

[文章编号] 1007-385X(2003)04-0306-03

新型共刺激分子 B7RP-1 的研究进展

朱 伟 综述; 张学光 审阅 (苏州大学生物技术研究所, 江苏 苏州 215007)

[摘 要] B7RP-1 (B7 related protein 1) 是 B7 家族的新成员, 可持续表达于 B 淋巴细胞表面。它与其特异性受体 ICOS (Inducible costimulator) 的结合在机体再次体液免疫应答过程中 T 细胞的增殖、活化、Th2 型细胞因子分泌以及 B 细胞的增殖、分化、抗体分泌等方面发挥了重要的调节作用。B7RP-1/ICOS 信号途径在机体抗感染、抗肿瘤、抗移植排斥等细胞免疫应答过程中也发挥了重要的作用。

[关键词] ICOS; B7RP-1; B7

[中图分类号] R392.12 [文献标识码] A

除 APCs(抗原呈递细胞)呈递的特异性抗原信号(第一信号)外, T 细胞的充分活化还依赖共刺激分子呈递的第二信号(共刺激信号)。CD28, CTLA-4 及其配体 B7-1, B7-2 是研究较为广泛的共刺激分子对。CD28 在 T 细胞激活的初始阶段提供重要的活化信号, 而 CTLA-4 发挥负性调控作用。Hutloff^[1]于 1999 年首先报道了 ICOS 分子(可诱导的共刺激分子), 指出其结构和功能与 CD28 十分相似, 是 CD28 家族的第 3 个成员, 但其只能诱导表达于活化的 T 细胞表面或记忆性 T 细胞表面。B7RP-1(B7 相关蛋白 1)是 B7 家族的新成员, 是 ICOS 的特异性配体。它只能与 ICOS 特异性结合, 而不能与 CD28, CTLA-4 结合。B7RP-1 有其独特的表达形式, 与 ICOS 的相互作用在机体的特异性免疫应答中发挥重要的作用。本文即对 B7RP-1 的研究进展作简要的综述。

1 B7RP-1 的结构特征

MYPPPY 基序是 CD28, CTLA-4 与 B7-1, B7-2 结合的特异性部位。但 ICOS 缺乏此基序^[3], 由此推测 ICOS 不能与 B7-1, B7-2 结合, 而应有其特异性的配体。1999 年, Yoshinaga 等^[5]首先报道了小鼠 B7RP-1 分子, 并证实 B7RP-1 为 ICOS 的特异性配体。随后多个实验室也先后报道了小鼠和人的 B7RP-1 分子。小鼠 B7RP-1(又称为:mGL50^[4], B7h^[5], mLICOS^[6])由 322 个氨基酸组成, 与小鼠 B7-1 和 B7-2 分别有着 20% 和 19% 的氨基酸同源性。人 ICOS 特异性配体有 2 种铰链的异构体:hGL50^[4]和 hB7RP-1^[7](又称为 B7-H2^[8], hLICOS^[6], hICOSL^[3])。hGL50 由 309 个氨基酸组成; hB7RP-1 由 302 个氨基酸组成。2 种异构体分子的胞外段序列完全相同, 只是胞内 C(碳)末端的氨基酸序列不同而已。hB7RP-1 的氨基酸序列与 mB7RP-1 有 43% 同源, 与人 B7-1 有 41% 同源。B7RP-1 是糖基化的 I 型跨膜蛋白, 由胞外段、跨膜区、胞内段构成。胞外段含有信号肽序列、IgV 样功能区和 IgC 样功能区; 其中第 37, 113, 158, 215, 216 位氨基酸是与 B7 家族共有的、高度保守的半胱氨酸残基, 它们参与了免疫球蛋白环状结构中二硫键的形成。鉴于 B7RP-1 与 B7 家族

的显著同源性, 因此将其视为 B7 家族的同聚体, 归入 B7 家族。但其与 B7-1/2 在结构上不尽相同, B7RP-1 无 SQDXXX-ELY 结构域, 而这一结构域是 B7 与 CD28/CTLA-4 结合的特异性结构^[6], 这同样解释了 B7RP-1 只能与 ICOS 特异性结合。

2 B7RP-1 的表达形式

B7RP-1 广泛表达于机体的各种组织, 包括非淋巴组织和淋巴组织^[4]。淋巴组织中 B 细胞持续高表达 B7RP-1, 巨噬细胞、树突状细胞也有一定表达^[2]。Aicher 等^[3]报道单核细胞系、B 细胞系细胞 B7RP-1 表达水平较高, 而霍奇金细胞系、T 细胞系细胞几乎不表达 B7RP-1。新鲜分离的 T 细胞中有一很小的亚群表达低水平 B7RP-1。ConA, LPS 的刺激可以上调该群细胞表达 B7RP-1^[4]。外周血中未经刺激的 B 细胞、单核细胞表面低水平表达 B7RP-1, 经 IFN- γ , TNF- α , LPS 刺激后, B7RP-1 的表达迅速上调^[3,7]。进一步的研究发现 IFN- γ 对单核细胞表面 B7RP-1 的诱导上调表达作用并非通过 NF- κ B 途径, 而是蛋白激酶途径依赖性的^[3]。CD14⁺ 单核细胞贴壁后, B7RP-1 表达上调, 这与 B7-1/2 的表达特性颇为相似^[3]。体外诱导单核细胞向成熟 DCs 分化的过程中, 细胞表面 B7RP-1 表达水平并没有显著上调^[3]; 相反, 成熟 DCs 在 TNF- α 的刺激下, B7RP-1 下调表达^[7]。有趣的是, Swallow 等^[5]发现 TNF- α 可以诱导小鼠成纤维细胞和某些非淋巴组织细胞表达 B7RP-1。内皮细胞表面持续表达 B7RP-1, 而且 IL-1 β 和 TNF- α 有明显的上调作用^[9]。这些发现提示: B7RP-1 在机体局部炎症反应中发挥重要作用。值得注意的是 Ling 等^[4]发现: B7RP-1 早在小鼠胚胎造血组织就有表达, 并且可以在淋巴系生成之前的一种胚胎成纤维细胞上诱导表达。这一发现对进一步了解怀孕期间母体的免疫应答特点提供了新的视角。

3 B7RP-1 在机体特异性体液免疫应答中的作用

ICOS 在 T 细胞上的诱导表达以及 B7RP-1 在 B 细胞上

的持续高表达的特点提示:与 CD28/B7-1、2 信号不同,ICOS/B7RP-1 信号在机体特异性再次免疫应答过程中发挥重要的调节作用。

经 anti-CD3 单克隆抗体激活的 CD4⁺ T 细胞在体外与转染 B7RP-1 的 CHO 细胞共培养或在外源性 B7RP-1 融合蛋白刺激时,T 细胞明显增殖,但 ICOS 融合蛋白封闭 B7RP-1 后,T 细胞的增殖明显抑制^[2,3,7]。B7RP-1 在体内能够明显刺激抗原特异性 CD4⁺ T 细胞的克隆增生。在 Th2 型小鼠肺部炎症和哮喘模型中^[10-11],B7RP-1 融合蛋白明显促进嗜酸性粒细胞和特异性 T 细胞在肺部组织的浸润,显著上调小鼠血清中特异性 IgE 的含量。B7RP-1 上调 CD4⁺ T 细胞表达 IL-4,IL-10,IL-13 等细胞因子,尤其是 IL-10^[7,12]。有趣的是,与 B7 不同,B7RP-1 不能上调 CD4⁺ T 细胞表达 IL-2^[1,2]。IL-4,IL-10,IL-13 是重要的 Th2 细胞因子,由此推测 B7RP-1 在 CD4⁺ T 细胞向 Th2 细胞分化过程中扮演了重要的角色。B7RP-1 的这些功能受到诸多因素调节,其中以 CD28/CTLA-4 和 IL-2 最为重要。CTLA-4 能够阻断 B7RP-1 对 Th2 细胞因子的上调表达作用,加强 ICOS 融合蛋白的抑制作用^[12];与野生型 T 细胞相比,CD28^{-/-} T 细胞在 B7RP-1 的刺激下,IL-4 等的分泌量明显减少^[11]。由此可见:虽然 ICOS/B7RP-1 信号的激活不依赖于 CD28^[2,13],但 CD28 参与了 ICOS/B7RP-1 信号的调节。可能一方面通过调节 T 细胞表面 ICOS 的表达,另一方面通过调控 ICOS 的信号传导通路而发挥作用。IL-2 可以明显上调 ICOS/B7RP-1 信号介导的 Th2 细胞因子的表达,恢复 CTLA-4 对 B7RP-1 信号的抑制作用;抗 IL-2 单克隆抗体阻断 IL-2 途径则明显抑制 B7RP-1 对 IL-10 等细胞因子分泌的促进作用^[7,12]。由此可见,虽然 B7RP-1 不能上调 T 细胞表达 IL-2,但 ICOS/B7RP-1 信号的维持有赖于 IL-2 的信号作用。

在小鼠体内抗原特异体液免疫反应中,ICOS 融合蛋白封闭 B7RP-1 后,血清特异性抗体的含量明显下降,而 B7RP-1 明显促进特异性 IgG,IgE 的分泌^[11,14]。B7RP-1 转基因小鼠出现了 T、B 淋巴细胞、浆细胞过度增生;高免疫球蛋白血症^[2]。小鼠敲除 ICOS 基因后,其生发中心缩小且细胞数目减少、免疫球蛋白类型转化出现缺陷、血清中 IgG,IgE 含量明显下降^[2,14]。由此可见,ICOS/B7RP-1 在促进 B 细胞增殖、B 细胞向浆细胞分化以及浆细胞分泌抗体等方面发挥重要作用。进一步研究发现:即使抗原再次致敏 ICOS^{-/-} 小鼠时,生发中心和抗体类型转化的缺陷依然存在^[2]。这提示了 ICOS/B7RP-1 信号在二次免疫应答中的作用。有趣的是,CD40/CD40L 信号的激活可以恢复 ICOS^{-/-} 小鼠受损的免疫球蛋白类型转换^[14]。因此推测 ICOS/B7RP-1 介导的生物效应可能部分是通过调控 CD40/CD40L 信号途径实现的。

综上所述,B7RP-1 可以促进 B 和 T 细胞的增殖,上调 CD4⁺ T 细胞表达 IL-10,IL-13 等 Th2 细胞因子,促进 B 细胞向浆细胞分化并分泌免疫球蛋白,在机体的特异性体液免疫应答,尤其是再次免疫应答中发挥重要的作用。

4 B7RP-1 在特异性细胞免疫中的作用

业已表明,B7RP-1 能够明显上调 T 细胞表达 IFN- γ ^[2,7]。机体在针对弓形虫、李斯特杆菌等的特异性免疫应答中^[13],B7RP-1 的刺激能够明显上调特异性 T 细胞表达 IFN- γ ;阻断 B7RP-1 信号后,特异性的 CD4⁺ Th1 和 CD8⁺ T 细胞数量明显减少,IFN- γ 的表达量显著下降^[11]。在接触性过敏的小鼠模型中^[2],B7RP-1 融合蛋白可以明显加重过敏反应,尤其在二次抗原激发时作用尤为明显。Rottam^[18]在对小鼠 EAE (实验性自身免疫性脑脊髓膜炎)的研究中发现一个有趣的现象:在免疫应答的效应阶段阻断 ICOS/B7RP-1 信号能够显著减轻小鼠的病情,伴随着 IFN- γ 的表达量明显下降;而在初始阶段阻断该信号传入则起着完全相反的作用。由此可见,B7RP-1 能够通过调控 IFN- γ 的表达来调节机体特异性细胞免疫应答的效应阶段,从而发挥抗感染、抗自身免疫性疾病的作用。

转染 B7RP-1 基因的肿瘤细胞在小鼠体内的生长受到明显的抑制;荷瘤小鼠肿瘤特异性 CD8⁺ T 细胞克隆明显增生,并且表现出对 B7RP-1-肿瘤明显的选择杀伤作用^[16-17]。肿瘤特异性 CD8⁺ T 细胞的过继治疗明显抑制了受体小鼠(recipient)体内 B7RP-1-肿瘤的生长和复发,即使复发,这些复发肿瘤细胞表面也已缺失表达 B7RP-1^[16]。由此可见 B7RP-1 可以明显增强某些肿瘤细胞的免疫原性,从而诱发更强的特异性细胞免疫应答,增强机体对肿瘤细胞的杀伤作用。Gulshan 等^[18]的研究发现:可溶性的 B7RP-1 融合蛋白可以通过介导机体特异性免疫应答反应,长期明显的抑制多种肿瘤在小鼠体内的生长,并且可以协同环磷酰胺的抗肿瘤作用。这些发现将十分有助于深入理解肿瘤免疫的机制以及探索临床肿瘤治疗的新途径。

5 B7RP-1 在移植排斥反应中的作用

Anti-ICOS 单克隆抗体或 ICOS 融合蛋白可以明显减轻小鼠肝脏、心脏移植中 CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 细胞的浸润、活化和增殖;抑制多种炎症因子、趋化因子的分泌;协同环孢霉素 A 的抗移植排斥作用,明显延长移植存活时间^[19-20]。先前的研究发现,阻断 CD28/B7 和 CD40/CD40L 信号途径虽然可以抑制急性期的抗移植排斥反应,但却不能有效防止慢性排斥反应的发生。但令人兴奋的是,Coyle 等发现^[20],阻断 ICOS/B7RP-1 信号传导,不仅可以明显的抑制急性期移植排斥反应,还可以防止移植血管硬化的发生,有效地抑制慢性移植排斥反应。这一发现无疑为我们深入理解移植排斥发生的机制、探索更加有效的治疗方法提供了新的思路。

6 展望

作为 B7 家族的最新成员, B7RP-1 通过与 ICOS 的特异性结合,在机体免疫应答,特别是再次免疫应答中发挥着重要的作用。对 B7RP-1/ICOS 信号传导途径的适当调节必将在抗感染、抗移植排斥、抗肿瘤以及自身免疫性疾病的防治

等多方面发挥重要的作用。

[参考文献]

[1] Hutloff A, Dittrich AM, Beier KC, *et al.* ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28 [J]. *Nature*, 1999, 397(6716): 263-266.

[2] Yoshinaga SK, Whoriskey JS, Khare SD, *et al.* T-cell co-stimulation through B7RP-1 and ICOS [J]. *Nature*, 1999, 402(6763): 827-832.

[3] Aicher A, Hayden LM, Brady WA, *et al.* Characterization of human inducible costimulator ligand expression and function [J]. *J Immunol*, 2000, 164(9): 4689-4696.

[4] Ling V, Wu PW, Finnerty HF, *et al.* Differential expression of inducible costimulator-ligand splice variants: Lymphoid regulation of mouse GL50-B and human GL50 molecules [J]. *J Immunol*, 2001, 166: 7300-7308.

[5] Swallow MM, Wallin JJ, Sha WC. B7h, a novel costimulatory homolog of B7. 1 and B7. 2, is induced by TNFalpha [J]. *Immunity*, 1999, 11(4): 423-432.

[6] Brodie D, Colins AV, Iaboni A, *et al.* LICOS, a primordial costimulatory Ligand? [J] *Curr Biol*, 2000, 10: 333.

[7] Yoshinaga SK, Zhang M, Pistillo J, *et al.* Characterization of a new human B7-related protein: B7RP-1 is the ligand to the costimulatory protein ICOS [J]. *Int Immunol*, 2000, 12(10): 1439-1447.

[8] Wang S, Zhu G, Chapoval AI, *et al.* Costimulation of T cells by B7-H2, a B7-like molecule that binds ICOS [J]. *Blood*, 2000, 96: 2808-2813.

[9] Khayyamian S, Hutloff A, Buchner K, *et al.* ICOS-ligand, expressed on human endothelial cells, costimulates Th1 and Th2 cytokine secretion by memory CD4⁺ T cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(9): 6198-6203.

[10] Akbari O, Freeman GJ, Meyer EH, *et al.* Antigen-specific regulatory T cells develop via the ICOS-ICOS-ligand pathway and inhibit allergen-induced airway hyperreactivity [J]. *Nat Med*, 2002, 8

(9): 1024-1032.

[11] Kopf M, Coyle AJ, Schmitz N, *et al.* Inducible costimulator protein (ICOS) controls T helper cell subset polarization after virus and parasite infection [J]. *J Exp Med*, 2000, 192(1): 53-61.

[12] Riley JL, Blair PJ, Musser JT, *et al.* ICOS costimulation requires IL-2 and can be prevented by CTLA-4 engagement [J]. *J Immunol*, 2001, 166(8): 4943-4948.

[13] Villegas EN, Lieberman LA, Mason N, *et al.* A role for inducible costimulator protein in the CD28- independent mechanism of resistance to *Toxoplasma gondii* [J]. *J Immunol*, 2002, 169(2): 937-943.

[14] McAdam AJ, Greenwald RJ, Levin MA, *et al.* ICOS is critical for CD40-mediated antibody class switching [J]. *Nature*, 2001, 409(6816): 102-105.

[15] Rottman JB, Smith T, Tonra JR, *et al.* The costimulatory molecule ICOS plays an important role in the immunopathogenesis of EAE [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(7): 605-611.

[16] Bai XF, Wen J, Gao JX, *et al.* B7H costimulates clonal expansion of, and cognate destruction of tumor cells by, CD8⁺ T lymphocytes *in vivo* [J]. *J Exp Med*, 2001, 194(9): 1339-1348.

[17] Wallin JJ, Liang L, Bakardjiev A, *et al.* Enhancement of CD8⁺ T cell responses by ICOS/B7h costimulation [J]. *J Immunol*, 2001, 167(1): 132-139.

[18] Ara G, Baher A, Storm N, *et al.* Potent activity of soluble B7RP-1-Fc in therapy of murine tumors in syngeneic hosts [J]. *Int J Cancer*, 2003, 103: 501-507.

[19] Ozkaynak E, Gao W, Shemmeri N, *et al.* Importance of ICOS/B7RP-1 costimulation in acute and chronic allograft rejection [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(7): 591-596.

[20] Guo L, Li XK, Fumeshima N, *et al.* Prolonged survival in rat liver transplantation with mouse monoclonal antibody against an inducible costimulator (ICOS) [J]. *Transplantation*, 2002, 73(7): 1027-1032.

[收稿日期] 2003 - 03 - 24 [修回日期] 2003 - 06 - 10

《中国肿瘤生物治疗杂志》现状与发展专题座谈纪要

2003年12月26日在杭州召开的中国免疫学会肿瘤免疫和生物治疗专业委员会及中国抗癌协会生物治疗专业委员会联合工作会议就《中国肿瘤生物治疗杂志》的现状和发展作了专题讨论。

与会专家一致认为,《中国肿瘤生物治疗杂志》在国内外编委专家和读者的支持下,办刊水平稳步提高,自1994年12月创刊后于1996年获得国家新闻出版署正式批准(刊号CN31-1725/R),1997年开始通过邮局发行。1998年成为国家科技部“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊),同年成为《中国科学引文数据库》来源期刊,《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊。1999年被《中国医学文摘·肿瘤学》列为医学核心期刊。2003年被《中国学术期刊文摘》、《中国核心期刊(遴选数据库)》、《中文生物医学期刊文献数据库》收录;在《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》执行评优活动中荣获首届《CAJ-CD规范》执行优秀期刊奖。目前的影响因子为0.312,列肿瘤学期刊第五名,在中国免疫学会所属的六个专业期刊中排在首位。

为了使杂志达到更高的水准,与会专家认为必须适应新形势的要求,在多个方面进行改革。与会专家就此作了热烈讨论并提出多条建设性的意见和建议,包括杂志的学术定位、报道范围的扩大、新一届编委改选、加强宣传扩大影响的举措(如建立网站)等。

相信在广大编委专家、读者以及编辑部工作人员的共同努力下,《中国肿瘤生物治疗杂志》将更上一个台阶,成为学术水平高、影响大的专业学术期刊。