

CD40-CD40L 功能与疾病的研究进展

程 琳 玲

(上海第二医科大学 上海市免疫学研究所 上海 200025)

CD40 是一分子量为 45 - 50kDa 的 I 型跨膜糖蛋白,属肿瘤坏死因子受体超家族成员。其配体 CD40L(CD40 Ligand, CD154),又名 TRAP(TNF-related activation protein),是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)家族成员之一。它们之间的相互作用不仅在体液免疫中扮演重要角色,而且在调节细胞介导的免疫应答中也发挥重要的作用。研究 CD40 与 CD40L,对于阐明肿瘤、免疫缺陷病、自身免疫病等疾病的发病机制以及临床治疗具有非常重要的作用。

一、CD40、CD40L 的结构

人 CD40 基因定位于 20q11-13,其 cDNA 为一条 831bp 的开放阅读框架,编码 277 个氨基酸组成的多肽链,包括胞浆外区(193 个氨基酸残基)、跨膜区(22 个氨基酸残基)和胞浆内区(62 个氨基酸残基)。其胞膜外氨基酸残基与神经生长因子受体(NGFR)、肿瘤坏死因子受体(TNFR)、Fas 抗原(CD95)和 T 淋巴细胞的 CD27 分子等高度同源,这些分子组成了 CD40/TNFR 超家族或称 NGFR 超家族。CD40 不仅存在于 B 细胞表面,还存在于 B 细胞源性的恶性淋巴瘤、白血病细胞膜上,另外,在造血前体细胞、并指状细胞、树突状细胞、胸腺上皮细胞和某些上皮癌细胞表面也有表达。

CD40L 基因全长约 12kb,包括 5 个外显子、4 个内含子、5' 端和 3' 未翻译端。人 CD40L 定位于 Xq26.3-27.1^[1],其 cDNA 为一条 783bp 的阅读框架,编码 261 个氨基酸,包括胞浆内区(22 个氨基酸残基)、跨膜区(24 个氨基酸残基)和胞浆外区(215 个氨基酸残基)。其跨膜区具有传递信号及锚定功能。比较 CD40L 与其他蛋白质胞外区氨基酸序列发现,CD40L 与肿瘤坏死因子- α (TNF α)和组织生长因子- β (TNF β)有同源性,它们共同组成 TNF 基因家族。CD40L 有膜型和可溶性两种,膜结合 CD40L 和 18KD 可溶性片段均具有生物学活性,且均以同源三聚体形式存在^[2]。CD40L 主要存在于活化的 CD4⁺ T 细胞表面,在 CD8⁺ T 细胞、外周血嗜碱细胞、嗜酸细胞、柱状细胞、B 细胞、NK 细胞和单核细胞的表面也有少量表达。其表达受许多因子调节,

包括激活因子抗 CD3 单抗,INF- γ 和 TNF- β 等^[3]。

二、CD40-CD40L 的功能

1. 对 B 细胞的作用

CD40-CD40L 交联对 B 细胞的活化、增殖,抗体的产生以及 Ig 类别转换,起了非常重要的作用^[4]。一方面,不仅 CD40-CD40L 交联可以增加 B 细胞 DNA 的合成,引起静止 B 细胞的复制,而且 CD40 单克隆抗体(MAb)单独也可以促使 B 细胞增殖,使 B 细胞表面多种黏附分子,如淋巴细胞功能抗原(LFA-1)呈现高亲和性状态,从而导致细胞聚集,有助于 T、B 细胞相互作用^[5]。另一方面,CD40-CD40L 交联能刺激 B 细胞表达 CD23、MHC II 类抗原和 B7/BB1,并诱导 IL-6 和 IL-10 的产生。另外,在不同细胞因子协同下,CD40L-CD40 相互作用还可诱导 B 细胞 Ig 类别转换,如:在诱导时加入 IL-4,可以使 IgG₁ 和 IgE 的分泌明显增高;而加入 IL-10,则会诱导 IgM、IgG、IgA 的分泌^[6]。此外,B 细胞表面和 CD40 介导信号的联合作用共同调节着生发中心 B 细胞的存活与凋亡。

2. 在细胞免疫中的作用

越来越多的证据表明,CD40、CD40L 在细胞免疫中也发挥着重要作用。一方面,CD40-CD40L 交联可促进 CD4⁺ T 细胞自身被活化,表达 CD25、CD40L 增高,促进 IL-12 的分泌,而后者参与 CTL 的产生以及诱导 T 细胞向 Th1 细胞因子分化(分泌 IFN- γ)。另一方面,已经证实 CD40 信号可以替代 CD4⁺ T 细胞,引发辅助依赖性的 CD8⁺ CTL 裂解细胞的特异性反应^[7],这种作用可能是 CD40L 与 APC 上 CD40 的结合进一步激活 APC 的缘故。如 CD40-CD40L 交联可上调树突状细胞(DC)上 CD25、CD58、B7-1 和 B7-2 的表达,以及维持高水平的人类白细胞表面抗原-II(HLA-II)。并且,还可以促进 DC 分泌 IL-12,诱导 TNF- α 、IL-8、巨噬细胞炎症蛋白-1 α (MIP-1 α)的分泌,从而有利于 DC 的分化成熟,并延长其存活时间,这样使得 DC 可以直接将

感谢李宁丽副教授对本文的审校。

CD4⁺ Th 和抗原特异性信号传递给 CD8⁺ CTL, 并促进其进一步的激发、增殖和杀伤靶细胞的作用; 同时, 大量产生的 IL-12 可诱导 Th1 型免疫应答, 进一步加强细胞免疫。另外, CD40L 触发的信号还可以加强自然杀伤细胞(NK)裂解细胞的功能^[8]。

3. 对其他效应细胞的作用

在单核/巨噬细胞中, CD40-CD40L 交联可上调其表面 CD54、B7-2、CD40 及 MHC II 的表达, 增强抗原递呈的作用, 并促进 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-12、PDGF、MCP-1、NO 和基质金属蛋白酶(matrix metalloprotease, MMPs)的分泌, 而且还能抑制单核细胞的凋亡, 这或许是通过产物 TNF- α 、IL-1 的自动调节网络完成的, 也可能是由于 CD40 信号直接激活细胞内抗凋亡基因、抑制凋亡基因表达或活化抗凋亡蛋白所致^[9,10]。

在内皮细胞中, CD40-CD40L 交联可增加内皮细胞表面 CD62E、CD54 和 CD106 的表达, 并促进 T 细胞游走黏附到炎症组织的内皮。

对于成纤维细胞, CD40-CD40L 交联则可上调 CD54 和 CD106 的表达, 并促进其活化、增殖及产生 IL-6, 以及促进炎症的发展, 并参与损伤组织的修复、纤维化和组织重建。

另外, CD40L 除存在于 CD4⁺ T 细胞外, 也见于柱状上皮细胞、外周血嗜碱细胞及嗜酸细胞。这些细胞与 CD40⁺ 细胞间的 CD40-CD40L 交联效应如何有待研究。

三、CD40-CD40L 与疾病

1. 肿瘤

CD40 刺激可以直接抑制肿瘤增殖, 促进凋亡和 Fas 基因的表达, 以及有助于抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用。并且, 由于 CD40 和 CD40L 可以上调黏附分子/共刺激分子的表达, 在肿瘤基因治疗中已得到越来越多的应用。如 Nakajima 等研究证实, 转染 CD40L 的 P815 肿瘤细胞在具有强免疫力的及 T 细胞缺陷的小鼠体内均不能生长^[11]。而且由于 CD40L 能显著上调 DC 上的 ICAM-1、CD80 和 CD86 的表达, 并能促进产生高水平的 IL-12, 从而加强 T 细胞刺激的能力^[12], 因而, 联合应用 DC 和 CD40L 治疗肿瘤, 已经成为一个热点。Mackey 等^[13]的研究也表明, 在 DC 成熟以致产生抗肿瘤的免疫应答中, CD40 起着非常重要的作用。另外, Kikuchi 等发现, 用表达 CD40L 的腺病毒修饰树突状细胞, 然后去治疗小鼠 CT26 结肠腺瘤和 B16 黑色素瘤, 肿瘤的生长受到抑制^[14], 进而, 他们又用此

腺病毒和 DC 联合治疗这两种肿瘤, 结果肿瘤的生长显著受到抑制, 而单独应用却没有效果, 进一步的研究显示, 这种联合治疗, 主要依赖于 CD8⁺ T 细胞, 而不是 CD4⁺ T 细胞^[21]。但是, 也应注意的是, 由于 CD40 潜在的增殖能力, 也可以诱导肿瘤细胞繁殖, 提高 BCL-2 的表达, 减少凋亡的发生, 或通过启动涉及 IL-6 等细胞因子的自分泌以及旁分泌环路, 以利于它们的生存, 这种现象已在一些低分化的 B 细胞恶性肿瘤中被发现^[15]。

2. 免疫缺陷病

性联高免疫球蛋白 M 综合征(X-linked hyper-IgM syndrome, HIGM1)是一种抗体缺陷性疾病, 以反复细菌感染和低免疫球蛋白血症为特征。HIGM1 病人血清中 IgM 水平正常或升高, 而其他型 Ig 缺失或减少, 无生发中心。现已证明该病为编码 CD40L 的基因发生突变, 包括碱基点突变(造成 AA 替代或形成终止密码子)、碱基插入或缺失(使阅读框架漂移, 形成不成熟链终止), 从而使得活化 T 细胞表达异常 CD40L 或表达缺失, 进而抑制了 T 细胞依赖性抗原(TD)的正常抗体反应及 Ig 的同种型转化。由于患者 B 细胞无 Ig 同种型转换缺陷, 而 T 细胞辅助功能存在缺陷, 可以考虑用转染 CD40L 基因的成熟 T 细胞治疗本病。

3. 自身免疫病

(1) 实验性变态反应性脑炎(EAE)与多发性硬化病(MS) 小鼠 EAE 与人 MS 表现类似, 其中枢神经系统有活化的自身抗原特异性 T 细胞浸润、脱髓鞘及坏死。Grewal 等^[16]应用 CD40L 基因剔除小鼠研究 CD40-CD40L 在 EAE 发病中的作用, 发现在 CD40L 基因缺失的小鼠中不能诱发 EAE, 从而推测 CD40-CD40L 相互作用是诱发 APC 上表达 B7-1 和 B7-2 的重要条件, 而后者再介导协同刺激信号激活 T 细胞。Correale 等^[17]发现多发性硬化病人 APC 上 B7-1 和 B7-2 表达明显增加, 与 APC 提呈抗原的能力成正相关。同期, Gerritse 等^[18]在多发性硬化病人脑组织中发现 T 细胞、单核细胞及小胶质细胞上有 CD40L 的表达, 少量 B 细胞上也有 CD40 的表达, 特别在病灶周围表达更明显。因而, 可以利用抗 CD40L MAbs 抑制抗原特异性 CD4⁺ Th1 细胞活化的特性去防止或减轻病情的发展。

(2) 系统性红斑狼疮(SLE) SLE 的主要病变是免疫复合物造成的器官和组织损伤。自身抗原特异性 Th 细胞在病理性自身抗体的形成中起重要作用, 而 Th 细胞是通过 CD40-CD40L 交联作用于 B

细胞,诱导B细胞的活化、增殖,从而产生从IgM到IgG类抗体的。邓安梅等报道^[19],活动期SLE患者CD40L表达在抗CD3单抗刺激前后均显著高于正常人,而缓解期SLE患者T细胞的CD40L表达在正常范围内,但抗CD3单抗刺激后显著高于正常人,推测SLE患者CD40-CD40L途径存在缺陷。通过抗CD40L单抗干预CD40-CD40L途径,进行疾病的治疗已经在动物模型中证明有疗效。

(3) 类风湿性关节炎(RA) II型胶原诱导的小鼠关节炎(CIA)类似于人的RA, Mauri等^[20]用胶原诱导DBA/1和DBA/1-TCR- β 转基因鼠产生关节炎,作为RA的动物模型,并用竞争性的抗CD40单抗进行治疗,关节的组织学和显微镜检查的结果显示,关节炎的进展受到了抑制,从而为慢性自身免疫性疾病的治疗提供了一个新的手段。

4. 其他疾病

(1) 动脉粥样硬化(AS) AS的形成有免疫因素的参与,对AS斑块进行免疫组化分析发现,斑块中含大量的巨噬细胞(M Φ)和活化的T细胞^[21], M Φ 可表达CD40,活化的T细胞则表达CD40L,它们相互作用后产生的MMPs能够介导结缔组织的降解、清除和重建,破坏纤维帽中的胶原,进而引起斑块破裂,导致血栓、动脉闭塞和出血。并且,存在于AS斑块中的各种细胞可以通过CD40-CD40L的相互作用导致自身活化,表达和分泌一些有利于免疫应答发生、炎症反应、血凝和血栓形成的蛋白质与酶类,它们直接或间接参与了AS的发生和发展。

(2) 过敏性紫癜 过敏性紫癜是儿科常见病,主要病理改变为广泛性血管炎。李秋等^[22]的研究,不但证实了过敏性紫癜患儿存在血浆IgA、IgE增高,而且发现外周血单个核细胞(PBMC)产生IL-4、IL-5增多。进一步的研究表明,PBMC过度表达CD40L,可能是诱导过敏性紫癜患儿T细胞活化、细胞因子异常产生,进而致B细胞异常活化或Ig转换障碍的原因之一。

综上所述,CD40与CD40L是沟通免疫细胞间的相互作用的重要途径,并在T细胞和抗原递呈细胞相互作用间起着关键作用。由于CD40与CD40L相互作用在疾病发病机制及临床治疗中所起的重要作用,故很有必要对其进行进一步研究,进而为预防或治疗有关疾病提供新思路。

摘 要

CD40与CD40L的相互作用不仅在细胞免疫和

体液免疫中起作用,而且在疾病的发病机制和临床治疗中起重要作用。

参 考 文 献

- [1] Graf Det al. 1992; *Eur Immunol*, **22**:3191-3194.
- [2] Mazzei GJ et al., 1995, *J Biol Chem*, **270**(13):7025-7028.
- [3] Sad S, Krishnan L, Bleackley RC, et al., 1997; *Eur J Immunol*, **27**:914-922.
- [4] Banchereau J, Bazan F, Blanchard D, et al., 1994; *Ann Rev Immunol*, **12**:881-922.
- [5] Klaus GGB, Holman M, Hasbobl J, et al., 1994, *Eur J Immunol*, **24**(11):2714-2719.
- [6] Saiki O, Tanaka T, Wada Y, et al., 1995 Feb, *J Clin Invest*, **95**(2):510-514.
- [7] Schoenberger SP, Toes REM, Voort EI, et al., 1998 Jun. *Nature*, **4**:393:480-483.
- [8] Carbone E, Ruggiero G, Terrazzano G, et al., 1997, *J Exp Med*, **185**:2053-2060.
- [9] Suttles J, Evans M, Miller RW, et al., 1996, *J Leukoc Biol*, **60**:651-657.
- [10] Robert DS, Jill S, et al., 1996, *Rev Immunol Today*, **17**:487-492.
- [11] Nakajima A, Kodama T, Morimoto S, et al., 1998, *J Immunol*, **161**:1901-1907.
- [12] Cella M, Scheidegger D, Palmer-Lehmann K, et al., 1996, *J Exp Med*, **184**:747-752.
- [13] Mackey MF, Gunn JR, Maliszewsky C, et al., 1998, *J Immunol*, **161**:2094-2098.
- [14] Kikuchi T, Moore MA, Crystal RG, et al., 2000 Jul 1, *Bolld*, **96**(1):91-99.
- [15] Costello RT, Gastaut JA, Olive D, et al., 1999, *Immunol Today*, **20**:488-493.
- [16] Grewal IS, Foellmer HG, Grewal KD et al., 1999(27), *Science*, **273**:1864-1867.
- [17] Correale J, McMillan M Lis et al., 1997, *J Neuroimmunol*, **72**:27.
- [18] Gerritse K, Laman JD, Noelle RJ et al., 1996, *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**:2499-2504.
- [19] 邓安梅、仲人前、陈孙孝等. 1999, 中华皮肤科杂志, **32**(4):232-233.
- [20] Mauri C, Mars LT, Londei M, et al., 2000, *Nature Med*, **6**:673-679.
- [21] 王丽华、陈英玉等, 1998, 国外医学免疫学分册, **21**(3):169-170.
- [22] 李秋、杨锡强、李永柏等, 1999, 中华儿科杂志, **37**(6):331-333.