

的具有激活子功能的调节反式作用因子的控制,它使免疫反应激活因子基因编码组成性反式作用激活因子,后者与Ⅰ类基因的组成性调节区域的DNA结合起正调控作用,引起MHCⅠ类基因转录。而在诱导性MHCⅠ类抗原表达中,IFN- γ 激活诱导性反式作用激活因子,与Ⅰ类抗原诱导性调节区域结合起正调控作用而加速转录过程^[8]。由于MHC基因的复杂性和其调控区的多态性,不同细胞系之间,IFN的诱导MHC表达的能力也不同。

研究中发现在不表达H-2Ⅰ类抗原的纤维肉瘤和肺癌细胞系中,MHCⅠ类基因不发生转录,但可被IFN- γ 诱导发生转录;被转染的MHCⅠ类基因能发生转录,并可检测到游离的Ⅰ类抗原重链和 β_2m 分子,只有在IFN- γ 作用下两者才能组装成完整的Ⅰ类抗原分子,这说明不仅MHCⅠ类抗原重链基因的转录被抑制,而且组装Ⅰ类抗原分子及输送至细胞表面表达所必需的基因也被抑制,这个基因可能是多肽输送基因(peptide transporter gene)。因此,IFN调节MHC表达时,两个基因的转录过程需同时被激活^[19]。

因MHC基因系统非常复杂,IFN调节其表达的分子机制仍不十分清楚,对它的研究有

助于人为控制MHC的表达,使肿瘤免疫治疗的敏感性增加,达到排斥肿瘤的目的。

参考文献

1 Lokshin A et al. J Natl Cancer Inst,1995;87:206-212
2 Schmidt H et al. Immunobiol,1987;174:51-66
3 Hakem R et al. J Immunol,1989;142:297-305
4 Hakem R et al. In J Cancer,1991;(supplement 6):2-9
5 Schmidt H et al. Immunogenetics,1990;31:245-252
6 Esteban F et al. Int J Cancer,1989;43:436-442
7 Ruiz-Cabello F et al. In J Cancer,1991;(supplement 6):123-130
8 Accolla RS et al. Int J Cancer,1991;(supplement 6):20-25
9 Bottger EC et al. Immunogenetics,1988;28:215-220
10 Kern MJ et al. Immunogenetics,1989;30:258-265
11 Schwartz R et al. Int J Cancer,1985;35:245-250
12 Halloran PF et al. Transplantation,1986;41:413-420
13 Ponzoni M et al. Int J Cancer,1993;55:817-823
14 Real FX et al. J Immunol,1988;140:1571-1576
15 Lahat N et al. Cancer Res,1993;53:3943-3947
16 Vegh Z et al. Mol Immunol,1993;30:849-854
17 Korber B et al. Proc Natl Acad Sci USA,1987;84:3380-3384
18 Tovey MG et al. Proc Natl Acad Sci USA,1987;84:5038-5042
19 Kaklamanis L et al. Cancer Survey (A New Look at Tumor Immunology),1992;13:155-171
20 Medeiros LJ et al. Am J Pathol,1993;143:1086-1097

117 心脏移植排斥的效应机制

南京铁道医学院附属医院胸心外科 陈凡综述 宋惠民审阅

摘要 随着免疫抑制剂的发展,心脏移植后近期急性排斥反应得到了较满意的控制,但对慢性排斥反应却束手无策。本文从细胞免疫学角度阐述了抗原直接和间接途径抗原提呈及其在急慢性排斥反应中的意义,T细胞和其亚群在排斥反应中的作用,并对作用机理作了探讨。

关键词 心脏移植排斥 主要组织相容复合物 穿孔素

心脏移植已作为终末期心脏病唯一有效治疗手段广泛开展。据1994年底统计,全世界已有200多个医疗中心开展心脏移植,总例数达26 704例,术后1年存活率超过85%,5年存活率也达70%以上。我国虽起步较晚但也取得了

不少成功经验。尽管如此,对心脏移植排斥机理认识仍不充分,各种急慢性排斥反应也难以避免,导致移植心脏功能衰退和广泛血管硬化,已成为目前进一步提高存活率的严重障碍。鉴于此,本文就心脏移植排斥反应机制研究近况作

一综述。

一、异型抗原识别的分子基础

1. 主要组织相容性复合体(MHC)

MHC 编码产物称 MHC 分子或同种异体抗原,负责细胞间相互识别及诱导免疫应答,它在移植排斥中起着至关重要的作用,但也是器官移植的巨大障碍。移植排斥的本质就是宿主 MHC 系统同供体 MHC(allo-MHC)系统不相容,从而启动免疫系统对不同个体的细胞表面的 allo-MHC 发起攻击反应,而 CD4⁺T 细胞识别自身 MHC-Ⅰ分子上的 allo-MHC 源性多肽(即 MHC-外源性多肽复合物)或 allo-MHC 上的自身内源性多肽(即 allo-MHC-内源性多肽复合物)便是启动移植排斥的中心环节^[1]。

MHC-Ⅰ分子的 α_1 和 α_2 可变区外表面有一个 $20 \times 10 \times 10 \text{ \AA}$ 的沟槽,由 8~9 个氨基酸残基组成,而 MHC-Ⅱ也有一个同 MHC-Ⅰ很相似的核心结构,主要区别是沟槽由 13~26 个氨基酸残基构成,这便是多肽结合部位。由于所结合的多肽并非 MHC 本身结构,可以是各种来源,若为自身或健康细胞,此多肽为自身的或内源性多肽,结合在自身 MHC 上(即 MHC-内源多肽复合物),便不会引起免疫排斥,而在组织不相容移植时,复合物便是 MHC-外源性多肽(来自 allo-MHC)或 allo-MHC-内源性多肽,就会启动排斥反应^[2]。

2. T 细胞受体(TCR)

存在于 T_H 和 T_C 细胞表面,识别抗原时有 MHC 限制,它是以 TCR-CD3 复合体形式存在,识别抗原后由 CD3 将抗原信息传入 T 细胞内而使之活化^[3]。

3. 启动排斥反应的辅助分子

除 TCR 和 MHC 外,许多淋巴细胞和抗原提呈细胞(APC)膜表面分子也参与细胞间的相互作用,包括①粘附分子(LFA-, ICAM-1, E-LAM-1, VCAM-1 等),能加强 T 细胞和 APC 间的相互作用;②调节 TCR 信号传递的跨膜信号分子 CD4, CD8;③C-Src 家族酪氨酸蛋白激酶 P₅₆^{lck},当 CD4⁺T 细胞与 APC 上的 MHC-Ⅰ结合发生 CD4-MHC 交联,使 P₅₆^{lck} 活化,相邻

分子的酪氨酸磷酸化,使磷脂肌醇脂(PIP₂)代谢活化,T 细胞便被激活^[4]。

二、T 细胞识别异型抗原的方式

供心一旦植入受体内便被视为非己,通过体液和细胞免疫及协同作用将其排除。细胞免疫由 CD4⁺T 细胞发起,通过两条途径识别 allo-MHC-Ⅱ,一条是 CD4⁺T 直接识别供体 APC 上的 MHC-Ⅱ,称为抗原提呈的直接途径(direct presentation),另一条是宿主 APC 将 allo-MHC-Ⅱ吞噬经溶酶体处理精选出抗原关键性肽段(peptide),并同粗面内质网合成的 MHC-Ⅱ结合成多肽-MHC 复合物,表达于 APC 膜表面,被 TCR 识别,称为抗原提呈的间接途径(indirect presentation)^[5]。

1. 直接途径 同种异体反应是由 TCR, MHC 和多肽三者相互作用所致,与一般免疫应答不同的是 TCR 不但识别 MHC-外源多肽复合物,还可不受自身 MHC 限制直接识别 allo-MHC-内源性多肽复合物^[2],甚至未结合多肽的完整 allo-MHC^[2]。这里,内源性多肽就是宿主自身蛋白成分(如血红素,细胞色素等),并作为异型抗原决定簇的一种自身成份,构成异型抗原识别部位参与同种异体反应的识别和应答^[6]。一般大部分 T 细胞识别有多肽的 allo-MHC,小部分 T 细胞识别无多肽的 allo-MHC,其意义尚不清楚^[2]。研究发现 T 细胞在识别 allo-MHC 抗原时可不受自身 MHC 限制,此点有异于传统理论。关于这一点,Lechler^[7]提出了 MHC 分子相似假说(Molecular Mimicry),认为 allo-MHC 有 2 个功能位点,一个在抗原结合沟槽的 α -螺旋结构上表面氨基末端数个氨基酸残基上,为 TCR 识别部位,有 MHC 限制,称组织相容位(histotope),另一个在抗原结合沟槽内,对内源性多肽有选择性结合作用,称决定簇选择位(destope),被选择内肽的免疫源性强弱决定了同种异体反应的程度。TCR 识别抗原时将依据 allo-MHC 和自身 MHC 组织相容位的相似程度,若相似,TCR 便通过识别 allo-MHC 上自身内源性多肽来识别 allo-MHC,若不相似,则 T 细胞的实际配体便是 allo-

MHC 本身,所结合的内源性多肽便不具功能。

不管直接途径的准确分子机理如何,可以肯定,导致早期急性排斥便是直接途径的结果,且以 $CD4^+$ CTL 直接介导的可能最大^[2,5],因若将 APC 去掉而降低了抗原性的大鼠肾移植给另一只非同系大鼠,排斥反应显著减弱,如再将供体 APC 注入受体,则立即诱发强烈的供体肾排斥。相反,除去了 T 细胞的受体鼠,接受肾移植后 50 天内,将自身 T 细胞再注入可诱发急性排斥,若 50 天以后再注入便不能,因存活 50 天以上的供肾,APC 早已消失^[8]。

由此推想,移植排斥似乎与 MHC 配型无关,而与内源性多肽的免疫源性有关,既已证实它参与构成异型抗原决定簇,而此决定簇免疫源性强弱又决定了急性排斥的强度,故针对性改变内源性多肽的免疫源性就可能改变移植排斥反应强度,因而应特别注重移植心脏和受体的预处理和免疫抑制剂的应用。

2. 间接途径

同一般免疫应答反应一样,供心或释放在血循环中的 allo-MHC 或其多肽可被宿主 APC 提呈,多肽尚可进入淋巴结和脾脏中由自身 MHC 呈递给 T_H 细胞^[9]。

T 细胞接受 APC 上 MHC-外源性多肽复合物刺激为第一信号,还得再接受 APC 提供的第二信号刺激才能活化,包括 IL-1、粘附分子等。活化 T 细胞表达 IL-2mRNA^[2], $CD4^+$ T_H 在该路径中可能发挥了核心作用,因 $CD4$ 单抗能完全阻止此过程^[2]。

临床常见早期急性排斥在使用免疫制剂后,随时间推移发生率渐减少,排斥强度渐弱,但进行性供心功能衰退却在缓慢的进行,典型表现是供心广泛血管硬化,免疫制剂治疗无效。Liu^[10]用人工合成多肽技术证明,在急性排斥时,识别由间接途径抗原提呈的自身 MHC 限制 T 细胞克隆出现频率至少低于直接识别完整 allo-MHC 的 T 细胞克隆 100 倍,说明急性排斥主要由直接途径导致,推测间接途径抗原提呈在急性排斥中的作用较弱,而在慢性排斥中起着重要作用。还有实验证明间接途径诱发

的慢性排斥用环孢素治疗无效^[8]。

三、心脏移植排斥的效应机制

供心一旦被宿主视为非己,便通过这两条途径激活 T_H 和 CTL,CTL 的攻击部位主要是供心细胞膜上的 MHC-I,使细胞破裂,一个 CTL 数小时内可以损伤数十个靶细胞^[11,12]。

1. 排斥反应所涉及的淋巴细胞

排斥时首先发生心脏组织内单个核细胞浸润,初在血管周围,主要是淋巴及淋巴母细胞,随后侵入心肌间质,最终导致心肌细胞坏死。对 allo-MHC 有高度亲合力 TCR 的 T 细胞早在组织发生排斥征象前许久便已浸润心肌,对心内膜活检标本,此种细胞计数能很早预知即将出现的排斥反应^[11]。临床也发现淋巴细胞浸润程度同移植心脏功能降低及血液动力学障碍有良好的相关性。浸润细胞中既有 $CD4^+$ CTL,又有 $CD8^+$ CTL。Carlquist^[12]对 17 例心脏移植排斥病人 28 份心内膜活检浸润淋巴细胞标本用 IL-2 刺激作体外扩增实验,发现 17 份主要是 $CD4^+$ 10 份主要是 $CD8^+$ T,一份的 $CD4^+$ T 及 $CD8^+$ T 相等,平均百分率 $CD4^+$ T 49%, $CD8^+$ T 42%。通常 $CD4^+$ T_H 同血管内皮表达 MHC-II 细胞反应, $CD8^+$ CTL 同表达 MHC-I 的心肌细胞反应。近来因发现了粘附分子,对内皮细胞主动参与免疫排斥所起的作用日益受重视,因这些分子可在血流状态下介导白细胞与血管,内皮粘附,用抗粘附分子单抗可明显延长大鼠移植心脏的存活时间^[14]。

2. 浸润淋巴细胞作用机理

血 CTL 及 NK 细胞在胞质的颗粒中有穿孔素(perforin),是导致靶细胞溶解破坏的重要介质。此外尚有溶酶体酶和丝氨酸酯酶(Serine esterase),合称为 Granzymes,但最重要的还是穿孔素^[16]。体外扩增和原位杂交实验证明,移植心脏内浸润淋巴细胞也能产生这两类物质^[16]。Chen 对移植心脏心内膜标本检查证明,病理上有可疑排斥征象时,穿孔素和 Granzymes 已显著增高,且与排斥程度正相关,而未出现排斥时测定结果也正常。可以认为对心内膜标本作穿孔素等浓度测定可预知可能出

现的排斥反应^[17]。为获取 CTL 损伤心肌的直接证据,Woodley^[18]用心脏移植后 8~10 天受体鼠脾淋巴细胞以供体鼠淋巴细胞再刺激 5 天,观察它对体外培养供体心肌细胞收缩情况的影响,当 CTL/心肌细胞=1.5/1 时,30 分钟后心肌细胞收缩幅度明显降低,频率增快而不规整,呈颤动样,90 分钟后收缩近乎停止,动作电位平台期缩短,静息电位上升,并出现波动,情形颇似洋地黄中毒的后振荡电位。随收缩停止,动作电位也消失。当 CTL/心肌细胞=12/1 时,15 分便出现上述改变,18 分钟后动作电位消失,镜检见心肌细胞缩短肿胀,染色变浅。若在收缩状态改变时立即洗去培养液内的 CTL,收缩及电活动又渐恢复正常。用纯化穿孔素试验结果一样。若用抗 CD8 单抗处理 CTL 后便不能得出同样结果,而抗 CD4 单抗却无效,说明 CTL 的细胞毒作用主要是由 CD8⁺CTL 通过穿孔素导致,用钙阻滞剂也能逆转 CTL 的毒性作用,说明此过程是钙离子依赖性的。

穿孔素等尚不能解释 CTL 细胞毒作用的全部机理,因为在先天性穿孔素缺乏的小鼠也观察到类似排斥反应的细胞毒作用^[19],可能是 CTL 能通过目前尚不清楚的机制导致靶细胞发生程序性凋亡,即 CTL 同靶细胞接触后激活 Apo-1/Fas 受体,使细胞内一系列蛋白激酶激活,导致 DNA 碎裂及细胞溶解^[20]。

细胞凋亡及穿孔素均是直接置心肌细胞于死地,但临床常见轻中度心脏移植排斥,心肌并没有广泛坏死,而且心功能降低也可通过提高

免疫抑制剂用量而改善,推测免疫活性细胞还释放了某种淋巴因子,实验证明是 IL-1 和 TNF,它们能可逆地抑制心肌 cAMP 代谢从而抑制心脏功能。

移植排斥机理十分复杂,近来研究虽进展很快但仍所知甚少,使移植专家们面对慢性排斥依然束手列策,若能在移植免疫的细胞及分子生物学方面获得长足进展,心脏移植的远期效果定会大为改观的。

参考文献

- 1 O'connell JB et al. *Circulation*,1992;86:1061
- 2 Sayegh MH et al. *Transplantation*,1994;57:1295
- 3 Shokes DA et al. *Immunol Today*,1994;15:32
- 4 Schwarts MA et al. *Trends Cell Biol*,1992;2:304
- 5 Watschinger B et al. *Transplantation*,1994;57:572
- 6 陈平. *上海免疫学杂志*,1993;4:241
- 7 Lechler RI et al. *Immunol Lett*,1992;34:63
- 8 Sawyer GJ et al. *Transplant Immunol*,1993;1:77
- 9 Suciu-Foca N et al. *Transplantation*,1991;52:594
- 10 Liu Z et al. *J Exp Med*,1993;177:1643
- 11 Ouwehand AJ et al. *Transplantation*,1993;56:1223
- 12 Carlquist JF et al. *J Heart Lung Transplant*,1993;12:748
- 13 Vaessen LM. *Clin Exp Immunol*,1992;88:213
- 14 Orosz CG et al. *Transplantation*,1993;56:453
- 15 Podack ER et al. *Annu Rev Immunol*,1991;9:129
- 16 Oriffiths GM et al. *Eur J Immunol*,1991;21:687
- 17 Chen RH et al. *Transplantation*,1993;55:146
- 18 Woodley SL et al. *Circulation*,1991;83:1490
- 19 Kagi D et al. *Nature*,1994;369:31
- 20 Mapara MY et al. *Eur J Immunol*,1993;23:702

118 T 细胞受体与肿瘤免疫治疗

上海第二医科大学微生物学教研室
上海第二医科大学肿瘤生物治疗中心

钟晓松综述 张希衡 陆德源审阅

摘要 肿瘤免疫治疗已明确有大量 T 淋巴细胞浸润到肿瘤组织,在一定肿瘤中 T 细胞受体 (TCR) V 区受体库(receptoire)明显表达与识别肿瘤相关抗原(Tumor-associated antigen TAA)有关,形成的 TCR-MHC-肽三元复合物,在共刺激因子(Costimulating factor)参与下发挥细胞毒效应。本文进一步评估了用 T 细胞进行免疫治疗的前景。