

[文章编号] 1007-385X(2005)04-0306-03

## 次级淋巴组织趋化性细胞因子研究进展

刘容枝 综述; 张叔人 审阅(中国医学科学院肿瘤医院免疫室, 北京 100021)

**[摘要]** 次级淋巴组织趋化因子(SLC)是体内重要的CC亚族趋化因子成员,能趋化体内多种淋巴细胞到外周组织或器官,与淋巴细胞归巢和DC向淋巴组织的迁移有密切关系。SLC还有抗肿瘤作用,其作用机制包括:募集淋巴细胞和成熟DC;调节细胞因子的分泌;抑制肿瘤血管生成。SLC在肿瘤免疫治疗中具有广泛的应用前景。

**[关键词]** SLC; 生物学功能; 肿瘤免疫治疗

**[中图分类号]** R730.51 **[文献标志码]** A

SLC(secondary lymphoid tissue chemokine)是CC亚族的趋化因子,又称Exodus-2、6Ckine(chemokine with 6 cysteines)、TCA4(T cell activation protein)和CCL21,前体蛋白质由134个氨基酸组成,其中23个氨基酸残基为信号肽序列,111个氨基酸的成熟蛋白质含有4个cys。SLC与其他CC亚族趋化因子有21%~33%的同源性,但在羧基端SLC多出30个氨基酸,其中包含2个Cys<sup>[1]</sup>。人的SLC(hSLC)与小鼠的SLC(mSLC)有70.72%的同源性;在体外,hSLC能趋化小鼠外周血单核细胞。mSLC有两个受体CXCR3和CCR7,hSLC只有一个受体CCR7。人的CCR7与小鼠的CCR7有86.77%的同源性<sup>[2]</sup>。CXCR3在T细胞、NK细胞表面表达;CCR7在B细胞、T细胞、NK细胞、DC表面表达<sup>[3]</sup>。ELC(Epstei-Barrvirus-induced molecule-1 ligand chemokine)除与SLC分享共同的基因定位,还分享共有的趋化因子受体CCR7,二者虽然只有32%氨基酸相同,却构成了在基因上和功能上都密切相关的CC性趋化因子的亚群<sup>[4]</sup>。SLC由淋巴管、高内皮小静脉(high endothelial venules,HEV)的内皮细胞以及次级淋巴组织T细胞区的基质细胞组成性地表达<sup>[5]</sup>。

### 1 SLC的功能研究

#### 1.1 SLC对多种细胞有趋化作用

SLC对T细胞、B细胞、NK细胞和DC有趋化作用,对中性粒细胞、单核细胞没有趋化作用。SLC对细胞的趋化作用如下:首先,SLC形成稳定的化学浓度梯度;其次,靶细胞发生极化,SLC与表达在靶细胞上的CCR7结合,活化胞浆内偶联的G蛋白,诱导Ca<sup>2+</sup>快速动员,MAPK,FAK等酪氨酸激酶磷酸化,通过多种途径激发信号转导,改变细胞内骨架蛋白的重排,引起靶细胞的运动,产生高效趋化作用<sup>[6]</sup>。

#### 1.2 SLC参与T淋巴细胞的归巢

SLC是被论证的第一个具有介导淋巴细胞归巢到外周淋巴器官特性的趋化因子。淋巴细胞表面趋化因子受体CCR7的表达调控淋巴细胞向次级淋巴组织的归巢。初始化T细胞和一类CCR7<sup>+</sup>的记忆性T细胞表达高水平的L-选择素(CD62L),L-选择素与HEV表面相应的黏附分子结合,使

T淋巴细胞可以吸附到HEV上,从而使CCR7可以和HEV上的SLC相互作用,激活了百日咳敏感的信号途径,进而激活T淋巴细胞表面整合素LFA-1,整合素与表达于HEV表面相应的黏附分子ICAM-1或ICAM-2紧密结合,实现了T淋巴细胞跨血管内皮的转运,使T细胞进入到次级淋巴组织<sup>[7]</sup>。在SLC和ELC缺乏的突变小鼠中,可以观察到归巢到淋巴结、派氏集合淋巴结和脾的初始化T细胞明显减少,由此说明SLC和ELC在HEV上的表达对CCR7<sup>+</sup>细胞募集是必需的<sup>[8]</sup>。

#### 1.3 SLC对DC的作用

在DC的分化成熟过程中,趋化因子受体表达谱发生改变,所有非成熟DC在受到炎性刺激后,原来所表达的受体CCR1,CCR2,CCR5以及CCR6等均下降,并都出现CCR7表达的上调,后者是成熟DC唯一表达的趋化因子受体。目前认为外周DC向淋巴组织的迁移都是通过ELC/SLC作用于CCR7这条途径。Plt突变型小鼠由于缺乏SLC基因且只有低水平ELC表达,成熟DC不能从皮肤进入局部淋巴结,在这种小鼠表面涂抹致敏性物质后,局部淋巴结内未发现抗原负载DC的聚集,而这种现象既非由表皮DC数量减少又非由DC功能损害造成的,说明是由其向淋巴组织的迁移运动受到抑制所致<sup>[9]</sup>。

#### 1.4 SLC调节DC与T、B淋巴细胞在次级淋巴组织内的迁移

次级淋巴组织T细胞区组成性表达的SLC和ELC趋化负载有抗原的DC从外周淋巴组织通过引流淋巴管进入次级淋巴组织的T细胞区,SLC又趋化初始化T细胞跨HEV的内皮细胞进入T细胞区。在T细胞区,成熟的DC与T细胞相互作用,T细胞识别抗原并增殖活化,分化为效应T细胞和记忆T细胞。某些活化的Th细胞下调CCR7的表达,上调CXCR5的表达,朝T/B交界处迁移。B细胞与抗原结合后,向T-B细胞交界区迁移,并与Th细胞相互作用。T-B细胞的接触及相互作用对抗体的产生是至关重要的<sup>[10]</sup>。研究发现抗原结合过的B细胞其CCR7表达增加,因此对SLC趋化作用的反应性增强,而SLC主要在T细胞区表达,致使B

细胞向 T 细胞区移动。表面缺乏 SLC 配体 CCR7 的 B 细胞结合抗原后不能向 T 细胞区移动,体内缺乏 SLC 及 ELC 的小鼠,其 B 细胞结合抗原后也不能向 T 细胞区移动,说明 CCR7 的表达与 SLC 的作用是 B 细胞向 T 细胞区移动所必需的<sup>[11]</sup>。

## 2 SLC 在实验性抗肿瘤治疗中的作用

肿瘤细胞的 MHC 和免疫共刺激分子的表达水平通常较低,抗原提呈能力低下。而且,肿瘤细胞分泌免疫抑制分子逃避免疫监视。因此,肿瘤微环境不利于抗肿瘤免疫应答的产生。有效的抗肿瘤免疫应答可通过募集 APC 和淋巴细胞、改变肿瘤微环境的免疫抑制状态来实现。SLC 能够趋化淋巴细胞与 DC,介导 T 细胞和 NK 细胞依赖的抗肿瘤免疫应答;促进 Th1 型细胞因子的分泌,促进肿瘤微环境或全身的细胞免疫应答;抑制免疫抑制性细胞因子的分泌,抵制肿瘤的免疫逃逸;促进血管抑制性细胞因子的分泌,抑制血管生成。

### 2.1 SLC 募集 T 淋巴细胞与 DC,介导 T 细胞和 NK 细胞依赖的抗肿瘤作用

研究表明 SLC 能引起 DC、CD8<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup> T 细胞的大量浸润。Matsuyoshi 等<sup>[12]</sup>将共转染 SLC 基因和 OVA 抗原的 DC 注射到小鼠皮下建立的肿瘤内,发现肿瘤内浸润的 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞较对照组显著增加;另有学者<sup>[13]</sup>发现,在淋巴结附近注射重组的 SLC 蛋白能引起淋巴结内、脾和肿瘤内 T 细胞、DC 的大量浸润。Tolba 等<sup>[14]</sup>的研究表明向荷淋巴瘤 (A20) 小鼠的瘤内注射基因重组的 HSV-mSLC 病毒后,小鼠生存率为 90%;体内用抗体删除 CD4<sup>+</sup> T 细胞后小鼠的生存率略有下降,而用抗体删除 CD8<sup>+</sup> T 细胞后小鼠生存率不足 30%。这些结果提示 SLC 介导了 T 细胞依赖的抗肿瘤作用。Vicari 等<sup>[15]</sup>的研究表明,SLC 基因修饰的结肠癌细胞的成瘤率显著下降,腹腔注射 anti-Asialo-GM1 抗体(删除 NK 细胞)后其成瘤率与对照组相同,表明 SLC 可诱发 NK 细胞抗肿瘤作用。

### 2.2 SLC 调节细胞因子的分泌

Yang 等<sup>[16]</sup>瘤内接种 SLC 基因转导的 DC,结果 100% 受治疗鼠获得了肿瘤根除,而转导空载的对照组仅 12% 的小鼠肿瘤得到根除。实验组小鼠肿瘤内和淋巴结脾细胞内 Th1 型细胞因子 INF- $\gamma$ 、IL-12 和血管生成抑制性细胞因子 IP-10 和 MIG 的含量明显增加,而免疫抑制性细胞因子 TGF- $\beta$ 、PGE2 的含量明显减少。IL-12 的主要来源可能是 DC 和巨噬细胞,IL-12 的升高也引起 INF- $\gamma$  升高,进而引起 MIG 的升高。MIG 的升高和 TGF- $\beta$  的减少均有助于抑制肿瘤血管的生成。这些发现为 SLC 在肿瘤免疫治疗中的应用提供了理论依据。为进一步研究 SLC 影响细胞因子分泌的作用机制,他们检测了胞浆内含 INF- $\gamma$  的 CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞在淋巴结内的频率,发现这两种细胞在淋巴结的频率都显著增加,提示 SLC 的这种作用可能是通过募集 T 细胞间接实现的。

### 2.3 SLC 抑制血管生成

在 SCID 小鼠模型中,瘤内注射小鼠 SLC 蛋白明显抑制了肿瘤的生长,肿瘤内血管生成明显减少,而人的 SLC 不能产生抗肿瘤效应,提示小鼠 SLC 可能通过与 CXCR3 血管抑制性趋化因子受体结合,抑制肿瘤内血管的生成,从而产生抗肿瘤效应,而 hSLC 不能与 CXCR3 结合,因此在 SCID 小鼠中不能抑制肿瘤的生长<sup>[17]</sup>。

### 2.4 与其他细胞因子联合应用于免疫治疗

Masayuki 等<sup>[18]</sup>把转染了 SLC 或共刺激分子 LIGHT 的 C26 结肠癌细胞导入免疫活性鼠内,发现二者的肿瘤生长受到抑制,小鼠生存期延长,但最终小鼠均死亡。而同时转染 SLC 和 LIGHT 的 CT-26 结肠癌细胞在接种小鼠后显示了最小的肿瘤生长,100% 的小鼠肿瘤得到根除,并且小鼠获得了很强的免疫保护;肿瘤内成熟 DC 和 CD8<sup>+</sup> T 的浸润显著增加;C26 癌细胞特异的脾 CTL 活性增强;脾细胞 IFN- $\gamma$  的分泌明显增加。小鼠体内中和 IFN- $\gamma$  或者删除 CD4<sup>+</sup> T 或 CD8<sup>+</sup> T 细胞都显著降低了抗肿瘤效应。这些结果提示联合使用 SLC 和共刺激分子 LIGHT 可协同增加抗肿瘤效应,完全抑制肿瘤的生长。其作用机制包括增加肿瘤内成熟 DC 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的浸润,增强脾细胞的 CTL 活性和 IFN- $\gamma$  的分泌。

## 3 展望

综上所述,SLC 不仅能趋化 DC 和 T 细胞,促进 Th1 的发展,提高细胞免疫的活性,还可以下调免疫抑制因子和通过抑制血管生成增强抗肿瘤效果。在治疗肿瘤中,SLC 单独使用虽然有效,但不十分理想,若与其他因子或治疗方法联合应用可明显提高抗肿瘤作用。因此,它可被视为一种良好的免疫佐剂用于肿瘤的免疫治疗。

## 【参考文献】

- [1] Nagira M, Imai T, Hieshima K, *et al.* Molecular cloning of a novel human CC chemokine secondary lymphoid-tissue chemokine that is a potent chemoattractant for lymphocytes and mapped to chromosome 9p13[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(31): 19518-19524.
- [2] Chun L, Yin CC, Song JZ, *et al.* Soluble expression of recombinant human secondary lymphoid chemokine (SLC) in *E. coli* and research on its *in vitro* and *in vivo* bioactivity[J]. *J Biochem (Tokyo)*, 2004, 136(6): 769-776.
- [3] Homey B, Muller A, Zlotnik A. Chemokines: A agents for the immunotherapy of cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(3): 175-184.
- [4] Luther SA, Bidgol A, Hargreaves Dc, *et al.* Differing activities of homeostatic chemokines CCL19, CCL21 and CXCL12 in lymphocyte and dendritic cell recruitment and lymphoid neogenesis[J]. *J Immunol*, 2002, 169(1): 424-433.
- [5] Kuroshima S, Sawa Y, Yamaoka Y, *et al.* Expression of cys-cys chemokine ligand 21 on human gingival lymphatic vessels[J]. *Tissue Cell*, 2004, 36(2): 121-127.
- [6] Tangemann K, Gunn MD, Giblin P, *et al.* A high endothelial cell-

- derived chemokine induces rapid, efficient, and subset-selective arrest of rolling T lymphocytes on a reconstituted endothelial substrate[ J ]. *J Immunol*, 1998, 161( 11 ): 6330-6337.
- [ 7 ] Stein JV, Soriano SF, Mrini C, *et al.* CCR7-mediated physiological lymphocyte homing involves activation of a tyrosine kinase pathway[ J ]. *Blood*, 2003, 101( 1 ): 38-44.
- [ 8 ] Ohl L, Bernhardt G, Pabst O, *et al.* Chemokines as organizers of primary and secondary lymphoid organs[ J ]. *Semin Immunol*, 2003, 15( 5 ): 249-255.
- [ 9 ] Cyster JG. Chemokines and the homing of dendritic cells to the T cell areas of lymphoid organs[ J ]. *J Exp Med*, 1999, 189( 3 ): 447-450.
- [ 10 ] Sallusto F, Mackay CR, Lanzavecchia A. The role of chemokine receptors in primary, effector, and memory immune responses[ J ]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18: 593-620.
- [ 11 ] Reif K, Ekland EH, Ohl L, *et al.* Balanced responsiveness to chemoattractants from adjacent zones determines B-cell position[ J ]. *Nature*, 2002, 416( 6876 ): 94-99.
- [ 12 ] Matsuyoshi H, Senju S, Hirata S, *et al.* Enhanced priming of antigen-specific CTLs *in vivo* by embryonic stem cell-derived dendritic cells expressing chemokine along with antigenic protein: Application to antitumor vaccination[ J ]. *J Immunol*, 2004, 172( 2 ): 776-786.
- [ 13 ] Sharma S, Stolina M, Zhu L, *et al.* Secondary lymphoid organ chemokine reduces pulmonary tumor burden in spontaneous murine bronchoalveolar cell carcinoma[ J ]. *Cancer Res*, 2001, 61( 17 ): 6406-6412.
- [ 14 ] Tolba KA, Bowers WJ, Muller J, *et al.* Herpes simplex virus ( HSV ) amplicon-mediated codelivery of secondary lymphoid tissue chemokine and CD40L results in augmented antitumor activity[ J ]. *Cancer Res*, 2002, 62( 22 ): 6545-6551.
- [ 15 ] Vicari AP, Ait-Yahia S, Chemin K, *et al.* Antitumor effects of the mouse chemokine 6Ckine/SLC through angiostatic and immunological mechanisms[ J ]. *J Immunol*, 2000, 165( 4 ): 1992-2000.
- [ 16 ] Yang SC, Hillinger S, Riedl K, *et al.* Intratumoral administration of dendritic cells overexpressing CCL21 generates systemic antitumor responses and confers tumor immunity[ J ]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10( 8 ): 2891-2901.
- [ 17 ] Arenberg DA, Zlotnick A, Strom SR, *et al.* The murine CC chemokine, 6C-kine, inhibits tumor growth and angiogenesis in a human lung cancer SCID mouse model[ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2001, 49( 11 ): 587-592.
- [ 18 ] Hisada M, Yoshimoto T, Kamiya S, *et al.* Synergistic antitumor effect by coexpression of chemokine CCL21/SLC and costimulatory molecule LIGHT[ J ]. *Cancer Gene Ther*, 2004, 11( 4 ): 280-288.

[ 收稿日期 ] 2005 - 05 - 10

[ 修回日期 ] 2005 - 08 - 10

[ 本文编辑 ] 韩丹

## 《生物医学工程与临床》征订启事

《生物医学工程与临床》是一本连接临床与生物医学工程的综合性刊物。是中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),并已进入美国《化学文摘》(Chem Abstract)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ of VINITI)等国际检索系统。本刊宗旨是以生物医学工程和临床的理论与实践相结合,涵盖生物医学工程学及其相关的临床医学各学科,注重生物医学工程学在临床医学中的应用研究和新技术、新经验、新成果的推广。以生物医学工程高起点为目标,以突出临床医学为特色,内容涉及医疗仪器、生物力学、生物材料、人工器官、生物控制、生物医学信息测量与处理等领域的研究,以及临床工程等方面。本刊在《万方数据——数字化期刊群》、《中国期刊网》、《中文科技期刊数据库》等网上都能搜索到。

杂志为大16开,64页,双月刊(每年单月25日出版),国内外公开发行。中国标准刊号:ISSN 1009-7090, CN12-1329/R,可在全国各地邮局订购,邮发代号:6-147。也可直接向编辑部邮购。本刊每期定价10元,全年60元。

编辑部地址:天津市第三中心医院院内(天津市河东区津塘路83号)《生物医学工程与临床》编辑部

电话:022-24382234, 84112394, 84112147

传真:022-24382234

E-mail: SGLC@chinajournal.net.cn