

抗补体活性物质临床应用及开发研究进展

张世哲¹, 江鸿标¹, 卢玥晴¹, 马慧慧¹, 陈亮宇³, 赵心清^{*2}, 苏春^{*1}

1 陕西师范大学生命科学学院, 陕西 西安 710119

2 上海交通大学生命科学技术学院, 上海 200240

3 天津企业多组学重点实验室, 天津 300000

张世哲, 江鸿标, 卢玥晴, 马慧慧, 陈亮宇, 赵心清, 苏春. 抗补体活性物质临床应用及开发研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2347-2361

Zhang Shizhe, Jiang Hongbiao, Lu Yueqing, Ma Huihui, Chen Liangyu, Zhao Xinqing, Su Chun. Clinical application and development of anti-complement agents: a review[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2347-2361

摘要: 补体系统是先天免疫系统的重要组成部分之一, 类风湿关节炎、自身免疫性溶血性贫血、2019冠状病毒病等多种疾病的发生与补体系统异常密切相关。目前临床常用的补体抑制剂多为化学合成药物, 其选择性较差, 长期使用容易导致机体免疫能力降低。天然产物来源的抗补体活性成分毒性小、易于被机体消化吸收, 其中微生物来源的抗补体活性物质具有独特的优势和应用潜力, 可利用基因组挖掘快速发现和鉴定, 并利用代谢工程改造和发酵优化大量生产, 但目前相关研究仍处于前期研究开发阶段。本综述总结了近年来国内外较常见补体抑制剂的临床应用, 同时对微生物来源抗补体活性物质的研发进展进行了讨论, 以期对补体抑制剂的临床研究和天然来源新型抗补体活性物质的开发提供参考。

关键词: 补体系统; 微生物来源抗补体活性物质; 基因组挖掘; 放线菌; 代谢工程

基金项目: 全国大学生创新创业训练计划(S202010718203, S202110718137); 中央高校自由探索项目(GK202103075); 陕西省重点研发计划(2021NY-196); 国家自然科学基金面上项目(31970771)

Supported by: National College Students' Training Program of Innovation and Entrepreneurship of China (S202010718203, S202110718137); Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (GK202103075); Key Research and Development Program of Shaanxi Province (2021NY-196); National Natural Science Foundation of China (31970771)

***Corresponding authors:** E-mail: ZHAO Xinqing: xqzhao@sjtu.edu.cn; SU Chun: suchun@snnu.edu.cn

Received: 2021-10-15; **Accepted:** 2021-12-30; **Published online:** 2022-02-07

Clinical application and development of anti-complement agents: a review

ZHANG Shizhe¹, JIANG Hongbiao¹, LU Yueqing¹, MA Huihui¹, CHEN Liangyu³, ZHAO Xinqing^{*2}, SU Chun^{*1}

1 College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, Shaanxi, China

2 School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

3 Tianjin Multiomics Key Laboratory, Tianjin 300000, China

Abstract: Complement system is a major component of innate immune system, which provides a vital first-line barrier to invading pathogens. The dysfunction of human complement system is related to multiple diseases, such as rheumatoid arthritis, autoimmune hemolytic anemia, and COVID-19. At the moment, most of the clinical complement inhibitors are chemically synthesized, which show poor selectivity and result in decreased immunity after long-term use. In contrast, natural anti-complement agents feature low toxicity and ease of being absorbed. Particularly, anti-complement agents of microbial origin have unique advantages and application potential, which can be discovered and identified by genome mining and produced in large quantities after metabolic engineering and fermentation optimization. However, related research is still in its infancy. Here we summarized the clinical applications of common complement inhibitors in recent years and reviewed the research and development of anti-complement agents of microbial origin, hoping to provide a reference for the clinical research on complement inhibitors and development of natural anti-complement agents.

Keywords: complement system; anti-complement agents of microbial origin; genome mining; actinomycetes; metabolic engineering

补体系统是人体第一道防线,是先天免疫系统的重要组成部分之一。其具有介导炎症反应、吸引并激活吞噬细胞、补充或扩大抗体效应等多种重要功能,并且在维持组织稳态和完整性^[1]及抵御病毒感染^[2]等方面均发挥着重要作用。补体系统主要通过3种途径激活:经典途径、凝集素途径(mannose-binding lectin, MBL)和旁路途径^[3]。经典途径主要通过C1q与C1r和C1s复合物中的抗体和抗原识别来激活,其中蛋白酶C1r和C1s切割C4和C2产生由补体受体1(CR1)、C4结合蛋白(C4BP)、衰变加速因子(DAF)、膜辅因子蛋白(MCP)和因子I(FI)调节的C3转化酶(C4b2a);C3转化酶裂解C3产生过敏毒素C3a和C3b,其中大多数C3b与C4b2a和C3bBb相

结合形成C5转化酶(C4b2a3b和C3bBb3b);C5转化酶再将C5裂解成强效过敏毒素C5a和C5b,C5b结合C6、C7、C8和C9形成裂解膜攻击复合物(membrane attack complex, MAC)使细胞溶解,从而产生免疫学作用,而强效过敏毒素C3a和C5a则通过各自的受体(C3aR、C5aR1、C5L2和C5aR2)作用募集免疫细胞,因此,经典途径连接了天然免疫和获得性免疫系统^[4]。此外,MBL起始分子为凝集素相关的丝氨酸蛋白酶(the MBL-associated serine proteases, MASP),通过与甘露糖或糖蛋白结合而启动^[4];旁路途径则是越过C1、C4和C2,直接由外源分子结合C3b而启动^[4]。由此可见,后2种途径的激活并不依赖抗原-抗体复合物的形成。

当补体系统过度激活时可导致炎症风暴和退行性疾病^[5],甚至在近年全球暴发的新型冠状病毒肺炎中急性呼吸窘迫综合征成为致死的重要原因之一,而炎症因子风暴正是引发其患病的关键环节,因此补体治疗进一步得到了高度重视。随着补体系统的作用在各种临床疾病中不断被揭示,补体抑制剂在补体过度激活相关疾病中的应用也引起广泛关注。补体抑制剂是一类与补体功能有关的调节蛋白,能够抑制补体过度激活,减轻机体的免疫损伤。目前临床上常用的补体抑制剂多为糖皮质激素、环磷酰胺和甲胺蝶呤等化学合成药物,其成本较高、选择性差,长期使用会导致机体免疫能力降低,继而产生多种并发症和不良反应。天然产物来源的抗补体活性成分具有开发成本低、毒性小且可以直接被机体消化吸收等优势^[3],因此其在药物开发和临床应用中均具有巨大潜力。利用微生物生产天然产物具有不占用耕地、成本低、周期短、容易发酵放大、容易进行质量控制和容易进行结构改造等优势。因此,微生物来源的抗补体活性物质具有良好的开发潜力。

本文对抗补体活性物质的临床应用案例进行介绍,并对近 5 年来动植物及微生物来源抗补体活性成分的开发进行综述,尤其对微生物来源的抗补体活性物质研究进行深入分析和讨论。

1 抗补体活性物质临床应用研究进展

作为免疫系统的重要组成成分,补体系统与自身免疫性疾病的发病过程有着紧密联系^[6]。正常情况下,补体系统受到补体抑制剂的精确调控,不会引起机体组织损伤,但补体系统在病理条件下被过度激活则会造成人体自身正常组织的损伤。补体缺陷或功能异常是自身免疫性疾病的主要诱因之一^[6],会引发多种疾病,例如系统

性红斑狼疮、非典型性溶血尿毒综合征^[7]、年龄相关性黄斑变性^[8]和慢性荨麻疹^[9]等。除此之外,阵发性睡眠性血红蛋白尿症^[10]、自身免疫性溶血性贫血^[11]、类风湿关节炎^[12]、遗传性血管神经性水肿^[13]和 2019 冠状病毒病^[14]等疾病的发生也与补体系统失调相关。

1.1 系统性红斑狼疮的临床治疗

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种多系统损害的慢性自身免疫性疾病。现代医学认为其发病原因很可能是由于遗传因素与环境因素共同作用导致自身抗体大量沉积所致^[15],并推测 SLE 皮肤损伤的机制与补体系统中经典激活途径中的关键因子 C1q、C3 和 C4 缺乏有关。一方面,C1q 的缺失会影响 C1 复合体的形成,使得补体经典途径活化失败刺激机体产生更多抗体,从而增加自身抗体-抗原复合物沉积对皮肤的损伤^[16]。另一方面,C4 基因被鉴定为 SLE 的易感基因,C3 水平的下降和 C4 基因拷贝数的降低也是 SLE 发生的因素之一^[17]。系统性红斑狼疮的治疗常使用免疫抑制剂,如糖皮质激素、硫唑嘌呤和他克莫司等,但这些免疫抑制剂毒副作用较大,对身体有一定的损伤^[15]。靶向补体抑制疗法通过将补体抑制剂特异性地打靶至损伤部位和补体活化位点,其在提高特异性治疗疾病的同时减少了药物对身体的损伤,为系统性红斑狼疮的治疗提供了一个新方向^[18]。例如,抑制剂托法替尼可通过抑制促炎细胞因子 IL-6 触发的信号转导和转录激活因子通路 JAK/STAT3 来上调转化生长因子- β 1 型受体(TGF β RI)表达,进而抑制 SLE 的 T 细胞活化,达到缓解系统性红斑狼疮的目的^[19]。钙调素抑制剂能够阻断钙调神经磷酸酶参与的通路,使 T 细胞分泌的促炎介质 IL-2、IL-17、TNF、IFN- γ 和 CD40-L 减少,达到缓解患者病情的目的^[20]。高迁移率蛋白 HMGB1 抑制剂甘草甜素能够在

无 C1q, 或当 C1q 由于免疫复合物介导的补体消耗而降低时抑制 SLE 患者的 HMGB1 过度表达, 避免补体系统的过度激活, 使巨噬细胞中促炎细胞因子反应减弱, 最终使 SLE 患者的病情得到减缓甚至痊愈^[21]。此外, 体内外多项研究表明, 雷公藤素不仅通过抑制核因子- κ B (NF- κ B) 的通路及促炎细胞因子 TNF、IL-6 和 IL-1 β 活性, 并且可以通过促进促炎细胞因子 IL-10 的产生对 SLE 患者进行治疗^[22]。利用调节信号蛋白如白细胞介素 10、肿瘤坏死因子和基质金属蛋白酶 9 的功能同样可以对抗 SLE, 由于这些信号通路调控蛋白激酶和肿瘤坏死因子及其凋亡通路, 因而为 SLE 患者的多靶点治疗开拓了一个新的方向^[22]。

1.2 补体抑制剂治疗自身免疫性溶血性贫血

自身免疫性溶血性贫血 (autoimmune hemolytic anemia, AIHA) 又称为获得性免疫性溶血性贫血, 是由抗红细胞自身抗体在补体激活或不激活的情况下对红细胞的破坏增加引起的^[11]。AIHA 的发病机制涉及多种免疫途径, 如补体系统、自身抗体、吞噬细胞等, 其中补体系统在温抗体型 AIHA 的发病机制中起着重要作用。免疫球蛋白 IgG 与红细胞结合后能够固定补体蛋白复合物 C1, 从而激活补体的经典途径; 补体激活后, 在肝脏中被巨噬细胞识别, 与 C3b 受体结合并被吞噬破坏, 从而导致血管外溶血, 或可能发生由补体的攻膜复合物介导的血管内完全溶血^[23]。临床中常用糖皮质激素和利妥昔单抗对 AIHA 进行治疗。近期发现了一种针对补体经典途径 CP 特异性丝氨酸蛋白酶 C1s 的小鼠单克隆抗体 TNT003, 其可以有效阻止冷凝毒素介导的补体调理素沉积, 补体调理素可以促进红细胞的吞噬, 从而减少血管外溶血的发生^[24]。这一发现证明了可以利用补体抑制剂对 AIHA 进行治疗, 给 AIHA 的治疗提供了一条新的途径。此

外, 补体抑制剂如 complestatin Cp40 (一种阻止 C3 裂解的低分子肽) 和 TT30 (一种阻止 C3 转化酶激活的肽) 也是适合治疗 AIHA 急性期的潜在物质^[23]。

1.3 白藜芦醇治疗类风湿关节炎

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种慢性全身性自身免疫疾病, RA 发病机制的研究热点为补体系统活化通路及其调控作用。研究发现, 如果 C3 敲除小鼠 (C3^{-/-}小鼠) 血清抗胶原蛋白抗体水平减低, 其相应的关节炎反应会减弱^[25]。进一步研究发现, 补体 C3 活化产生的小片段 C3a 和大片段 iC3b 是其主要效应产物, 两者分别与补体 C3 特异性受体 C3aR 和 CR3 结合, 从而发挥生物学效应^[25]。除此之外, 研究显示在关节重症炎症中, 在滑膜组织的细胞因子 TNF- α 、IL-1 作用下的巨噬细胞和成纤维细胞同样会造成补体系统过度激活^[13]。目前临床上采用白藜芦醇 (resveratrol, RSV) 来治疗 RA 和预防其并发症间质性肺病 (类风湿性关节炎引起的间质性肺病, RA-ILD)^[26]。白藜芦醇是葡萄品种和虎杖中含有一种非黄酮类多酚化合物, 具有抗炎、抗氧化、抗衰老和抗癌的作用^[27-29]。同时, 白藜芦醇不仅能够降低细胞氧化应激水平, 还能抑制补体旁路过度激活引起的内皮细胞黏附分子过度表达, 因此也是重要的抗补体活性物质^[27,29]。此外, 白藜芦醇还可以通过干扰 JAK/STAT/RANKL 信号通路, 抑制促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 作用并促进抗炎细胞因子 IL-10 的产生, 进而达到治疗 RA 和预防 RA-ILD 的目的^[26]。

1.4 血浆蛋白酶抑制剂治疗遗传性血管神经性水肿

遗传性血管神经性水肿 (hereditary angio-oedema, HAE) 是常染色体显性遗传病, 临床表现主要为反复发生的皮肤肿胀和上呼吸道血管性水肿^[30]。2014 年国际联合工作组将 HAE

分为血浆蛋白酶抑制物 C1-INH 缺乏型和非 C1-INH 缺乏型, C1-INH 能够通过经典途径和旁路途径对补体系统进行调节。在经典途径中, C1-INH 抑制补体第一成分的 S 亚成分与甘露糖结合凝集素相关的丝氨酸蛋白酶的活性; 在旁路途径中, 其通过抑制 C3b 与 B 因子结合对补体系统进行调节^[31]。遗传性 C1 酯酶抑制剂缺乏相关血管性水肿的发病机制是由于合成 C1-INH 的基因突变导致 C1-INH 在体内的生物合成量减少, 使得补体系统和激肽系统过度激活后血管内缓激肽水平增高, 导致毛细血管渗透性增加而造成局部水肿^[14]。目前, 临床上常利用 C1-INH 浓缩剂对 HAE 进行治疗。静脉注射 C1-INH 浓缩剂后, 患者血液中 C1-INH 水平能够在一定时间内被快速提高, 由通过抑制补体分子 C3b 和 B 因子结合, 从而减缓补体系统的过度激活, 达到在短期内缓解症状的目的^[13]。此外, 也可以利用激肽酶抑制剂抑制血浆激肽释放酶与其活性位点结合, 从而减缓激肽的释放, 缓解患者的急性水肿^[13]。

1.5 新型冠状病毒肺炎与补体系统

由严重急性呼吸系统综合征相关冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2, SARS-CoV-2) 感染导致的传染性肺炎又称为 2019 冠状病毒病 (coronavirus disease 2019, COVID-19), 其具有极高的致病性和传染性^[32]。在临床研究发现 COVID-19 的重症病例与补体系统多种途径过度激活有关。目前, 临床发现大多数 COVID-19 患者的血清中先后出现的 IgM 型抗体和 IgG 型抗体与疾病严重程度增加有关, 并将这一指标用于临床诊断^[33]。由于这些抗体的 V 区和病毒相关抗原结合后会完成体液免疫效应阶段, 可结晶段 Fc 调理巨噬细胞吞噬病毒并激活补体系统, 特别是 IgM 型抗体具有很强的补体激活能力^[1]。补体激活后的产物主要有 2 类, 即局部或细胞表面沉积的 C3b 和 C5b 等片段, 以及血液中残留的过敏毒素 C3a

和 C5a 等片段。其中, C5a 可直接作用于内皮细胞, 增加血管通透性, 释放组织因子, 启动凝血过程也可能激发纤溶过程, 而且其生物学效应最强^[34]。因此, 使用抗 C5a 和抗 C5 单克隆抗体能够改善患者全身炎症和肺功能衰退的情况^[35]。

另外, 补体激活受到机体严格调控, 除了 C4b、C3b 和 C5b 结合到固相后补体系统才会被激活外, 补体 C1q 率先识别抗原-抗体复合物后也可以激活补体经典途径^[36]。目前临床发现新型冠状病毒肺炎患者体内抗体浓度升高, 补体系统激活强度持续增加, COVID-19 编码多种蛋白质抗原使 C1q 等补体成分大量消耗且浓度显著降低^[37], 补体调节因子也抑制补体激活, 导致患者随后出现继发性免疫缺陷^[2]。因此, 动态监测 COVID-19 患者体内补体 C1q 水平可预警重型和危重型转化并判断预后情况, 也可以评估患者免疫功能, 具有较好的临床应用价值^[37]。鉴于 COVID-19 患者机体中补体系统参与并发挥了重要作用, 抗补体活性物质在临床上的研究应用也展现出更大潜力。

综上所述, 补体作为机体天然免疫中的重要成分, 是导致剧烈炎症反应的主要效应因子, 也是治疗炎症风暴因子的一个重要方向。不仅如此, 补体系统的异常也与感染、自身免疫系统、肿瘤等多种疾病密切相关。例如补体系统在肿瘤免疫中具有双重调节作用, 传统意义上补体具有抗肿瘤免疫功能, 但当补体不平衡激活后, 其可在肿瘤免疫中发挥免疫抑制作用^[38-39]。许多皮肤病与补体的异常表达有关, 例如银屑病^[40]和荨麻疹^[40]等。因此, 补体系统及其相关因子已经成为了相关药物研发的新靶点。

2 天然产物来源的抗补体活性物质研究进展

2.1 植物来源的抗补体活性物质

近年来有文献报道, 来源于植物的抗补体活

性物质主要包括黄酮类、萜类、多糖类、生物碱类和酚类等化合物,其中前3种类型的化合物为大多数,占93.3%,如表1所示。化合物1-4属

于黄酮类化合物。黄酮类化合物是许多中草药如葛根、黄芩和陈皮等的有效成分,具有扩张冠状动脉、抑菌、调节血管通透性等多种生物活

表1 植物和动物来源抗补体活性化合物及其抗补体活性

Table 1 Anti-complement active compounds from plants and animals' sources

化合物 Compounds	来源 Sources	抗补体活性 Anti-complement activity (CH ₅₀)	作用靶点 Targets	文献 References
山柰酚 Kaempferol (1)	山腊梅 <i>Chimonanthus nitens</i>	0.041±0.036 mg/mL	—	[10]
槲皮素 Quercetin (2)	三脉紫菀 <i>Aster ageratoides</i>	0.110±0.020 mg/mL	C1q, C2, C5 and C9	[41]
柏木双黄酮葡萄糖苷 Cupressuflavone-4'-O-β-D-glucosides (3)	密枝圆柏 <i>Juniperus convallium</i>	0.035±0.084 mg/mL	C1q, C2, C3, C4, C5 and C9	[42]
芦丁 Rutin (4)	意大利牛舌草 <i>Anchusa italica</i>	0.420±0.012 mg/mL	—	[43]
Madolin W (5)	紫花地丁 <i>Viola yedoensis</i>	0.140±0.050 mg/mL	C1q, C3, C5 and C9	[44]
Solalyratin B (6)	西藏堇菜 <i>Viola kunawarensis</i>	0.050±0.020 mmol/L	—	[45]
茯苓酸 Pachymic acid (7)	茯苓 <i>Poria cocos</i>	0.100±0.020 mg/mL	—	[46]
连钱草多糖 <i>Glechomae herba</i> polysaccharide GLP-1 (8)	活血丹 <i>Glechoma longituba</i>	0.029±0.004 mg/mL	—	[47]
鱼腥草多糖 <i>Houttuynia cordata</i> polysaccharide HC-PS1 and HC-PS3 (9)	鱼腥草 <i>Houttuynia cordata</i>	0.295±0.032 mg/mL and 0.271±0.026 mg/mL	C2, C4 and C5	[48]
香柏多糖 <i>Juniperus pingii</i> var. <i>wilsonii</i> polysaccharide JPWP-PS (10)	香柏 <i>Juniperus pingii</i> var. <i>wilsonii</i>	0.073±0.009 mg/mL	—	[49]
旱莲草多糖 <i>Eclipta prostrata</i> polysaccharide EAP20-1 (11)	旱莲草 <i>Eclipta prostrata</i>	0.112±0.013 mg/mL	C1q, C1r, C1s, C2, C4, C5, C7 and C9	[50]
青天葵多糖 <i>Nervilia fordii</i> polysaccharide DT6-1 (12)	毛唇芋兰 <i>Nervilia fordii</i>	0.051±0.002 mg/mL	—	[51]
伞形香青酰胺 Umbrella vanilamide (13)	紫花地丁 <i>Viola yedoensis</i>	0.120±0.070 mg/mL	C1q, C2, C3, C5 and C9	[52]
眼镜蛇毒因子 Cobra venom factor CVF (14)	孟加拉眼镜蛇 <i>Naja kaouthia</i>	0.047 mmol/L (CH ₅₀)	C3	[53]
环磷酰胺 Cyclophosphamide CTX-CI (15)		0.091 μmol/L (IC ₅₀)	C3	[54]
金属蛋白酶 Metalloproteinase astrase A (16)		—	—	[55]
金属蛋白酶 Metalloproteinase astrase B (17)		About 50.000%	Complement component factor B, C6, C7 and C8	[56]

注: —: 尚无报道

Note: —: No reports.

性作用;其中,黄酮类化合物的抗补体活性研究也是近年来药物研发的热点之一^[41-43]。槲皮素(2)是从三脉紫菀中分离得到的,一方面,其在补体系统经典途径中 CH_{50} 可以达到 (0.110 ± 0.020) mg/mL,在三脉紫菀来源抗补体活性物质中活性较好;另一方面,补体系统中 C3 和 C5 作用于肥大细胞和嗜碱性粒细胞的细胞膜上,可以使细胞脱颗粒,释放组胺、白三烯及前列腺素等活性介质;C2 和 C4 能增强血管的通透性,引起炎性充血而引起一系列炎症反应^[41]。此外,槲皮素在活体实验中也表现出了很好的抗炎活性,其可以抑制小鼠巨噬细胞 RAW264.7 中炎症因子 NO、TNF- α 和 IL-6 的释放以及 iNOS 和 COX-2 的表达,具有良好的抗炎作用^[41]。柏木双黄酮葡萄糖苷(3)^[42]和芦丁(4)^[43]不仅在补体系统激活的经典途径中具有抗补体活性,同时也可以通过抑制旁路途径发挥作用,2 种化合物的 AP_{50} 分别为 (1.260 ± 0.080) mmol/L 和 (0.520 ± 0.035) mg/mL。经典途径和旁路途径的激活物、参与成分及在免疫反应中发挥的作用有所不同,前者的启动依赖特异性抗体的产生,在感染的后期发挥作用,并参与抵御相同病原体的再次感染;后者在抗体产生之前的感染早期或初期感染即可发挥作用^[57]。化合物 3 与其同一植物来源的单黄酮类化合物相比其酚羟基数量增加,具有更为显著的抗补体活性,同时还具有抗氧化作用;进一步研究发现,在黄酮中酚羟基是抗补体作用的关键基团,并且含有糖苷结构的黄酮类化合物具有较强的抗补体活性^[42]。由此可见,黄酮化合物的抗补体活性受多个因素的影响,一般情况下酚羟基越多活性越好。当黄酮 C-3 位成苷后,黄酮类的抗补体活性略有增强;当 C-7 位酚羟基被取代后,其活性略有下降;5,7-二取代黄酮的抗补体活性可能与 B 环上的羟基数目成反比^[41-43]。

化合物 5-7 属于萜类物质。萜类化合物是由

异戊二烯或异戊烷以不同方式连接而成的一类天然化合物,在自然界中分布广泛,也是植物的次生代谢产物之一,具有杀菌、消炎和抗肿瘤细胞等多种生物活性^[58]。从紫花地丁中分离得到的化合物 madolin W (5)是近 5 年来首次报道的具有抗补体活性的马多林倍半萜类化合物,其对经典途径和旁路途径均有一定的抑制作用,其 AP_{50} 为 (0.320 ± 0.040) mg/mL^[44]。四萜类化合物 solalyratin B (6)^[45]和三萜酸类化合物茯苓酸(7)^[46]也具有显著的抗补体活性,活性均高于阳性对照肝素钠。除此之外,化合物 7 具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节及保肝等生物活性,其 C-20 位的羧基是其发挥抗补体活性的重要官能团^[45-46]。

化合物 8-12 属于多糖类物质。多糖类化合物是构成生命的四大基本物质之一,在抗肿瘤、抗炎和抗病毒等方面均发挥着重要的生物活性作用。近年来,从植物中分离得到的具有抗补体活性的多糖大多数为杂多糖,例如连钱草多糖 GLP-1 (8)、鱼腥草多糖 HC-PS1 和 HC-PS3 (9)等。由于阿拉伯糖和半乳糖的含量对多糖抗补体活性起着至关重要的作用^[59],具有抗补体活性的连钱草多糖 GLP-1、鱼腥草多糖 HC-PS1 和 HC-PS3、旱莲草多糖 EAP20-1 结构也主要是由阿拉伯糖和半乳糖组成^[47-51]。此外,研究显示不同多糖发挥抗补体作用的靶点各不相同,表 1 展示了各种多糖补体经典途径溶血活性。研究表明,连钱草多糖 GLP-1 (8)抗补体活性好于肝素钠,其良好的抗补体活性不仅与其半乳糖和阿拉伯糖的含量有关,还与其乙酰基支链连接的空间构象有关^[47]。鱼腥草多糖 HC-PS1、HC-PS3 (9)^[48]和青天葵多糖 DT6-1 (12)^[51]可以通过旁路途径抑制补体系统,其 AP_{50} 分别为 (0.318 ± 0.023) 、 (0.314 ± 0.025) 和 (0.091 ± 0.006) mg/mL,其活性均弱于肝素钠。旱莲草多糖 EAP20-1 (11)^[50]通过旁路途径的抗补体活性和肝素钠几乎相等,其 AP_{50}

为 (0.198 ± 0.043) mg/mL。虽然近年来发现的多糖类抗补体活性物质活性大都弱于肝素钠,但由于其来源于天然药用植物,具有低毒副作用的优势。研究结果显示,相比肝素钠显著干扰凝血系统,化合物(9)和化合物(11)对凝血系统几乎无影响^[48,50]。化合物(12)对 RAW264.7 小鼠巨噬细胞无毒性,而且可以显著提高其增殖率;在浓度为 10–300 $\mu\text{g/mL}$ 时可以显著抑制其分泌具有细胞毒性的一氧化氮^[51]。以上结果均说明天然产物来源的抗补体活性物质具有低毒副作用的显著优势。

此外,生物碱类化合物伞形香青酰胺(13)和萜类化合物 (1R,4R,5S,6R,7S,8R,9S)-4,8,11-trihydroxy-9-O- β -D-glucopyranosyl-10(14)-oplop en-3-one (18)均为首次从其来源植物中分离获得,这不仅开拓了抗补体活性物质的资源,也说明天然植物来源的生物活性物质仍然具有很大的挖掘潜力和开发价值^[52]。

2.2 动物来源的抗补体活性物质

动物来源的抗补体活性物质研究主要集中在眼镜蛇中分离出来的旁路补体激活物眼镜蛇毒因子 CVF (14),其抗补体活性 CH_{50} 为 0.047 $\mu\text{mol/mL}$ ^[53],其在动物来源的抗补体活性物质中具有相对较好的抗补体活性。由于该激活物能持续激活 C3 和 C5,最终导致在补体旁路途径中耗竭补体的特性^[60],受到了研究者广泛的关注。临床上,CVF 常用于治疗补体活性过度激活相关疾病,例如维生素 D 诱导的大鼠动脉硬化^[61]、家犬呼吸窘迫综合征^[62]和急性肺损伤^[63]等。由于 CVF 与补体成分 C3 在结构和功能上高度同源,所以 CVF 的抗补体作用是通过激活旁路途径后消耗补体来实现的^[64]。临床方面设计的人补体 C3 和 CVF 的人源化杂交分子 HC3-1496,在激活 C3 的同时并不作用于 C5,从而避免了 C5 及后续成分激活的效应,为开发

新的抗补体药物提供了新的思路^[60,65]。动物来源的抗补体活性物质除了良好的生物活性,其在理化性质方面也具有很强的应用优势。例如,云南孟加拉眼镜蛇毒因子 CVF 具有较好的抗补体活性,其抗补体因子对温度、酸碱也均有较强的耐受性^[66],这使得所生产的抗补体药物具有对多种理化环境的适应能力。

从眼镜蛇中分离出的其他多种活性物质如细胞毒素类蛋白质环磷酰胺 CTX-CI (15) (IC_{50} 为 0.091 $\mu\text{mol/L}$ ^[54])、金属蛋白酶 *astrase A* (16)、*astrase B* (17)等均具有良好的抗补体作用。眼镜蛇毒金属蛋白酶 *astrase A* 不仅能减轻急性肺损伤(acute lung injury, ALI)炎症和相关病理损伤,而且 *astrase A* 部分抑制补体活性的效果明显优于 CVF,这种现象提示 *astrase A* 作用的补体成分可能在 ALI 中具有重要作用^[55]。此外,*astrase B* 作为一种具有抗补体和抗凝血活性的新型金属蛋白酶,可显著延缓不协调的心脏异种移植排斥^[56]。目前分离出的抗补体活性物质与分子探针等技术的结合进一步拓展了其在动物来源抗补体活性物质开发和临床应用的可能性。

2.3 微生物来源的抗补体活性物质

目前,微生物来源抗补体活性物质的研究不仅仅局限于物质的分离研究,其研究方向也趋向多样化。表 2 所示为近年来微生物来源抗补体活性化合物的研究概况及微生物来源抗补体活性物质合成的相关基因簇。

微生物来源抗补体活性物质的相关研究仍然很少,代表性化合物为日本 Culp 团队发现的 complestatin (18)^[67],其为天然产物中和万古霉素一类的化合物,最初报道于 *Streptomyces lavendulae* 菌株 SANK 60477 中^[68]。Complestatin 属于非核糖体多肽合成酶(NRPS)合成的肽天然产物的亚群,这类化合物是线性 NRPS 经过氧化酚醛簇进一步尾部修饰环化得到的,这造就了严

表 2 微生物源抗补体活性化合物

Table 2 Anti-complement active compounds from microbial source

抗补体化合物 Anti-complement compounds	来源 Sources	抗补体活性 Anti-complement activity	相关合成基因簇 Related biosynthetic gene clusters	文献 References
Complestatin (18)	<i>Streptomyces</i> sp. WAC01325	50.000%	Complestatin BGC	[67-68]
衣霉素 I	<i>Streptomyces</i> sp. DUT11	(0.088±0.012) mmol/L (CH ₅₀)	Tunicamycin BGC	[69]
Tunicamycin I (19)		(0.072±0.011) mmol/L (CH ₅₀)		
衣霉素 V		(0.053±0.011) mmol/L (CH ₅₀)		
Tunicamycin V (20)		(0.053±0.011) mmol/L (CH ₅₀)		
衣霉素 VII		(0.500±0.300) μmol/L (CH ₅₀)		
Tunicamycin VII (21)		(0.500±0.300) μmol/L (CH ₅₀)		
衣霉素 X		(24.500±0.900) μmol/L (CH ₂₅)		
Tunicamycin X (22)		(2.000±0.700) μmol/L (CH ₂₅)		
3-吲哚甲酸		(0.900±0.600) μmol/L (CH ₂₅)		
3-indolecarboxylic acid (23)		(2.000±0.300) mmol/L (CH ₅₀)		[70]
对羟基苯甲酸		(0.800±0.100) mmol/L (CH ₅₀)		
p-hydroxybenzoic acid (24)		(2.400±0.500) mmol/L (CH ₅₀)		
2-吡咯甲酸		(2.500±0.600) mmol/L (CH ₅₀)		
2-pyrrolidine formic acid (25)				
2-吡咯甲酸	<i>Streptomyces</i>			
2-pyrrolidine formic acid (26)	<i>xinghaiensis</i> NRRL			
对羟基苯甲酸	B-24674 ^T			
p-hydroxybenzoic acid (27)				
邻羟基苯甲腈				
2-hydroxybenzonitrile (28)				
邻氨基苯甲酸				
Anthranilic acid (29)		65.300% (strain crude extract)	Xinghaimycin BGC	[70-71]
星海霉素				
Xinghaimycin (30)				
次级代谢产物(M8 培养基)	<i>Streptomyces</i> sp.	95.300%	Novel	[71-72]
Secondary metabolites	S063-GCMC14582		anti-complement	
(M8 medium) (31)			agents BGCs	
Kistamicin (32)	<i>Nonomuraea</i> sp.	—	Kistamicin BGC	[73]
	ATCC 55076			

注: —: 尚无报道

Note: —: No reports.

格的交联桥,使其对特定的生物物质具有高亲和性。Complestatin 作为潜在的抗补体活性药物,其基因簇组成及其合成机理研究取得了一定进展,该基因簇的异源表达也已经成功^[74]。国内学者利用基因组挖掘发现了具有抗补体活性的微生物,主要为海洋放线菌,取得了一系列进展。上海交通大学研究团队分离鉴定了多种海洋放线菌,对关键的菌株进行了基因组测序和基因组

挖掘^[69]。同时发现分离自大连市星海湾的链霉菌新种星海链霉菌 *Streptomyces xinghaiensis* NRRL B-24674^T (简称 S187)基因组中存在一个和 complestatin 生物合成基因簇类似的糖肽类化合物基因簇 NRPS1,进一步的基因敲除实验证实基因簇 NRPS1 的产物与 S187 合成抗补体活性物质相关^[69]。此外,通过生物信息分析和基因序列比对发现,该基因簇与已知抗补体活性物质

complestatin 合成基因簇相似度为 60%左右^[70]。与 complestatin 的基因簇比较,在可能的产物 xinghaimycin 基因簇中多了 2 个功能基因,即 *sinAS* (负责亮氨酸转运的基因)和 *sinPS* [(2R)-phospho-3-sulfolactate 合成酶基因],使得最终产物在酪氨酸 N 位置可能少一个甲基并多一个磺化亮氨酸侧链^[70]。除此之外,4 个负责骨架合成的 NRPS 基因 *sinA-D* 与 complestatin 骨架的合成基因 *comA-D* 的氨基酸识别位点也不尽相同,这指示着菌株 S187 合成代谢的活性物质具有更加新颖的结构和功能^[70]。此外,海洋链霉菌 *Streptomyces* sp. DUT11 (简称 DUT11)和 *Streptomyces* sp. S063-GCMC14582 (简称 S063)所产生的次生代谢产物中都具有很强的抗补体活性物质,其中菌株 DUT11 发酵液中物质的抗补体活性最突出;同时对菌株 DUT11 的发酵培养条件进行优化后,在 M33 培养基中菌株发酵液上清和菌丝体抗补体活性分别提高了 56.5%和 60.8%^[71]。活性追踪实验发现,该菌株中所产生的次级代谢产物衣霉素(19–22)的抗补体活性^[71]。此外,菌株 S063 在发酵培养基 M8 中所产生的次生代谢产物(31)抗补体活性高达 95.3%^[72]。菌株次生代谢产物粗提混合物的抗补体活性远远高于分离出的单体化合物活性,通过菌株基因挖掘结果显示 S063 基因组中存在十分丰富的生物合成基因簇,因此推断这可能是由于多种单体化合物共同作用的叠加效应。以上这些数据均显示出微生物来源抗补体活性物质具有巨大的开发潜力和良好的开发前景。

鉴于微生物菌株丰富的基因组序列,基因组挖掘已成为探索各种微生物生物合成潜力以发现有用天然产物的有力方法。基因组序列分析和次级代谢产物生物合成基因簇的鉴定有助于从各种放线菌菌株中发现新的生物活性化合物,因此基因组挖掘技术已经成为国内外研究的热

点^[75]。例如, Nazari 等对印度 Kistna 河附近土壤中分离出的菌株 *Nonomuraea* sp. ATCC 55076 进行基因组挖掘,鉴定出了与 complestatin 有相似生物活性的糖肽类抗生素 kistamicin (32),并发现了该菌株具有截至目前最大的放线菌基因组^[73]。此外,利用微生物的基因组信息预测其合成特定天然产物的潜能,进而进行新化合物分离纯化和结构鉴定,并且已经在多种细菌和真菌的天然产物发现中得到成功应用^[76]。Panter 等^[77]利用五肽重复蛋白(pentapeptide repeat proteins, PRP)介导的对拓扑异构酶抑制剂的自身抗性机制来挖掘 *Pyxidicoccus fallax* 的基因组,发现了一种新的含氮四烯醌支架的小分子产物 pyxidicyclines,其 II 型聚酮化合物合酶基因簇在天然宿主中的成功激活以及该基因簇的成功异源宿主表达促进了 pyxidicyclines 的分离及结构鉴定;这一化合物与已批准抗癌药物喜树碱具有相同的靶点和活性量级,可能成为用于抗癌研究的先导化合物。此外,基于系统发育的共聚集自抗性基因和生物合成基因簇的方法对糖肽类抗生素进行基因组挖掘。Culp 等^[67]发现了与 complestatin 作用机制比较相似的一种糖肽类抗生素 corbomycin,其能通过与肽聚糖结合来抑制大部分或全细胞自溶素,这与同为糖肽类抗生素的万古霉素的作用机制完全不同,其在皮肤 MRSA 感染的小鼠模型结构中显示, corbomycin 和 complestatin 的耐药性发展水平较低,并能有效地减轻细菌负荷,使它们成为未来发展抗生素的新靶点药物。

相较于动植物源的抗补体活性物质,微生物来源的抗补体活性物质分子量相对较小,不仅可以利用其具有易于培养、易于基因工程改良及微生物来源的产品质量容易控制的特点,而且还可以利用合成生物学的手段,采用底盘细胞进行生物合成等新型策略,通过对宿主的重新设计来改

善原有产物的生物合成途径、重建代谢网络,进而合成新的代谢产物。然而,微生物菌株抗补体活性物质进一步研究和应用的局限性是野生菌株中活性物质产量较低且合成量不稳定^[78]。代谢工程的发展可针对性地提高目的产物的合成量,降低副产物的积累,并可在背景清晰的宿主中进行异源代谢物的合成^[79-81]。一方面,可以着眼于合成基因簇本身,通过启动子工程和异源表达等技术,对野生菌株中与抗补体活性物质生物合成相关的目标基因簇进行研究;另一方面,随着对抗补体活性物质需求量的不断增加,可以通过代谢组学和代谢流分析其生物合成的代谢网络模型,并对相关代谢旁路途径进行阻断以及敲除其竞争性副产物合成基因簇。通过基于基因组规模的全局调控可以对代谢物进行更加精准的调控,更大幅度地全面提升活性物质的产量,进而满足当前临床上对新型补体抑制剂日益迫切的需求^[82-84]。

综上所述,动植物和微生物的天然产物中存在抗补体活性成分,近年来文献报道的天然抗补体活性物质主要来源于植物,尤其是部分中药材显示出良好的抗补体活性,从中药中提取补体抑制剂也受到了广泛关注。动物源的抗补体活性物质研究主要集中在蛇毒提取物上。值得一提的是,虽然目前微生物来源的抗补体活性物质研究相对较少,但是随着现代基因组挖掘技术的逐渐成熟,以及代谢工程和合成生物学等在微生物领域中的应用,微生物合成新型天然抗补体活性产物的巨大潜力将不断被揭示。

3 前景与展望

目前越来越多的疾病被发现与补体系统异常有关,如今临床上广泛使用的补体抑制剂选择性差且长期使用易引发多种并发症,因此临床上急需专一且安全的抗补体活性物质。近年来研究

发现的抗补体活性物质主要分布于、植动物及微生物中,也被陆续应用于临床研究。然而对天然产物来源的抗补体活性物质的研究仍处于初级阶段,还有许多问题亟待解决。许多天然产物中分离得到的抗补体活性成分结构尚不明确,其作用靶点、合成机理、毒副作用等问题的研究尚浅,这在一定程度上限制了天然抗补体活性物质在临床上的应用。因此,开发新型补体抑制剂迫在眉睫,未来仍需深入研究天然产物中抗补体活性物质,加速推进天然来源的新型抗补体抑制剂的研发,实现天然抗补体活性物质的临床应用。

REFERENCES

- [1] Mastellos DC, Ricklin D, Lambris JD. Clinical promise of next-generation complement therapeutics[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2019, 18(9): 707-729
- [2] Lo MW, Kemper C, Woodruff TM. COVID-19: complement, coagulation, and collateral damage[J]. *Journal of Immunology*, 2020, 205(6): 1488-1495
- [3] Ziabska K, Ziemka-Nalecz M, Pawelec P, Sypecka J, Zalewska T. Aberrant complement system activation in neurological disorders[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(9): 4675
- [4] Carpanini SM, Torvell M, Morgan BP. Therapeutic inhibition of the complement system in diseases of the central nervous system[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 362
- [5] Harris CL, Pouw RB, Kavanagh D, Sun R, Ricklin D. Developments in anti-complement therapy; from disease to clinical trial[J]. *Molecular Immunology*, 2018, 102: 89-119
- [6] Defendi F, Thielens NM, Clavarino G, Cesbron JY, Dumestre-Pérard C. The immunopathology of complement proteins and innate immunity in autoimmune disease[J]. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 2020, 58(2): 229-251
- [7] Dixon BP, Gruppo RA. A typical hemolytic uremic syndrome[J]. *Pediatric Clinics of North America*, 2018, 65(3): 509-525
- [8] Mitchell P, Liew G, Gopinath B, Wong TY. Age-related macular degeneration[J]. *The Lancet*, 2018, 392(10153): 1147-1159
- [9] Yanase Y, Takahagi S, Ozawa K, Hide M. The role of

- coagulation and complement factors for mast cell activation in the pathogenesis of chronic spontaneous urticaria[J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1759
- [10] Risitano AM, Marotta S, Ricci P, Marano L, Frieri C, Cacace F, Sica M, Kulasekararaj A, Calado RT, Scheinberg P, et al. Anti-complement treatment for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: time for proximal complement inhibition? A position paper from the SAAWP of the EBMT[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 1157
- [11] Brodzski N, Frazer-Abel A, Grumach AS, Kirschfink M, Litzman J, Perez E, Seppänen MRJ, Sullivan KE, Jolles S. European society for immunodeficiencies (ESID) and European reference network on rare primary immunodeficiency, autoinflammatory and autoimmune diseases (ERN RITA) complement guideline: deficiencies, diagnosis, and management[J]. *Journal of Clinical Immunology*, 2020, 40(4): 576-591
- [12] De Seny D, Bianchi E, Baiwir D, Cobraiville G, Collin C, Deliège M, Kaiser MJ, Mazzucchelli G, Hauzeur JP, Delvenne P, et al. Proteins involved in the endoplasmic reticulum stress are modulated in synovitis of osteoarthritis, chronic pyrophosphate arthropathy and rheumatoid arthritis, and correlate with the histological inflammatory score[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 14159
- [13] Busse PJ, Christiansen SC. Hereditary angioedema[J]. *New England Journal of Medicine*, 2020, 382(12): 1136-1148
- [14] Hawley HB, Chang JC. Complement-induced endotheliopathy-associated vascular microthrombosis in coronavirus disease 2019[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2021, 223(12): 2198-2199
- [15] Dörner T, Furie R. Novel paradigms in systemic lupus erythematosus[J]. *The Lancet*, 2019, 393(10188): 2344-2358
- [16] Afzali P, Isaiean A, Sadeghi P, Moazzami B, Parvaneh N, Robatjazi M, Ziaee V. Complement deficiency in pediatric-onset systemic lupus erythematosus[J]. *Journal of Laboratory Physicians*, 2018, 10(2): 232-236
- [17] Wu ZY, Zhang SL, Li P, Zhang FC, Li YZ. Association between complement 4 copy number variation and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis[J]. *Clinical and Experimental Medicine*, 2020, 20(4): 627-634
- [18] Michelfelder S, Fischer F, Wäldin A, Hörle KV, Pohl M, Parsons J, Reski R, Decker EL, Zipfel PF, Skerka C, et al. The MFHR1 fusion protein is a novel synthetic multitarget complement inhibitor with therapeutic potential[J]. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 2018, 29(4): 1141-1153
- [19] Yan Q, Chen WW, Song H, Long XM, Zhang ZY, Tang XJ, Chen HW, Lin H, Sun LY. Tofacitinib ameliorates lupus through suppression of T cell activation mediated by TGF-beta type I receptor[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 675542
- [20] Mok CC. Calcineurin inhibitors in systemic lupus erythematosus[J]. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2017, 31(3): 429-438
- [21] Liu TY, Son M, Diamond B. HMGB1 in systemic lupus erythematosus[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 1057
- [22] Song XQ, Zhang Y, Yang NN, Dai EQ, Wang L, Du HT. Molecular mechanism of celastrol in the treatment of systemic lupus erythematosus based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. *Life Sciences*, 2020, 240: 117063
- [23] Barcellini W, Zaninoni A, Giannotta JA, Fattizzo B. New insights in autoimmune hemolytic anemia: from pathogenesis to therapy stage 1[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2020, 9(12): 3859
- [24] Shi J, Rose EL, Singh A, Hussain S, Stagliano NE, Parry GC, Panicker S. TNT003, an inhibitor of the serine protease C1s, prevents complement activation induced by cold agglutinins[J]. *Blood*, 2014, 123(26): 4015-4022
- [25] Sena L, Oliveira-Toré CF, Skare T, De Messias-Reason IJ, Andrade FA. C3 gene functional polymorphisms and C3 serum levels in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Immunological Investigations*, 2021, 50(8): 1027-1041
- [26] Yang GX, Lyu L, Wang XH, Bao L, Lyu BL, Lin ZK. Systemic treatment with resveratrol alleviates adjuvant arthritis-interstitial lung disease in rats via modulation of JAK/STAT/RANKL signaling pathway[J]. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 2019, 56: 69-74
- [27] Malaguarnera L. Influence of resveratrol on the immune response[J]. *Nutrients*, 2019, 11(5): 946
- [28] Chaplin A, Carpené C, Mercader J. Resveratrol, metabolic syndrome, and gut microbiota[J]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1651
- [29] Wright HL, Lyon M, Chapman EA, Moots RJ, Edwards SW. Rheumatoid arthritis synovial fluid neutrophils drive inflammation through production of chemokines, reactive oxygen species, and neutrophil extracellular traps[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 11: 584116
- [30] Bygum A. Hereditary angio-oedema for dermatologists[J]. *Dermatology*, 2019, 235(4): 263-275

- [31] Gobert D, Bouillet L, Armengol G, Coppo P, Defendi F, Du-Thanh A, Hardy G, Javaud N, Jeandel PY, Launay D, et al. Acquired angioedema due to C1-inhibitor deficiency: CREAK recommendations for diagnosis and treatment[J]. La Revue De Medecine Interne, 2020, 41(12): 838-842
- [32] Perico L, Benigni A, Casiraghi F, Ng LFP, Renia L, Remuzzi G. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19[J]. Nature Reviews Nephrology, 2021, 17(1): 46-64
- [33] Glück V, Grobecker S, Tydykov L, Salzberger B, Glück T, Weidlich T, Bertok M, Gottwald C, Wenzel JJ, Gessner A, et al. SARS-CoV-2-directed antibodies persist for more than six months in a cohort with mild to moderate COVID-19[J]. Infection, 2021, 49(4): 739-746
- [34] 唐生尧, 刘国生, 杜桂艳, 郑建琼, 余莹莹, 周曙初. 补体 C1q 测定在新冠肺炎中的临床应用价值[J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2020, 37(4): 33-36
Tang SY, Liu GS, Du GY, Zheng JQ, Yu YY, Zhou SC. Clinical application value of complement C1q determination in COVID-19[J]. Journal of Hubei Minzu University: Medical Edition, 2020, 37(4): 33-36 (in Chinese)
- [35] Gao T, Hu MD, Zhang XP, Li HZ, Cao C. Highly pathogenic coronavirus N protein aggravates lung injury by MASP-2-mediated complement over-activation[J]. medRxiv, 2020.03.29. 20041962
- [36] Conway EM, Prydzial ELG. Is the COVID-19 thrombotic catastrophe complement-connected?[J]. Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH, 2020, 18(11): 2812-2822
- [37] Henry BM, Szergyuk I, De Oliveira MHS, Lippi G, Benoit JL, Vikse J, Benoit SW. Complement levels at admission as a reflection of coronavirus disease 2019 (COVID-19) severity state[J]. Journal of Medical Virology, 2021, 93(9): 5515-5522
- [38] Afshar-Kharghan V. The role of the complement system in cancer[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2017, 127(3): 780-789
- [39] Agostinis C, Balducci A, Mangogna A, Zito G, Romano F, Ricci G, Kishore U, Bulla R. Immunological basis of the endometriosis: the complement system as a potential therapeutic target[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 11: 599117
- [40] Giang J, Seelen MAJ, Van Doorn MBA, Rissmann R, Prens EP, Damman J. Complement activation in inflammatory skin diseases[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 639
- [41] 丁昉, 黄莉婷, 高红伟, 许琼明, 奉建芳, 杨世林, 陈道峰. 三脉紫菀化学成分的分离及其抗补体和抗炎活性的研究[J]. 中草药, 2019, 50(9): 2028-2035
Ding F, Huang LT, Gao HW, Xu QM, Feng JF, Yang SL, Chen DF. Isolation of chemical ingredients from *Aster ageratoides* and their anticomplement and anti-inflammatory activities[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(9): 2028-2035 (in Chinese)
- [42] 张姣, 德吉, 付爱玲, 陈道峰, 卢燕. 密枝圆柏的化学成分及其抗补体、抗氧化活性[J]. 中草药, 2019, 50(13): 3008-3016
Zhang J, Deji, Fu AL, Chen DF, Lu Y. Anticomplementary and anti-oxidant activities of constituents from *Juniperus convallium*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(13): 3008-3016 (in Chinese)
- [43] 何媛媛. 维药意大利牛舌草抗补体活性成分的分离与定性定量研究[D]. 北京: 北京中医药大学硕士学位论文, 2017
He YY. Isolation, qualitative and quantitative study on anti-complement active components of *Anchusa italica* Retz. Beijing: Master's Thesis of Beijing University of Chinese Medicine, 2017 (in Chinese)
- [44] 杜冬生, 程志红, 陈道峰. 紫花地丁中的抗补体生物碱类成分研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(24): 4794-4800
Du DS, Cheng ZH, Chen DF. Anti-complement alkaloids from whole plants of *Viola yedoensis*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2017, 42(24): 4794-4800
- [45] Wang H, Cong WL, Fu ZL, Chen DF, Wang Q. Anti-complementary constituents of *Viola kunawarensis*[J]. Natural Product Research, 2017, 31(19): 2312-2315
- [46] Zhao JD, Li Y, Xin L, Sun M, Yu CJ, Shi GB, Bao TT, Liu J, Ni YQ, Lu RM, et al. Clinical features and rules of Chinese herbal medicine in diabetic peripheral neuropathy patients[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 2020: 5795264
- [47] Luo Y, Wen Q, Yang SL, Feng YL, Tan T. Chemical composition and anti-complement activity of *Glechomae herba* collected in different months[J]. Biomedical Chromatography: BMC, 2020, 34(3): e4762
- [48] Lu Y, Zhang JJ, Huo JY, Chen DF. Structural characterization and anti-complementary activities of two polysaccharides from *Houttuynia cordata*[J]. Planta Medica, 2019, 85(13): 1098-1106
- [49] Fu ZL, Xia L, De J, Zhu MX, Li H, Lu Y, Chen DF. Beneficial effects on H1N1-induced acute lung injury and structure characterization of anti-complementary

- acidic polysaccharides from *Juniperus pingii* var. *wilsonii*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129: 246-253
- [50] Wang HW, Li N, Zhu C, Shi SS, Jin H, Wang SC. Anti-complementary activity of two homogeneous polysaccharides from *Eclipta prostrata*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2017, 493(2): 887-893
- [51] Xie JZ, Zou LH, Luo X, Qiu L, Wei Q, Luo D, Wu YQ, Jiao Y. Structural characterization and immunomodulating activities of a novel polysaccharide from *Nervilia fordii*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 114: 520-528
- [52] Zeng HR, Zhao B, Rui X, Jia GH, Wu Y, Zhang D, Yu HN, Zhang BR, Yuan Y. A TCM formula VYAC ameliorates DNCB-induced atopic dermatitis via blocking mast cell degranulation and suppressing NF- κ B pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 280: 114454
- [53] Ing M, Hew BE, Fritzinger DC, Delignat S, Lacroix-Desmazes S, Vogel CW, Rayes J. Absence of a neutralizing antibody response to humanized cobra venom factor in mice[J]. Molecular Immunology, 2018, 97: 1-7
- [54] 石磊, 崔昊, 杨付梅, 路青瑜, 李娇, 孙黔云. 眼镜蛇毒中一个新的抗补体蛋白质的分离纯化和性质研究[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2019, 35(9): 1013-1020
- Shi L, Cui H, Yang FM, Lu QY, Li J, Sun QY. Purification and characterization of a new anti-complementary protein in *Naja atra* venom[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2019, 35(9): 1013-1020 (in Chinese)
- [55] 孙黔云, 李敏, 杨付梅. 眼镜蛇毒中一个弱纤维蛋白原水解活性金属蛋白酶的纯化和性质研究(英文)[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2007, 23(10): 835-843
- Sun QY, Li M, Yang FM. Purification and characterization of a metalloproteinase with weak fibrinogenolytic activity from *Naja atra* venom[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2007, 23(10): 835-843 (in Chinese)
- [56] Fu C, Shi L, Huang X, Feng H, Tan XS, Chen S, Zhu L, Sun QY, Chen G. Atrase B, a novel metalloprotease with anti-complement and anti-coagulant activity, significantly delays discordant cardiac xenograft rejection[J]. Xenotransplantation, 2020, 27(5): e12616
- [57] 许洪, 张宏波, 陈建林. 补体 C3 及 C5 在纤维化中的作用研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(20): 2539-2543
- Xu H, Zhang HB, Chen JL. Progress in role of complement C3 and C5 in fibrosis[J]. Chinese Journal of Immunology, 2019, 35(20): 2539-2543 (in Chinese)
- [58] 徐小娜, 陈亮宇, 赵心清. 天然抗补体活性物质研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(2): 355-359, 327
- Xu XN, Chen LY, Zhao XQ. Review on the research and development of anti-complementary agents from natural products[J]. Natural Product Research and Development, 2015, 27(2): 355-359, 327 (in Chinese)
- [59] Han K, Jin C, Chen HJ, Wang PP, Yu M, Ding K. Structural characterization and anti-A549 lung cancer cells bioactivity of a polysaccharide from *Houttuynia cordata*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 288-296
- [60] Guo J, Li M, Yang Y, Zhang L, Zhang LW, Sun QY. Pretreatment with atorvastatin ameliorates cobra venom factor-induced acute lung inflammation in mice[J]. BMC Pulmonary Medicine, 2020, 20(1): 263
- [61] Pang AS, Minta JO. Inhibition of vitamin D2-induced arteriosclerosis in rats by depletion of complement with cobra venom factor[J]. Artery, 1980, 7(2): 109-122
- [62] Fan E, Brodie D, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: advances in diagnosis and treatment[J]. JAMA, 2018, 319(7): 698-710
- [63] Cleary SJ, Kwaan N, Tian JJ, Calabrese DR, Mallavia B, Magnen M, Greenland JR, Urisman A, Singer JP, Hays SR, et al. Complement activation on endothelium initiates antibody-mediated acute lung injury[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2020, 130(11): 5909-5923
- [64] Wang B, Xu H, Li J, Gao HM, Xing YH, Lin Z, Li HJ, Wang YQ, Cao SH. Complement depletion with cobra venom factor alleviates acute hepatic injury induced by ischemia-reperfusion[J]. Molecular Medicine Reports, 2018, 18(5): 4523-4529
- [65] Hew BE, Pangburn MK, Vogel CW, Fritzinger DC. Identification of intermolecular bonds between human factor B and cobra venom factor important for C3 convertase stability[J]. Toxicon, 2020, 184: 68-77
- [66] 孙黔云, 吕秋敏, 王婉瑜, 熊郁良. 一个高活性的孟加拉眼镜蛇毒抗补体因子(英文)[J]. 生物化学与生物物理学报, 2001, 33(5): 483-488
- Sun QY, Lu QM, Wang WY, Xiong YL. A highly active anticomplement factor from the venom of *Naja kaouthia*[J]. Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2001, 33(5): 483-488
- [67] Culp EJ, Waglechner N, Wang WL, Fiebig-Comyn AA,

- Hsu YP, Koteva K, Sychantha D, Coombes BK, Van Nieuwenhze MS, Brun YV, et al. Evolution-guided discovery of antibiotics that inhibit peptidoglycan remodelling[J]. *Nature*, 2020, 578(7796): 582-587
- [68] Kaneko I, Kamoshida K, Takahashi S. Complestatin, a potent anti-complement substance produced by *Streptomyces lavendulae*. I. fermentation, isolation and biological characterization[J]. *The Journal of Antibiotics*, 1989, 42(2): 236-241
- [69] 徐小娜, 崔浩天, 陈亮宇, 苏春, 白凤武, 赵心清. 具有抗补体活性海洋放线菌的筛选及其活性物质的分离[J]. *应用与环境生物学报*, 2018, 24(6): 1295-1300
- Xu XN, Cui HT, Chen LY, Su C, Bai FW, Zhao XQ. Screening of the marine actinomycetes with anti-complement activity and isolation of the active fractions[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2018, 24(6): 1295-1300 (in Chinese)
- [70] Chen LY, Wang XQ, Wang YM, Geng X, Xu XN, Su C, Yang YL, Tang YJ, Bai FW, Zhao XQ. Genome mining of *Streptomyces xinghaiensis* NRRL B-24674^T for the discovery of the gene cluster involved in anticomplement activities and detection of novel xiamycin analogs[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(22): 9549-9562
- [71] 徐小娜. 海洋链霉菌抗补体活性菌株筛选及活性产物研究[D]. 大连: 大连理工大学博士学位论文, 2019
- Xu XN. Screening of marine *Streptomyces* producing anti-complement agents and studies on the bioactive metabolites[D]. Dalian: Doctoral Dissertation of Dalian University of Technology, 2019 (in Chinese)
- [72] 陈亮宇. 光对海洋放线菌代谢物合成的影响及关键菌株基因组挖掘[D]. 大连: 大连理工大学博士学位论文, 2019
- Chen LY. Effects of light on biosynthesis of metabolites in marine actinobacteria and genome mining of key strains[D]. Dalian: Doctoral Dissertation of Dalian University of Technology, 2019 (in Chinese)
- [73] Nazari B, Forneris CC, Gibson MI, Moon K, Schramma KR, Seyedsayamdost MR. *Nonomuraea* sp. ATCC 55076 harbours the largest actinomycete chromosome to date and the kistamicin biosynthetic gene cluster[J]. *MedChemComm*, 2017, 8(4): 780-788
- [74] Park OK, Choi HY, Kim GW, Kim WG. Generation of new complestatin analogues by heterologous expression of the complestatin biosynthetic gene cluster from *Streptomyces chartreusis* AN₁₅₄₂[J]. *Chembiochem: a European Journal of Chemical Biology*, 2016, 17(18): 1725-1731
- [75] Machado H, Tuttle RN, Jensen PR. Omics-based natural product discovery and the lexicon of genome mining[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 39: 136-142
- [76] 陈亮宇, 王玉梅, 赵心清. 基因组挖掘技术在海洋放线菌天然产物研究开发中的应用及展望[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(10): 1896-1908
- Chen LY, Wang YM, Zhao XQ. Nature product discovery of marine actinobacteria by genome mining: strategies and prospects[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(10): 1896-1908 (in Chinese)
- [77] Panter F, Krug D, Baumann S, Müller R. Self-resistance guided genome mining uncovers new topoisomerase inhibitors from myxobacteria[J]. *Chemical Science*, 2018, 9(21): 4898-4908
- [78] Xiao F, Li HY, Xu MY, Li T, Wang J, Sun CM, Hong K, Li WL. Staurosporine derivatives generated by pathway engineering in a heterologous host and their cytotoxic selectivity[J]. *Journal of Natural Products*, 2018, 81(8): 1745-1751
- [79] Chen H, Cui JQ, Wang P, Wang X, Wen JP. Enhancement of bleomycin production in *Streptomyces verticillus* through global metabolic regulation of N-acetylglucosamine and assisted metabolic profiling analysis[J]. *Microbial Cell Factories*, 2020, 19(1): 32
- [80] Kumelj T, Sulheim S, Wentzel A, Almaas E. Predicting strain engineering strategies using iKS1317: a genome-scale metabolic model of *Streptomyces coelicolor*[J]. *Biotechnology Journal*, 2019, 14(4): e1800180
- [81] Dang LQ, Liu J, Wang C, Liu HH, Wen JP. Enhancement of rapamycin production by metabolic engineering in *Streptomyces hygroscopicus* based on genome-scale metabolic model[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2017, 44(2): 259-270
- [82] Huang D, Li SS, Xia ML, Wen JP, Jia XQ. Genome-scale metabolic network guided engineering of *Streptomyces tsukubaensis* for FK506 production improvement[J]. *Microbial Cell Factories*, 2013, 12: 52
- [83] Palazzotto E, Tong YJ, Lee SY, Weber T. Synthetic biology and metabolic engineering of actinomycetes for natural product discovery[J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(6): 107366
- [84] Razmilic V, Castro JF, Andrews B, Asenjo JA. Analysis of metabolic networks of *Streptomyces leeuwenhoekii* C34 by means of a genome scale model: prediction of modifications that enhance the production of specialized metabolites[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2018, 115(7): 1815-1828