

参 考 文 献

- [1] Moore, P. A., Belvedere, O., Orr, A., et al., 1999, *Science*, **285**:260-263.
- [2] Schneider, P., Mackay, F., Steiner, V., et al., 1999, *J. Exp. Med.*, **189**:1747-1756.
- [3] Liu, Y. F., Xu, L. G., Opalka, N., et al., 2002, *Cell* **108**:383-394.
- [4] Karpusas, M., Cachero, T. G., Qian, F., et al., 2002, *J. Mol. Biol.*, **315**:1145-1154.
- [5] Hahne, M., Kataoka, T., Schroter, M., et al., 1998, *J. Exp. Med.*, **188**:1185-1190.
- [6] Khare, S. D., Sarosi, I., Xia, X. Z., et al., 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**:3370-3375.
- [7] Schiemann, B., Gommerman, J. L., Vora, K., et al., 2001, *Science*, **293**:2111-2114.
- [8] Groom, J., Kalled, S., Cutler, A. H., et al., 2002, *J. Clin. Invest.*, **109**:59-68.
- [9] Shu, H. B., Johnson, H., 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**:9156-9161.
- [10] Gross, J. A., Johnson, J., Mudri, S., et al., 2000, *Nature*, **404**:995-999.
- [11] Thompson, J. S., Bixler, S. A., Qian, F., et al., 2001, *Science*, **293**:2108-2111.
- [12] Do, R. K. G., Hatada, E., Lee, H., et al., 2000, *J. Exp. Med.*, **192**:953-964.
- [13] Claudio, E., Brown, K., Park, S., et al., 2002, *Nat. Immunol.*, **3**:958-965.

B7 分子家族及其配体

陶 箭

(上海第二医科大学 上海市免疫所 上海 200025)

摘 要 新近发现众多 B7 分子家族成员及其受体,其第二信号功能并不单纯表现为 T 淋巴细胞正向激活,对激活 T 细胞效应功能和诱导耐受也有调节作用。这些 B7 分子在非淋巴组织广泛表达,而它们的受体仅在激活的淋巴细胞表面诱导表达。本文对其结构、表达和功能特点作一综述。

共刺激分子概念基于在淋巴细胞激活过程中除需 MHC 限制的抗原特异性第一信号外,还需要如 B7 和 CD28 等一些细胞表面分子或可溶性分子配接而传递的第二信号。现在知道 B7 分子及其同系物与受体结合后,在许多情况下并不单纯表现为激活 T 细胞增殖,而是对 T 细胞功能进行多方面调节,因而涉及整个免疫系统细胞免疫和体液免疫正向和负向调节的诸多方面。新发现的 B7 分子家族成员,广泛表达于非淋巴组织,可由炎症介质上调^[1]。其受体常表达于活化 T 细胞。而 B7-1 和 B7-2 的表达严格局限于淋巴组织,它们的受体 CD28 分子在未活化和活化 T 细胞均有表达。这些在表达上的差异反映了功能的不同: B7-CD28 途径主要与 T 细胞激活有关,新发现的 B7 分子可能在外周,尤其是炎症部位调节效应和记忆 T 细胞反应。B7 分子家族成员及其受体功能的研究对阐明临床移植排斥和耐受、自身免疫性疾病的发病机制及其治疗都有参考价值。

一、B7 分子家族及其配体的结构和表达

包括 B7-1(CD80)和 B7-2(CD86)在内,目前共

发现 6 个 B7 分子家族成员(见表 1)。B7 分子家族基因都属于 IgSF,成熟的 B7 分子皆为单链糖蛋白, I 型跨膜蛋白,有 20%左右的相同氨基酸;集中分布在膜外的 IgV 样和 IgC 样结构域,组成维持该结构域稳定的二硫键的 4 个半胱氨酸残基,在所有 B7 分子中都是保守的。所有 B7 分子细胞外结构具有很大的同源性,而胞内部分则具很大差异。

B7-1 和 B7-2 分子组成性表达于成熟 DCs(dendritic cells, 树突状细胞),在 Mφ、单核细胞、T、B 细胞等激活后上调,上调时相是 B7-2 比 B7-1 更快。B7-H1(B7 homologous protein 1, B7 分子同源性蛋白 1),又被称为 PD-L1^{[2][3][4]}。由 290 个氨基酸组成,是程序化死亡分子(PD-1)的配体^[5]。在心脏、骨骼肌、胎盘和肺组织中,发现丰富 B7-H1 的 mRNA,而在胸腺、脾、肾和肝脏组织中含量较少,在脑、大肠、小肠和 PBMCs(peripheral blood mononuclear cells, 外周血单个核细胞)中未检出 B7-H1 mRNA。新鲜分离的 T、B 细胞表达一定量的 B7-H1 分子。只有 16%的 CD14⁺单核细胞组成性表达 B7-H1 分

感谢周光炎先生对本文的审校。

E-mail: my@shsmu.edu.cn

子;经 PHA 和 IFN γ 激活后,90% CD14⁺ 单核细胞表达 B7-H1 分子,经 PMA(phorbol 12-myristate 13-acetate,佛波酯,一种强烈的 TNF α 诱导剂)激活后,30% 的 CD3⁺ T 细胞表达 B7-H1 分子;只有 6% 的 CD19⁺ B 细胞表达 B7-H1 分子^[6]。PD-L2 是 PD-1 分子的另一个配体,表达格局与 PD-L1 相似,即在胎盘等组织有较高表达,而在胸腺、脾和淋巴结表达量较低。在另一些组织和细胞系中,表达差异较明显。IFN γ 同样可以上调 PD-L2 在单核细胞表达,但稍迟于 PD-L1。B7 同源性蛋白(B7h),又称 B7 相

关蛋白 1(B7RP-1)、GL50、LICOS 或 B7-H2,由 322 个氨基酸组成^[7]。B7h 可表达于 B 细胞,在外周淋巴样组织中有高水平表达。TNF α 处理 3T3 细胞和胚性成纤维细胞,可诱导表达 B7h。经 PMA 处理的非淋巴组织 B7h 也上调。新近发现的 B7-H3,又称 B7RP-2,与其他 B7 家族成员具 20% - 27% 氨基酸同源性,在未成熟 DC 有较高水平的表达,某些正常组织和肿瘤细胞可检测到 B7-H3 mRNA, PBMC 则不表达 B7-H3。炎症细胞因子或 PMA 和 ionomycin 组合上调 B7-H3 在 DCs 和单核细胞表达。

表 1 B7 家族共刺激分子的表达、功能及其配体

B7 分子	表 达	配 体	功 能
B7-1(CD80)	主要表达于淋巴组织,如 DCs 和单核细胞,B 细胞诱导性表达	CD28 和 CTLA4	CD28 配接激活 T 细胞,刺激 IL-2 分泌,CTLA4 配接抑制 T 细胞反应
B7-2(CD86)	同 B7-1	同 B7-1	同 B7-1
B7h(B7RP-1、B7-H2)	表达于淋巴组织,如 DCs,单核细胞诱导性表达,在非淋巴组织,如心、肾、睾丸、肺可由 LPS 诱导表达	ICOS	T 细胞激活,IL-4、IL-10、IL-13 和 IFN γ 产生
PD-L1(B7-H1)	淋巴组织和非淋巴组织(心、肾、肺),IFN γ 诱导单核细胞表达	PD-1	抑制 T 细胞增殖和细胞因子分泌
PD-L2(B7-DC)	淋巴组织(DCs)和非淋巴组织(心、肾、肺、肝、胰)	PD-1	抑制 T 细胞增殖和细胞因子分泌
B7-H3(B7RP-2)	淋巴组织(DCs)和非淋巴组织(心、肾、肺、肝、睾丸),单核细胞诱导性表达	?	刺激 IFN γ 、TNF α 、IL-8 产生

注:B7h,B7 homologous protein,B7 分子同源性蛋白;B7RP,B7 related protein,B7 分子相关蛋白;CTLA4,cytotoxic T lymphocyte antigen 4,细胞毒性 T 细胞抗原 4;ICOS,inducible costimulator,可诱导共刺激分子,PD-1,programmed death 1,程序化死亡分子 1;PD-L1,PD-1 ligant,程序化死亡分子 1 配体。

B7 分子受体 CD28 分子家族基因也属于 IgSF,CD28 分子由不同糖基化修饰的同源二聚体经二硫键连接而成,为 I 型跨膜蛋白,膜外区含 IgV 样结构域。CD28 分子量 44KD,组成性表达于所有的 CD4⁺ T 细胞和大约 50% 的 CD8⁺ T 细胞、浆细胞和部分活化 B 细胞,IgV 样结构域中高度保守的 MYPPPY 氨基酸基序,是与 B7 分子结合的部位。CTLA-4 只表达于激活 T 细胞,与 CD28 在蛋白质水平有 31% 的相同性,同样具有高度保守的 MYPPPY 氨基酸基序,胞内区带有传递抑制性信号的 ITIM(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif,免疫受体酪氨酸抑制基序),但不明确是否在对 T 细胞活化的负调中发挥作用。可诱导共刺激分子(ICOS),分子量 55 - 60KD,由 27KD 和 29KD 的同源二聚体连接而成,与 CD28 和 CTLA-4 在蛋白质水平有 39% 的相同性^[8]。表达在静止的记忆细胞,激活 T 细胞尤其是 CD4⁺ T 细胞表面,静止 T 细胞、静止或激活 B 细胞、M ϕ 、NK 细胞、粒细胞等 DCs 和血小板表面均无表达^[9]。PD-1 基因是早先发现于小鼠的程序化死亡基因,与小鼠淋巴细胞

AIA 有关,PD-1 基因缺陷小鼠外周耐受被打破,表现多种自身免疫特征^[10]。人 PD-1 并不引起凋亡,仅与 T 细胞激活和分化有关。PD-1 胞内区带有传递抑制性信号的 ITIM,IFN γ 可使 APCs 上 PD-L 表达上调,PD-L 表达于淋巴组织、某些非淋巴组织和肿瘤细胞,PHA 刺激 PBMC 表达 PD-1。至今尚未发现 B7-H3 的配体。

二、B7 分子家族与其配体结合特性和功能特点

一般认为,APCs 表面的 B7-1 或 B7-2 分子与 T 细胞表面 CD28 分子配接,向 T 细胞传递第二信号,促使 T 细胞增殖和分泌多种细胞因子,尤其是 IL-2 上调、其他细胞表面活性分子表达;通过上调抗凋亡基因如 bcl-XL,阻止细胞死亡。CTLA-4 与 B7-1 或 B7-2 结合后抑制 T 细胞进一步激活,IL-2 下调,这可能是由于 CTLA-4 与 CD28 对 B7-1 或 B7-2 结合有竞争效应,而且 CTLA-4 也直接传递抑制性信号。B7-1 与 B7-2 虽然都可与 CD28 和 CTLA-4 结合,但它们与 CTLA-4 的亲合力是 CD28 的 20 倍以上。

这四个分子结合的亲和力强弱是: B7-1 和 CTLA-4 最强, B7-1 和 CD28 次之, B7-2 和 CTLA-4 较弱, B7-2 和 CD28 最弱, B7-1 和 CTLA-4 的稳定结合可以终止 T 细胞激活。B7-2 组成性表达于 DCs, 在 M ϕ 、单核细胞、T、B 细胞, 激活后比 B7-1 更快上调, 而 B7-1 不表达于静止态细胞。根据 B7-1 与 B7-2 的这些特点, 推测 B7-2 参与免疫激活的起始步骤, 而 B7-1 维持激活过程并对其进行调节。B7-1 与 B7-2 绝非功能完全一致的二种分子, 它们可能差异性激活 Th1/Th2 的不同 T 细胞亚群, 影响 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞功能, 对诱导 CD8⁺ T 细胞增殖、细胞因子产生和细胞毒性也可能呈现不同作用。有证据表明, CD28 和 CTLA-4 的配接可以调节 Th 的分化: CD28 激活促进 Th2 反应, 而 CTLA-4 激活抑制 Th2 反应。推测抗原剂量、进入途径、APCs 种类和遗传背景均可影响到 B7-1 与 B7-2 的共刺激结果。

B7h 与 ICOS 配接可刺激 T 细胞生长, 诱导 IL-10 大量产生, IL-4、IL-5、IFN γ 、TNF α 和 G/MCS 也有不同程度上调, 而 IL-2 无明显上调, 这意味着细胞免疫反应下降, 而免疫球蛋白产生增强, 抗原特异性 T 细胞无应答^[11]。在小鼠, ICOS 传递的共刺激信号功能较复杂, 一方面, 具有激活辅助和效应 T 细胞的功能, 引起过敏原特异性 T 细胞扩增和作用; 另一方面, TNF α 诱导的 B7h 上调, 在非淋巴组织局部炎症和非肿瘤组织中防止自身免疫反应发生^[12]。在免疫调节方面, ICOS 的表达水平在 Th2 细胞要高于 Th1 细胞, 提示 ICOS 在 Th2 细胞介导免疫反应中的重要性^[13]。

PD-1 信号途径对 T 细胞增殖和功能分化的影响, 存在争议。Cheng 等认为, B7-H1 介导的共刺激信号促进对多克隆刺激和同种异体抗原刺激反应性 T 细胞的增殖, 参与细胞免疫反应的负向调节。其作用也导致 IL-10 的产生, 但与 ICOS 途径不同的是, 有少量 IL-2 产生, 而这少量的 IL-2, 也是 B7-H1 共刺激作用所必须的。一些正常组织发现大量丰富 B7-H1 mRNA, 从 B7-H1 配接刺激 IL-10 产生和 T 细胞凋亡推测, B7-H1 可能在细胞免疫的组织特异性负向调节中发挥作用, 避免不必要的炎症或免疫反应。B7-H1 诱导细胞因子的模式, 与 CD58-CD2 共刺激途径有相似之处^[14]。CD58 共刺激途径诱导 IL-10、IFN γ (蛋白质水平和 mRNA 水平)、TGF (mRNA 水平) 产生, 而 IL-2、IL-4、IL-5、IL-13 和 TNF α 低或无。Freeman 等认为, PD-1 和 PD-L1 配接抑制 TCR 介导的细胞增殖和细胞因子分泌, 抑制

B7 与 CD28 分子介导的共刺激信号。PD-L2 作为 PD-1 的第二个配体, 在功能和表达上有别于 PD-L1, 在调节 T 细胞反应上两者部分功能交叉。PD-1 和 PD-L2 配接抑制 CD4⁺ T 细胞 TCR 介导的增殖和细胞因子分泌。低抗原浓度时, PD-L2-PD-1 相互作用抑制 B7-CD28 信号; 高抗原浓度时, PD-L2-PD-1 相互作用减少细胞因子产生但不抑制 T 细胞增殖。PD-L-PD-1 相互作用导致细胞周期停留在 G0/G1, 但不增加细胞死亡^[15]。PD-1 和 TCR 同时与相应配体配接导致比 TCR 单独配接更快速的 SHP-2 磷酸化。上述两种不同观点的原因可能是所用试验系统的抗 CD3 浓度的差异, 产生了不同的实验结果。

B7-H3 蛋白受体不同于 CD28, CTLA-4, ICOS 和 PD-1。B7-H3 刺激 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞增殖, 增强细胞毒性 T 细胞成熟, 选择性刺激 IFN γ 产生^[16]。

三、研究 B7 分子家族及其受体的意义

B7 分子家族及其受体除提供 T 细胞激活的第二信号外, 新近发现众多的该类分子对免疫调节的其他方面也发挥重要作用, 并对一些免疫疾病的防治显示应用前景。在很多情况下, 对于一些与免疫反应异常有关的疾病来说, 我们根本不知道引起免疫增强或减弱的具体原因, 例如大量的自身免疫性疾病和免疫耐受或低下状况, 是何种抗原刺激引起? 是自身抗原还是外来的微生物抗原? 或是病毒调变的自身抗原, 因此也不可能通过操纵第一信号来修正异常的免疫反应。但可以通过对第二信号的修饰, 打破耐受、增强或终止免疫反应: 通过增强具有正向免疫激活功能的第二信号强度, 可以增强肿瘤免疫; 而通过封闭这种第二信号, 则可以预防移植排斥和自身免疫疾病。对具有负向免疫调节功能的第二信号, 其应用策略则相反。有关这方面的报道目前主要集中于 CTLA4, B7-1 和 B7-2 与 CTLA-4 的亲和力是 CD28 的 20 倍以上, 因此 CTLA4-Ig 可以通过与 B7-1 和 B7-2 结合有效地封闭 CD28 共刺激途径, 降低免疫反应; 而可溶性抗 CTLA4 抗体则通过封闭 CTLA4-B7 的相互作用增强 T 细胞反应; 体外实验中, 固化的抗 CTLA4 抗体与 CTLA4 配接又可以抑制 T 细胞反应^[17]。

最近报道, IFN γ 上调 B7-H1 在某些肿瘤细胞系表达, 增强抗原特异性 T 细胞凋亡, 表达 B7-H1 的鼠 P815 肿瘤细胞增强抗肿瘤反应 T 细胞凋亡,

促进高免疫原性 B7-1(+)肿瘤细胞生长,这些结果提示了 B7-H1 对肿瘤免疫治疗的参考价值^[18]。

除临床应用价值外,众多的 B7 分子及其受体对免疫学本身提出了一系列问题。例如,究竟有多少 B7 分子存在^[19]? 为什么有如此多的 B7 分子? 目前,在 GENBANK 的 EST 中,与 B7-1 和 B7-2 有 20% 同源性的蛋白质分子还有很多,它们当中,哪些具有共刺激功能,还有待于筛查;人与其他动物 B7 分子的同源性鉴定,B7 分子基因的进化过程等均未明了;不同的 B7 分子有何种不同的功能,它们在整个免疫调节中的地位,不同信号途径之间的相互关系也需进一步研究。对以上问题的回答,不仅有利于免疫学基本原理的完善,对尽快使 B7 分子及其受体用于临床也有指导意义。

另外有实验显示,不同的第二信号分别引起 Th1 或 Th2 极化,而目前对调节性 T 细胞的划分,仅依据其细胞因子分泌格局进行功能性划分,如证明第二信号受配体配接与 Th1 或 Th2 极化之间存在关联,无疑会进一步明确 Th1 或 Th2 细胞亚群表面标志。这一点对基础研究和临床应用都有巨大价值^[20]。

参 考 文 献

- [1] Bugeon L, et al., 2000, *Am J Respir Crit Care Med.*, **162**:S164-168.
- [2] Tamura H, 1999, *Nat Med.*, **5**:1345-1346.
- [3] Dong H, et al., 2001, *Blood*, **97**:1809-1816.
- [4] Finger LR, et al., 1997, *Gene*, **203**:253.
- [5] Vibhakkar R, et al., 1997, *Exp Cell Res.*, **232**:25-28.
- [6] Freeman GJ, et al., 2000, *J Exp Med.*, **192**:1027-1034.
- [7] Wang S, et al., 2000, *Blood*, **96**:2808-2813.
- [8] Brodie D, et al., 2000, *Curr Biol.*, **10**:333-336.
- [9] Khayyamian S, et al., 2002, *Proc Natl Acad Sci USA.*, **99**:6198-6203.
- [10] Nishimura H, et al., 2001, *Trends Immunol.*, **22**:265-268.
- [11] Yoshinaga SK, et al., 1999, *Nature*, **402**:827-832.
- [12] Swallow MM, et al., 1999, *Immunity*, **11**:423-432.
- [13] Kopf M, et al., 2000, *J Exp Med.*, **192**:53-61.
- [14] Bullens DM, et al., 2001, *Int Immunol.*, **13**:181-191.
- [15] Latchman Y, et al., 2001, *Nat Immunol.*, **2**:261-268.
- [16] Chapoval AI, et al., 2001, *Nat Immunol.*, **2**:269-274.
- [17] Linda Liang, et al., 2002, *Curr Opin Immunol.*, **14**:384-390.
- [18] Dong H, et al., 2002, *Nat Med.*, **8**:793-800.
- [19] Sinclair NR, et al., 1999, *Scand J Immunol.*, **50**:10-13.
- [20] Coyle AJ et al., 2001, *Nat Immunol.*, **2**:203-209.

赤霉素信号转导研究进展*

袁高峰 汪俏梅**

(浙江大学园艺系蔬菜研究所 杭州 310029)

摘 要 本文综述了 GA 信号转导的最新研究进展,包括 GA 信号转导途径中的正向和反向作用因子;GA 受体,G 蛋白和第二信使,GA 信号转导途径的模型,以及与其他信号转导途径的相互关系等。

赤霉素(Gibberellin,简称 GA)是广泛存在于植物界,并对植物的生长发育有着深刻影响的一类植物激素,具生物活性的 GA 影响植物发育的许多进程,如种子的萌发、叶片的扩展、茎的伸长、开花、性别分化及果实的发育等。由于 GA 种类多,结构复杂,其生物合成和代谢有多条途径,并受到多种内外因子的调控,因而其信号转导和作用机理的研究较难,近年来,在拟南芥和禾谷类等模式植物中的分子遗传学研究使 GA 信号转导取得较大进展,已分离到多个 GA 不敏感型突变体(GA-response mutants),并鉴定了多个 GA 信号转导途径的中间元件,GA 信号转导的模式也已基本建立。本文对近年来 GA 信号转导的研究进展加以综述。

一、GA 不敏感型突变体

对外源及内源 GA 或对 GA 抑制剂的反应发生了改变的突变体称为 GA 不敏感型突变体(GA-insensitive mutants),这一类突变体是研究 GA 信号接收、传递过程和机理的好材料。在拟南芥、水稻、豌豆、番茄、大麦、小麦、玉米等植物中都发现了一些 GA 不敏感型突变体,这些突变体一般根据其表型的不同而分为两类:一类是 GA 不敏感型矮化突变体,这类突变体的表现型与 GA 生物合成突变体相

* 国家自然科学基金(No. 30000015)资助。

** 通讯联系人。E-mail: qiaomeiw2002@yahoo.com