

# CD200 及其受体 CD200R 研究进展

丁笑笑 张 佳 罗文达

白细胞分化抗原 CD200 及其受体 CD200R 均是细胞表面的跨膜糖蛋白。CD200 最初于 1979 年在小鼠胸腺中发现, 曾被称为 OX-2, MRCOX2, MOX2。2000 年在第七届人类白细胞分化抗原专题讨论会上 (HLDA7) 被正式命名为 CD200。CD200 与其受体 CD200R 相互作用, 通过调控髓系细胞的活化和 Th1/Th2 细胞因子的生成, 介导 T 细胞共刺激, 在肿瘤免疫、移植排斥、自身免疫、自发性流产、炎症反应等机体众多生理和病理过程中发挥着重要的作用。近年来, CD200 及其受体 CD200R 的结构、功能、以及与疾病关系的研究不断涌现, 本文就此进行综述。

## 一、CD200/CD200R 的概述

1. CD200/CD200R 的分子结构: CD200 分子是一种 I - 型膜糖蛋白, 分子质量为 (41 ~ 47) kDa, 具有典型的 V/C2 结构, 由胞外信号肽、二羟基脱氢酶区、V 区、C2 区、跨膜区和胞内区构成, 属于免疫球蛋白超家族 (IgSF) 成员。在人类其位于染色体 3q12 ~ q13 上, 由 6 个外显子和 5 个内含子组成, 转录后 mRNA 全长为 2.14 kb, 可编码 269 个氨基酸的多肽链。CD200 在小鼠上位于 16 号染色体 B5 区上, 全长 2.20 kb, 可编码 278 个氨基酸的多肽链<sup>[1]</sup>。CD200 基因序列高度保守, 人与鼠相关结构域序列的同源性高达 75%, 并且在跨膜区也存在高达 96% 的同源性。

CD200R 与 CD200 的分子结构类似, 具有典型的 V/C2 免疫球蛋白基因超家族结构。CD200R 于 1997 年在大鼠腹腔巨噬细胞上首次检测到。Wright 等<sup>[1]</sup>随后从人新鲜脐血分离出的肥大细胞中检测到两个 CD200R 基因, 分别命名为 hCD200R 和 hCD200R1a, 两者均位于染色体 3q12 ~ 13, 以 R/R1a 的顺序排列, 长约 5.2 kb, 含有 9 个外显子, hCD200R1a 是主要与 CD200 结合的高亲和力受体, 同时在小鼠上检测出 4 种 CD200R 基因分别命名为 CD200R1a - 1d。Gorczyński

ski 等<sup>[2]</sup>在小鼠上克隆出除 CD200R1 以外的 CD200R2、R3、R4 组成 CD200R 家族, CD200R1、R2、R3、R4 分别含有 10、7、2、9 个 N - 连接糖基化位点, 均是 CD200 的受体, 其中 CD200R1 高度糖基化。小鼠 CD200R1 的胞内段有 67 个氨基酸残基, 包含 3 个酪氨酸残基 (Y286、Y289、Y297), 其中 Y297 参与 NPXY 序列的组成, 该序列被认为可以识别酪氨酸磷酸化位点 (PTB) 信号衔接分子的结合部位。

2. CD200/CD200R 的表达: 目前有关 CD200 的研究主要在小鼠、大鼠及人类上开展。研究表明 CD200 在胸腺细胞、活化的 T 细胞、B 细胞、树突状细胞、血管内皮细胞、肺泡内皮细胞、肾小球细胞、平滑肌以及滋养层细胞等多种细胞上表达<sup>[1]</sup>。Kretz - Rommel 等<sup>[3]</sup>深入分析了 CD200 在人类细胞上的表达, 发现在多数 B 细胞、部分 CD3<sup>+</sup> T 细胞、CD11<sup>+</sup> 树突状细胞、CD14<sup>+</sup> 单核细胞、CD56<sup>+</sup> NK 细胞都有 CD200 的表达。

CD200R 的表达较 CD200 的表达局限, mCD200R 主要分布于单核 - 吞噬细胞、树突状细胞和部分活化 T 细胞、B 细胞、中性粒细胞、肥大细胞等。最新研究发现 CD200R 在活化的小鼠嗜碱性粒细胞也有表达<sup>[4]</sup>。其中 mCD200R1 在骨髓和胸腺中表达最高。mCD200R2、R3 在骨髓和脾都有表达, 但在胸腺、脑、肺和睾丸表达水平低。mCD200R4 表达同 mCD200R1 类似<sup>[2]</sup>。人类 CD200R 表达类似于 mCD200R1, 但其在胸腺中表达较低<sup>[2]</sup>。

3. CD200/CD200R 生物学作用: Gorczyński 等<sup>[5]</sup>研究发现 CD200 与 CD200R 相互作用后, 可以提供负调控信号, 降低髓系细胞 (单核细胞和巨噬细胞) 活性, 诱导 Th1 型细胞因子向 Th2 型细胞因子“克隆转换”, 引起免疫低应答的产生, 参与调节机体免疫。Barclay 等<sup>[6]</sup>也证实 CD200 与 CD200R 结合可以改变髓系细胞对刺激信号的应答阈值。具体分子机制可能是 CD200 与 CD200R1 结合后, 通过 NPXY 与信号衔接分子作用产生胞内信号转导, 发挥免疫调节效应<sup>[1,2]</sup>。Mihreshahi 等<sup>[7]</sup>在大鼠上证实 CD200R 与

CD200 结合后,其胞内的 NPXY 序列的 PTB 结构域内的 Y297 酪氨酸迅速发生磷酸化,募集磷酸化的抑制效应适配器分子 Dok1 和 Dok2 蛋白结合于抑制性效应分子 RasGAP 和 SHIP,从而进一步抑制 RAS 及其下游 ERK、JNK 和 P38MAPK 的活化。

## 二、CD200/CD200R 与疾病的关系

1. CD200/CD200R 与肿瘤疾病的关系研究:肿瘤细胞的免疫应答主要由 CD8<sup>+</sup> 杀伤性 T 细胞 (CTL) 介导,而 Th1 型细胞因子 (IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ ) 可以增强 CTL 的杀伤能力。随着肿瘤的生长,细胞免疫应答由 Th1 向 Th2 转化,表现为 Th1 型细胞因子生成的减少和 Th2 型细胞因子 (IL-4、IL-10、TGF- $\beta$ ) 生成的增多。Gorczyński 等<sup>[5]</sup> 在研究中也发现 CD200 与 CD200R 结合,可以诱导 Th1 向 Th2 转化,引起免疫低应答,从而调节肿瘤生长。

目前已证实 CD200 在肾癌、睾丸癌、结肠癌、皮肤鳞状细胞癌、黑色素瘤等实体肿瘤中高表达。在血液系统肿瘤中有研究表明 CD200 在 B 细胞慢性淋巴增殖性疾病 (BCLPDs) 中的表达差异,他们发现 CD200 在所有慢性淋巴细胞白血病及毛细胞白血病患者中高表达,但在套细胞淋巴瘤、滤泡性淋巴瘤及脾边缘区淋巴瘤低表达,并且 CD200 在慢性淋巴细胞白血病中的表达显著高于非霍奇金淋巴瘤,研究认为 CD200 有望成为 BCLPDs 的常规检测指标<sup>[8]</sup>。Alapat 等<sup>[8]</sup> 研究还发现超过 70% 的多发性骨髓瘤患者表达 CD200,并且 CD200 的表达与疾病预后相关。最近有研究指出急性髓系白血病 (AML) 中 CD200 的表达与 Foxp3 (+) 调节性 T 细胞水平显著相关,阻断 CD200-CD200R 相互作用后 TGF- $\beta$  和 IL-10 的表达显著减少,而 IL-12 和 IFN- $\gamma$  的表达显著增多<sup>[9]</sup>。深入研究表明 CD200 的表达水平越高,抗 CD200 单克隆抗体发挥的抗肿瘤效应更强。Tonks 等<sup>[10]</sup> 通过检测 184 例 AML 患者发现约 43% 病人表达 CD200,并且 CD200 的表达和 t(8;21)、inv(16) 等染色体变化以及白血病的不同亚型有一定的关联,进行回归分析后表明,CD200 的表达水平和存活率明显相关,提示 CD200 是 AML 的独立预后因子。Petermann 等<sup>[11]</sup> 在黑色素瘤中进一步研究发现 CD200 的表达与 ERK 活化密切相关。Pallasch 等<sup>[12]</sup> 研究表明在慢性淋巴细胞白血病细胞中,CD200/CD200R 信号对 T 细胞具有调控作用。此外,CD200 表达还与慢性粒细胞白血病、黑色素瘤、膀胱癌及前列腺癌的疾病进展相关。综上所述,CD200 参与了肿瘤的发生发

展,有望成为肿瘤诊断及预后的重要检测指标。

2. CD200/CD200R 与移植排斥的关系研究:在同种异体组织、器官移植时,受者的免疫系统常对移植物产生排斥反应,移植排斥反应涉及细胞和抗体介导的多种免疫损伤机制。研究发现 T 细胞介导的迟发型超敏反应与细胞毒作用对移植物的排斥起着重要的作用,其中 Th1 应答与 Th2 应答是移植排斥反应发病机制的核心,两者相互抑制,处于动态平衡<sup>[13]</sup>。前文中我们提到 CD200 与 CD200R 结合能诱导 Th1 型细胞因子向 Th2 型细胞因子转化。Gorczyński 通过供者特异性的门静脉免疫后发现 CD200 表达可以增加血管化和非血管化移植物的生存率,提高门静脉免疫小鼠的耐受,进一步在鼠移植实验中证实,受者树突状细胞 CD200 表达增加与移植存活率的增加正相关,且能促进 Th1 型细胞因子向 Th2 型细胞因子迁移,CD200 的特异性抗体可以阻断这一变化。近期研究数据显示不管对移植物还是宿主 CD200/CD200R 表达均能提高移植物存活率<sup>[14]</sup>。以上研究显示通过 CD200 与 CD200R 的交互作用调节细胞因子调控网络,干预 Th1/Th2 比例,使 Th1 型细胞因子向 Th2 型细胞因子转化,从而抑制排斥反应、诱导移植耐受形成、延长移植物的存活时间。

3. CD200/CD200R 与自身免疫性疾病的关系研究:自身免疫性疾病是指机体对自身抗原发生免疫应答导致自身组织损害所引起的疾病。大量研究表明自身免疫性疾病是多种免疫因素参与的一个多因素、多步骤的复杂过程,其中 T 细胞功能异常起重要作用。系统性红斑狼疮 (SLE) 是常见的自身免疫系统疾病之一,李扬等研究显示 SLE 患者 CD4<sup>+</sup> T 细胞、树突状细胞及血清游离 CD200 水平高于健康对照组,相反 CD200R1 表达较健康对照组显著降低,进一步研究发现 CD200 能影响 TGF- $\beta$  信号通路并促进 Treg 生成,提示 CD200/CD200R 信号通路可能通过影响 T 细胞分化在 SLE 患者免疫调节中发挥重要作用<sup>[15]</sup>。在中枢神经系统中,小胶质细胞是最具有代表性的免疫细胞,其在多发性硬化症等多种神经系统病变中发挥着损伤和修复的双重作用。已证实 CD200/CD200R 通路是中枢神经系统内下调小胶质细胞活化的重要机制。在自身免疫葡萄膜炎实验中,CD200 的表达可以减轻视网膜免疫炎症损害,其可能通过 CD200/CD200R 信号通路调节视网膜微胶质的活性,促进巨噬细胞活化<sup>[16]</sup>。Gorczyński 等<sup>[17]</sup> 研究表明阻断 CD200R 信号可以增加宿主对自

身免疫性疾病的敏感性,该研究组在 CD200 基因敲除的小鼠中发现其对人类风湿性关节炎模型 - 胶原诱导的关节炎易感性增加,给予抗 CD200R 抗体后,可以明显改善胶原诱导的关节炎的症状。以上研究提示 CD200 表达参与了自身免疫性疾病发生发展。

4. CD200/CD200R 与自发性流产的关系研究: 机体妊娠以 T 细胞免疫应答为主,其中 Th2 型细胞因子起着关键作用。小鼠和人类发生自发性流产与子宫 Th2 型细胞因子减少及 Th1 型细胞因子增加有关。Th2 型细胞因子可以促进子宫胎盘细胞的生长分化,抑制 NK 细胞活化及淋巴细胞增殖,从而使胎盘滋养层细胞免受损伤。而 Th1 型细胞因子可以诱导吞噬细胞至胎盘部位,损伤胎盘滋养层细胞,抑制胚胎发育,从而导致流产。Clark 等在妊娠女性及小鼠的胎盘滋养层细胞均检测到 CD200 的表达。CD200 与 CD200R 相互作用诱导 Th1 型细胞因子向 Th2 型细胞因子转化。在 T 细胞免疫应答介导自发性流产的小鼠模型中,随着滋养层细胞中的 CD200 表达升高,自发性流产率下降,当给予外源性抗 CD200 抗体使得流产率增加。可见 CD200 的表达可能与母胎之间的免疫调节有关。

5. CD200/CD200R 与炎症反应的关系研究: 炎症反应是多细胞和多因子共同参与的机体防御性反应。天然免疫作为机体抵御微生物入侵的第一道防线,在启动和促进炎症反应中起着重要作用。目前认为除了树突状细胞、巨噬细胞和 NK 细胞等天然免疫细胞,T 细胞也参与了天然免疫调控。CD200 与 CD200R 相互作用参与机体免疫调节,是免疫系统重要的组成部分。研究发现 CD200 表达的增加可以促进 T 细胞与内皮细胞之间的黏附,促进抗炎因子分泌,抑制炎症反应。在清除病毒的过程中发现 CD200/CD200R 对伴随的炎症组织具有保护作用。国内学者发现脓毒症致肺泡内皮细胞 CD200 表达急剧下降,炎症反应逐渐加重,抗炎因子 IL-4 等分泌增多,而 IL-4 能促进 Th1 型细胞分化为 Th2 型细胞,抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、前列腺素 E<sub>2</sub> 的生成,降低核转录因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 活性,减少炎症介质的产生。进一步体外实验中发现氧化应激条件下 CD200 分子通过抑制小神经胶质细胞 (MG) 胞质内 p38MARK 的磷酸化进下调 NF- $\kappa$ B 的活化,从而抑制 MG 炎症反应。上述研究证实 CD200/CD200R 相互作用能抑制炎症反应,降低组织损伤,对机体起保护作用。

CD200 与其受体 CD200R 相互作用参与机体免疫调节,可以抑制肿瘤免疫、延长移植存活时间、减轻自身免疫性疾病症状、抑制自发性流产、抑制炎症反应。但目前 CD200 与 CD200R 相互作用在特异性免疫反应中的研究主要集中在 T 细胞中,且调控 CD200 表达的分子机制尚不明确,为此,仍需大量的基础和临床试验进一步研究。

#### 参考文献

- 1 Wright GJ, Cherwinski H, Foster - Cuevas M, *et al.* Characterization of the CD200 receptor family in mice and humans and their interactions with CD200 [J]. *J Immunol*, 2003, 171 (6): 3034 - 3046
- 2 Gorczynski RM, Chen Z, Clark DA, *et al.* Structural and functional heterogeneity in the CD200R family of immunoregulatory molecules and their expression at the feto - maternal interface [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2004, 52 (2): 147 - 163
- 3 Kretz - Rommel A, Qin F, Dakappagari N, *et al.* Blockade of CD200 in the presence or absence of antibody effector function: implications for anti - CD200 therapy [J]. *J Immunol*, 2008, 180 (2): 699 - 705
- 4 Torrero MN, Larson D, Hubner MP, *et al.* CD200R surface expression as a marker of murine basophil activation [J]. *Clin Exp Allergy*, 2009, 39 (3): 361 - 369
- 5 Gorczynski RM, Yu K, Clark D. Receptor engagement on cells expressing a ligand for the tolerance - inducing molecule OX2 induces an immunoregulatory population that inhibits alloreactivity in vitro and in vivo [J]. *J Immunol*, 2000, 165 (9): 4854 - 4860
- 6 Barclay AN, Wright GJ, Brooke G, *et al.* CD200 and membrane protein interactions in the control of myeloid cells [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23 (6): 285 - 290
- 7 Mhrshahi R, Barclay AN, Brown MH. Essential roles for Dok2 and RasGAP in CD200 receptor - mediated regulation of human myeloid cells [J]. *J Immunol*, 2009, 183 (8): 4879 - 4886
- 8 Alapat D, Coviello - Malle J, Owens R, *et al.* Diagnostic usefulness and prognostic impact of CD200 expression in lymphoid malignancies and plasma cell myeloma [J]. *Am J Clin Pathol*, 2012, 137 (1): 93 - 100
- 9 Memarian A, Nourizadeh M, Masoumi F, *et al.* Upregulation of CD200 is associated with Foxp3 ( + ) regulatory T cell expansion and disease progression in acute myeloid leukemia [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34 (1): 531 - 542
- 10 Tonks A, Hills R, White P, *et al.* CD200 as a prognostic factor in acute myeloid leukaemia [J]. *Leukemia*, 2007, 21 (3): 566 - 568
- 11 Petermann KB, Rozenberg GI, Zedek D, *et al.* CD200 is induced by ERK and is a potential therapeutic target in melanoma [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117 (12): 3922 - 3929
- 12 Pallasch CP, Ulbrich S, Brinker R, *et al.* Disruption of T cell suppression in chronic lymphocytic leukemia by CD200 blockade [J]. *Leuk Res*, 2009, 33 (3): 460 - 464
- 13 雷钧, 何凡, 吴敏, 等. IL-17 参与小鼠心脏移植排斥反应的实验研究 [J]. *华中科技大学学报: 医学版*, 2009, 38 (5): 581 - 584, 589
- 14 Yu K, Chen Z, Gorczynski R. Effect of CD200 and CD200R1 expres-

- sion within tissue grafts on increased graft survival in allogeneic recipients[J]. *Immunol Lett*, 2013, 149(1-2): 1-8
- 15 李扬, 赵丽丹, 丁欣, 等. 系统性红斑狼疮患者 CD200/CD200R 的表达及其在 Treg/Th17 细胞平衡中的作用[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2012, 32(2): 92-97
- 16 Broderick C, Hoek RM, Forrester JV, *et al.* Constitutive retinal CD200 expression regulates resident microglia and activation state of inflammatory cells during experimental autoimmune uveoretinitis[J]. *Am J Pathol*, 2002, 161(5): 1669-1677
- 17 Gorczynski RM, Chen Z, Lee L, *et al.* Anti-CD200R ameliorates collagen-induced arthritis in mice[J]. *Clin Immunol*, 2002, 104(3): 256-264
- (收稿日期: 2013-03-20)
- (修回日期: 2013-04-01)

## PEDF 在糖尿病视网膜膜病变中的研究进展

彭湾湾 曾姣娥

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见和最严重的微血管并发症之一,具有特征性的眼底改变,是目前大部分发达国家成人失明的首要原因。近年来,随着分子与细胞生物学技术的快速发展,细胞因子在 DR 中的作用受到越来越多的关注,其中色素上皮衍生因子(pigment epithelium derived-factor, PEDF)是一种多功能细胞因子,逐渐受到学者们的广泛重视并被深入研究。本文就 PEDF 在 DR 中的研究进展做一综述。

### 一、PEDF 的生物学概况

PEDF 最先是由 Tombran-Tink 从胎儿视网膜色素上皮细胞体外培养液中分离并纯化出<sup>[1]</sup>。它是相对分子质量为 50kDa 的分泌型糖蛋白,属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族成员,由 418 个氨基酸编码,因缺乏丝氨酸反应环而无蛋白水解酶的活性。眼内多个部位可产生 PEDF,如视网膜色素上皮细胞、角膜上皮细胞、睫状上皮细胞的无色素层、神经节细胞等。此外, PEDF 还广泛存在于人体的肝脏、胰腺、前列腺、肾脏、心脏、大脑、脊髓等各个器官<sup>[2,3]</sup>。人类的 PEDF 蛋白编码基因定位于 17 号染色体短臂末端,基因全长约 16kb,包含 8 个外显子和 7 个内含子。PEDF 分子中的丝氨酸蛋白酶抑制剂核心区,主要是 10 个  $\alpha$  螺旋和 3 个  $\beta$  折叠组成<sup>[4]</sup>。许多因素可影响 PEDF 的表达,如氧浓度、蛋白非酶糖基化终末产物(advanced glycosylation end product, AGEs)、内皮素、胰岛素、核因子  $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、白介素-6 等。

### 二、PEDF 在糖尿病视网膜膜病变(DR)中的作用

1. 抗新生血管作用: DR 是糖尿病微血管病变在眼底的特征性表现,它的高发生率、高致盲率,严重威胁着人类的生存质量。PEDF 是近年来研究的一个热点,在 DR 的发生、发展中, PEDF 以其显著的抗新生血管作用,对视网膜起重要保护作用。一些研究认为,促血管生成因子与血管生成抑制因子之间的不平衡是 DR 中病理性新生血管生成的主要原因。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种促血管生成因子,具有促进血管内皮细胞的增殖、迁移、增加通透性的作用<sup>[5]</sup>。而 PEDF 可对抗 VEGF 的表达,进而抑制新生血管。Haurigot 等<sup>[6]</sup>的研究发现, VEGF 可明显上调结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的表达, CTGF 可使以新生血管形成为特点的增殖性视网膜病变继续发展,然而,经过 6 个月的玻璃体内注射 AAV2-hPEDF(编码 PEDF 基因的 2 型腺病毒载体)治疗, CTGF 的水平趋于正常。另外, PEDF 还可通过促进视网膜内皮细胞的凋亡而引起新生血管的退化,其促凋亡功能主要是 Fas/FasL 系统介导。有研究表明, PEDF 能诱导 FasL 在内皮细胞的表达,激发并活化 Fas/FasL 途径,从而抑制新生血管<sup>[7]</sup>。此外, PEDF 被认为是一种天然的新生血管抑制因子,低水平 PEDF 与 DR 中新生血管形成有关,其含量的下降可能是 DR 病程进展的一个重要原因。有研究发现,随着 DR 患者眼底病变的加重,血清和房水中 PEDF 浓度逐渐降低<sup>[8]</sup>。Smith 等<sup>[9]</sup>研究发现,随着 PEDF 水平逐渐下降, PEDF 的保护作用减弱,从而导致了视网膜新生血管形成。

2. 抗炎作用: 近年一些研究认为 DR 是一种慢