

重组人 Siglec-1 蛋白的制备及基于超滤亲和-液质联用技术天然配体的筛选

曹娟^{1,2}, 杨忠杰³, 郑奕^{1,2}, 杨雷^{1,2}, 李森森^{1,2}

1. 黄淮学院 医学院, 河南 驻马店 463000

2. 黄淮学院附属驻马店市中心医院, 河南 驻马店 463000

3. 漯河市中心医院 药学部, 河南 漯河 462000

摘要: 目的 构建唾液酸免疫球蛋白凝集素1 (Siglec-1) 原核表达载体, 表达纯化 Siglec-1 重组蛋白, 构建超滤亲和-液质联用技术 (UF-LC-MS) 筛选 Siglec-1 蛋白天然配体。方法 利用 DNA 重组技术构建 Siglec-1 重组蛋白原核表达载体, 转化到 BL21 (DE3) 感受态细胞中表达 Siglec-1 重组蛋白, 通过 Ni 柱亲和和色谱柱进行蛋白纯化, 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳分析 Siglec-1 重组蛋白纯度。建立 UF-LC-MS 技术研究金银花、甘草、迷迭香、菊苣中 6 个主要组分绿原酸、迷迭香酸、阿魏酸、甘草酸、甘草次酸、菊苣酸对 Siglec-1 蛋白的亲合力, 通过比较样品组和蛋白变性组超滤液中待测物的峰面积, 计算各待测物特异结合率。结果 经双酶切及测序鉴定证明, 重组表达质粒 pET-22b-Siglec-1-His 构建正确; 纯化的人 Siglec-1 重组蛋白质量分数达 90% 以上; 建立了 UF-LC-MS 筛选体系, 筛选出甘草次酸可与 Siglec-1 蛋白特异性结合。结论 成功表达了高纯度、高产量的人 Siglec-1 重组蛋白, 筛选出甘草次酸可与 Siglec-1 蛋白特异性结合。

关键词: 唾液酸免疫球蛋白凝集素 1; 重组蛋白; 超滤亲和-液质联用; 甘草次酸; 天然配体

中图分类号: R392 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 07-1556-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.07.014

Preparation of recombinant human Siglec-1 protein and screening of natural ligands based on affinity ultrafiltration-liquid mass spectrometry

CAO Juan^{1,2}, YANG Zhongjie³, ZHENG Yi^{1,2}, YANG Lei^{1,2}, LI Sensen^{1,2}

1. Medical College of Huanghuai University, Zhumadian 463000, China

2. Zhumadian Central Hospital, Afliated Hospital of Huanghuai University, Zhumadian 463000, China

3. Luohe Central Hospital, Luohe 462000, China

Abstract: Objective To construct a prokaryotic expression vector of sialoadhesin (Siglec-1), express and purify the recombinant Siglec-1 protein, and construct an ultra-filtration affinity-liquid chromatography-mass spectrometry (UF-LC-MS) technique to screen natural ligands of Siglec-1 protein. **Methods** The prokaryotic expression vector of Siglec-1 recombinant protein was constructed by DNA recombination technology. The Siglec-1 recombinant protein was expressed and purified, the purity of Siglec-1 recombinant protein was analyzed by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), and the protein was purified by Ni column affinity chromatography. An UF-LC-MS technique was established to screen the affinity of six main components (chlorogenic acid, 2-rosmarinic acid, 3-glycyrrhizic acid, 4-chicoric acid, 5-glycyrrhetinic acid, and 6-ferulic acid) in *Lonicera japonica*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Rosmarinus officinalis* and *Cichorium intybus* to Siglec-1 protein. Calculate the specific binding rates of each analyte by comparing the peak areas of the analyte in the ultrafiltration solution of the sample group and the protein denaturation group. **Results** The double-enzyme digestion and sequencing identification proved that the recombinant expression plasmid pET-22b-Siglec-1-His was constructed correctly, the relative purity of purified human Siglec-1 recombinant protein was over 90%, the UF-LC-MS screening system was established, and glycyrrhetinic acid was screened out. Glycyrrhetinic acid can specifically bind to Siglec-1 protein. **Conclusion** A high-purity and recombinant human Siglec-1 protein with certain chemotactic activity was successfully expressed. It was screened out that glycyrrhetinic acid can specifically bind to Siglec-1 protein.

Key words: Siglec-1; recombinant protein; affinity ultrafiltration-liquid mass spectrometry; glycyrrhetinic acid; natural ligands

收稿日期: 2024-03-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82204727); 河南省科技公共项目 (242102310566)

第一作者: 曹娟, 研究方向为免疫调控靶点中药活性成分筛选。E-mail: juanziapple@126.com

*通信作者: 杨雷, 研究方向为中药药理学。E-mail: yanglei@huanghuai.edu.cn

李森森, 研究方向为免疫调控靶点中药活性成分筛选。E-mail: lsswcy@163.com

唾液酸免疫球蛋白凝集素1(Siglec-1, 也称CD169)是主要在巨噬细胞表达的免疫球蛋白超家族类黏附分子, 已经成为免疫治疗的新靶点^[1]。Siglec-1异常表达与许多炎症进展息息相关, 如新型冠状病毒肺炎(COVID-19)^[2]、肺结核^[3]、溃疡性结肠炎^[4]、自身免疫性肝炎^[5]和类风湿关节炎^[6]等。有研究发现, Siglec-1能够通过负调节核因子 κ B(NF- κ B)的抑制蛋白I κ B α , 影响NF- κ B活性, 促进肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 和IL-6炎症细胞因子的表达, 进而增强炎症反应^[7]。采用Siglec-1抗体阻断病毒吸收, 有效减少了细胞质病毒进入, 如埃博拉病毒^[8]。此外, 低剂量花青素-3-*O*-葡萄糖苷能够通过调节Siglec-1表达巨噬细胞途径有效缓解右旋糖酐硫酸钠诱导的结肠炎^[9]。因此, 阻断Siglec-1与配体结合的新靶点药物设计理念已经显示出非常好的临床应用前景。

中医药预防和治疗炎症性疾病有着悠久的历史与丰富的经验。近些年, 随着中医药研究的不断深入, 发现了众多抗炎相关的药物。如金银花通过对NF- κ B炎症通路的干预作用对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠产生保护作用, 抑制体内炎症反应过度激活, 进而修复肠黏膜屏障^[10]。甘草次酸可通过抑制NF- κ B通路, 降低IL-1 β 、诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)、NO、前列腺素E₂(PGE₂)表达水平, 从而发挥抗炎作用^[11]。基于此, 本研究拟从中药中寻找靶向Siglec-1进而影响NF- κ B炎症通路的抗炎成分。

超滤亲和-液质联用(UF-LC-MS)技术基于亲和色谱原理, 以生物大分子为固定相, 并且溶质在固定相上的保留行为及立体选择性能够反映生物大分子非固定时与溶质的相互作用, 研究的分子生物靶点范围包括血清蛋白、酶、受体、DNA和细胞膜等, 具有耗时少、信息全、速度快、通量高、可同步结构鉴定等优点^[12-13]。本研究构建人Siglec-1-his表达载体, 并进行蛋白表达及纯化, 借助UF-LC-MS技术筛选金银花、甘草、迷迭香、菊苣中6个主要成分绿原酸、迷迭香酸、阿魏酸、甘草酸、甘草次酸、菊苣酸中与Siglec-1蛋白结合的潜在活性成分, 寻找能够与Siglec-1结合的天然活性成分。

1 材料

1.1 主要试剂

限制性核酸内切酶、T4连接酶、质粒DNA小量抽提试剂盒、DNA凝胶回收试剂盒、DNA Ladder、异丙基- β -D-硫代半乳糖苷(IPTG)购自安诺伦(北

京)生物科技有限公司; 大肠杆菌DH5 α 、BL21感受态、LB培养基购自艾柏森生物科技有限公司; 卡那霉素购自生工生物工程股份有限公司。

绿原酸(批号DST200520-021, 质量分数99.09%)、迷迭香酸(批号DST191027-027, 质量分数98.89%)、阿魏酸(批号DST200626-081, 质量分数99.95%)、甘草酸(批号MUST-19052407, 质量分数99.5%)、甘草次酸(批号110723-201715, 质量分数99.6%)、菊苣酸(批号DSTDJ003901, 质量分数 $\geq$ 98%)均购于成都德思特生物科技有限公司。甲酸、乙腈(色谱纯)购自美国TEDIA公司; 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

1.2 仪器

AB SCIEX Triple QuadTM 4500MD串联质谱仪、Analyst 1.6.1数据处理软件(美国Applied Biosystems公司); LC-20A高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司); Bio-Rad CFX connect PCR仪(美国BIO-RAD公司); JY200C电泳仪(北京君意东方电泳设备有限公司); Amicon Ultra-0.5 10K型超滤离心管(截留相对分子质量10 000, 德国Merck公司); Geno Sents 1850凝胶成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司); 超微量分光光度计(上海宝予德科学仪器有限公司); 5810R高速离心机(美国Eppendorf公司); AUW-120D十万分之一天平(日本Shimadzu公司); SPH-200D超凡型小容量恒温培养摇床(上海世平实验设备有限公司); LC-250Y超声波细胞粉碎仪(宁波新芝); HH2数显恒温水浴锅(上海力辰邦西仪器科技有限公司); DHP恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司); YXQ高压蒸汽灭菌锅(上海博讯实业有限公司); DL-CJ-2N超级工作台(北京东联哈尔有限公司); Milli-Q Reference超纯水仪(美国Millipore公司)。

1.3 Siglec-1胞外段引物的设计

在NCBI数据库并结合Uniprot数据库中确定Siglec-1胞外段基因编码序列, 并自行设计合成目的基因引物。上游引物: 5'-TAAGAAGGAGATATACATATGAGCTGGGGCGTGAGCAG-3', 下游引物: 5'-GGTGGTGGTGGTGGTGCTCGAGTTAATGATGATGGTGATGATGATGATGCTGCAGA-3', 引物由艾柏森生物科技有限公司合成。

2 方法与结果

2.1 人Siglec-1-His蛋白的制备及纯化

2.1.1 人Siglec-1-His表达载体构建 通过化学合

成方法获得 Siglec-1 胞外区目的基因序列,并通过 PCR 扩增获取目的片段。Siglec-1 胞外片段大小为 672 bp 序列,PCR 产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳显示,在相对于 DNA Marker 500 bp 与 750 bp 之间有一特异性扩增条带,相对分子质量大小与预期相符(图1)。

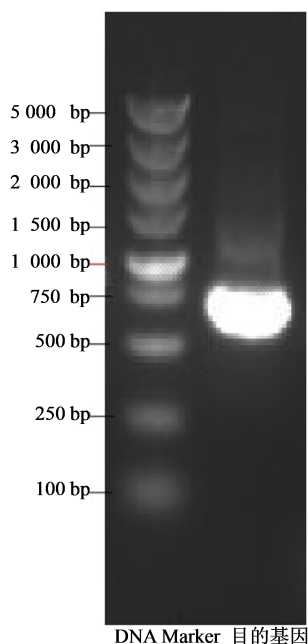


图1 目的基因PCR电泳图

Fig. 1 Electrophoretic profile of PCR product of target gene

pET-22b 载体用 NdeI/XhoI 进行双酶切,产物经 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳显示一大一小 2 个亮带。然后,进行切胶回收,回收大片段;将切胶回收的载体与目的基因片段进行重组酶连接,获得重组质粒。将重组质粒转化至 DH5 α 感受态细胞;细菌恢复正常生长状态后,取部分涂布于含氨苄西林的固体 LB 培养基平板中;转化后的平板挑菌,将单克隆菌液送测序公司测序。序列与 GenBank 中序列比对一致,无突变与移位。

验证构建好的重组质粒,酶切位点选用 MluI-XhoI,其片段分别为 4 000 bp 和 1 500 bp 左右,大片段为空质粒的双酶切产物,呈线性结构,相对分子质量大小与预期相符(图2),小片段大于目的基因片段,符合重组质粒实验要求。pET22b-Siglec-1-His 见图3。

2.1.2 人 Siglec-1-His 蛋白的表达及纯化 人 Siglec-1-His 蛋白的表达:(1)将表达质粒转化到 BL21(DE3)感受态细胞中,37 °C 倒置培养过夜,随后挑取单菌落培养 16~18 h。摇瓶培养条件:

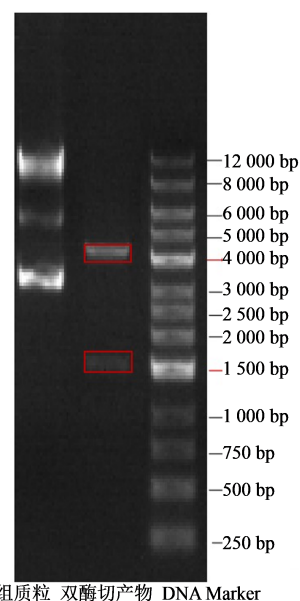


图2 重组 pET-22b 载体质粒酶切图

Fig. 2 Restriction map of recombinant pET-22b plasmid

37 °C、250 r·min⁻¹; (2)将培养完成的菌液按 1:100 转接到新鲜的 200 mL LB 培养基中,同条件培养菌液吸光度值(A_{600})至 0.6 时,应用 1.0 mmol·L⁻¹ 异丙基- β -D-硫代半乳糖苷(IPTG)分别于 18、37 °C 诱导 4 h; (3)将培养完成的菌体裂解(50 mmol·L⁻¹ Tris、0.5 mol·L⁻¹ NaCl)重悬后,进行超声破碎(工作 3 s、间隔 2 s,时间 15 min,重复 1 遍),4 °C、12 000 r·min⁻¹ 低温离心 30 min。

将诱导前、诱导后的总蛋白、上清、沉淀进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳检测,结果见图4-A,IPTG 37 °C 诱导的总蛋白及沉淀 Siglec-1-His 蛋白含量丰富。即 IPTG 37 °C 诱导 4 h 后,菌体裂解重悬、超声破碎、低温离心后即得含有人 Siglec-1-His 包涵体蛋白沉淀。

人 Siglec-1-His 蛋白的纯化:将含有人 Siglec-1-His 包涵体蛋白沉淀复溶后用 0.45 μ m 滤膜滤过,通过 His 亲和色谱柱进行蛋白纯化。步骤如下:用 5 倍柱体积的去离子水洗涤,去除空气和 20% 乙醇;5~10 倍柱体积缓冲液 A 平衡柱子,缓冲液 A(50 mmol·L⁻¹ Tris, 0.15 mol·L⁻¹ NaCl, 8 mol·L⁻¹ 尿素, pH 8.0);将样品以 0.25 mL·min⁻¹ 的体积流量流穿 His 柱;用缓冲液 A 平衡柱子;用 50 mmol·L⁻¹ 和 500 mmol·L⁻¹ 咪唑洗脱。收集洗脱的目的蛋白,将 8 mol·L⁻¹ 尿素稀释到 6 mol·L⁻¹ (缓冲液:50 mmol·L⁻¹ Tris, 0.15 mol·L⁻¹ NaCl, pH 8.0),静置 30 min,再稀释到 4 mol·L⁻¹ 尿素,最后透析到缓冲液(50 mmol·L⁻¹ Tris, 0.15 mol·L⁻¹ NaCl, 2 mol·L⁻¹ 尿素, pH 8.0),4 °C 过夜,并用 SDS-

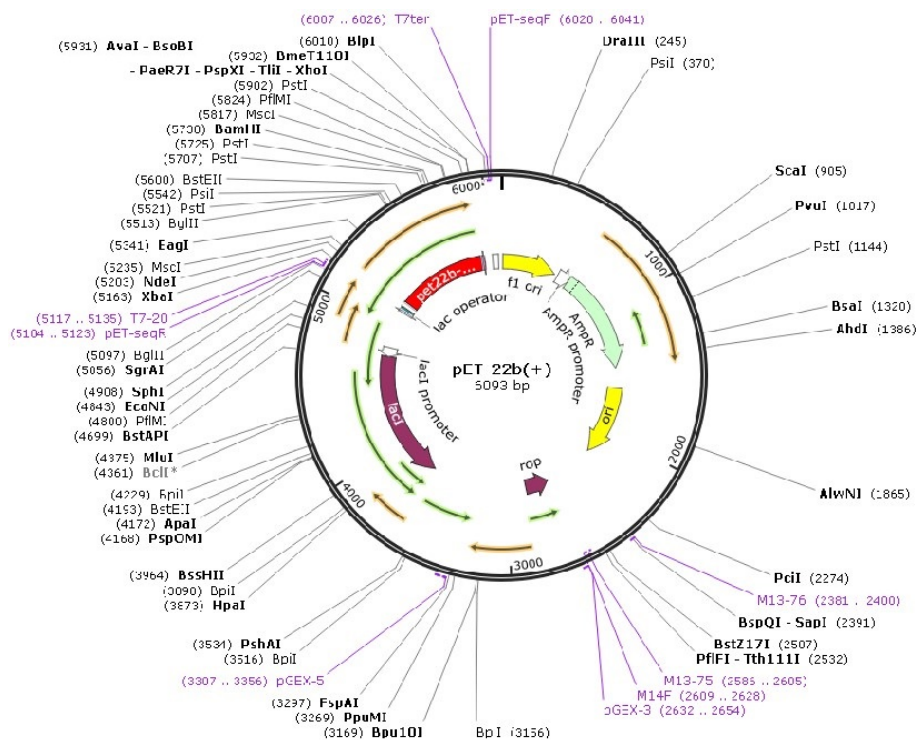


图3 pET22b-Siglec-1-His载体图谱

Fig. 3 pET22b-Siglec-1-His vector map

PAGE胶检测目的蛋白纯度。使用BCA蛋白定量试剂盒测定浓缩后的重组Siglec-1蛋白相对质量浓度。

重组Siglec-1蛋白经15% SDS-PAGE电泳检测结果显示与预期一致,且目的蛋白纯度较高,≥90%(图4-B)。浓缩后的重组Siglec-1蛋白质量浓度为1.0 mgmL⁻¹。

2.2 Siglec-1蛋白药物筛选系统的构建^[13]

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸、迷迭

香酸、阿魏酸、甘草酸、甘草次酸、菊苣酸对照品适量,将其分别置于10 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,配制成质量浓度分别为1.02、0.97、0.99、1.05、1.09、1.48 mg·mL⁻¹的对照品溶液,4℃避光保存。使用前,50%甲醇溶液稀释到所需的质量浓度。

2.2.2 色谱条件 色谱柱为Kinetex C₁₈ 100 A(50 mm×2.1 mm,2.6 μm),流动相为0.1%甲酸水

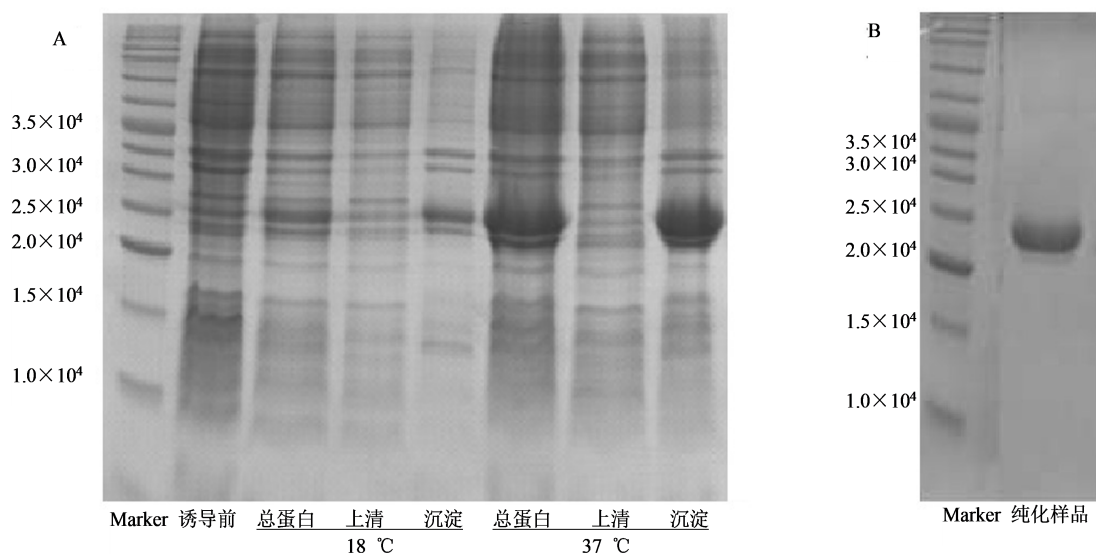


图4 人Siglec-1-His蛋白表达(A)及纯化(B)的SDS-PAGE分析

Fig. 4 SDS-PAGE analysis of human Siglec-1-His protein expression (A) and purification (B)

溶液(A)-0.1%甲酸5 mmol·L⁻¹乙酸铵甲醇(B);梯度洗脱:0~0.3 min, 5% B; 0.3~0.8 min, 5%~98% B; 0.8~2.4 min, 98% B; 2.4~2.7 min, 98%~5% B; 2.7~4.0 min, 5% B; 体积流量0.5 mL·min⁻¹; 柱温40℃; 进样量2 μL。

2.2.3 质谱条件 采用电喷雾离子化源(ESI);扫描方式为负离子多级反应监测模式(MRM);喷雾电压4 500(ESI⁻);雾化气温度(TEM)500℃;气帘气、碰撞气分别为206.84、62.05 kPa,雾化器和辅助气均为344.74 kPa。6个指标成分的质谱参数见表1。

表1 6种化合物的质谱参数

Table 1 Mass spectrometry parameters of six components

成分	母离子 <i>m/z</i>	子离子 <i>m/z</i>	去簇电压/ V	碰撞电 压/eV
绿原酸	353.1	190.9	-50	-25
迷迭香酸	359.1	160.9	-60	-20
阿魏酸	821.4	351.0	-90	-55
甘草酸	473.1	311.0	-70	-17
甘草次酸	469.4	355.3	-80	-55
菊苣酸	193.1	134.1	-60	-19

2.2.4 超滤亲和技术筛选 Siglec-1 蛋白天然配体 实验分为样品组、空白组和蛋白变性对照组。样品组:10 μL 对照品溶液、180 μL 磷酸盐缓冲溶液(pH 值7.4, 50 mmol·L⁻¹)与10 μL Siglec-1(0.84 mg·mL⁻¹)混合;空白组:10 μL 对照品溶液、190 μL 磷酸盐缓冲溶液(pH 值7.4, 50 mmol·L⁻¹)混合;蛋白变性对照组:10 μL 对照品溶液、180 μL 磷酸盐缓冲溶液(pH 值7.4, 50 mmol·L⁻¹)与10 μL Siglec-1(0.84 mg·mL⁻¹, 水浴煮沸20 min 使其变性)混合。将溶液在37℃黑暗孵育1 h后,转移至1×10⁴超滤离心管中以12 000 r·min⁻¹离心10 min。加入150 μL的磷酸盐缓冲液,12 000 r·min⁻¹离心10 min洗涤,重复3次。然后,将与Siglec-1有特异性结合的结合配体与200 μL 甲醇:水(90:10)室温解离10 min,以12 000 r·min⁻¹离心10 min,收集滤液。所有的检测方法均重复3次,上机检测。

2.3 Siglec-1 蛋白亲和力的评价

蛋白亲和力的评价通过比较样品组和蛋白变性组中超滤液中待测物的峰面积,计算各待测物特异结合率。

$$\text{特异结合率} = (A_a - A_b) / A_b$$

A_a 为样品组待测物面积; A_b 为蛋白变性组待测物面积

如图5所示,甘草次酸在样品组中比蛋白变性组峰面积显著增大,甘草次酸特异结合率为44.2%,

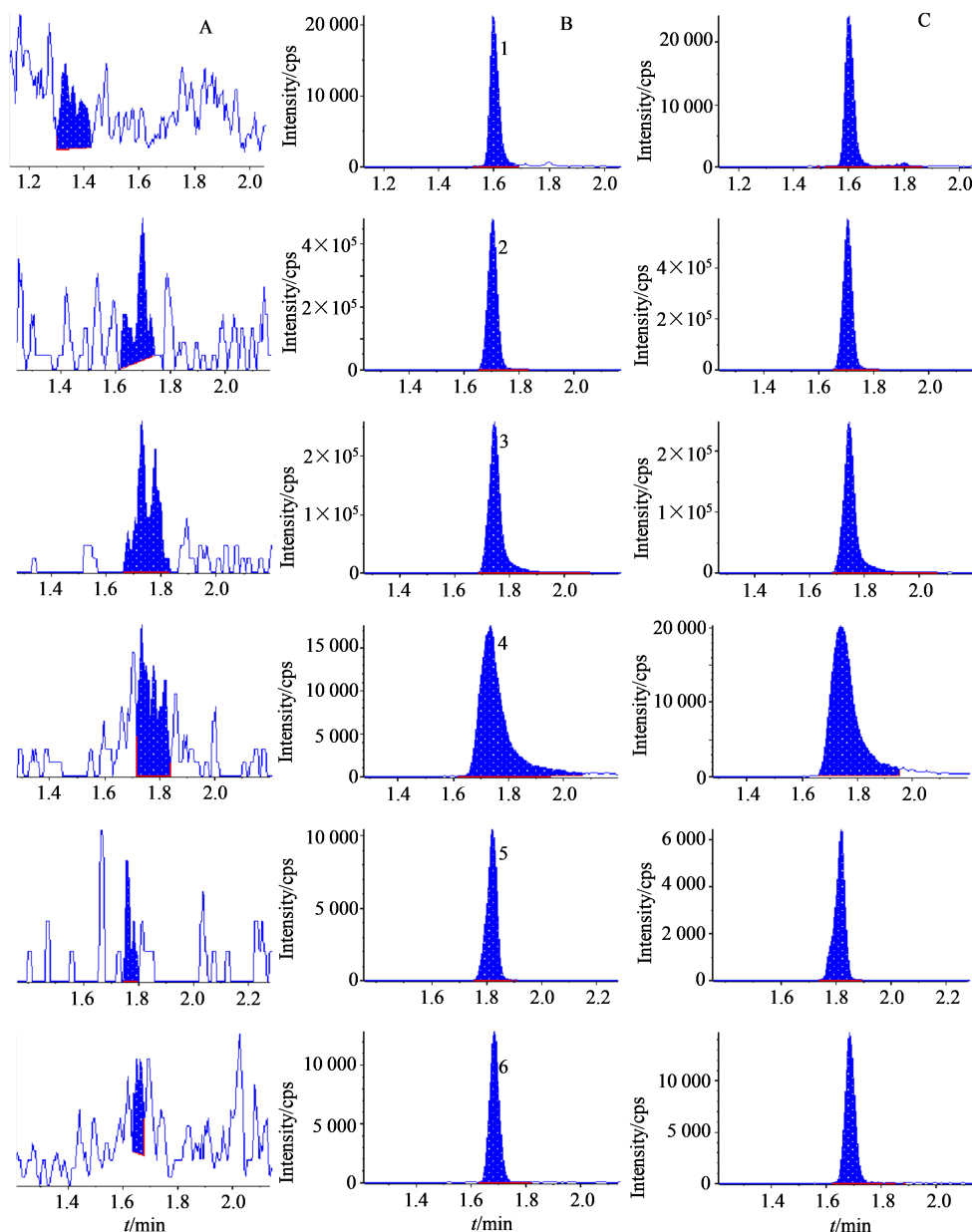
推测甘草次酸可与Siglec-1蛋白特异性结合。各待测物特异结合率见表2。

3 讨论

Siglec-1是第一个发现参与免疫应答的Siglecs基因家族成员^[1],病毒、细菌感染引起的炎症反应性疾病的发生都与Siglec-1表达异常息息相关。有研究显示,HIV壳膜蛋白(gp120)上的唾液酸结合巨噬细胞表达Siglec-1介导病毒与细胞的吸附^[14];包膜糖蛋白(Env)的V1V2区中的唾液酸与巨噬细胞表达Siglec-1结合,促进HIV对细胞的感染^[15]。含有高度唾液酸化聚糖结构的脑膜炎奈瑟菌表面的唾液酸通过与Siglec-1活性位点精氨酸残基结合,介导巨噬细胞对病毒的吞噬作用^[16]。猪繁殖与呼吸综合征(PRRS)病毒,能够通过 α -2,3唾液酸化聚糖结构与Siglec-1结合介导巨噬细胞对病毒的吸附和内化^[17]。这些研究提示,干扰病原体表面唾液酸化聚糖与Siglec-1活性位点结合,可能成为药物设计的新思路。本研究通过化学合成方法获得Siglec-1胞外区目的基因序列,并克隆至过表达质粒pET-22b载体上,获得pET-22b-Siglec-1-His载体;表达质粒转化到BL21细胞,培养后通过Ni柱亲和色谱柱进行蛋白纯化成功获得Siglec-1蛋白。为Siglec-1蛋白进一步研究、开发和利用提供了参考依据。

中医药抗病毒、抗菌的历史悠久、疗效独特,目前的研发主要在抗炎通路方面,是否存在能够通过阻断病原体与Siglec-1接触发挥药理作用还尚且未知。本实验通过UF-LC-MS技术从绿原酸、迷迭香酸、阿魏酸、甘草酸、甘草次酸、菊苣酸5种中药成分中快速筛选出Siglec-1蛋白特异性结合的化合物,结果显示甘草次酸特异结合率为44.2%,初步推断甘草次酸可特异性与Siglec-1蛋白结合。此外,有研究显示,采用高、中、低(200、100、50 mg·kg⁻¹)剂量甘草次酸干预卵清白蛋白致敏支气管哮喘模型大鼠,大鼠肺组织中NF- κ B、IL-6及IL-5 mRNA和蛋白表达水平降低,其中甘草次酸高剂量组变化更显著^[11]。结合本实验所得结论,甘草次酸可与Siglec-1蛋白特异性结合,推测甘草次酸可通过与Siglec-1蛋白产生作用来阻断外来病原体与免疫细胞结合发挥抗炎作用。

本研究从免疫调控治疗的角度出发,在获得人Siglec-1的免疫学机制的基础上,制备、表达和纯化Siglec-1蛋白;建立快速筛选可与Siglec-1蛋白存在相互作用的中药天然活性成分的亲和色谱串联质谱系统,对进一步开发具有针对性的Siglec-1阻断



1-绿原酸;2-迷迭香酸;3-甘草酸;4-菊苣酸;5-甘草次酸;6-阿魏酸。

1-chlorogenic acid; 2-rosmarinic acid; 3-glycyrrhizic acid; 4-chicoric acid; 5-glycyrrhetic acid; 6-ferulic acid.

图5 空白组(A)、样品组(B)和蛋白变性组(C)总离子色谱图

Fig. 5 Total ion chromatogram of blank group (A), sample group (C), and protein denaturation group (B)

表2 Siglec-1潜在配体特异结合率 (n=3)

Table 2 Specific binding rate of Siglec-1 potential ligand (n=3)

t_R /min	成分	特异结合率%
1.60	绿原酸	-5.9
1.70	迷迭香酸	-4.3
1.69	阿魏酸	-1.6
1.74	甘草酸	10.8
1.82	甘草次酸	44.2
1.73	菊苣酸	-6.8

药物或先导化合物具有重要指导意义。本研究不仅有利于推动中医药在炎症性疾病中的临床应用,也能够进一步完善中医药免疫防治炎症性疾病的理论基础和科学依据。

化合物能够与靶标蛋白高亲和力结合干扰靶点-配体相互作用是药物筛选的基础,然而,本实验也存在不足之处。超滤亲和筛选只能确定化合物与靶标蛋白有结合性,结合之后发挥何种生理活性(无内在活性、激活或抑制)还需要进一步在细胞、动物水平验证。后期会深入研究甘草次酸在细胞水平及动物体内对 Siglec-1 表达的影响及作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ducreux J, Crocker P R, Vanbever R. Analysis of sialoadhesin expression on mouse alveolar macrophages [J]. Immunol Lett, 2009, 124(2): 77-80.
- [2] Doehn J M, Tabeling C, Biesen R, et al. CD169/SIGLEC1 is expressed on circulating monocytes in COVID-19 and expression levels are associated with disease severity [J]. Infection, 2021, 49(4): 757-762.
- [3] Souza de Lima D, Nunes V C L, Ogusku M M, et al. Polymorphisms in SIGLEC1 contribute to susceptibility to pulmonary active tuberculosis possibly through the modulation of IL-1 β [J]. Infect Genet Evol, 2017, 55: 313-317.
- [4] 陈平, 孔梅, 于双, 等. Siglec-1 在溃疡性结肠炎患者外周血单核细胞中的表达 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(7): 749-751.
Chen P, Kong M, Yu S, et al. Expression of Siglec-1 in peripheral blood mononuclear cells of ulcerative colitis patients [J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2016, 25(7): 749-751.
- [5] 陈德宝, 万汝根. Siglec-1 与自身免疫性肝炎的相关性研究 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2011, 31(9): 850.
Chen D B, Wan R G. Study on the correlation between Siglec-1 and autoimmune hepatitis [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2011, 31(9): 850.
- [6] 熊怡沁, 程悦, 林秋水, 等. 类风湿关节炎患者外周血单核细胞高表达 Siglec-1 及其在单个核细胞对自身抗原反应中的作用(英文) [C]. 第四届中国临床微生物学大会暨微生物学与免疫学论坛论文汇编, 2013.
Xiong Y S, Cheng Y, Lin Q S, et al. High expression of SIGLIC-1 in peripheral blood mononuclear cells of patients with rheumatoid arthritis and its role in the response of mononuclear cells to autoantigens [C]. Proceedings of the 4th Chinese Clinical Microbiology Conference and Microbiology and Immunology Forum, 2013.
- [7] Li S S, Jiang L F, Yang Y B, et al. Siglec1 enhances inflammation through miR-1260-dependent degradation of I κ B α in COPD [J]. Exp Mol Pathol, 2020, 113: 104398.
- [8] Perez-Zsolt D, Erkizia I, Pino M, et al. Anti-Siglec-1 antibodies block Ebola viral uptake and decrease cytoplasmic viral entry [J]. Nat Microbiol, 2019, 4(9): 1558-1570.
- [9] Xia Y, Tian L M, Liu Y, et al. Low dose of cyanidin-3-O-glucoside alleviated dextran sulfate sodium-induced colitis, mediated by CD169⁺ macrophage pathway [J]. Inflamm Bowel Dis, 2019, 25(9): 1510-1521.
- [10] 罗孟雄. 金银花防治溃疡性结肠炎作用机制研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2022.
Luo M X. Study on the mechanism of honeysuckle in preventing and treating ulcerative colitis [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2022.
- [11] 陈伟, 马磊, 杨立山. 甘草次酸对哮喘大鼠的抗氧化应激作用及 NF- κ B 信号通路的调控 [J]. 郑州大学学报(医学版), 2016, 51(6): 762-765.
Chen W, Ma L, Yang L S. Effects of glycyrrhetic acid on oxidative stress and NF- κ B signal pathway in bronchial asthma rats [J]. J Zhengzhou Univ Med Sci, 2016, 51(6): 762-765.
- [12] 高彤, 丁冠守, 苏萍萍, 等. 药物筛选模型的研究进展 [J]. 海峡药学, 2021, 33(7): 1-5.
Gao T, Ding G S, Su P P, et al. Advances in drug screening models [J]. Strait Pharm J, 2021, 33(7): 1-5.
- [13] 杨忠杰, 李森森, 曹娟, 等. 重组人 Tim-3 蛋白的制备及基于亲和超滤-液质联用技术的天然配体筛选 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(3): 545-551.
Yang Z J, Li S S, Cao J, et al. Preparation of recombinant human Tim-3 protein and screening of natural ligands based on affinity ultrafiltration-liquid mass spectrometry [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(3): 545-551.
- [14] Zou Z C, Chastain A, Moir S, et al. Siglecs facilitate HIV-1 infection of macrophages through adhesion with viral sialic acids [J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24559.
- [15] Jobe O, Trinh H V, Kim J, et al. Effect of cytokines on Siglec-1 and HIV-1 entry in monocyte-derived macrophages: The importance of HIV-1 envelope V1V2 region [J]. J Leukoc Biol, 2016, 99(6): 1089-1106.
- [16] Delputte P L, Van Gorp H, Favoreel H W, et al. Porcine sialoadhesin (CD169/Siglec-1) is an endocytic receptor that allows targeted delivery of toxins and antigens to macrophages [J]. PLoS One, 2011, 6(2): e16827.
- [17] Delputte P L, Nauwynck H J. Porcine arterivirus infection of alveolar macrophages is mediated by sialic acid on the virus [J]. J Virol, 2004, 78(15): 8094-8101.

[责任编辑 兰新新]