

Jagged1 在树突状细胞诱导免疫耐受中的作用

滕振平 邢飞跃* 于哲 曾耀英

(暨南大学组织移植与免疫教育部重点实验室, 广州 510632)

摘要 Jagged1 是 Notch 信号通路中的一个配体, 近来许多研究表明, 它能诱导树突状细胞的成熟, 并通过促使 T 淋巴细胞分化成调节性 T 细胞或 II 型 T 辅助细胞, 从而诱导免疫耐受。

关键词 Jagged1; 树突状细胞; 免疫耐受

Notch 原指果蝇中的一种特定的突变形式, 是一个进化上十分保守的跨膜受体蛋白家族, 它作为受体能与相邻细胞表面表达的配体相互作用实现细胞间的信号传递, 从而决定动物发育过程中多种细胞的命运^[1]。Notch 受体在脊椎动物中有 4 个同源体, 即 Notch1、Notch2、Notch3 和 Notch4。Notch 的配体因种属而异, 在果蝇为 Delta 和 Serrate, 在线虫为 Lag-2, 也称 DSL(Delta-Serrate-Lag-2)配体, 在哺乳动物分别是 Jagged1、Jagged2、delta-like1、delta-like3 及 delta-like4^[2]。近来发现 Jagged1 在诱导树突状细胞(dendritic cell, DC)成熟及介导机体免疫耐受中扮演着重要的角色^[1, 3]。

1 Jagged1 的生物学特性

抗原提呈细胞是指能捕捉、加工、处理抗原, 并将抗原提呈给抗原特异性淋巴细胞的一类免疫细胞。DC 是提呈能力最强的抗原提呈细胞, 抗原提呈细胞还有 B 细胞及巨噬细胞等。Jagged1 在抗原提呈细胞膜上表达丰富, 属 I 型单次跨膜糖蛋白, 定位于人的染色体 20p11-12, 全长 5.59 kb, 编码 1 218 个氨基酸, 分子量为 135 kDa。胞外段含有由 15 个表皮生长因子重复序列构成、含有 1 个富含半胱氨酸的 DSL 模体, 其在与 Notch 的相互作用中起关键作用^[4, 5]。Jagged1 与 Notch 相互作用后, Notch 细胞内区裂解下来并进入细胞核, 在转录因子作用下调节靶基因的转录(图 1)。毛状裂解增强子(hairy/enhancer of split, HES)和 Deltex 是 Notch 信号通路的下游转录因子, 将 Jagged1 的阳性细胞株用于转基因混合淋巴细胞培养(mixed lymphocyte culture, MLC), 12 h 后, HES 和 Deltex 的 mRNA 含量分别上调 8 倍和 3 倍, 这表明 Notch 信号通路可被 Jagged1 激活^[6]。Jagged1 不仅与 Notch1 结合, 还能与 Notch2

及 Notch3 结合, 提示 Jagged1 为多种 Notch 受体的配体。许多研究证实, Jagged1-Notch 信号通路在维持正常造血前体细胞及增殖过程中具有重要作用^[7], 也有文献报道它能使哺乳动物细胞处于未分化状态^[8]。最新研究表明, Jagged1 在小鼠卵巢血管内皮细胞上的表达有助于小鼠卵子发生和卵巢血管形成^[9], Jagged1 还参与调节骨形态发生蛋白诱导的成骨细胞的分化^[10]及脑内神经干细胞的自我更新^[11]。Jagged1 和角质细胞系来源的神经营养因子相互作用控制鼠的输尿管憩室的发育, 从而调节肾发生^[12]。临床研究发现, Jagged1 在白血病细胞中大量表达, 它的异常表达会导致白血病细胞的异常扩增^[13], Jagged1 还可作为诊断前列腺癌转移和复发的有用标记^[14]。Jagged1 基因突变在常染色体显性遗传病 Alagille 综合征的发生中起关键作用^[15]。

2 Jagged1 诱导 DC 成熟

DC 因其表面有许多树枝状突起而得名, 它在体内的数量很少但分布广泛且迁徙力强, 为一类异质性细胞群体, 主要有 3 种来源: (1)骨髓 CD34⁺ 细胞分化为 DC。(2)外周血单核细胞分化为 DC。(3)淋巴系前体细胞分化为 DC。Weijzen 等^[16]通过流式细胞仪检测经 Jagged1 处理的 DC 发现, DC 表面有明显的成熟标志如 CD80、CD83、CD86、主要组织相容性复合分子(MHC)-I 和 II、协同刺激分子 B7 等表达, 经脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)作用后, DC 也有相似的表达, 而未经 Jagged1 处理过的 DC 则无这些成熟标志。已知未成熟 DC 有内吞抗原的

收稿日期: 2005-10-08 接受日期: 2006-04-07

国家自然科学基金(No.30471635), 广东省自然科学基金(No.04010451, No. 006033), 暨南大学引进优秀人才培养启动基金(No.51204058)资助项目

* 通讯作者。Tel: 020-33010358, E-mail: fyxlj@hotmail.com

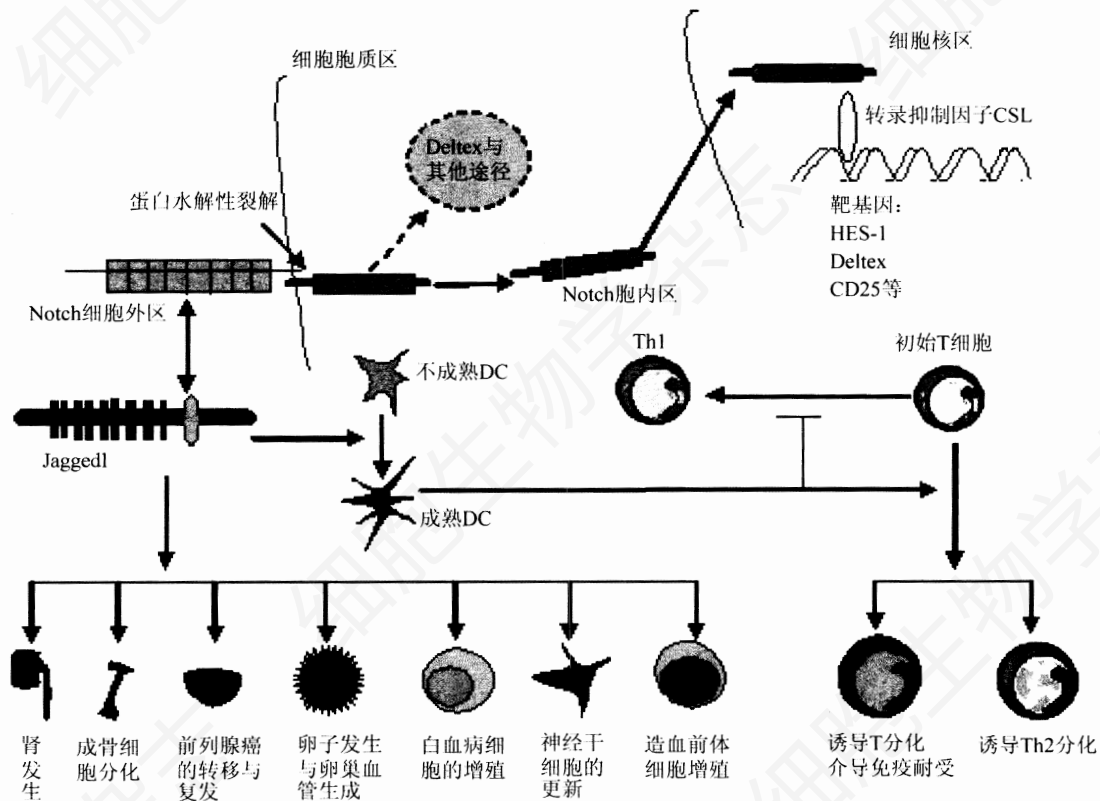


图1 Jagged1触发的Notch信号通路及其生物学功能

能力,用自淬灭染色剂结合的牛血清白蛋白(BSA)温育DC,如果BSA能被DC内吞则可发出绿色荧光,通过流式细胞仪检测异硫氰酸荧光素和CD83的表达,结果表明经Jagged1处理过的DC不能内吞BSA,但高表达CD83,而未经Jagged1处理的DC能迅速内吞BSA,并有一个高的荧光信号,且CD83水平较低。这说明经LPS或Jagged1处理过的DC无内吞抗原的能力,为成熟DC。IL-12是T细胞活性的标志,通过检测T细胞的活性可检测DC是否成熟,DC经Jagged1处理24 h后,用ELISA检测,结果表明经Jagged1处理过的DC表达高水平的IL-12,而未经Jagged1处理的DC几乎不表达IL-12,这表明经Jagged1处理过的DC能显著增强T细胞的活性,为成熟DC。免疫组化染色显示Jagged1表达在角质细胞表面,将角质细胞与不成熟的DC共培养,可导致MHC-II、CD80、CD83、CD86的表达上调。成纤维细胞低表达Jagged1,将人的Jagged1转染进成纤维细胞并与不成熟的DC共同培养,并设空白对照,经检测发现CD80、CD83、CD86、IL-12、IFN- γ 的表达水平类似于经LPS处理过的DC,且与对照组有明显区别。上述所有研

究均表明Jagged1能诱导DC的成熟,但这并不能充分证明在体内DC的成熟就是由Jagged1所引起。Cheng等^[17]将胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)分成Notch1^{+/+} ESC和Notch1^{-/-} ESC两组,分别加入TNF- α ,培养5 h,发现Notch1^{+/+} ESC组淋巴系DC和髓系DC的数量是Notch1^{-/-} ESC组的2倍,从MHC-II类分子、B7分子等DC成熟标志的水平来看,前者也是后者的2倍,这说明Notch1的缺失不但影响ESC向DC分化,而且能阻止DC成熟。研究者又从小鼠骨髓中分离造血祖细胞(hematopoietic progenitor cell, HPC),分为Notch1^{+/+} HPC和Notch1^{-/-} HPC两组(Notch1^{+/+} HPC的Notch1含量是Notch1^{-/-} HPC的2倍多),分别加入LPS诱导HPC分化,24 h后两组的总DC数量大致相同,但Notch1^{-/-} HPC表面MHC-II、B7和CD40分子的表达却明显减少;通过异基因MLC发现所有Notch1^{+/+} HPC产生的DC对T细胞刺激能力明显高于对照组,这进一步提示Jagged1-Notch信号通路在诱导DC成熟中起着重要作用。

将HPC与经Jagged1转染的单层成纤维细胞共同培养,并以未转染Jagged1的单层成纤维细胞作

对照, 5 h 后提取细胞核蛋白, 经电泳迁移试验检测 Notch1 的转录激活因子 -C 启动子结合蛋白 1(c-promoter binding protein-1, CBF-1), 发现 Jagged1 能持续诱导 CBF-1 增高, 提示 CBF-1 在 Jagged1 激活 Notch 信号通路、诱导 DC 成熟中起作用。Bash 等^[18]研究表明, 固有表达 c-Rel 的脾脏 B 细胞高表达 Jagged1, Jagged1 是 Rel/NF- κ B 的应答基因, Rel 家族成员 c-Rel 和 RelA 均能诱导 Jagged1 基因表达。用豆蔻酰佛波乙脂(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)和离子霉素处理的 Jurkat T 细胞能显著激活 NF- κ B, 导致 Jagged1 的含量增加 4 倍, NF- κ B 的作用可被 I- κ B α 的突变体所阻断, 然后, 通过共培养 T 细胞中 HES-1 转录水平和共培养 B 细胞中 CD23 转录水平上调证明, 在表达 c-Rel 的细胞表面表达 Jagged1 与表达 Notch1/TAN-1 受体的淋巴细胞相互作用, 启动 Notch 信号下游通路。这些结果表明, c-Rel/NF- κ B 通过诱导 Jagged1 基因表达而触发邻近细胞的 Notch 信号通路。Cheng 等^[19]用荧光素酶报告基因观察 NF- κ B 的转录活性, 结果显示 Notch1^{+/+} HPC 的 NF- κ B 活性明显上调, 比正常水平高 15 倍, 而在 Notch1^{-/-} HPC 中, NF- κ B 活性是正常水平的 1/4。以上结果表明 NF- κ B 也可能参与了 Jagged1 诱导 DC 成熟的过程。

也有报道认为, Notch 信号通路并不影响 DC 的发育。Radtke 等^[20]用野生型与 Notch1^{-/-} 鼠的骨髓重组产生混合骨髓嵌合体小鼠研究发现, 该鼠胸腺中 CD4⁺ CD8⁻、CD4⁻ CD8⁺、CD4⁺ CD8⁺、CD4⁻ CD8⁻ 细胞及外周 CD3⁺ T 细胞均缺乏。而胸腺、脾脏及皮肤中 MHC-II⁺ CD11c⁺ 细胞数量均无明显变化。提示 Notch1 的缺失使 T 细胞发育早期便受到严重损害, 但胸腺及外周 DC 的发育并不依赖 Notch1。

3 Jagged1 诱导 DC 介导免疫耐受

目前认为 CD4⁺ T 细胞能抑制免疫反应, 并保持自身免疫耐受, 这些抑制性 CD4⁺ T 细胞称为调节性 T 细胞(regulatory T cell, Tr)。近年来发现 DC 与 Tr 关系密切, DC 不仅能诱导抗原特异性的 Tr, 还能特异募集 Tr 到局部淋巴器官发挥其抑制作用。Hoyne 等^[1]给免疫过的小鼠分别注射 Jagged1⁺ DC 和 Jagged1⁻ DC, 结果发现注射 Jagged1⁺ DC 的小鼠的 T 细胞对同一抗原的反应性降低了 3/4, 而 Jagged1⁻ DC 组小鼠的 T 细胞对同一抗原的反应性则增强。如果分别将 Jagged1⁺ DC 和 Jagged1⁻ DC 注射初生小

鼠, 使小鼠接受抗原肽 p1,110-131 抗原冲击, 两周后用 Derp1 免疫小鼠, 当再次用 Derp1 刺激时, Jagged1⁻ DC 组小鼠的淋巴结细胞表现出明显的 T 细胞扩增反应, 而 Jagged1⁺ DC 则导致 90% 的 T 细胞扩增反应被抑制。同时发现注射 Jagged1⁺ DC 组淋巴结细胞中 IL-2 和 INF- γ 的水平显著降低, 已知缺少 IL-2, T 细胞不能增殖而处于免疫无能状态; 缺少 INF- γ 能抑制 Th1 分化并促进 Th2 分化, 从而促进免疫耐受, 因而提示 Jagged1 可诱导 DC 介导免疫耐受。Vigouroux 等^[21]也取得相似结果, 他们用 EB 病毒阳性的淋巴母细胞样细胞株(Epstein-Barr virus positive lymphoblastoid cell line, EBV-LCL)作为抗原提呈细胞, 使 Jagged1⁺ EBV-LCL 或 EBV-LCL 与自体 T 细胞共培养, Jagged1⁺ EBV-LCL 导致细胞毒性 T 细胞的活性降低 65%, 并使 T 细胞的扩增能力降低 35%。另外, Yvon 等^[6]发现受 Jagged1⁺ EBV-LCL 刺激的 T 细胞所分泌的 IL-2 减少 65%, IFN- γ 减少 80%, 而 TGF- β 的含量却明显升高, 提示受 Jagged1⁺ EBV-LCL 刺激的 T 细胞具有 Tr 的特性。过表达 Jagged1 的 APC 可诱导 CD4⁺ T 细胞向 Tr 分化, 后者能阻止初次和二次免疫应答, 从而诱导特异性免疫耐受, 这可为 Jagged1⁺ DC 诱导免疫耐受提供佐证。胸腺上皮细胞表达 Jagged1, 通过 γ 分泌酶裂解淋巴样前体细胞(common lymphoid precursors, CLP)的 Notch 胞内结构域(Notch intracellular domain, NICD)而激活 Notch 信号通路, NICD 进入核内与 CSL(在果蝇为 Cbf-1, 线虫为 Su, 脊椎动物是 Lag-1)结合形成转录激活复合物, 可能促使 T 细胞谱系特异性基因的转录, 从而使 CLP 向 Tr 方向发展, 在外周诱导 T 细胞凋亡或失能, 引起免疫耐受。

也有人认为 DC 诱导 CD4⁺ T 细胞分化形成 Th2 是导致免疫耐受的主要原因^[22]。DC 通过 Notch 信号通路指导 T 细胞的分化, DC 的 Toll 样受体识别内生细菌、病毒等病原体, 并将它们内化, IL-12 是强有力的促进 Th1 分化的细胞因子, 在 Delta1 参与下诱导 CD4⁺ T 细胞分化成 Th1, 同时产生 IFN- γ ; DC 识别寄生虫等病原体, 在 Jagged1 的参与下诱导 CD4⁺ T 细胞分化成 Th2, 同时生成 IL-4。Amsen 等^[23]用表达 MHC-II 类 IE^k 的淋巴细胞系作为抗原提呈细胞, 将 T 细胞受体转基因小鼠的初始 CD4⁺ T 细胞分别与接受突变结肠癌(mutated colorectal cancer, mcc)基因编码的抗原肽冲击的 Jagged1⁺、Delta1⁺ 抗

原提呈细胞和 IE⁺ 载体(作为对照)共培养, 5 天后用抗 CD3 抗体再刺激, 48 h 后取细胞上清液, ELISA 分析表明 Jagged1⁺ 抗原提呈细胞组的 IL-4 含量最高, 是对照组的 3 倍, 而 Delta1⁺ 抗原提呈细胞组的 IL-4 含量仅为对照组的 1/2; 相反, Delta1⁺ 抗原提呈细胞组的 IFN- γ 含量最高, 是对照组的 5 倍, Jagged1⁺ 抗原提呈细胞组的 IFN- γ 水平则无明显变化。进一步将初始 CD4⁺ T 细胞分为 RBPJ κ ^{+/+} 和 RBPJ κ ^{-/-} 两组, 分别与经 LPS 处理的来自 Myd88^{-/-} 小鼠的 DC 共同培养, 5 天后用 PMA 和离子霉素再刺激, 发现 RBPJ κ ^{+/+} 组的 IL-4 含量明显升高, 以上结果表明 Jagged1-Notch 信号通路是通过位于 3' 端增强子上 RBPJ κ 位点直接调节 IL-4 基因转录以指导 Th2 分化。此外, Vigouroux 等^[21]将 Jagged1⁺ EBV-LCL 和 EBV-LCL 在自体 T 细胞中培养, 结果显示前者的 IL-10 含量是后者的 9 倍, 提示 IL-10 可能参与了 Jagged1 诱导 DC 介导免疫耐受。

4 小结

Jagged1 在抗原提呈细胞的细胞膜上表达丰富, 为 Notch1 受体的配体, DC 细胞膜上的 Jagged1 和 Notch1 与 CD4⁺ T 细胞表面相应的 Notch 受体和配体相互作用, 诱导 CD4⁺ T 细胞分化形成 Tr 或 Th2, 从而介导免疫耐受。CBF-1 和 NF- κ B 可能参与了这

个过程, 其确切机制有待阐明。这些发现可能为临床解决组织移植排斥问题提供新的对策。

参考文献 (References)

- [1] Hoyne GF *et al.* *Int Immunol*, 2000, **12**: 177
- [2] Hernandez-Hoyos G *et al.* *Semin Cell Dev Biol*, 2003, **14**: 121
- [3] Ohishi K *et al.* *Blood*, 2001, **98**: 1402
- [4] Gray GE *et al.* *Am J Pathol*, 1999, **154**: 785
- [5] Fleming RJ. *Semin Cell Dev Biol*, 1998, **9**: 599
- [6] Yvon ES *et al.* *Blood*, 2003, **102**: 3815
- [7] Nomaguchi K *et al.* *Exp Hematol*, 2001, **29**: 850
- [8] Varnum-Finney B *et al.* *Blood*, 1998, **91**: 4084
- [9] Vorontchikhina MA *et al.* *Gene Expr Patterns*, 2005, **5**: 701
- [10] Nobta M *et al.* *J Biol Chem*, 2005, **280**: 15842
- [11] Nyfeler Y *et al.* *EMBO J*, 2005, **24**: 3504
- [12] Kuure S *et al.* *Mech Dev*, 2005, **122**: 765
- [13] Tohda S *et al.* *Leuk Lymphoma*, 2001, **42**: 467
- [14] Santagata S *et al.* *Cancer Res*, 2004, **64**: 6854
- [15] Boyer J *et al.* *Hum Genet*, 2005, **116**: 445
- [16] Weijzen S *et al.* *J Immunol*, 2002, **169**: 4273
- [17] Cheng P *et al.* *Blood*, 2003, **102**: 3980
- [18] Bash J *et al.* *EMBO*, 1999, **18**: 2803
- [19] Cheng P *et al.* *J Immunol*, 2001, **167**: 4458
- [20] Radtke F *et al.* *J Exp Med*, 2000, **191**: 1085
- [21] Vigouroux S *et al.* *J Virol*, 2003, **77**: 10872
- [22] Lehar SM *et al.* *Nature*, 2004, **430**: 150
- [23] Amsen D *et al.* *Cell*, 2004, **117**: 515

Roles of Jagged1 in the Immuno-tolerance Induced by Dendritic Cells

Zhen-Ping Teng, Fei-Yue Xing*, Zhe Yu, Yao-Ying Zeng

(Institute for Tissue Transplantation and Immunology, Key Laboratory of Minister of Education, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract Jagged1 is one of ligands from Notch receptors in vertebrates. Recently, many researches indicate that it may induce maturation of dendritic cells, and that it may promote T lymphocytes to deviate to regulatory T cells or T-helper 2 cells, which results in the immuno-tolerance.

Key words Jagged1; dendritic cell; immuno-tolerance

Received: October 8, 2005 Accepted: April 7, 2006

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30471635), the Natural Science Foundation of Guangdong Province (No.04010451, No.5006033), the Foundation of Talent Program of Jinan University (No.51204058)

*Corresponding author. Tel: 86-20-33010358, E-mail: fyxlj@hotmail.com