

[文章编号] 1007-385X(2003)04-0292-03

HLA-G 与肿瘤免疫逃逸

花 瞻 综述; 贾振庚, 张远春 审阅 (卫生部中日友好医院普外科, 北京 100029)

[摘 要] HLA-G 是一种非经典的 HLA-I 类抗原。在人类黑色素瘤、乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、膀胱癌、肾癌和肺癌中可表达 HLA-G。HLA-G 可以通过抑制 NK 细胞、CTL 细胞等效应细胞的作用, 改变机体细胞因子分泌的模式来抑制机体的肿瘤免疫反应, 使肿瘤细胞发生免疫逃逸而得以生存发展。

[关键词] HLA-G; 肿瘤; 免疫逃逸

[中图分类号] R730.2 [文献标识码] A

在肿瘤发生发展的过程中, 肿瘤细胞和宿主的免疫系统相互影响, 相互制约。在正常生理情况下, 宿主的免疫系统能发挥免疫监视作用, 识别肿瘤细胞的非己抗原, 产生免疫应答, 从而破坏肿瘤细胞, 阻止肿瘤的发展。机体这种免疫监视作用的主要效应细胞是细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T cell, CTL)和自然杀伤细胞(nature kill cell, NK)。CTL 对肿瘤细胞的识别要依赖对肿瘤细胞表面的 MHC I (HLA- I) 类分子的识别。对于那些不表达 MHC I 类分子的肿瘤细胞, NK 细胞发挥其细胞毒作用以攻击肿瘤细胞。

与此同时, 肿瘤细胞也可以通过多种途径逃避机体的免疫监视作用使自身得以繁衍发展, 即发生肿瘤的免疫逃逸现象。肿瘤免疫逃逸的产生有多种机制, 主要包括以下几方面: ①肿瘤细胞 MHC I 类分子表达缺失, 使得 CTL 无法识别肿瘤细胞。②肿瘤细胞表面 Fas 的表达量减少, 而 FasL 表达量增加, 通过 Fas/FasL 途径诱导宿主的效应细胞发生凋亡。③某些免疫抑制性因子, 如 IL-10, TGF- β , PGE2 等的产生增加, 使机体处于免疫抑制状态。最近发现一种非经典的 HLA-I 类抗原—HLA-G, 它在某些肿瘤细胞表面表达, 也是肿瘤免疫逃逸的可能机制之一。本文就这方面的最新进展综述如下。

1 HLA-G 的组织分布和结构

HLA-G 抗原的表达具有组织局限性。最早发现 HLA-G 主要表达于母胎界面的绒毛膜细胞的滋养层细胞, 参与母胎耐受的形成。随着检测方法的改进, 现在已经证实多种胚胎组织包括胎肝、眼、心脏和肺也可表达 HLA-G。成人组织 HLA-G 在皮肤、肺和激活的外周血单个核细胞中也有较高的表达。

HLA-G 的基因序列和结构与经典 I 类分子有高度的同源性, 包括 8 个外显子和 7 个内含子。外显子 1 编码信号肽。外显子 2, 3, 4 分别编码 HLA-G 蛋白的 $\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3$ 功能区。外显子 5 编码跨膜区。外显子 6 编码胞浆区, 内有终止密码子。原始的 HLA-G 转录产物经过选择性拼接产生 7 种 mRNA, 编码 7 种 HLA-G 的蛋白异构体。HLA-G1-4 为膜结

合型, 其中 HLA-G1 是全长 mRNA 编码的, 与 $\beta 2$ 微球蛋白以非共价键结合形成类似于经典 I 类抗原结构。HLA-G2 缺乏 $\alpha 2$ 功能区。HLA-G3 缺乏 $\alpha 2$ 和 $\alpha 3$ 功能区。HLA-G4 缺乏 $\alpha 3$ 功能区。HLA-G5-7 为可溶型, 其中 HLA-G5, -G6 分别为 HLA-G1, -G2 的可溶型。它们由含有内含子 4 的 HLA-G mRNA 编码, 内含子 4 中有终止密码, 从而使所编码蛋白缺失外显子 5 编码的穿膜区^[1]。HLA-G7 内含子 2 中有终止密码, 可使所编码蛋白 $\alpha 1$ 功能区与由内含子 2 编码的特异性氨基酸相连接^[2]。

2 HLA-G 在肿瘤组织中的表达

近年来有报道显示在某些肿瘤组织中表达 HLA-G。其中研究较为肯定的是在人类黑色素瘤中的表达。Paul 等^[3]采用 RT-PCR 方法在 3 种人类黑色素瘤细胞系中(IGR, M74 和 M8)扩增 HLA-G 序列, 结果显示在 IGR 和 M74 中表达高水平的 HLA-G, 而在 M8 中未见 HLA-G 表达。进一步用 HLA-G 不同异构体的引物进行 RT-PCR 检测发现在 IGR 中可见所有的 HLA-G 异构体 mRNA 表达, 但 HLA-G4 和 HLA-G5 表达量较低。在 M74 中 HLA-G1, 4, 5 的表达量较高, 而 HLA-G2 和 HLA-G6 仅有微弱表达, M74 中不表达 HLA-G3。用免疫沉淀法进一步检测在黑色素瘤细胞系 IGR 中 HLA-G 的蛋白质表达水平。与 mRNA 转录水平不同的是并未发现 HLA-G1 蛋白表达, 但是检测到 HLA-G2/HLA-G4 和 HLA-G3 的表达。对黑色素瘤患者的活检组织进行研究, 发现在原发及转移肿瘤组织中可见 HLA-G mRNA 和 HLA-G 蛋白的表达水平升高, 而在周围正常皮肤组织及肿瘤退化部位 HLA-G mRNA 的表达水平很低, 也没发现 HLA-G1 蛋白表达。因此, HLA-G mRNA 表达升高可能是肿瘤转移的一个前期信号。Paul 等^[3]还发现在黑色素瘤患者的活检组织中可溶性的 HLA-G5 的表达升高, 而且这种升高于其他膜结合型异构体表达的升高相分离, 即在高表达 HLA-G1-4 的黑色素瘤组织中往往不表达 HLA-G5。

Ibrahim 等^[4]的研究发现 18 例肾细胞癌组织与相邻正常组织中 HLA-G 的表达之间有显著差异, 并且肾细胞癌中

HLA-G 的上调表达频度明显高于其他 MHC 抗原。进一步应用由 HLA-G 阳性的肾细胞癌构建的细胞系(DM)研究发现 HLA-G 在这些细胞表面仍保持表达和分泌,并且 IFN- γ 可提高 DM 细胞系的 HLA-G mRNA 和细胞表面 HLA-G 的表达水平。Urosevic 等^[5]应用实时定量 PCR 法发现在所检测的全部 19 例肺癌组织中均显示有 HLA-G1 和-G5 的转录产物,免疫组织化学法检测发现 34 例中有 9 例(26%)为阳性表达,HLA-G 的表达与肺癌的分化程度相关,并且 HLA-G 的上调表达与 IL-10 相关。这些研究提示 HLA-G 与肿瘤的发生发展可能有关。

在其他一些活检肿瘤组织例如乳腺癌、结肠癌、胰腺癌和膀胱癌中可以检测到高水平的 HLA-G mRNA^[6-7]。但是在长期体外培养的肿瘤细胞系中未检测到高水的 HLA-G mRNA^[8]。这提示 HLA-G 的表达在体外不能长时间维持。这可能是因为在肿瘤微环境中存在着刺激 HLA-G 表达的因素,如 IL-10,IL-2,GM-CSF 和 IFN- γ 等^[7,9],而在体外缺乏这些因素的作用。在蛋白质水平检测其他肿瘤组织中 HLA-G 蛋白的表达也没有发现升高^[7,10]。这可能是由于目前的检测手段仅能有效检测 HLA-G1,而未能检测出其他 HLA-G 的异构体。而实际上 HLA-G 的其他异构体也可以发挥类似 HLA-G1 的作用。

3 HLA-G 导致肿瘤免疫逃逸的机制

肿瘤组织表达的 HLA-G 可以通过抑制抗肿瘤的效应细胞的作用,使肿瘤细胞发生免疫逃逸。

3.1 HLA-G 对 NK 细胞的作用

NK 细胞是机体非特异性抗肿瘤免疫的主要效应细胞,其作用不受 MHC I 类分子的限制。人们在 1994 年就发现感染了 HLA-G 的细胞可以抵抗 NK 细胞的细胞毒作用,此后大量研究也证实了这一现象^[11]。

肿瘤细胞表面表达的 HLA-G 可以使肿瘤细胞抵抗 NK 细胞的杀伤作用。因为肿瘤细胞表面还表达有经典 HLA-I 类分子和 HLA-E,这 2 种分子均可以抑制 NK 细胞的杀伤活性。为了确定 HLA-G 是否可以独立发挥抑制 NK 细胞活性的作用,Cabestre 等^[1]用 YT2C2-PR NK 细胞作为效应细胞,这种来源于 T 淋巴瘤的细胞缺少与 HLA-I 类分子和 HLA-E 相互作用的受体,因此只受 HLA-G1 和 HLA-G2 的抑制。结果显示只有在高表达 HLA-G 的黑色素瘤细胞系(IGR 和 DRAN)YT2C2-PR NK 细胞的作用受抑制。相反不表达 HLA-G 的 M8 细胞系中 YT2C2-PR NK 细胞作用不受抑制。将 HLA-G1 基因转入 M8 细胞系, YT2C2-PR NK 细胞的作用受到抑制。因此可以证明 HLA-G 可以抑制 NK 细胞对肿瘤的杀伤活性。

肿瘤细胞表面的 HLA-G 与 NK 细胞表面存在的杀伤细胞抑制性受体(killer cell inhibitory receptor, KIR)相互作用,导致 NK 细胞活性受抑制。HLA-G 可以与下列几类 KIR 相互作用。①Immunoglobulin-like transcript-2 (ILT-2)和 ILT-4。它们都属于免疫球蛋白受体超家族,有膜结合型和可溶性两

种^[12]。ILT-2 表达于 NK 细胞、T 细胞、单核细胞和 B 细胞。它常常与 HLA-E 的受体 CD94/ NKG2A 共同表达于某些 NK 细胞表面,两者协同抑制 NK 细胞的杀伤活性。ILT-4 表达于单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞表面。除 HLA-G 外还识别某些 HLA-Ia 分子,并抑制由激活性受体引起的早期信号传导。②P49 表达于所有的 NK 细胞及 T 细胞的一个亚群。可以特异性地识别 HLA-G 分子和某些 HLA-Ia 分子^[13]。

肿瘤细胞表面的 HLA-G 与 NK 细胞表面的 KIR 结合后,激活 KIR 胞浆部分含有的免疫受体酪氨酸抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM),该基序与自身的 MHC-I 类分子结合后,可转导负调控信号,抑制 NK 细胞活化。

另外,来自肿瘤的可溶性 MIC 分子在肿瘤病人的浸润性肿瘤组织和外周血 T 细胞中均可诱导胞饮作用和 NKG2D 的降解,从而发挥 NK 细胞的细胞溶解作用。最近的体外研究发现 HLA-G 能够抑制由 MICA(MHC class I chain-related A)引发的被 NK 细胞介导的肿瘤细胞溶解过程。因此 MIC 阳性肿瘤细胞可通过 HLA-G 对抗免疫攻击,产生逃逸^[14]。

3.2 HLA-G 对 CTL 细胞的作用

CTL 是机体特异性抗肿瘤免疫的主要效应细胞,其作用受 MHC-I 类分子的限制。近年来的研究显示 HLA-G 也可以抑制 CTL 的杀伤活性。Rouas Freiss 等^[15]报道转染膜结合型的 HLA-G1, HLA-G2 和可溶性的 HLA-G 分子的细胞能抑制同种淋巴细胞的增殖反应及抗原特异性的 CTL 反应。可溶性 HLA-G 分子也可通过 Fas/FasL 途径诱导 CD8 阳性的 CTLs 发生凋亡^[16]。

CTL 表面可以表达一些 KIR,如 ILT-2 和 P49^[17]。肿瘤细胞表面的 HLA-G 可以与 ILT-2 和 P49 结合,传导负调控信号,与 TCR-MHC-I 类分子复合物传导的正调节信号相对抗,抑制 CTL 的抗肿瘤作用。

3.2 HLA-G 对其他细胞的作用

上面提到 ILT-4 表达于抗原呈递细胞如单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞表面。肿瘤细胞表面的 HLA-G 与之结合后抑制这些细胞的抗原呈递功能,并抑制它们分泌细胞因子,从而起到抑制机体免疫功能的作用^[12]。

δ T 细胞是一种有杀伤活性的 T 细胞,它也可以分泌多种细胞因子,因此在肿瘤免疫中也发挥着重要作用。HLA-G 可以与 δ T 细胞表面的 KIR-P49 相结合,抑制 δ T 细胞的杀伤活性^[17]。

3.3 HLA-G 对细胞因子的作用

根据产生细胞因子和生物功能的不同,Th 细胞可以分为 Th1 和 Th2 亚群。Th2 和 Th1 细胞分泌不同的细胞因子,介导不同的免疫反应。Th1 细胞因子(IL-12 和 IFN- γ 等)可以通过激活 CTL 细胞,NK 细胞和巨噬细胞来促进细胞免疫;Th2 细胞因子(IL-4 和 IL-10 等)则促进 B 细胞分泌特异性抗体,介导体液免疫。机体的抗肿瘤免疫主要是通过 Th1 介导的细胞免疫来完成的。因此 Th1 细胞在肿瘤免疫中发挥重大作用。

HLA-G 可以使 Th2 型细胞因子分泌增多, Th1 型细胞因子分泌减少, 免疫平衡向 Th2 偏移。将 PBMC 与表达 HLA-G 的细胞共同培养, 肿瘤坏死因子(TNF)和 IFN- γ 的分泌量下降, IL-4 分泌量增加, 免疫平衡向 Th2 偏移^[18]。与膜结合型的 HLA-G 相反, 将 PBMC 与可溶型的 HLA-G 共同培养, TNF 和 IFN- γ 的分泌量增加。可溶型 HLA-G 对 IL-4 分泌量无影响, 但是可以增加 IL-10 的分泌量^[19]。

根据以上研究结果推断肿瘤细胞表面的 HLA-G 也可以使 Th1/Th2 平衡向 Th2 方向偏转, 机体细胞免疫能力相对下降, 抗肿瘤免疫能力下降。这可能也是造成肿瘤免疫逃逸的机制之一。但是现在关于 HLA-G 对免疫平衡的影响的研究多集中在促进母胎耐受, 预防流产的方面。对于肿瘤细胞 HLA-G 对免疫平衡的影响的研究尚未见报道, 因此上述推论还有待于进一步验证。

4 问题和展望

综上所述, 在某些肿瘤组织中表达 HLA-G 抗原。HLA-G 可以通过抑制 NK 细胞、CTL 细胞等效应细胞的作用, 改变机体细胞因子分泌的模式来抑制机体的肿瘤免疫反应, 使肿瘤细胞发生免疫逃逸而得以生存发展。但 HLA-G 与肿瘤发生发展的关系仍待进一步明确。另外, 值得注意的是最近的研究表明^[20], IFN- γ 可增加 HLA-G 在卵巢癌细胞系中的表达水平, 诱发免疫逃逸而保护肿瘤细胞。因此提示在临床应用 IFN- γ 等进行免疫治疗时, 应考虑这种相反疗效的出现。这也提示如果某种药物可以下调肿瘤组织中 HLA-G 的表达, 就可以恢复效应细胞的杀瘤作用, 打破机体对肿瘤的免疫耐受, 遏制肿瘤的生长。这也为肿瘤的治疗开辟了新的发展方向。

[参考文献]

- [1] Cabestre FA, Lefebvre S, Moreau P, *et al.* HLA-G expression: Immune privilege for tumor cells? [J]. *Semin Cancer Biol*, 1999, 9(1): 27-36.
- [2] Paul P, Cabestre FA, Ibrahim EC, *et al.* Identification of HLA-G7 as a new splice variant of the HLA-G mRNA and expression of soluble HLA-G5, -G6, and -G7 transcripts in human transfected cells [J]. *Hum Immunol*, 2000, 61(11): 1138-1149.
- [3] Paul P, Rouas-Freiss N, Khalil-Daher I, *et al.* HLA-G expression in melanoma: A way for tumor cells to escape from immunosurveillance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(8): 4510-4515.
- [4] Ibrahim EC, Guerra N, Lacombe MJ, *et al.* Tumor-specific up-regulation of the nonclassical class I HLA-G antigen expression in renal carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(18): 6838-6845.
- [5] Urosevic M, Kurrer MO, Kamarashev J, *et al.* Human leukocyte antigen G up-regulation in lung cancer associates with high-grade histology, human leukocyte antigen class I loss and interleukin-10 production [J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(3): 817-824.
- [6] Real LM, Cabrera T, Collado A, *et al.* Expression of HLA G in human tumors is not a frequent event [J]. *Int J Cancer*, 1999, 81

(4): 512-518.

- [7] Carosella ED, Rouas-Freiss N, Paul P, *et al.* HLA-G: A tolerance molecule from the major histocompatibility complex [J]. *Immunol Today*, 1999, 20(2): 60-62.
- [8] Davies B, Hiby S, Gardner L, *et al.* HLA-G expression by tumors [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2001, 45(2): 103-107.
- [9] Amiot L, Onno M, Renard I, *et al.* HLA-G transcription studies during the different stages of normal and malignant hematopoiesis [J]. *Tissue Antigens*, 1996, 48(5): 609-614.
- [10] Polakova K, Russ G. Expression of the non-classical HLA-G antigen in tumor cell lines is extremely restricted [J]. *Neoplasma*, 2000, 47(6): 342-348.
- [11] Rouas-Freiss N, Marchal RE, Kirszenbaum M, *et al.* The alpha1 domain of HLA-G1 and HLA-G2 inhibits cytotoxicity induced by natural killer cells: Is HLA-G the public ligand for natural killer cell inhibitory receptors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(10): 5249-5254.
- [12] Colonna M, Samaridis J, Cella M, *et al.* Human myelomonocytic cells express an inhibitory receptor for classical and nonclassical MHC class I molecules [J]. *J Immunol*, 1998, 160(7): 3096-3100.
- [13] Cantoni C, Verdiani S, Falco M, *et al.* p49, a putative HLA class I -specific inhibitory NK receptor belonging to the immunoglobulin superfamily [J]. *Eur J Immunol*, 1998, 28(6): 1980-1990.
- [14] Seliger B, Abken H, Ferrone S. HLA-G and MIC expression in tumors and their role in anti-tumor immunity [J]. *Trends Immunol*, 2003, 24(2): 82-87.
- [15] Rouas-Freiss N, Khalil-Daher I, Riteau B, *et al.* Immunotolerance role of HLA-G [J]. *Semin Cancer Biol*, 1999, 9(1): 3-12.
- [16] Contini P, Ghio M, Poggi A, *et al.* Soluble HLA-A, -B, -C and -G molecules induce apoptosis in T and NK CD8⁺ cells and inhibit cytotoxic T cell activity through CD8 ligation [J]. *Eur J Immunol*, 2003, 33(1): 125-134.
- [17] Bakker AB, Phillips JH, Figdor CG, *et al.* Killer cell inhibitory receptors for MHC class I molecules regulate lysis of melanoma cells mediated by NK cells, gamma delta T cells, and antigen-specific CTL [J]. *J Immunol*, 1998, 160(11): 5239-5245.
- [18] Kanai T, Fujii T, Unno N, *et al.* Human leukocyte antigen-G-expressing cells differently modulate the release of cytokines from mononuclear cells present in the decidua versus peripheral blood [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2001, 45(2): 94-99.
- [19] Kanai T, Fujii T, Kozuma S, *et al.* Soluble HLA-G influences the release of cytokines from allogeneic peripheral blood mononuclear cells in culture [J]. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(2): 195-200.
- [20] Malmberg KJ, Levitsky V, Norell H, *et al.* IFN-gamma protects short-term ovarian carcinoma cell lines from CTL lysis via a CD94/NKG2A-dependent mechanism [J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(10): 1515-1523.

[收稿日期] 2003 - 04 - 25

[修回日期] 2003 - 07 - 20