[文章编号] 1007-385X(2007)01-0087-03

·综 述·

记忆 CD8$^+$ T 细胞与造血干细胞移植免疫

CD8$^+$ memory T cell and haematopoietic stem cell transplantation immunity

侯 军 综述; 王健民 审阅(第二军医大学 附属长海医院 血液科, 上海 200433)

[摘 要] 移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)是异基因造血干细胞移植(allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, Allo-HSCT)的主要并发症,主要由供者 T 淋巴细胞介导,如何有效控制 GVHD,从而提高移植患者的生存率和生活质量一直是研究热点。记忆 CD8$^+$ T 细胞来源于效应 CD8$^+$T 细胞,至少分为两个亚群:中央型记忆 T 细胞和效应型记忆 T 细胞,两者在功能上和游走性方面均有不同。记忆 CD8$^+$ T 细胞依赖 IL-2、IL-7 和 IL-15 等细胞因子支持而稳定生存,当再次遇到能迅速地增生和分化为效应细胞并参与二次免疫应答,在骨髓移植后 GVHD 的维持中起着重要作用。记忆性干细胞表达 CD44^{Lo}CD62L^{hi},具有自我复制更新的能力,在受到刺激时可产生效应细胞和所有记忆性细胞亚群。供、受者抗原提呈细胞对异体反应性记忆 T 细胞的发生和调节起不同的作用。

[关键词] 异基因造血干细胞移植;移植物抗宿主病;记忆 CD8$^+$ T 细胞;移植免疫
[中图分类号] R730 [文献标志码] A

异基因造血干细胞移植(allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, Allo-HSCT)是目前治愈恶性血液病最有希望的手段,其最终目标是通过供体来源的免疫效应细胞发挥移植物抗肿瘤(graft-versus-leukemia, GVL)效应清除异常克隆。但 GVL 往往伴随移植物抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)的发生,这是移植后最常见的并发症,也是导致异基因移植相关死亡的主要原因。控制 GVHD 的发生成为造血干细胞移植中迫切需要解决的问题。研究[1]发现,记忆 CD8$^+$ T 细胞在 Allo-HSCT 后 GVHD 的发生中起重要作用,认识其作用机制可为防治 GVHD 提供新的思路。本文就记忆 CD8$^+$ T 细胞在 GVHD 中的作用作一综述。

1 记忆 CD8$^+$T 细胞的特性及其介导的 GVHD 反应

1.1 记忆 CD8$^+$T 细胞的特性

初次免疫反应是初始 T 细胞(naive T cell)在接受携带抗原的树突状细胞(DC)刺激后被激活、增生并分化为效应 T 细胞。当 T 细胞活化时,在几天之内效应 T 细胞可以扩增 1 000 倍以上。初次免疫应答后,90% 以上的效应 T 细胞凋亡,只有 5% ~10% 的效应 T 细胞转变为记忆 T 细胞(memory T cells)[1]。与初始 T 细胞相比,记忆 T 细胞反应快并产生抗原特异性的 T 辅助细胞和 CTL。因此,记忆 T 细胞可以防止病原菌的再感染或参与静止期疾病的复发。在利用 MHC I 四聚体对感染病毒的小鼠和人体进行研究后发现,在细胞扩增期大约有 50% 的 CD8$^+$ T 细胞是针对病毒的单一抗原表位,而只有 10% 左右的 CD4$^+$T 细胞对某一病毒发生反应,表明 CD4$^+$ T 细胞不象 CD8$^+$ T 细胞那样迅速地增生或分化为记忆细胞,提示记忆 CD8$^+$ T 细胞在参与二次免疫应答中起重要作用[2]。既往的研究[3]证实,体内典型的异体免疫应答反应持续 40 d 之后可产生具有明确功能的记忆 CD8$^+$T 细胞。

记忆 CD8$^+$ T 细胞来源于 CD8$^+$效应 T 细胞,表达效应蛋白分子如穿孔素、颗粒酶 B 和细胞因子,同时高表达 IL-7 受体 α(CD127)和大量的抗凋亡分子[4]。根据归巢特点和效应功能,记忆 CD8$^+$ T 细胞至少分为两个亚群:中央型记忆 T(central memory T, T_{CM})细胞和效应型记忆 T(effector memory T, T_{EM})细胞。两者在功能上和游走性方面均有不同。T_{CM}细胞表达 CD45RO、CCR7(CC-chemokine receptor 7)和 CD62L,主要存在于淋巴组织,当再一次接触抗原刺激时分泌 IL-2,释放穿孔素并分泌 IFN-γ,并能够快速扩增分化来补充周围器官中的效应 T 细胞。T_{EM}细胞表达 CD45RO$^+$,但不表达 CCR7 和 CD62L,位于周围组织,存在于感染部位,对再次感染能立即发生反应,分泌细胞因子和穿孔素发挥杀伤功能[5-7]。近期研究[8]提示记忆 T 细胞也可表达 CD45RA。此外,活化早期的 CD8$^+$ T 细胞可表达 CD27,而分化晚期的、穿孔素阳性的 CTL 则不表达 CD27,提示 CD27 表达的丢失可能是效应和记忆 CD8$^+$ T 细胞的一种标志。

1.2 记忆 CD8$^+$T 细胞介导的 GVHD 反应

异基因骨髓移植后患者产生 GVHD 是临床上持续免疫反应的一个重要表现。GVHD 是指移植后供体免疫细胞攻击宿主正常组织器官产生的多器官功能损

[基金项目] 上海市科委重大技术攻关项目(No. 05D219327)
[作者简介] 侯 军(1970-),男,辽宁省沈阳市人,主治医师,主要从事恶性血液病诊治方面的研究
[通讯作者] 王健民,E-mail: jmwang@medinail.com.cn

害,主要由供体 T 淋巴细胞介导。GVHD 的发生率和严重程度与主要组织相容性抗原的相合程度、移植物中 T 淋巴细胞数量的关系最为密切,但即使次要组织相容性抗原有轻微不同的同胞间移植仍能产生严重的 GVHD。介导 GVHD 的淋巴细胞主要来自供者外周血造血干细胞采集物。Ferrari 等[9]研究发现,从异基因和自体造血干细胞移植供者外周血采集的移植物细胞均比骨髓来源的移植物富含中心记忆、效应记忆和效应型表型的 $CD8^+$ T 细胞。但移植后该细胞亚群在自体移植后受体中的增生数量远远高于异基因移植受体,究其原因可能是由于移植后异基因移植受体内的 $CD8^+$ T 细胞更有活性而且更有凋亡倾向。动物实验表明,将初始 $CD8^+$ T 细胞输入经照射后的小鼠体内可引起 GVHD,移植后 14 d 时受鼠体内的供者来源 $CD8^+$ T 细胞高水平分泌 IFN-γ,移植后第 28 天该水平下降,此后一直维持分泌,与记忆 $CD8^+$ T 细胞反应机制相吻合。移植后第 42 天受鼠体内恢复的供鼠型 $CD8^+$ T 细胞表达 $CD44^{hi}CD122^{hi}CD25^{lo}$,在 IL-2、IL-7 和 IL-15 维持下稳定存活,再次受到宿主 DC 刺激时会迅速分化。受鼠体内可同时检测到 $CD8^+$ T_{CM}细胞和 $CD8^+$ T_{EM}细胞,其中 $CD8^+$ T_{EM} 细胞占很高的比例(80%)。将 $CD8^+$ T_{EM}细胞或 T_{CM}细胞二次移植到照射后的受鼠体内均可引起强烈的 GVHD[10]。上述结果提示,异基因记忆 $CD8^+$ T 细胞产生于 GVHD 发生过程中并引起持续的宿主组织损伤,开发在体内选择性去除异体反应性记忆 T 细胞的技术将可以有效控制 GVHD 的进展。

2 记忆 $CD8^+$T 细胞与干细胞移植免疫

GVHD 反应可持续数周或数月,而这种免疫反应是如何持续存在的呢? 先前研究证实异体反应性效应记忆 T 细胞贯穿于 GVHD 过程中并持续损伤宿主组织,但效应记忆 T 细胞代表终末前寿命较短的分化细胞,持续地抗原刺激可能加速这些细胞向终末期的效应 T 细胞转变,最终导致抗原特异性 T 细胞的耗尽和(或)缺失,这暗示宿主体内可能存在一种独特的记忆干细胞池,能对持续抗原刺激不断产生特异性效应及记忆 T 细胞。依据干细胞模型,记忆性干细胞具有自我复制更新的能力并可产生效应细胞和所有记忆性细胞亚群。Zhang 等[11]近期应用 GVHD 小鼠模型,识别了一组新的有丝分裂后的 $CD8^+$T 细胞亚群: $CD44^{lo}CD62L^{hi}CD8^+$ T 细胞。此类细胞持续存在于发生 GVHD 的受体中,其与初始 $CD8^+$ T 细胞的相似之处在于两者细胞形态相似,均不分泌 IFN-γ,细胞毒性分子如颗粒酶 B 和穿孔素等表达水平也较低,但表达一定水平的 CD127(IL-7 受体 α),两者均需要宿主 DC 细胞刺激才能增生、分化。但与初始 $CD8^+$ T 细胞相比,$CD44^{Lo}CD62L^{hi}CD8^+$ T 细胞为有丝分裂后,表达 Sca-1、CD122(或 IL-2 和 IL-15Rβ)及 Bcl-2,而且增强表达 Ccr5 和 Cxcr3mRNA,再次遭遇宿主次要 H 抗原时有很强的自我复制更新、增生并分化成效应和记忆性细胞的能力。尽管这些 T 细胞数量很少,但比效应记忆 $CD8^+$ T 细胞($CD44^{hi}CD62L^{lo}$)及中心记忆 $CD8^+$T 细胞($CD44^{hi}CD62L^{hi}$)更有能力产生第二级的效应和记忆细胞。因为这组细胞在 GVHD 反应中可产生并维持所有异基因 T 细胞亚群,包括 T_{CM}细胞、T_{EM}细胞和效应 $CD8^+$ T 细胞,同时伴自身的复制更新,因此带有记忆干细胞特性。可能是异体反应性记忆 $CD8^+$T 细胞得以不断产生并持续损伤宿主组织的根源。实验证实,移植前从宿主的经 DC 刺激过的 T 细胞中经体外去除 $CD44^{lo}CD8^+$ T 细胞(包括 $CD44^{lo}CD62L^{hi}CD8^+$记忆干细胞)可阻止 GVHD 发生。体外将初始 $CD44^{lo}CD8^+$ T 细胞经 DC 刺激可产生 $CD44^{hi}CD8^+$ T 细胞,而后者在不引起明显 GVHD 反应的同时仍不失杀伤白血病的能力[12]。提示可能正是由于这些 $CD8^+$记忆干细胞的缺失才使上述 $CD8^+$ T 细胞缺乏诱导严重 GVHD 等能力。

在抗原刺激持续存在的情况下,含 $CD8^+$记忆干细胞的细胞群对人病原特异性免疫反应起作用。例如,从带 HIV 患者所采的样本中,可鉴别出 4 个独特的 HIV 特异性的 $CD8^+$ T 细胞亚群: $CD45RA^+CCR7^+$(20%), $CD45RA^-CCR7^+$(5%), $CD45RA^-CCR7^-$(70%), $CD45RA^+CCR7^-$(5%)。同样,CMV 特异性、肿瘤特异性以及 EBV 特异性 $CD45RA^+CD8^+$ T 细胞亦有报道。在人类,带有初始表型的抗原特异性 $CD45RA^+CCR7^+CD8^+$ T 细胞并不直接具有细胞毒性活性,但在体外却能被激活导致增生并产生效应功能及 IFN-γ[13]。尽管在这些研究中并未详细检测这些细胞增生、自我更新的能力以及体内的功能,但从功能上看它们与上述已识别的小鼠记忆 $CD8^+$干细胞亚群相似。这些抗原特异性 $CD45RA^+CCR7^+CD8^+$ T 细胞亚群是否就是鼠记忆干细胞的人类版本,以及是否异基因骨髓移植后产生 GVHD 的患者体内存在异体反应性记忆干细胞现仍不得而知。

3 DC 和细胞因子对记忆 $CD8^+$ T 细胞的影响

大量实验证实,记忆 $CD8^+$ T 细胞的稳定生存需要 IL-2、IL-7 和 IL-15 等细胞因子的支持[14-17]。IL-2 可维持供者 $CD8^+$T 细胞生存和向记忆细胞转化,并促进处于休眠状态的记忆 T 细胞的增生;IL-7 主要通过上调抗凋亡分子 Bcl-2 和 Bcl-X1 维持记忆 $CD8^+$ T 细胞的稳定生存,IL-15 缺失时高浓度的 IL-7 仍可维持记忆 $CD8^+$T 细胞的存在;而 IL-15 则是 $CD8^+$T 细胞增生的

关键因子。近期研究[18]显示,供体骨髓来源的 IL-15 是受体内异体反应性效应记忆 CD8+ T 细胞产生的关键因素,可最终导致急性 GVHD 的发生。此外,IL-15 和宿主 DC 可诱导 CD8+记忆干细胞增生并分化成效应 T 细胞、T_{EM}细胞及 T_{CM}细胞[11],但 IL-15 参与 GVHD 的诱导、扩增或效应阶段中的哪一个阶段尚不得而知。

另一方面,尽管已知宿主抗原提呈细胞(APC)对启动 CD8+T 细胞介导的 GVHD 起关键作用,用宿主 APC 刺激 24 h 即可足以使初始供者 CD8+T 细胞进一步分化成 GVHD 效应细胞[19-20],但在异基因骨髓移植后第 5 天,约 99% 以上的宿主 DC 已被排除,大部分宿主 B 淋巴细胞和单核细胞被植入的供体 TCD(T-cell-depleted)细胞所取代,因此,有可能供者来源的 APCs 可在体内支持异体反应性记忆细胞得以生存。研究[18]发现,DC 可以使体外的同基因初始 T 细胞维持稳定存活和增生,经致死量照射后的小鼠接受异基因 CD8+T 细胞和同基因 MHC-I 缺陷型 TCD 骨髓细胞的共同输注后,虽然产生 GVHD,但严重程度远低于异基因 CD8+T 细胞和同基因野生型 TCD 骨髓细胞共同输注者。该结果提示,供者来源的 APC 是 GVHD 产生及进展所必需的,首先通过宿主 APC 的作用产生异体反应性记忆和记忆干细胞池,而供者 APC 则通过调节后者的生存及功能性分化而完成 GVHD 的发生发展。

4 结语

综上所述,CD8+ T 细胞能迅速地增生、分化为记忆细胞并参与二次免疫应答。记忆 CD8+ T 细胞在骨髓移植后 GVHD 的维持中起着重要作用,而 GVHD 是一个复杂的过程,其发生发展受到诸如 CD4+ T 细胞、共刺激分子等多种因素的影响。那么,在 GVHD 过程中记忆 CD8+ T 细胞与这些因素又有何种关系呢? 该问题还有待进一步探讨。深入对这些问题的研究,会对异体反应性记忆 T 细胞以及记忆干细胞的鉴别,对更好地理解 GVHD 发生、发展的病理机制和开发防治造血干细胞移植相关 GVHD 新的方法起到关键作用。

[参 考 文 献]

[1] Masopust D, Kaech SM, Wherry EJ, *et al.* The role of programming in memory T-cell development[J]. Curr Opin Immunol, 2004, 16(2): 217-225.

[2] Sun JC, Bevan MJ. Defective CD8 T cell memory following acute infection without CD4 T cell help[J]. Science, 2003, 300(5617): 339-342.

[3] Kaech SM, Hemby S, Kersh E, *et al.* Molecular and functional profiling of memory CD8 T cell differentiation[J]. Cell, 2002, 111(6): 837-842.

[4] Lanzavecchia A, Sallusto F. Understanding the generation and function of memory T cell subsets[J]. Curr Opin Immunol, 2005, 17(3): 326-332.

[5] Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: Function, generation, and maintenance[J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22: 745-763.

[6] Kaech SM, Wherry EJ, Ahmed R. Effector and memory T-cell differentiation: Implications for vaccine development[J]. Nat Rev Immunol, 2002, 2(4): 251-262.

[7] Kim SV, Flavell RA. CD8α and T cell memory[J]. Science, 2004, 304(5670): 529-530.

[8] Willinger T, Freeman T, Hasegawa H, *et al.* Molecular signatures distinguish human central memory from effector memory CD8 T cell subsets[J]. J Immunol, 2005, 175(9): 5893-5903.

[9] Ferrari V, Cacere CR, Machado CM, *et al.* Distinct patterns of regeneration of central memory, effector memory and effector TCD8+ cell subsets after different hematopoietic cell transplant types: Possible influence in the recovery of anti-cytomegalovirus immune response and risk for its reactivation[J]. Clin Immunol, 2006, 119(3): 261-271.

[10] Zhang Y, Joe G, Hexner E, *et al.* Alloreactive memory T cells are responsible for the persistence of graft-versus-host disease[J]. J Immunol, 2005, 174(5): 3051-3058.

[11] Zhang Y, Joe G, Hexner E, *et al.* Host-reactive CD8+ memory stem cells in graft-versus-host-disease[J]. Nat Med, 2005, 11(12): 1299-1305.

[12] Zhang Y, Joe G, Zhu J, *et al.* Dendritic cell-activated $CD44^{hi}$ CD8+T cells are defective in mediating acute graft-versus-host disease but retain graft-versus-leukemia activity[J]. Blood, 2004, 103(10): 3970-3978.

[13] Monsurro V, Wang E, Yamano Y, *et al.* Quiescent phenotype of tumor-specific CD8+ T cells following immunization[J]. Blood, 2004, 104(7): 1970-1978.

[14] Blattman JN, Grayson JM, Wherry EJ, *et al.* Therapeutic use of IL-2 to enhance antiviral T-cell responses *in vivo*[J]. Nat Med, 2003, 9(5): 540-547.

[15] Berard M, Brandt K, Bulfone-Paus S, *et al.* IL-15 promotes the survival of naive and memory phenotype CD8+ T cells[J]. J Immunol, 2003, 170(10): 5018-5026.

[16] Bradley LM, Haynes L, Swain SL. IL-7: Maintaining T-cell memory and achieving homeostasis[J]. Trends Immunol, 2005, 26(3): 172-176.

[17] Surh CD, Boyman O, Purton JF, *et al.* Homeostasis of memory T cells[J]. Immunol Rev, 2006, 211: 154-163.

[18] Blaser BW, Roychowdhury S, Kim DJ, *et al.* Donor-derived IL-15 is critical for acute allogeneic graft-versus-host disease[J]. Blood, 2005, 105(2): 894-901.

[19] Matte CC, Liu J, Cormier J, *et al.* Donor APCs are required for maximal GVHD but not for GVL[J]. Nat Med, 2004, 10(9): 987-992.

[20] Zhang Y, Louboutin JP, Zhu J, *et al.* Preterminal host dendritic cells in irradiated mice prime CD8+ T cell-mediated acute graft-versus-host disease[J]. J Clin Invest, 2002, 109(10): 1335-1344.

[收稿日期] 2006-10-17 [修回日期] 2007-01-19
[本文编辑] 韩 丹