异二聚体中解离, NF- $\kappa$ B转位于核促进各种炎症因子的转录表达。RIP2激酶还可以激活转化生长因子 $\beta$ 激活激酶1(TGF- $\beta$  activated kinase-1, TAK1), 活化TAK1的激酶激活有丝分裂原激活蛋白激酶(MAPK)、c-jun N-末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、p38和细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK), 它们是激活蛋白-1(activator protein 1, AP-1)转录因子的上游活化因子, 活化的AP-1同样转位于核促

进多种炎症因子如肿瘤坏死因子(TNF)、白介素(IL)等的转录和表达, 引起炎症细胞向病原体作趋化运动清除病原菌<sup>[3,5]</sup>(图2)。

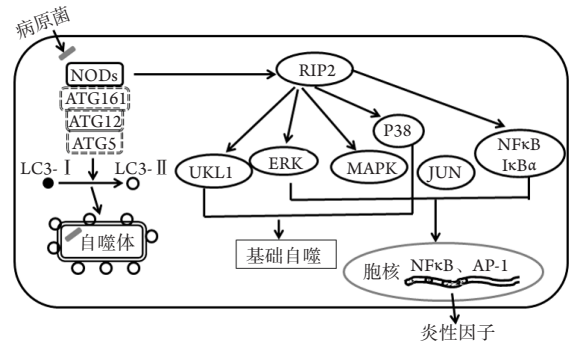


图2 NODs蛋白的功能

Figure 2 Functions of NOD proteins

### 1.2.2 NODs 与自噬

自噬是细胞在饥饿和病原菌侵入时吞噬自身细胞质蛋白或细胞器并使其包被进入囊泡, 并与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 自我降解的重要机制, 有助于病原体的清除和细胞的生存, NOD1和NOD2在自噬过程中发挥关键作用。NOD1和NOD2与自噬相关蛋白ATG16L1相互作用靶向病原菌入侵细胞部位, 并进一步形成ATG16L1-ATG12-ATG5复合物促进胞浆中LC3-I转化为LC3-II, LC3-II是自噬体形成和自噬体膜延伸的关键分子, 其水平的增加意味着自噬体数量的增加和细胞自噬水平的升高。同时, NOD1和NOD2还可以通过激活RIP2而激活MAPK, ERK, MEKK4-P38和ULK1等信号通路增加成纤维细胞、上皮细胞和DC细胞能基础自噬体的形成<sup>[3]</sup>(图2)。

### 1.2.3 NODs 与肠道微生态和黏膜屏障作用

正常情况下, 人体肠道内存在庞大而复杂的微生物群落, 数万亿细菌共生而不引起过度的炎症反应, 共生细菌通过恢复肠道黏膜上皮屏障并辅助黏膜免疫细胞在维持固有免疫应答防止病原性侵入和定植中起着关键的作用。生理状态下宿主通过肠道NODs识别内源性或外源性微生物, 通过调节抗微生物物质的释放和维持肠道菌群稳态来维持胃肠黏膜上皮屏障。NODs和共生细菌相互作用, 共生细菌促进NODs表达, 同时, NODs负反馈抑制共生菌的过度繁殖, 说明NODs在维持肠道共生菌群和宿主免疫应答间的平衡状态所起的重要作用<sup>[2-3]</sup>。

## 2 NOD1 和 NOD2 与 IBD

IBD是消化道的不同节段内慢性炎症性的一组自身免疫性疾病,包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。UC是局限于结肠和直肠的慢性炎症,CD可以发生在胃肠道的任何部位。目前关于IBD的病因和发病机制尚未完全阐明,有学者<sup>[6]</sup>认为携带易感基因的人群在环境因素、肠道慢性感染和黏膜细胞固有免疫应答的过度活等多种因素共同作用,导致自身免疫紊乱、肠道黏膜屏障缺陷而导致疾病发生。遗传易感性在IBD发病中起着重要的作用,越来越多的研究<sup>[7-9]</sup>表明NOD1和NOD2基因多态性与IBD的发生发展具有密切的关系。

### 2.1 NOD2 和 IBD

CD的发病机制尚不明确,近年来认为CD发生与携带遗传易感基因有关,随着全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)技术的发展和运用,越来越多的CD易感基因被鉴定,认为CD为多基因遗传性易感疾病。人类NOD2基因位于16q12,亦称CARD15基因。2001年欧洲Hugot<sup>[7]</sup>和美国Ogura<sup>[8]</sup>的研究小组先后报道NOD2基因序列单核苷酸多态性(SNP)与人CD明显相关,第一个被确定为人类CD遗传易感基因。NOD2基因LRR域内及邻近部位多态性与CD有关,常见的有3个SNP, L1007fs为移码突变, R702W和G908R为错义突变,其中L1007fs突变与CD易感最为密切<sup>[3,9-10]</sup>。NOD2基因这3个SNP携带具有明显的种族差异,欧洲和北美国家CD患者发生率较高(6%~16%),而几个针对亚洲人群的研究未发现这3种NOD2基因SNP<sup>[7-8,11]</sup>。张以洋等<sup>[12]</sup>对患者IBD患者(CD 30例, UC 30例)及30例健康对照者NOD2外显子进行测序,发现2例CD患者为P268S, 1例为R459R, 2例同时存在P268S和R459R,而在UC患者和健康人中各检测到1例R459R,所有实验对象均未检测到R702W, G908R和L1007fs,提示P268S可能是NOD2基因与中国人CD相关的SNP。

进一步的研究<sup>[13-14]</sup>发现有多个NOD2位点多态性者较单个位点者易感,纯合子突变较杂合子突变易感,杂合突变者患CD的风险增加2~4倍,而纯合突变者患CD风险增加20~40倍,提示NOD2为CD常染色体隐性易感基因,且具有基因突变数量效应。

2007年利用GWAS技术鉴定出自噬相关蛋

白ATG16L1编码区与CD密切相关的SNP位点(rs2241880),导致ATG16L1T300A突变,且此突变导致CD的发病风险与NOD2密切相关<sup>[15]</sup>。NOD2诱导的固有免疫联合自噬机制缺陷协同促进CD的发生、发展。

NOD2功能失活突变导致机体对MDP的反应性降低, TNF $\alpha$ , IL-6, IL-10和IL-1 $\beta$ 等炎症细胞因子的分泌减少,清除细菌能力降低导致过度的细菌侵入,为NOD2功能失活引起炎症疾病的可能机制之一<sup>[16]</sup>。NOD2基因异常导致肠道微生态失调及黏膜屏障功能受损,引起致病菌侵入并导致相关炎症反应。有研究<sup>[17-19]</sup>表明:相对于健康对照者CD患者的肠道中的细菌种类和数量异常。NOD2缺陷小鼠回肠末端隐窝细胞清除细菌的能力减弱,导致回肠末端共生菌群的变化,但哪些菌群的数量和种类发生的变化还不清楚,通常认为肠道中数量最多的2个菌属拟杆菌和厚壁菌在NOD2缺陷小鼠数量增多<sup>[20-21]</sup>。Paneth细胞是肠黏膜隐窝底部固有层特殊分化的细胞, NOD2受体在Paneth细胞高表达,回肠末端Paneth细胞数量较多,也是CD容易累及的部位<sup>[22]</sup>, Paneth细胞分泌 $\alpha$ -防御素等多种抗菌剂,统称隐窝蛋白。NOD2失活突变L1007fs患者的Paneth细胞功能受到损害,分泌释放防御素减少,并进一步改变肠道菌群的数量和种类<sup>[23-24]</sup>。

不管NOD2突变患者患CD风险如何增加,但具有2种NOD2突变的大多数人群不发生CD。动物实验<sup>[25]</sup>也证明: NOD2纯合L1007fs突变小鼠,在无病原菌的特定环境中,不会发生肠道炎症。另外,仅1/4~1/3的CD患者具有NOD2突变, ATG16L1T300A突变在正常人群中也相当普遍。以上研究说明除了遗传基因易感外,还有其他因素参与CD的发生。

### 2.2 NOD1 与 IBD

动物实验<sup>[26]</sup>发现NOD1缺陷与小鼠肠道炎症发生有关,硫酸内酯(DSS)诱导NOD1缺失小鼠发生明显的上皮损伤、肠穿透性和炎症反应,并且诱导其结肠癌的发生。另外,研究<sup>[26]</sup>证明NOD1缺陷小鼠识别艰难梭菌及调控肠道嗜中性粒细胞趋化感染局部的能力下降,引起局部感染性炎症反应性,说明NOD1功能缺失导致肠道对病原体感染的过度炎症反应。

人类NOD1基因位于7p14,在NOD1基因也发现rs6958571位点的插入或缺失多态性,但绝大多数研究<sup>[27-28]</sup>证明其与人IBD发生无明显相关性。

Zouali等<sup>[29]</sup>对来自7个不同欧洲国家的381例IBD家族(CD235, UC58, 混合型81, 7个不确定结肠炎家族)的NOD1的外显子进行测序分析, 未发现与IBD相关的NOD1基因异常, 认为NOD1与IBD的遗传易感性关系不大。

UC是局限于结肠和直肠的慢性炎症, 有研究<sup>[30]</sup>表明UC患者结肠黏膜活检组织中NOD1及相关炎症因子表达水平较正常对照增加8倍, 治疗缓解后其表达水平降低, 提示NOD1与UC的慢性炎症有关。王剑蓉等<sup>[31]</sup>应用免疫组织化学的方法检测结肠黏膜活检组织NOD1的表达情况, 结果显示在UC急性期的表达率高于缓解期及正常肠黏膜组织, 与CD表达的阳性率无明显差异。Verma等<sup>[30]</sup>应用PCR及免疫组化方法检测发现NOD1及相关促炎因子TNF $\alpha$ 、干扰素 $\gamma$ 、IL等mRNA和蛋白水平在UC患者中高表达, 临床缓解期以上分子表达恢复至正常对照水平。提示NOD1及其下游炎症因子可作为UC的诊断和预后分子标志。

### 3 结语

目前研究结果表明NOD1和NOD2固有免疫与自噬调控功能、肠道微生态和正常菌群密切相关, 其基因多态性和表达异常参与了IBD的发生、发展。NOD1和NOD2在IBD中作用机制尚不完全清楚, 除遗传易感性外还有哪些因素参与了IBD的发生发展还需进一步的研究。NOD1和NOD2变化的遗传学和表观遗传学调控机制还不清楚, 进一步研究IBD中NODs的作用及机制, 并研发相应药物纠正其调控失常, 进而恢复正常的固有免疫反应, 将使IBD获得更有效的治疗。

### 参考文献

- Kim YK, Shin JS, Nahm MH. NOD-Like Receptors in Infection, Immunity, and Diseases[J]. *Yonsei Med J*, 2016, 57(1): 5-14.
- Claes AK, Zhou JY, Philpott DJ. NOD-like receptors: guardians of intestinal mucosal barriers[J]. *Physiology (Bethesda)*, 2015, 30(3): 241-250.
- Philpott DJ, Sorbara MT, Robertson SJ, et al. NOD proteins: regulators of inflammation in health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(1): 9-23.
- Zhong Y, Kinio A, Saleh M. Functions of NOD-like receptors in human diseases[J]. *Front Immunol*, 2013, 4: 333.
- Caruso R, Warner N, Inohara N, et al. NOD1 and NOD2: signaling, host defense, and inflammatory disease[J]. *Immunity*, 2014, 41(6): 898-908.
- Vutcovici M, Brassard P and Bitton A. Inflammatory bowel disease and airway diseases[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(34): 7735-7741.
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, et al. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease[J]. *Nature*, 2001, 411(6837): 599-603.
- Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease[J]. *Nature*, 2001, 411(6837): 603-606.
- Strober W, Murray PJ, Kitani A, et al. Signalling pathways and molecular interactions of NOD1 and NOD2[J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(1): 9-20.
- Feerick CL, McKernan DP. Understanding the regulation of pattern recognition receptors in inflammatory diseases - a 'Nod' in the right direction[J]. *Immunology*, 2017, 150(3): 237-247.
- Ng SC, Tsoi KK, Kamm MA, et al. Genetics of inflammatory bowel disease in Asia: systematic review and meta-analysis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18(6): 1164-1176.
- 张以洋, 智发朝, 周殿元, 等. 克罗恩病CARD15/NOD2基因突变的研究[J]. *中华消化杂志*, 2006, 26(7): 456-459.  
ZHANG Yiyang, ZHI Fazhao, ZHOU Dianyuan, et al. Study of the mutation of CARD15/NOD 2 gene in Crohn's disease[J]. *Chinese Journal of Digestion*, 2006, 26(7): 456-459.
- Hugot JP, Zaccaria I, Cavanaugh J, et al. Prevalence of CARD15/NOD2 mutations in Caucasian healthy people[J]. *Am J Gastroenterol*, 2007, 102(6): 1259-1267.
- Russell RK, Nimmo ER, Satsangi J. Molecular genetics of Crohn's disease[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2004, 14(3): 264-270.
- Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1[J]. *Nat Genet*, 2007, 39(2): 207-211.
- Kim YG, Shaw MH, Warner N, et al. Cutting edge: Crohn's disease-associated Nod2 mutation limits production of proinflammatory cytokines to protect the host from *Enterococcus faecalis*-induced lethality[J]. *J Immunol*, 2011, 187(6): 2849-2852.
- Ferreira CM, Vieira AT, Vinolo MA, et al. The central role of the gut microbiota in chronic inflammatory diseases[J]. *J Immunol Res*, 2014, 2014: 1-12.
- Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, et al. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach[J]. *Gut*, 2006, 55(2): 205-211.
- Jia W, Whitehead RN, Griffiths L, et al. Diversity and distribution of sulphate-reducing bacteria in human faeces from healthy subjects and patients with inflammatory bowel disease[J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2012, 65(1): 55-68.

20. Ramanan D, Tang MS, Bowcutt R, et al. Bacterial sensor Nod2 prevents inflammation of the small intestine by restricting the expansion of the commensal *Bacteroides vulgatus*[J]. *Immunity*, 2014, 41(2): 311-324.
21. Rehman A, Sina C, Gavrilova O, et al. Nod2 is essential for temporal development of intestinal microbial communities[J]. *Gut*, 2011, 60(10): 1354-1362.
22. Ogura Y, Lala S, Xin W, et al. Expression of NOD2 in Paneth cells: a possible link to Crohn's ileitis[J]. *Gut*, 2003, 52(11): 1591-1597.
23. Frank DN, Robertson CE, Hamm CM, et al. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(1): 179-184.
24. Wehkamp J, Harder J, Weichenthal M, et al. NOD2 (CARD15) mutations in Crohn's disease are associated with diminished mucosal alpha-defensin expression[J]. *Gut*, 2004, 53(11): 1658-1664.
25. Bloom SM, Bijanki VN, Nava GM, et al. Commensal *Bacteroides* species induce colitis in host-genotype-specific fashion in a mouse model of inflammatory bowel disease[J]. *Cell Host Microbe*, 2011, 9(5): 390-403.
26. Natividad JM, Petit V, Huang X, et al. Commensal and probiotic bacteria influence intestinal barrier function and susceptibility to colitis in *Nod1<sup>-/-</sup>; Nod2<sup>-/-</sup>* mice[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18(8): 1434-1446.
27. Tremelling M, Hancock L, Bredin F, et al. Complex insertion/deletion polymorphism in NOD1 (CARD4) is not associated with inflammatory bowel disease susceptibility in East Anglia panel[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12(10): 967-971.
28. Van Limbergen J, Russell RK, Nimmo ER, et al. Contribution of the NOD1/CARD4 insertion/deletion polymorphism +32656 to inflammatory bowel disease in Northern Europe[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2007, 13(7): 882-889.
29. Zouali H, Lesage S, Merlin F, et al. CARD4/NOD1 is not involved in inflammatory bowel disease[J]. *Gut*, 2003, 52(1): 71-74.
30. Verma R, Verma N, Paul J. Expression of inflammatory genes in the colon of ulcerative colitis patients varies with activity both at the mRNA and protein level[J]. *Eur Cytokine Netw*, 2013, 24(3): 130-138.
31. 王剑蓉, 王耀辉, 朱长乐, 等. NOD样受体-1和脆性组氨酸三位体在溃疡性结肠炎中表达及临床意义[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2015, 12(29): 1184-1187.  
WANG Jianrong, WANG Yaohui, ZHU Changle, et al. Expressions of nucleotide-binding oligomerization domain receptor-1 and fragile histidine triad in ulcerative colitis and the clinical significances[J]. *Journal of Practical Diagnosis and Therapy*, 2015, 12(29): 1184-1187.

本文引用: 王雪纯, 薛丽英. NOD1和NOD2与炎性肠病[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(5): 1053-1057. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.05.031

**Cite this article as:** WANG Xuechun, XUE Liying. NOD1 and NOD2 proteins in inflammatory bowel diseases[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2017, 37(5): 1053-1057. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2017.05.031