

HLA - G 与血液肿瘤免疫应答及目前治疗研究进展

干 军 许惠惠 颜卫华

摘 要 人类白细胞抗原 - G (human leukocyte antigen G, HLA - G) 是一种非经典 HLA - I 类分子, 最早发现于母胎界面绒毛外滋养层细胞表面, 抑制母体免疫系统对胚胎同种异体抗原的免疫杀伤, 形成母胎免疫耐受。研究表明 HLA - G 通过与其受体结合, 直接或间接参与肿瘤的发生及免疫逃避, 且 HLA - G 高表达与实体瘤的分期、预后等高度相关。但 HLA - G 在血液肿瘤中的作用机制及临床意义, 尚存争议, 这可能与实体瘤细胞不同, 大部分血液肿瘤细胞本身就是免疫细胞, 肿瘤细胞属性不同导致 HLA - G 具有不同的生物学意义。本文就 HLA - G 在血液肿瘤中最新研究进展做一综述。

关键词 HLA - G 受体结合 血液肿瘤

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.003

血液肿瘤是一系列血液恶性疾病的总称, 包括急性慢性白血病、恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、骨髓增生异常综合征等。近年来, 随着国内外生物技术的发展与进步, 使得人们对于血液肿瘤的病因和发病机制有了更深的了解, 同时目前血液肿瘤的治疗也趋向整合靶向治疗结合到传统的放化疗中, 因此探究开发有效的靶点至关重要。HLA - G 目前被广泛认为是参与肿瘤免疫逃避的重要分子, 探明 HLA - G 在血液肿瘤的发生、发展的作用, 选择性阻断其发挥的作用可能会给血液肿瘤治疗带来新的曙光。

一、HLA - G 简介

人类白细胞抗原 G (human leukocyte antigen - G, HLA - G) 属于非经典 HLA - I 类分子。HLA - G 最早发现于母胎界面绒毛外滋养层细胞表面, 具有抑制母体对胚胎异体抗原的免疫杀伤的作用^[1,2]。生理状态下 HLA - G 仅分布在母 - 胎界面的绒毛外细胞滋养层及部分免疫豁免组织, 如胸腺、角膜、胰岛细胞支气管上皮细胞和胰腺等, 随后报道肿瘤细胞同样可以表达 HLA - G 分子^[3-7]。HLA - G 初始转录产物经选择性剪接后, 编码产生 7 种 HLA - G 异构体分子, 包括 HLA - G1 ~ HLA - G4 4 种膜结合型 (mHLA - G) 和 HLA - G5 ~ HLA - G7 3 种可溶型分子 (sHLA - G)^[8]。HLA - G 不仅肿瘤逃避免疫监视的重要分子, 最近发现 HLA - G 与其受体 ILT2/ILT4 的相互作

用, 与 B7/CTLA - 4 和 PD - 1/PD - L1 信号通路十分相似, 均可抑制活化 T 细胞增殖和细胞因子的分泌^[9]。与 B7/CTLA - 4 和 PD - 1/PD - L1 相比, HLA - G 有更广泛的作用范围, 因其不仅作用于 T 细胞, 还包括自然杀伤细胞、B 细胞、单核细胞、树突状细胞以及中性粒细胞, 提示 HLA - G 在免疫应答不同阶段均可发挥着一定的作用^[10,11]。因此, HLA - G 不仅是免疫耐受分子, 同时通过特异受体结合调节多种免疫应答, 是潜在的“免疫检查点”分子。

二、HLA - G 在血液肿瘤的表达

近几年来, 越来越多研究表明 HLA - G 在实体肿瘤的表达, 同时证明了 HLA - G 的表达水平与肿瘤的分期和预后等正相关。然而在恶性血液肿瘤患者血浆中发现的高水平 HLA - G 却没有表现出这种明确的关系。Wlajuk 等^[12]发现相比于正常人, HLA - G 和 CD85j 在 CLL 患者中高表达, 但尚未发现 HLA - G 的表达和疾病进展之间的负相关关系。随后 Attia 团队研究再次确证 HLA - G 在 CLL 患者中的高表达, 同时还发现 HLA - G 表达水平与肿瘤的分期正相关^[13]。然而 Guo 等^[14]通过对 77 位新诊断的 AML 患者进行流式分析, 结果发现 HLA - G 表达水平介于 0 ~ 93.96%, 且 HLA - G 表达水平与患者临床指标, 如患者年龄、性别、肿瘤亚型甚至预后均无相关性。

另一方面除了肿瘤自身表达的 HLA - G, 也可通过“胞啃”获得外源性 HLA - G。LeMaoult 等^[15]最早在 2007 年发现 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞可从抗原递呈细胞获得 HLA - G1, 并从效应细胞转化为调节细胞。Brown 等^[16]在体内实验证明了 T 细胞可从同源的多

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31370920, 81372247)

作者单位: 317000 临海, 温州医科大学附属台州医院中心实验

室

通讯作者: 颜卫华, 研究员, 电子信箱: yanwh@enzemed.com

发性骨髓瘤细胞获得 HLA - G,并在获得之后转化为调节细胞,这种调节细胞与固有的 Treg (regulatory T cell) 相似,更有利于 MM 逃避系统免疫监视。而 LeMaout 等^[17] 随后也验证了 Brown 的研究,并进一步发现血液肿瘤能从同源异体或者自体来源获得 HLA - G,且血液肿瘤之间互相交换膜成分现象十分明显。从表型角度来看,肿瘤细胞原本不表达的分子,也可呈现在细胞表面,随后具有相应分子的特性和功能。

三、HLA - G 对血液肿瘤的多态性影响

人们对 HLA - G 多态性在非实体瘤的潜在影响研究较少。Locafaro 等^[18] 分析了 19 例意大利 AML 患者与 141 位正常人的 3' - UTR 多态性,同时将患者于正常人的结果分为 inG/inG、delC/delC、delC/inG 和 delG/X,有趣的是相比于正常人群,AML 患者中的 delG/X 基因型的频率更高,这或许一定程度上说明了多态性与 AML 患病的易感性。最近 Bielska 等^[19] 对 207 位未经治疗弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 患者和 150 位健康对照的 HLA - G 启动子 - 725 (C > G, T) 位置和 3' - UTR 多态性进行分析,结果发现相比于其他基因型,HLA - G - 725CC 和 HLA - G 14bp in/in 基因型在患者频率更高。而携带 HLA - G - 725CC 基因型的患者的总生存期明显长于 HLA - G - 725C/G/T 基因型的患者,HLA - G 14bp del/del 纯合子的总生存期小于 HLA - G 14bp in/in 和 HLA - G 14bp del/in 基因型,证明 HLA - G 多态性在 DLBCL 疾病发展过程具有重要作用。

四、HLA - G 受体结合与血液肿瘤

1. HLA - G 与淋巴瘤:免疫球蛋白样转录因子 2 (inhibitory receptor Ig - like transcript 2, ILT2), 也被称为 CD85j 或者 LILRB1 (leukocyte immunoglobulin - like receptor subfamily B member 1), 是识别 HLA - G 的主要细胞受体。ILT2 主要表达在单核细胞、树突状细胞、一部分自然杀伤性细胞和 T 细胞上^[20,21]。受体的胞内段包含免疫受体酪氨酸抑制模体 (immunoreceptor tyrosine - based inhibition motifs, ITIMs), 受体活化后通过募集 SHP - 1 等磷酸酶,对下游原本活化的分子进行去磷酸化,产生抑制信号。HLA - G/ILT2 结合可促使细胞停留在 G₀/G₁ 期,减少 S 期细胞。Naji 等^[22] 采用表达 ILT2 的 Raji 淋巴瘤细胞,经 HLA - G 处理后,发现 HLA - G 对 Raji 细胞具有明显的时间与剂量依赖的抑制作用。随后使用 siRNA 和单克隆抗体封闭 ILT2 表达后,细胞增殖功能恢复,表

明 HLA - G 可直接通过 ILT2 发挥免疫抑制作用。为进一步探讨 HLA - G 介导抑制的机制,Naji 等^[22] 发现经 HLA - G 处理的 Raji 细胞中,处于 G₀/G₁ 期的细胞明显增多,而相比于对照组,S 期细胞比例减少两倍。该研究结果提示,HLA - G 并不是通过诱导细胞凋亡或坏死,而是诱导细胞周期阻滞发挥免疫效应。随后采用免疫印迹法对常见 B 淋巴细胞肿瘤中的信号通路进行研究,发现 HLA - G 与 ILT2 结合可诱导抑制性激酶 PKC α / β II、PKC δ 和 PKC μ 磷酸化和降低活化性激酶 AKT、mTOR、c - Raf、GSK3 β 和 Foxo 磷酸化,达到抑制细胞生存、增殖、生长的作用。此外,Jesusonek-kupnicka 等^[23] 通过 148 例弥漫性大 B 细胞淋巴瘤患者 (diffuse large B - cell lymphoma, DLBCL),发现高表达 HLA - G 的患者,其 3 年总生存率明显提高。上述体内外研究表明,HLA - G 分子表达可与 ILT2 结合阻滞血液肿瘤细胞的增殖,从而导致患者预后较好,提示 HLA - G 在恶性血液肿瘤治疗中具有潜在的应用前景。

2. HLA - G 与淋巴细胞白血病及多发性骨髓瘤:Maki 等^[24] 收集 19 例慢性淋巴细胞白血病和 10 例多发性骨髓瘤患者,并用 MEM - G/9 抗体检测其 HLA - G 表达,随后检测患者肿瘤细胞对 NK - 92 细胞杀伤活性的抵抗能力,结果表明尽管在最高 E/T (effector/target) 比例 20:1 时,也只有 25% 的肿瘤细胞被裂解,甚至只有 5 例对 NK - 92 敏感 (杀伤效果 \geq 15%) 这些结果表明 HLA - G 阳性的慢性淋巴细胞白血病细胞对 NK 细胞调控的杀伤有抵抗作用。同时,多发性骨髓瘤细胞对 NK 细胞的敏感度也具有类似的结果。HLA - G 表达阳性的肿瘤细胞与 NK 细胞接触,表面受体互相结合,形成免疫突触,此时 HLA - G 和 ILT2 受体结合,引发信号转导,胞内段 ITIM 活化,募集胞内酪氨酸磷酸酶,如 SHP - 1,使机体对原有肿瘤细胞表面抗原产生的激活信号去磷酸化,抑制 NK 细胞骨架重构和 IFN - γ 的分泌,使其细胞溶解作用减弱。因此 NK 细胞与 ILT2 受体结合间接的抑制了 NK 细胞的杀伤功能。

3. HLA - G 诱导 DC - 10 分化与髓系白血病:DC 细胞表面表达 ILT4 受体 (inhibitory receptor Ig - like transcript 4)^[20,21]。早期研究认为 HLA - G 与 ILT4 结合可阻碍 DC 细胞成熟,而最近研究发现两者结合后,可改变 DC 细胞的分化方向。研究发现耐受性 DC 高表达 ILT3、ILT4,与其他受体相比,ILT4 对 HLA - G 表现出更强的亲和力。在小鼠模型中移植

HLA - G 阳性的肿瘤细胞后,发现 CD11b⁺Gr1⁺PIR - B⁺的髓样抑制细胞增多。而小鼠 PIR - B (paired immunoglobulin - like receptor B) 是人类 ILT4 的同源物,能够识别 HLA - G 分子。同时表达 ILT4 的人类 DC 细胞与 HLA - G 结合后也可发育为耐受性 DC 细胞。最近研究也证实了此类耐受性 DC 细胞的特性,即高表达 HLA - G1、ILT2、ILT3、ILT4,并通过 IL - 10 依赖、HLA - G/ILT4 信号途径诱导分泌 IL - 10 的 Tr1 细胞 (type 1 regulatory T cell)。Amodio 等研究了 HLA - G 表达强度对 DC - 10 细胞免疫抑制功能的影响,证实高表达 HLA - G 的 DC - 10 通过 HLA - G/ILT4 途径,促进 T 细胞无能及向 Tr1 分化。由于 T 细胞无法正常激活分化,无法产生辅助 T 细胞和细胞毒性 T 细胞。同时 Tr1 分泌大量 IL - 10,最终形成免疫耐受微环境,导致肿瘤细胞逃脱杀伤。Locafaro 等^[18]对 22 例未接受治疗的 AML 患者进行研究,通过 MEM - G/9 检测 CD45^{dim}原始细胞 HLA - G 表达,发现 68.2% AML 患者 HLA - G 表达阳性,阳性率为 1.5% ~ 59.0%,同时与健康者比对,发现 AML 患者外周血中的 DC - 10 比例更高,AML 患者中原始细胞 HLA - G 表达阳性者,DC - 10 细胞和 Treg 细胞比例较高,提示 HLA - G 可以诱导 DC - 10 细胞,并通过 ILT4/HLA - G 途径诱导 Treg,产生抑制性细胞。

五、HLA - G 受体抑制剂与血液肿瘤免疫治疗

肿瘤免疫治疗因其专一性和高效性,已经成为肿瘤治疗的一个重要研究领域。目前 PD - 1 单克隆抗体已经开始进入临床使用,而有一些也取得十分良好的疗效。HLA - G 在肿瘤细胞表面的表达可以使肿瘤逃避宿主免疫应答,是肿瘤增殖恶化的重要原因。因此,通过特异性阻断 HLA - G 和其受体的相互作用来阻断肿瘤细胞的免疫逃避,可以为恶性血液肿瘤的治疗寻找新的方向。

Wu 等用 ILT2 - shRNA 干扰 NK 细胞 ILT2 受体表达,形成 ILT2⁻NK - 10 细胞,将 LCL、K562 细胞株转染 HLA - G 形成 LCL - G、K562 - G,发现共同培养时,正常 NK 细胞受到明显抑制,而 NK - 10 细胞却并没这种表现。进而体内实验将 LCL - g 移植入 NOD/SCID 小鼠,构建肿瘤模型。分别注射等量的 PBS、NK (10 × 10⁶) 和 NK - 10 (10 × 10⁶)。结果显示,PBS 组肿瘤继续发展,NK 细胞杀伤力较弱,瘤体较 PBS 组小,而 NK - 10 组肿瘤体积最小,表明 NK - 10 具有最强的杀伤效率。因此 ILT2⁻NK - 10 可以增加对 HLA - G 阳性肿瘤细胞的抗肿瘤效果。Agaugue 等通

过小鼠肿瘤模型注射抗 HLA - G 特异性抗体,阻断 HLA - G 后消除了原有的肿瘤抑制效应,肿瘤直径与对照组比较差异无统计学意义,说明抗 HLA - G 特异性抗体可以在体内抑制体内肿瘤的发展。

然而目前治疗研究尚停留在动物实验研究层面,还未有研究采用 HLA - G 受体阻断剂或者 HLA - G 抗体进行人体肿瘤治疗的临床研究,但随着更多的基础研究和动物模型建立以及临床研究,相信针对 HLA - G 进行肿瘤免疫治疗具有十分广阔的临床应用前景。

综上所述,HLA - G 信号通路在调节 NK 细胞、DC 细胞、T 淋巴活化和增殖分化,细胞因子分泌,参与恶性肿瘤免疫逃逸过程中都发挥至关重要的作用。以往研究结果显示,使用抗 HLA - G 或 HLA - G 受体单克隆抗体阻断此通路能够有效地增强抗肿瘤作用,提示针对这一通路的免疫治疗也极具前景。但是血液肿瘤细胞表型复杂,不同疾病的免疫状态不同,能否以 HLA - G 作为恶性血液疾病生物标志物去筛选抗 HLA - G 或其受体的单克隆抗体治疗潜在有效的患者,以及是否能作为恶性血液疾病治疗评估预后和监测病情进展的生物指标还面临着重大挑战,还需要进一步研究。

参考文献

- 1 Ellis SA, Palmer MS, McMichael AJ. Human trophoblast and the choriocarcinoma cell line BeWo express a truncated HLA Class I molecule[J]. J Immunol, 1990, 144(2): 731 - 735
- 2 Goldman - Wohl DS, Ariel I, Greenfield C, et al. HLA - G expression in extravillous trophoblasts is an intrinsic property of cell differentiation: a lesson learned from ectopic pregnancies[J]. Mol Hum Reprod, 2000, 6(6): 535 - 540
- 3 Le Discorde M, Moreau P, Sabatier P, et al. Expression of HLA - G in human cornea, an immune - privileged tissue[J]. Hum Immunol, 2003, 64(11): 1039 - 1044
- 4 Crisa L, McMaster MT, Ishii JK, et al. Identification of a thymic epithelial cell subset sharing expression of the class Ib HLA - G molecule with fetal trophoblasts[J]. J Exp Med, 1997, 186(2): 289 - 298
- 5 Lefebvre S, Adrian F, Moreau P, et al. Modulation of HLA - G expression in human thymic and amniotic epithelial cells[J]. Hum Immunol, 2000, 61(11): 1095 - 1101
- 6 Brugiére O, Thabut G, Pretolani M, et al. Immunohistochemical study of HLA - G expression in lung transplant recipients[J]. Am J Transplant, 2009, 9(6): 1427 - 1438
- 7 Cirulli V, Zalatan J, McMaster M, et al. The class I HLA repertoire of pancreatic islets comprises the nonclassical class Ib antigen HLA - G[J]. Diabetes, 2006, 55(5): 1214 - 1222
- 8 Carosella ED, Moreau P, Le Maoult J, et al. HLA - G molecules: from maternal - fetal tolerance to tissue acceptance[J]. Adv Immunol, 2003, 81: 199 - 252

(下转第 22 页)

- a porcine model of ventral hernia repair[J]. *Surg Endosc*, 2016, 30(9): 3691–3701
- 17 Klosterhalfen B, Klinge U. Retrieval Study at 623 human mesh explants made of polypropylene – impact of mesh class and indication for mesh removal on tissue reaction[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2013, 101(8): 1393–1399
- 18 Blatnik JA, Krpata DM, Jacobs MR, *et al.* In vivo analysis of the morphologic characteristics of synthetic mesh to resist MRSA adherence[J]. *J Gastrointest Surg*, 2012, 16(11): 2139–2144
- 19 Ruiz – Jashon F, Norrby J, Ivarsson ML, *et al.* Inguinal hernia repair using a synthetic long – term resorbable mesh: results from a 3 – year prospective safety and performance study[J]. *Hernia*, 2014, 18(5): 723–730
- 20 Michael JR, Joel JB, Marco H, *et al.* Multicenter, prospective, longitudinal study of the recurrence, surgical site infection, and quality of life after contaminated ventral hernia repair using biosynthetic absorbable mesh: The COBRA Study[J]. *Ann Surg*, 2017, 265(1): 205–211
- (上接第 13 页)
- 9 Amiot L, Le Fric G, Sebti Y, *et al.* HLA – G and lymphoproliferative disorders[J]. *Semin Cancer Biol*, 2003, 13(5): 379–385
- 10 Carosella ED, Ploussard G, LeMaoult J, *et al.* A systematic review of immunotherapy in urologic cancer: evolving roles for targeting of CTLA – 4, PD – 1/PD – L1, and HLA – G[J]. *Eur Urol*, 2015, 68(2): 267–279
- 11 Dolan DE, Gupta S. PD – 1 pathway inhibitors: changing the landscape of cancer immunotherapy[J]. *Cancer Control*, 2014, 21(3): 231–237
- 12 Własiuk P, Tomczak W, Zając M, *et al.* Total expression of HLA – G and TLR – 9 in chronic lymphocytic leukemia patients[J]. *Human Immunol*, 2013, 74(12): 1592–1597
- 13 Attia MA, Nosair NA, Gawally A, *et al.* HLA – G expression as a prognostic indicator in B – cell chronic lymphocytic leukemia[J]. *Acta Haematol*, 2014, 132(1): 53–58
- 14 Guo Q, Chen B, Ruan Y, *et al.* HLA – G expression is irrelevant to prognosis in patients with acute myeloid leukemia[J]. *Leuk Res*, 2011, 35(10): 1350–1354
- 15 LeMaoult J, Caumartin J, Daouya M, *et al.* Immune regulation by pretenders: cell – to – cell transfers of HLA – G make effector T cells act as regulatory cells[J]. *Blood*, 2007, 109(5): 2040–2048
- 16 Brown R, Kabani K, Favaloro J, *et al.* CD86⁺ or HLA – G⁺ can be transferred via trogocytosis from myeloma cells to T cells and are associated with poor prognosis[J]. *Blood*, 2012, 120(10): 2055–2063
- 17 LeMaoult J, Caumartin J, Daouya M, *et al.* Trogocytic intercellular membrane exchanges among hematological tumors[J]. *J Hematol Oncology*, 2015, 8(1): 24
- 21 Ali R, Michael C, Madhurima V, *et al.* Surgical mesh for ventral incisional hernia repairs: understanding mesh design[J]. *Plast Surg (Oakv)*, 2016, 24(1): 41–50
- 22 Jim R, Shiva J, Patrick C, *et al.* Minimal abdominal adhesions after Sepramesh repair of a parastomal hernia[J]. *Can J Surg*, 2009, 52(5): 211–212
- 23 Bhanot P, Franklin BR, Patel KM. Proceed? Mesh for Laparoscopic Ventral Hernia Repair[J]. *JLS*, 2013, 17(4): 565–569
- 24 Lepere M, Benchetrit S, Debaert M, *et al.* A multicentric comparison of transabdominal versus totally extraperitoneal laparoscopic hernia repair using PARIETEX[®] meshes[J]. *JLS*, 2000, 4(2): 147–153
- 25 Martin P, Barбора E, Zbyněk T, *et al.* Abdominal closure reinforcement by using polypropylene mesh functionalized with poly – ε – caprolactonenanofibers and growth factors for prevention of incisional hernia formation[J]. *Int J Nanomed*, 2014, 9(1): 3263–3277
(收稿日期: 2017 – 07 – 16)
(修回日期: 2017 – 09 – 15)
- 51 Locafaro G, Amodio G, Tomasoni D, *et al.* HLA – G expression on blasts and tolerogenic cells in patients affected by acute myeloid leukemia[J]. *J Immunol Res*, 2014, 2014: 636292
- 52 Bielska M, Bojo M, Klimkiewicz – Wojciechowska G, *et al.* Human leukocyte antigen – G polymorphisms influence the clinical outcome in diffuse large B – cell lymphoma[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2015, 54(3): 185–193
- 53 Colonna M, Navarro F, Bellon T, *et al.* A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and myelomonocytic cells[J]. *J Exp Med*, 1997, 186(11): 1809–1818
- 54 Colonna M, Samaridis J, Cella M, *et al.* Human myelomonocytic cells express an inhibitory receptor for classical and nonclassical MHC class I molecules[J]. *J Immunol*, 1998, 160(7): 3096–3100
- 55 Naji A, Menier C, Maki G, *et al.* Neoplastic B – cell growth is impaired by HLA – G/ILT2 interaction[J]. *Leukemia*, 2012, 26(8): 1889–1892
- 56 Jesionek – Kupnicka D, Bojo M, Prochorec – Sobieszek M, *et al.* HLA – G and MHC class II protein expression in diffuse large B – cell lymphoma[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2016, 64(3): 225–240
- 57 Maki G, Hayes GM, Naji A, *et al.* NK resistance of tumor cells from multiple myeloma and chronic lymphocytic leukemia patients: implication of HLA – G[J]. *Leukemia*, 2008, 22(5): 998–1006
(收稿日期: 2017 – 08 – 08)
(修回日期: 2017 – 09 – 16)