

基因的高表达^[20],提示在人细胞可能也存在类似小鼠 POLK 表达的调控机制,而对 BPDE 的致突变效应具有保护作用。

三、展 望

BaP 的致癌过程是一个多基因参与、涉及多种信号通路和多种调节机制的复杂过程,而当前的研究可能只是揭示了其中的冰山一角,本文也只是涉及了其中的部分内容。不断揭示新的 BaP 致癌相关基因的同时,进一步深入研究已知相关基因的致癌机制及基因间的相互调控作用和关联,进一步地揭示 BaP 致癌关键基因,并以此为基础寻找肿瘤治疗的关键靶点,这些将仍是今后研究中的重点和热点问题。研究和了解 BaP 致癌机制将对相关肿瘤的防治具有重要意义。

参考文献

- Xue WL, Warshawsky D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review. *Toxicol Applied Pharmacol*, 2005, 206(1): 73 - 93
- Diaz R, Nguewa PA, Parrondo R, *et al.* Aesneatrciht uartm or and anti-angiogenic effect of the dual EGFR and HER - 2 tyrosine kinase inhibitor lapatinib in a lung cancer model. *BMC Cancer*, 2010, 10: 188
- Agarwal S, Zerillo C, Kolmakova J, *et al.* Association of constitutively activated hepatocyte growth factor receptor (Met) with resistance to a dual EGFR/Her2 inhibitor in non - small - cell lung cancer cells. *British Journal of Cancer*, 2009, 100: 941 - 949
- DiGiovanna MP, Stern DF, Edgerton SM, *et al.* Relationship of epidermal growth factor receptor expression to ErbB - 2 signaling activity and prognosis in breast cancer patients. *J Clin Oncol*, 2005, 23: 1152 - 1160
- Hirsch FR, Scagliotti GV, Langer CJ, *et al.* Epidermal growth factor family of receptors in preneoplasia and lung cancer: perspectives for targeted therapies. *Lung Cancer*, 2003, 41 (Suppl 1): S29 - S42
- Marmor M D, Skaria K B, Yarden Y. Singal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 58 (3): 903 - 913
- 傅娟, 蒋义国, 陈学敏, 等. 反式二羟环氧苯并[a]芘对人支气管上皮细胞中 HER2/neu 基因表达的影响. *卫生研究*, 2007, 36: 657 - 659
- Tomlinson VAL, Newbery HJ, Wray NR, *et al.* Translation elongation factor eEF1A2 is a potential oncoprotein that is overexpressed in two - thirds of breast tumours. *BMC Cancer*, 2005, 5: 112 - 118
- Thornton S, Anand N, Purcell D, *et al.* Not just for housekeeping: protein initiation and elongation factors in cell growth and tumorigenesis. *J Mol Med*, 2003, 81: 536 - 548
- 安社娟, 陈家壑, 常薇. 二羟环氧苯并芘诱导转化与翻译延长因子的关系. *中国职业医学*, 2006, 33(1): 4 - 6
- Joseph P, O' Kernick CM, Othumpangat S, *et al.* Expression profile of eukaryotic translation factors in human cancer tissues and cell lines. *Mol Carcinog*, 2004, 40(3): 171 - 179
- Joseph P, Lei YX, Whong WZ, *et al.* Oncogenic potential of mouse translation elongation factor - 1 delta, a novel cadmium - responsive proto - oncogene. *J Biol Chem*, 2002, 277(8): 6131 - 6136
- Oliveira LR, Ribeiro - Silva A, Se'rgio Zucoloto. Prognostic significance of p53 and p63 immunolocalisation in primary and matched lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. *Acta histochemica*, 2007, 109: 388 - 396
- Ribeiro - Silva A, Ramalho LNZ, Garcia SB, *et al.* p63 correlates with both BRCA1 and cytokeratin 5 in invasive breast carcinomas: further evidence for the pathogenesis of the basal phenotype of breast cancer. *Histopathology*, 2005, 47: 458 - 466
- Lo Muzio L, Santarelli A, Caltabiano R, *et al.* p63 overexpression associates with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinoma. *Hum Pathol*, 2005, 36: 187 - 194
- 姜英, 饶凯敏, 陈曦, 等. p63 和 p73 的表达与苯并[a]芘致 H1299 和 16HBE 细胞 DNA 损伤的关系. *癌变. 畸变. 突变*, 2009, 21(4): 271 - 275, 279
- Zhou J, Parada LF. A motor driving PTEN. *Nature cell biology*, 2009, 11(10): 1177 - 1179
- Dacic S, Finkelstein SD, Baksh FK, *et al.* Small - cell neuroendocrine carcinoma displays unique profiles of tumor - suppressor gene loss in relationship to the primary site of formation. *Hum Pathol*, 2002, 33(9): 927 - 932
- 廖晓波, 胡冬煦, 周新民, 等. 利用组织微阵列结合免疫组法研究 PTEN, P16, P21, P53 在肺癌组织中的表达及其临床意义. *癌症*, 2004, 23(3): 334 - 338
- 庾蕾, 纪卫东, 庄志雄, 等. 反式二羟环氧苯并[a]芘所致人支气管上皮细胞 POLK 基因高表达. *中国职业医学*, 2007, 34(4): 268 - 270

(收稿: 2011 - 04 - 07)

共刺激通路与同种异体器官移植免疫耐受

李 鹏 胡明道

近年来人们发现,在实验动物模型中应用单克隆

抗体或融合蛋白联合阻断或激活共刺激分子通路,诱导免疫耐受的效果常常比单独应用的效果好,可使同种异体移植受体的存活时间大大延长。该通路包括 B7/CD28、B7/CTLA - 4、ICOS/B7、OX - 40/OX - 40L、4 - 1BB/4 - 1BBL、CD40/CD40L、PD - 1/PDL - 1、PD - 1/PDL - 2、BTLA/B7x 通路等等。下面回顾

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30960378)

作者单位:441000 湖北省襄阳市第一人民医院普外科(李鹏);
昆明医学院第二附属医院肝胆胰一科(胡明道)

通讯作者:胡明道,教授,主任医师,硕士生导师,电子信箱:humd-
ao@163.com

和论述这些共刺激通路与诱导器官移植免疫耐受机制的应用研究进展。

一、共刺激通路与同种异体器官移植免疫耐受

1. B7/CD28、B7/CTLA-4 共刺激通路:多年来,人们应用动物模型证实 B7/CD28 通路在体内起了很重要的作用。有报道应用 CTLA-4Ig 阻断 B7/CD28 导致小鼠胰腺移植长期免疫耐受,胰腺细胞功能正常,组织学上无明显的移植排斥反应。有报道 CTLA-4Ig 在主要组织相容性复合体(MHC)完全错配的小鼠心脏移植模型中明显延长移植物的存活时间。归纳其机制为:CD28 分子表达于天然 T 细胞(包括记忆 T 细胞)的表面,B7 分子表达于树突状细胞等抗原递呈细胞(APC)的表面,B7/CD28 通路激活可提供第二激活信号从而激活 T 细胞并增殖,触发了级联反应从而诱发免疫应答,CTLA-4 是 T 细胞膜蛋白分子,其结合力是 CD28 的 20 倍,但是在外源抗原激发的免疫应答中 CTLA-4 分子的表达下调。人们常使用外源性 CTLA-4Ig 融合蛋白可以有效地阻断 B7/CD28 通路,从而有效诱导免疫耐受^[1]。

2. B7/诱导性协同刺激因子(ICOS)通路:ICOS 是 CD28 分子的类似物,ICOS 与 CD28 有 20% 的同源性,T 细胞激活后出现上调,持续表达在记忆 T 细胞的表面。ICOS 的配体 B7h 与其他 B7 分子相似,ICOS 与 B7h 结合后可以促进 T 细胞激活增殖。T 细胞有效激活必须依赖 CD28 分子激活,但是 T 细胞的免疫记忆功能和记忆 T 细胞的活化并不一定需要 CD28 分子的介导,可能还有其他结构上类似于 CD28 分子的介导,这个就是 ICOS。ICOS 在诱导辅助性 T 细胞 2(Th2)细胞介导的免疫调节反应中有特殊作用。在 ICOS 基因缺陷的小鼠中 Th2 型细胞介导的免疫反应降低,再次接受抗原刺激时,只能产生少量 IL-4。抗-ICOS 单抗与环孢素联合应用具有协同作用,使同种异体移植植物长期存活^[2]。Ozkaynak 等发现,ICOS 在以 Th1 型细胞应答为主的移植排斥反应中具有重要作用,阻断 ICOS 通路能明显提高大鼠同种异体胰岛移植物的存活时间,并且大大延长了该大鼠后续的心脏移植物的存活时间,又成功诱导了该大鼠的心脏移植免疫耐受,并对慢性排斥反应引起的损伤也具有一定的抑制作用^[3]。

3. OX-40/OX-40L 通路:OX-40/OX-40L 是近年来发现的肿瘤坏死因子及其受体(TNF/TNFR)超家族成员。启动免疫应答反应时抗原递呈细胞(APC)表达 OX-40L 和 T 细胞膜上的 OX-40 结合

使 OX-40 在激活的 CD4⁺T 细胞膜上表达增多,介导激活 T 细胞的第二刺激通路,也就是共刺激通路,同时促进 T 细胞凋亡抑制蛋白 Bcl-xL 和 Bcl-2 的表达,对维持 CD4⁺T 细胞的反应和对记忆性 CD4⁺T 细胞的形成起重要作用^[4]。目前的同种异体小鼠胰岛移植实验报道,阻断 OX-40 通路可以轻微延长移植物的存活时间,减轻移植物抗宿主病(GVHD)的程度。应用单克隆抗体阻断 OX-40/OX-40L 通路可以诱导 T 细胞的移植免疫耐受状态,提示阻断 OX-40/OX-40L 通路在免疫耐受中可能有重要作用^[5]。

4. 4-1BB/4-1BBL 通路:4-1BB(CD137)是 TNFR 超家族成员,大部分表达于 CD4⁺T 细胞 CD8⁺T 细胞膜上,其配体是 4-1BBL,主要表达于成熟的树突状细胞(DC)、巨噬细胞和活化的 B 细胞。4-1BB 和 4-1BBL 结合后可以激活 T 细胞,以诱导 CD8⁺T 细胞增殖和细胞毒作用为主。Tan 等报道,激活 4-1BB/4-1BBL 通路加速了同种异体皮肤和心脏移植的排斥反应,4-1BB/4-1BBLmRNA 在排斥的心脏移植植物中的表达增高,同时出现淋巴细胞增殖(以 CD8⁺T 细胞为主)和 CD25 表达增高,提示 4-1BB/4-1BBL 通路在移植排斥反应中起重要作用^[6]。

5. CD40/CD40L 通路:免疫应答中,CD40 分子在 T 细胞依赖的巨噬细胞活化中起重要作用,与之结合的可溶性 CD40L 分子刺激人单核细胞释放前炎症细胞因子,包括 IL-1、IL-5、IL-8 和 TNF。用单克隆抗体或敲除 CD40 基因可抑制巨噬细胞释放一氧化氮,阻断 CD40/CD40L 通路,进而阻断血管内皮细胞细胞间黏附分子 1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)和 E-选择素的表达从而抑制排斥反应^[4]。调节 APC 表面的 B7 分子的表达,是 CD40 调节 T 细胞依赖的免疫应答的主要机制,而在同种异体移植排斥反应中,CD40 分子不依赖 B7-CD28 通路发挥免疫调节作用。在同种异体胰岛移植实验中,抗 CD40 单抗不能改变移植植物内 B7 分子 mRNA 的复制和表达,但是仍可抑制 T 细胞对同种异体抗原的应答,并延长移植物的存活时间^[7]。实验证实,同时阻断 CD40/CD40L 和 B7/CD28 通路可有效抑制 T 细胞对同种异体抗原的免疫反应,从而有效诱导免疫耐受。

6. PD-1/PDL-1 和 PD-1/PDL-2 通路:PD-1 属于 CD28 和 CTLA-4 亚族,广泛分布于造血组织

细胞、未成熟 B 细胞、外周血 T 细胞,是 T 细胞的抑制性受体。PDL-1 和 PDL-2 分布表达于非淋巴细胞、心脏、胎盘、骨骼肌和肺等,通过和 PD-1 结合抑制外周免疫反应和细胞因子分泌,对淋巴细胞有负性调节作用。免疫应答中淋巴样和髓样 DC 在表面表达 PDL-1 或 PDL-2 并与 T/B 细胞的 PD-1 作用,抑制其进一步激活,防止免疫反应无限扩大,维持其处于动态平衡。未成熟树突状细胞(iDC)在干扰素和 TNF 的刺激下迅速上调 PDL1 和 PDL2 的表达,分别抑制 Th1 和 Th2 细胞介导的免疫排斥反应。在同种异体的大鼠和猕猴肝移植、肾移植和器官联合移植模型中,单独给予 PDL-1Ig 或 PDL-2Ig 能够延长移植物的存活时间,甚至有些移植植物可以长期存活而无排斥反应^[8]。所以,激活 PD-1/PDL-1 和 PD-1/PDL-2 通路对诱导免疫耐受有广阔临床应用前景。

7. BTLA/B7x 通路: BTLA 是 CD28 家族的新成员,其结构和负性调节分子 PD-1 和 CTLA4 相似,在胸腺和脾脏的含量很高,在其他组织很少表达,体外刺激 T 细胞活化后即有 BTLA 的表达,T 细胞分化后 BTLA 可能提供一个细胞亚群特异性调控机制,抑制 Th₁ 介导的炎症、自身免疫性疾病和移植免疫排斥反应。BTLA 还表达于初始活化的 B 细胞表面,表明其对 B 细胞的免疫反应具有调节作用。实验表明,B7 家族成员 B7x 不与 ICOS、PD1 和 CTLA4 结合,B7x-Ig 融合蛋白能提高 T 细胞的免疫反应强度,但对 BTLA 基因敲除小鼠没有作用,提示 BTLA 的配体可能是 B7x。B7x 的 mRNA 在淋巴组织和非淋巴组织均有表达^[9]。研究发现,B7x 多表达于小鼠 B 细胞、活化的小鼠腹膜巨噬细胞和骨髓样树突状细胞。BTLA 基因缺陷的小鼠 T 细胞、B 细胞活化的水平较正常小鼠高,对 T 细胞依赖性抗原有过度的免疫应答,表明 BTLA 与其受体 B7x 结合后可抑制免疫细胞活化,起免疫负调节作用^[10]。抗 CD3 单抗和 B7x 联用,激活小鼠的 T 细胞,可导致细胞周期的阻滞,抑制细胞增殖和 IL-2 分泌,抑制 CD4⁺ T 细胞活化,从而抑制 TCR 介导的 B 细胞增殖。BTLA/B7x 提供了一个新的可利用的选择性下调免疫反应的通路,激活或放大 BTLA 抑制性信号通路对诱导移植免疫耐受有重要意义。

二、展 望

在免疫应答中第一信号 TCR 与 MHC-I 或 II 类分子结合后必须有共刺激通路的激活才能使 T 细胞进一步分化增殖并扩大和增强免疫反应,运用分子生物学技术研究共刺激通路具有较强的实用性和可操作性,现今已广泛应用于器官移植、自身免疫性疾病和恶性肿瘤等的基础研究中,具有巨大的临床应用潜力,能开辟新的治疗途径。但其数量众多,有些机制还未明,也可能还有未发现的共刺激分子,我们还要继续运用细胞分子生物学、生物信息学的各种方法进一步弄清每个共刺激分子的具体作用机制。相信随着共刺激分子通路基础研究的不断深入,临床诱导器官移植免疫耐受最终会成为一种常规治疗方法。

参考文献

- 1 Alegre M, Fallarino F, Zhou P, *et al.* Transplantation and CD28/B7/CTLA4 pathway. *Transplant Proc*, 2008, 133(11): 1209-1211
- 2 Huttoff A, Suzuki M, Ichim TE, *et al.* ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature*, 2005, 467: 763-766
- 3 Ozkaynak CP, Waldmann H, Cobbold P, *et al.* Blockade of ICOS/B7 costimulatory pathway in a DCT presensitization model of islet allograft leads to a state of specific tolerance and permits subsequent engraftment of donor strain heart allografts. *Immunological Methods*, 2010, 356: 112-116
- 4 Croft M, Peinovich M, McEntee M, *et al.* Co-stimulatory members of the TNFR family: keys to effective T-cell immunity? *Nat. Rev Immunol*, 2008, 5(3): 409-413
- 5 Larsen A, Mottram P, Cavanagh MM, *et al.* Blockade of OX-40/OX-40L pathway result in the acceptance of rat islet xenografts. *Nature reviews, immunology*, 2010, (7): 467
- 6 Tan PA, Friedman M, Korngold R, *et al.* Blockade of the 4-1BB/4-1BBL pathway results in a potent immune tolerance induction of alloreactive T cells. *Blood*, 2010, 116(11): 3601-3607
- 7 张勇, 赵振林. 阻断 CD40/CD40L 共刺激通道诱导同种胰岛移植免疫耐受的实验研究. *临床医药实践*, 2009, 18(4): 246-249
- 8 Yoshida-Konoe, Qin JH, Mingerla A, *et al.* The PD-1/PD-L pathway and immunological tolerance induction. *Immunol Rev*, 2009, 229: 88-100
- 9 Gavrieli M, Sedy JR, Yang J, *et al.* BTLA is a lymphocyte inhibitory receptor with similarities to CTLA-4 and PD-1. *Nature immunology*, 2010, 10(9): 683-688
- 10 Loise M, Waldmann H, Cobbold P, *et al.* A critical role for BTLA/CTLA4 negative signaling in immune tolerance. *Immunity*, 2010, 39(4): 429-436

(收稿: 2011-01-27)