

# 趋化因子及其受体介导的细胞迁移与 移植物抗宿主病

曹琦 张雁云\*

(上海交通大学医学院, 上海市免疫学研究所, 上海 200025)

**摘要** 移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)是同种异基因骨髓移植中的重要并发症。供者T细胞在输入入受者体内后迁移进入淋巴组织, 识别受者同种异基因抗原, 被受者抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)激活, 进而活化、增殖分化, 介导急性GVHD的发生。现有的研究已表明, 活化的异体效应性T细胞经淋巴组织迁移进入黏膜组织以及实质性靶器官, 如消化道、肝脏、肺脏和皮肤, 进而造成这些器官和组织的损伤。因此, 分子间相互作用尤其是趋化因子及其受体介导的效应性细胞的迁移是GVHD发生发展过程中关键的一环, 受到了广泛的关注。进一步以趋化因子及其受体为靶标, 亦可能形成有效的免疫生物学治疗, 具有广阔的应用前景。

**关键词** 趋化因子及趋化因子受体; 异体效应性T细胞迁移; 移植物抗宿主病

骨髓移植, 确切的说是造血干细胞的移植, 是现今治疗血液病以及许多非血液疾病, 如癌症、自身免疫性疾病等的根本性治疗方法。然而难以避免的移植排斥的发生成为其应用中的一大障碍, 其中移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)越来越受到广大研究者的重视。在GVHD的发生发展过程中, 由相关分子尤其是趋化因子及其受体介导的异体T细胞的迁移和浸润是造成GVHD靶组织损伤的重要原因, 并日益成为研究的热点。

## 1 趋化因子-趋化因子受体

### 1.1 趋化因子

趋化因子是一类具有趋化作用的小分子(8~12 kDa)多肽。趋化因子是免疫系统的信使分子和重要组织者, 并且在协调初级和二级淋巴器官微环境中发挥重要作用。趋化因子通过G蛋白偶联的方式与细胞表面特定的趋化因子受体结合并且发挥多种作用。趋化因子直接介导特定细胞的迁移; 在组织内, 不同的趋化因子诱导和趋化T细胞、B细胞分别进入各自有着特定微环境的生理分区内<sup>[1,2]</sup>; 趋化因子还在血管生成、造血过程、免疫细胞活化中发挥重要的作用<sup>[3-6]</sup>。根据多肽链一级结构中第1、2个半胱氨酸(Cys)排列的方式, 可将趋化因子超家族分为若干亚族: (1)C-X-C亚族(或 $\alpha$ 亚族XCL1~16), 除NAP-4以外, 这个亚族其余成员分子中N端两个

Cys之间被另一个氨基酸残基所分隔; (2)C-C亚族(或 $\beta$ 亚族CL1~28), 第1、2两个Cys是相连的。趋化因子C-X-C和C-C亚族的生物学活性有明显的差别。C-X-C亚族中, 除 $\gamma$ IP-10、Mig和PF-4外, 其余成员均具有趋化和激活中性粒细胞的活性。C-C亚族主要趋化和激活单核细胞和某些T细胞亚群。(3)C亚族, 包括XCL1和XCL2。(4)CX<sub>3</sub>C亚族, 包括CX<sub>3</sub>CL1。趋化因子通过7次穿膜的G蛋白偶联受体发挥作用, 经活化性蛋白和激酶, 比如丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAP-kinase)、JAK蛋白酪氨酸激酶信号转导及转录激活因子(janus kinase-signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT)、磷脂酰肌醇3激酶, 介导细胞骨架的改变、整合素亲和力活力的改变、淋巴细胞增殖分化和凋亡<sup>[7]</sup>。

### 1.2 趋化因子受体

趋化因子受体属于G蛋白偶联受体, N端在胞膜外, C端位于胞浆内, 为7次穿膜结构。趋化因子受体在几乎所有的淋巴细胞表面尤其是活化的淋巴细胞表面都有表达, CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞在活化的不同阶段趋化因子受体表达不同。活化的T细胞表达多种趋化因子受体, 能够对多种趋化因子反应。有研究显示, T细胞的趋化因子受体表达受到

表1 趋化因子超家族亚族及其受体

趋化因子	趋化因子受体
CC 型趋化因子 / 趋化因子受体家族	
CCL1, CCL121	CCR8
CCL2	CCR2
CCL3, CCL4	CCR5
CCL3, CCL61, CCL7, CCL91, CCL16	CCR1
CCL8, CCL11, CCL24, CCL26, CCL28	CCR3
CCL101	未知
CCL17, CCL22	CCR4
CCL19	CCR7
CCL20	CCR6
CCL21	CCR7
CCL25	CCR9
CCL27, CCL28	CCR10
CXC 型趋化因子 / 趋化因子受体家族	
CXCL1~3, CXCL5~7	CXCR2
CXCL4	未知
CXCL9~11	CXCR3
CXCL12	CXCR4
CXCL13	CXCR5
CXCL14	未知
CXCL15	未知
CXCL16	CXCR6
XC 型趋化因子 / 趋化因子受体家族	
XCL1~2	XCR1
CX <sub>3</sub> C 型趋化因子 / 趋化因子受体家族	
CX <sub>3</sub> CL1	CX <sub>3</sub> CR1

细胞因子的调控<sup>[8]</sup>。在二级淋巴器官激活后, T 细胞下调 CCR7 的表达, 减低了向淋巴组织的趋化性, 效应性 T 细胞, 上调表达了与炎症趋化因子相关的一系列受体, 向炎症部位趋化<sup>[9,10]</sup>。T<sub>H</sub>1/T<sub>C</sub>1 细胞选择性表达 CCR1、CCR2、CCR5、CXCR3 和 CXCR6<sup>[11]</sup>, 而 T<sub>H</sub>2/T<sub>C</sub>2 细胞选择性上调 CCR4, 有些研究表明它们还可能上调表达了 CCR3<sup>[12]</sup>。

### 1.3 趋化因子 - 趋化因子受体

趋化因子 - 趋化因子受体有重复性, 表现为多个趋化因子可与同一个趋化因子受体结合, 或者一个趋化因子可与多个趋化因子受体结合(表 1)。目前至少确认了 10 种 CC 趋化因子受体, 6 种 CXC 趋化因子受体, 1 种 C 趋化因子受体和 1 种 CX<sub>3</sub>C 趋化因子受体。趋化因子 - 趋化因子受体在生理、病理条件下发挥着重要的复杂的功能和作用<sup>[13]</sup>。

## 2 异体 T 淋巴细胞的迁移

### 2.1 淋巴细胞迁移模式

淋巴细胞的迁移是多步骤的过程<sup>[14,15]</sup>。通过选择素及其配体的相互作用, 淋巴细胞在特异性高内

皮小静脉(HEV)内可逆性聚合、滚动。在滚动过程中遇到 HEV 表面分泌的趋化因子, 通过趋化因子 - 趋化因子受体相互作用, 淋巴细胞与 HEV 内皮表面紧密结合。然后经变形, 通过 HEV 壁, 进入淋巴结<sup>[10]</sup>。但是, 淋巴细胞究竟是如何一步步迁移进入实质器官至今尚不明, 这一过程很可能与血管渗透性改变, 特异性选择素 - 选择素配体的表达, 趋化因子 - 趋化因子受体的作用, 整合素 - 整合素配体三组因素的相互作用密切相关, 而这其中, 趋化因子 - 趋化因子受体的作用尤其重要。

### 2.2 异体 T 细胞的迁移

通过实验性小鼠 GVHD 模型的研究, 在移植后, 供者的 T 细胞陆续进入淋巴组织, 而这一现象与受者所处的状态以及基因相差的程度没有显著的关联。在移植后的 2~3 天内, 同种异体(供者的)T 细胞在淋巴组织中扩增。在移植后 3~7 天, GVHD 的各个靶组织, 包括消化道、肝脏、肺脏、皮肤, 同种异体 T 细胞数量增加。经过分析比较脾脏和 GVHD 靶组织(如肝脏、皮肤)中 T 细胞效应性细胞因子表达, 表明移植后的最初几天里, 供者 T 细胞进入淋巴组织, 在淋巴组织中被活化, 然后迁移进入靶组织<sup>[16,17]</sup>。除此以外, 若在移植的起始时就给予能够阻断淋巴细胞从淋巴组织中的迁出的 1- 磷酸神经鞘氨醇的阻断剂 FTY720<sup>[18]</sup>, 可减少靶组织中淋巴细胞的浸润, 降低 GVHD 的致死率<sup>[19]</sup>。这些结果表明, T 细胞并不是在靶组织中直接扩增, 而是在淋巴组织中经过活化后迁移进入靶组织, 因而此迁移过程是 GVHD 发生发展的重要环节。

## 3 移植物抗宿主病(GVHD)

由移植物中所含的供者 T 细胞识别受者组织抗原而致敏、增殖、分化, 进而直接或间接攻击受者的靶组织, 造成受者组织器官产生病理性损伤, 称为移植物抗宿主病。GVHD 是异基因造血干细胞移植后的主要并发症之一, 其发生率高达 40%~60%, 在无关供者移植中更是高达 70%~80%。急性 GVHD 的发生发展大致有 3 个时相<sup>[20]</sup>。首先, 移植前预处理时期, 比如辐照, 免疫抑制剂使用等。移植前的处理, 损伤了受者的肝脏、胃肠道, 刺激和上调了多种炎症介质的分泌和表达, 包括白介素 -1 (interleukin-1, IL-1), 肿瘤坏死因子 - $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), 黏附分子等。同时这些细胞因子上调了受者组织内抗原提呈细胞(antigen

presenting cell, APC)的主要组织相容性抗原(major histocompatibility complex, MHC)和共刺激分子的表达。其次是激活时相, 供者的T细胞经由受者APC直接递呈、供者APC间接递呈、受者非专职APC(如血管内皮细胞等)递呈三条主要途径激活, 并且向 $T_H1/T_C1$ 分化, 这些细胞进而迁移入急性GVHD的靶组织中。接着, 进入效应时相, T细胞激活后分泌细胞因子, 比如TNF- $\alpha$ 、穿孔素/颗粒酶、Fas/FasL (CD95/CD95L)以及反应性活性氧簇, 活化NK细胞, 启动单核巨噬细胞系统。活化的T细胞发挥细胞毒性作用, 经细胞溶解等途径, 导致靶组织的损伤<sup>[21,22]</sup>。在GVHD的发生发展过程中, 激活时相是重要的一步, 供者T细胞在这个时相中的迁移过程及相关分子和介质无疑是GVHD研究中的最新热点。为研究GVHD机制, 建立实验性小鼠GVHD模型以模拟临床骨髓移植。在我们目前的实验中, 以8~12周龄C3H.SW (H-2b)雌性小鼠为供体, 8~12周龄C57BL/6 (H-2b)雌性小鼠为受体。从供者鼠骨髓分离得到去除T细胞的骨髓(T-BM)细胞, 与其脾脏、淋巴结来源的CD8<sup>+</sup>T细胞混合, 经尾静脉输注给受致死剂量<sup>137</sup>Cs  $\gamma$ 射线照射的受体鼠, 建立移植GVHD模型。经体重、生存率指标以及肝脏、脾脏的病理分析均证实了GVHD的发病。这种模型, 能很好地模拟目前临床上实施的MHC匹配而miHAs异配的异基因骨髓移植。

## 4 趋化因子及其受体与GVHD

GVHD中各个器官或组织分泌产生多种趋化因子(表2)。

### 4.1 淋巴组织

移植后3天, 在淋巴组织中众多前炎症因子上调, 比如CCL2~5, CXCL9~11, 在激活后, 异体反应性T细胞对应这些前炎症因子, 迁移归巢至相应淋巴组织<sup>[23]</sup>。在脾脏中, 趋化因子的上调比肝脏和肺脏等处早, 因此早期异体反应T细胞首先迁移至二级淋巴器官并在其中扩增。在此过程, 异体

T细胞上CCR5的表达, 有重要作用<sup>[23,24]</sup>。在亚致死性预处理的GVHD模型中剔除CCR5的配体CCL3的表达则CD8<sup>+</sup>T细胞迁移至脾脏的数量减少<sup>[25]</sup>。

### 4.2 肝脏

在GVHD模型研究中发现, 肝脏主要分泌趋化因子CCL2~5, CXCL2, CXCL9~11<sup>[23,25]</sup>。剔除与CXCL9~11相结合的趋化因子受体CXCR3后, 次要组织相容性抗原错配的小鼠GVHD模型中发现肝脏的病理变化减轻减弱<sup>[26]</sup>。在急性GVHD中, 干扰素- $\alpha$  (interferon  $\alpha$ , IFN- $\alpha$ )和IL-2分泌增加, 而肠道、肝脏、皮肤和肺泡中CXCR3的配体的产生也随之上调。用敲除CXCR3的供者T细胞建立GVHD模型, 脾脏中T细胞浸润增多, 而相应的, 小肠、肝脏、肺脏等的T细胞浸润减少<sup>[26,27]</sup>。分别用CXCR3剔除T细胞与野生型T细胞建立小鼠GVHD模型, 两者整体的移植物抗宿主反应没有差异。因此CXCR3对于T细胞迁移进入实质性靶器官起到了非常重要的作用。肝脏中CCR5的配体CCL3的表达晚于CXCR3的配体CXCL9~11, 但对于肝脏供者T细胞的浸润亦密切相关。中和性抗体阻断CCL3或者以CCL3剔除的供者T细胞建立GVHD模型, 发现CD8<sup>+</sup>T细胞在肝脏中浸润减少。然而, CD4<sup>+</sup>T细胞并没有这样的浸润变化, 相反地, CCL3剔除的供者T细胞建立GVHD模型中CD4<sup>+</sup>T细胞在肝脏中反而浸润增加。这说明CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞可能是通过不同的趋化因子/趋化因子受体而迁移至肝脏的。现有的研究表明, 在早期, 受者细胞分泌的趋化因子CXCL9~11介导异体反应性T细胞向肝脏迁移浸润。在移植一周以后, 异体反应性T细胞分泌的趋化因子CCL3~5开始对表达CCR5的活化的异体反应性T细胞的迁移发挥显著的作用<sup>[23]</sup>。

### 4.3 消化道

近来有研究揭示了在GVHD中, CXCR3对于异体反应性T细胞浸润小肠有重要作用。剔除供者T细胞的CXCR3的表达, 则小肠等消化道上皮层和固有膜层的CD8<sup>+</sup>T细胞的浸润和病理变化减少减轻<sup>[26]</sup>。

表2 GVHD各靶器官或组织分泌趋化因子概况及相应趋化因子受体

GVHD靶器官或组织	趋化因子	相应趋化因子受体
二级淋巴器官	CXCL9~11, CCL2, CCL3, CCL5	CXCR3, CCR2, CCR5
肝脏	CXCL9~11, CCL2, CCL3	CXCR3, CCR2, CCR5
消化道	CXCL9~11	CXCR3
肺脏	CXCL9~11, CCL2, CCL3, CCL5	CXCR3, CCR2, CCR5
皮肤	CXCL9~11, CCL2, CCL5, CCL17	CXCR3, CCR2, CCR4, CCR5, CCR10

已有的研究已经证实,小肠上皮细胞表达趋化因子 CCL25 与黏膜淋巴组织 T 细胞表达的 CCR9 作用,介导特异效应型记忆性细胞迁移至小肠<sup>[28]</sup>。但在 GVHD 中, CCL25/CCR9 的相互作用是否介导特异性异体 T 细胞的迁移至消化道尚不清楚。

#### 4.4 皮肤

与肝脏中相似, CXCL9、CXCL10 在移植后一周内高表达。CCL2、CCL6、CCL7、CCL9、CCL11、CXCL11 的表达也在移植后上调。而在移植后两周, CCL5 表达也上调。这提示,在 GVHD 中, CCL17/CCR4 和 CCL27/CCR10 的相互作用参与了组织特异的异体反应性 T 细胞向特定组织的迁移。然而,除了有研究发现,同种异基因骨髓移植中, CCR6 可介导供者郎格汉斯前体细胞向真皮组织的迁移<sup>[29]</sup>,目前尚没有证实特异的趋化因子/趋化因子受体介导 GVHD 效应性细胞向皮肤的迁移。

#### 4.5 肺脏

同种异体骨髓移植后肺脏表达的趋化因子有 CXCL9~11, CCL2~5 和 CCL11<sup>[25,30]</sup>。浸润的异体 T 细胞分泌的 TNF- $\alpha$  对于移植后前炎症因子趋化因子的产生有关键作用<sup>[31]</sup>。CCL2、CXCL10、CXCL11 是相对最早在肺脏分泌的趋化因子。用中和性抗体阻断 CXCL9,可以减轻 CD8<sup>+</sup> T 细胞的浸润。与肝脏相似, CXCR3 在同种异基因骨髓移植后供者 T 细胞向受者肺脏组织迁移的过程中起到了关键的作用。而在致死性预处理的模型中发现,移植后 4~6 周,消除供者 T 细胞 CCL5 的表达,减少了它们向肺脏的迁移。在这个时相里, CCL5 的受体 CCR1 表达高,而其另一受体 CCR5 表达下调。

## 5 小结

综上所述,趋化因子-趋化因子受体介导异体 T 细胞的迁移与 GVHD 的发生发展过程大致如下图 1 所示。

供者 T 细胞在移植的最初数小时内即迁移至脾脏和外周淋巴组织,与因预处理刺激而成熟的受者的 APC 相作用。这最初的迁移过程,主要由自稳性趋化因子、黏附分子等介导。受者 APC 激活同种异基因的特异性供者 T 细胞,它们向 T<sub>H</sub>1/T<sub>C</sub>1 效应性细胞分化,表达 CCR2、CCR5、CXCR3、CXCR6 等。在开始的 2~3 天内,淋巴组织内活化增殖的 T 细胞产生的炎症因子,比如 IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$ , 进入循环,介导了受者 GVHD 各个靶组织产生多种趋



图 1 趋化因子及其受体介导细胞迁移与 GVHD 进程

化因子。这些早期的反应对于供者 T 细胞的进一步迁移有重要的意义。肝脏、肺脏、皮肤所产生的 CXCL9~11, 早期即对淋巴组织内活化的、表达 CXCR3 的异体 T 细胞的迁移产生了重要作用。接着, CCR5 的配体 CCL2~5 等在移植中后期介导了异体反应性 T 细胞的迁移。在受者 APC 的作用消失后, 众多趋化因子及 T 细胞表达的趋化因子受体相互作用, 继续介导了异体效应性 T 细胞向相应靶器官的迁移。另外, 有越来越多的证据表明, 特定的趋化因子/受体以及整合素/配体的相互作用可以介导异体反应性 T 细胞选择性的向特定的靶组织迁移浸润, 因而, 深入研究应用针对特定趋化因子受体的小分子阻断剂的治疗方式对于临床上治疗 GVHD 极有价值。

## 参考文献 (References)

- [1] Cyster JG. *Annu Rev Immunol*, 2005, **23**: 127
- [2] Takahama Y. *Nat Rev Immunol*, 2006, **6**: 127
- [3] Belperio JA et al. *J Leukoc Biol*, 2000, **68**: 1
- [4] Youn BS et al. *Immunol Rev*, 2000, **177**: 150
- [5] Luther SA et al. *Nat Immunol*, 2001, **2**: 102
- [6] Castellino F et al. *Nature*, 2006, **440**: 890
- [7] Mellado M et al. *Annu Rev Immunol*, 2001, **19**: 397
- [8] Baggiolini M. *J Intern Med*, 2001, **250**: 91
- [9] Kim CH et al. *J Immunol*, 2003, **171**: 152
- [10] Charo IF et al. *N Engl J Med*, 2006, **354**: 610
- [11] Culley FJ et al. *J Virol*, 2006, **80**: 4521
- [12] Kunkel EJ et al. *J Exp Med*, 2000, **192**: 761
- [13] Kim CH et al. *Curr Opin Hematol*, 2005, **12**: 298

- [14] Halin C *et al. Annu Rev Cell Dev Biol*, 2005, **21**: 581  
[15] Sackstein R. *Curr Opin Hematol*, 2005, **12**: 444  
[16] Ichiba T *et al. Blood*, 2003, **102**: 763  
[17] Sugeran PB *et al. Am J Pathol*, 2004, **164**: 2189  
[18] Chiba K. *Pharmacol Ther*, 2005, **108**: 308  
[19] Kim YM *et al. J Clin Invest*, 2003, **111**: 659  
[20] Ferrara JL *et al. Semin Hematol*, 2006, **43**: 3  
[21] Maeda Y *et al. Blood*, 2005, **105**: 2023  
[22] Ritchie D *et al. Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, **11**: 706  
[23] Wysocki CA *et al. J Immunol*, 2004, **173**: 845  
[24] Jaksch M *et al. Biol Blood Marrow Transplant*, 2005, **11**: 280  
[25] Serody JS *et al. Blood*, 2000, **96**: 2973  
[26] Duffner U *et al. Exp Hematol*, 2003, **31**: 897  
[27] Hildebrandt GC *et al. J Immunol*, 2004, **173**: 2050  
[28] Stenstad H *et al. Blood*, 2006, **107**: 3447.  
[29] Merad M *et al. Nat Med*, 2004, **10**: 510  
[30] Yanik G *et al. Semin Hematol*, 2006, **43**: 42  
[31] Hildebrandt GC *et al. Blood*, 2004, **104**: 586

## Chemokines and Chemokine Receptors Induced Lymphocyte Migration and Graft-versus-host Disease

Qi Cao, Yan-Yun Zhang\*

(Shanghai Institute of Immunology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

**Abstract** Graft-versus-host disease (GVHD) is a significant complication of allogeneic bone marrow transplantation (allo-BMT). Acute GVHD is mediated by effector donor T cells, which migrate to lymphoid tissues soon after transplantation, recognize host allo-antigens, and become activated by host antigen presenting cells (APCs). Recent studies on GVHD suggest that activated effector allo-T cells from lymphoid tissues migrate into target organs such as the gastro-intestinal (GI) tract, liver, lung, and skin and cause tissue damage. Moreover, accumulating documents indicated that the migration of effector allo-T cells was mediated by chemokines and chemokine receptors. Involvement of the interaction between chemokine/chemokine receptor would develop an efficient target for GVHD therapy. It would provide a novel insight into developing therapeutic strategy for GVHD.

**Key words** chemokine and chemokine receptor; allo-effector T cell migration; graft-versus-host disease

Received: April 14, 2006 Accepted: August 16, 2006

\*Corresponding author. Tel: 86-21-63852705, E-mail: yzhang@sibs.ac.cn