

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2007)03-0249-05

同种异体 NK 细胞对人多药耐药鼻咽癌细胞裸鼠皮下移植瘤的抑制作用

梅家转, 郭坤元*, 吴远彬, 周 健, 魏红梅(南方医科大学 珠江医院 血液科, 广州 510282)

[摘 要] **目的:** 研究同种异体自然杀伤(natural killer, NK)细胞对人多药耐药鼻咽癌细胞 CNE2/DDP 裸鼠皮下移植瘤的抑制作用, 探讨异体间的免疫治疗。**方法:** PCR-SSP 法分析 CNE2/DDP 细胞人白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)基因型和健康人 NK 细胞表面的抑制性杀伤细胞免疫球蛋白样受体(inhibitory killer cell immunoglobulin-like receptor, KIR)基因型, 用磁珠分离法从 3 例健康人外周静脉血中分离 NK 细胞并进行体外培养扩增。12 只 BALB/c 裸鼠, 随机分为 2 组, 每组 6 只。每只裸鼠皮下接种 1×10^6 个 CNE2/DDP 细胞, 治疗组裸鼠同时每只经尾静脉注入 3×10^7 个 NK 细胞, 观察两组裸鼠成瘤时间、成瘤率及肿瘤体积变化。成瘤后 3 周, 眼眶取血, 流式细胞术检测人 NK 细胞; 处死裸鼠, 取肿瘤块称重, 计算抑瘤率, 观察肿瘤病理特点。**结果:** 3 例健康者 KIR 与 CNE2/DDP 细胞表面的 HLA- I 类分子之间存在错配。对照组和 NK 细胞治疗组成瘤率均为 100%, 肿瘤出现时间分别为(17.17 ± 1.17) d、(24.83 ± 1.47) d, 两者差异有统计学意义($P < 0.01$); 成瘤后 3 周, 治疗组外周血可检测到人 NK 细胞; 对照组和 NK 细胞治疗组裸鼠的瘤重分别为(1.60 ± 0.22) g、(1.28 ± 0.52) g ($P < 0.01$), NK 细胞治疗组的抑瘤率为 20%; 肿瘤病理学鉴定为低分化鳞状上皮细胞癌, NK 细胞治疗组可见明显淋巴细胞浸润和肿瘤坏死。**结论:** 同种异体 NK 细胞对 CNE2/DDP 细胞裸鼠皮下移植瘤有明显的抑制作用, 有望成为治疗鼻咽癌的免疫效应细胞。

[关键词] 鼻咽癌; 多药耐药; 自然杀伤细胞; 裸鼠; 移植瘤; 抑制性杀伤细胞免疫球蛋白样受体

[中图分类号] R730.51 **[文献标志码]** A

Antitumor effect of allogeneic NK cells on human multi-drug resistant nasopharyngeal carcinoma cells subcutaneously transplanted in BALB/c nude mice

MEI Jia-zhuan, GUO Kun-yuan*, WU Yuan-bin, ZHOU Jian, WEI Hong-mei (Department of Hematology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510582, China)

[Abstract] **Objective:** To study the inhibitory effect of allogeneic natural killer (NK) cells on subcutaneously transplanted human multi-drug resistant nasopharyngeal carcinoma cells (CNE2/DDP) in BALB/c nude mice. **Methods:** Human leucocyte antigen (HLA) genotypes of CNE2/DDP cells and the genotypes of inhibitory killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) in NK cells (isolated from 3 healthy persons by immuno-magnetic microbead technique) were analyzed by PCR-SSP. Twelve BALB/c nude mice were evenly divided into 2 groups: the control group and the treatment group. Mice in the treatment group were injected subcutaneously with 1×10^6 CNE2/DDP cells together with 3×10^7 NK cells via the tail veins; mice in the control group were injected with 1×10^6 CNE2/DDP cells subcutaneously. The tumor formation time, tumor formation rate and changes of tumor size were observed. Three weeks after tumor formation, all the mice were killed and human NK cells in peripheral blood were analyzed by flow cytometry; the tumors were weighed and the tumor inhibitory rates were calculated. **Results:** The HLA genotypes of CNE2/DDP cells were A2, 24, B18, 35, Cw4, and 7; the KIR genotypes of the 3 healthy persons were KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1, and KIR3DL2. There were mismatches between the KIRs expressed in NK cells and HLA class I molecules expressed in the CNE2/DDP cells. NK cells obviously inhibited the growth of CNE2/DDP xenograft in nude mice. The tumor formation periods of control group and NK cell group were(17.17 ± 1.17) d and (24.83 ± 1.47) d, respectively($P < 0.01$). The average weight of tumors in the control group and the treatment group were (1.60 ± 0.22) g and (1.28 ± 0.52) g, respectively($P < 0.01$). Three weeks after tumor formation, human CD45⁺ CD56⁺ cells were detected in peripheral blood of mice in the treatment group. The inhibitor rate of tumor growth was 20% in the treatment group. H-E staining showed obvious tumor

[基金项目] 广州市科技攻关计划项目(No. 2005Z3-E0051). Supported by the Science Technology Program of Guangzhou(No. 2005Z3-E0051)

[作者简介] 梅家转(1966-), 男, 河南省郑州市人, 副主任医师, 博士研究生, 主要从事肿瘤生物治疗的研究, E-mail: mjzhu@163.com

* Corresponding author. E-mail: gzyuan@pub. guangzhou. gd. cn, Tel: 020-61643181

necrosis and lymphocytes infiltration. Pathological finding showed poorly differentiated squamous carcinoma. **Conclusion:** Allogeneic NK cell can inhibit the human nasopharyngeal carcinoma xenografts in nude mice and it may be an effector cell for the treatment of nasopharyngeal carcinoma.

[**Key words**] nasopharyngeal carcinoma; multi-drug resistance; natural killer cells; nude mice; tumor xenografts; inhibitory killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR)

[Chin J Cancer Biother, 2007, 14(3): 249-253]

鼻咽癌是我国南方常见的恶性肿瘤,早期患者采用放射治疗常能取得较好的治疗效果,晚期患者放射治疗联合化学治疗虽能提高局部控制率,但未能提高总体生存率^[1],这很大程度归因于癌细胞产生多药耐药性。异基因骨髓移植中供者的同种反应性自然杀伤(natural killer, NK)细胞介导的抗白血病效应可以防止白血病复发^[2-4]。体外实验证实NK细胞能抑制慢性粒细胞白血病患者白血病CD34⁺细胞形成粒细胞巨噬细胞集落形成单位^[5],表明NK细胞对耐药的白血病细胞和白血病克隆形成细胞具有杀伤效应。此前本研究室的体外实验表明同种异体NK细胞对人多药耐药鼻咽癌细胞(CNE2/DDP)具有杀伤作用^[6],本研究拟采用同种异体NK细胞为效应细胞,观察其对鼻咽癌细胞(CNE2/DDP)裸鼠皮下移植瘤生长的影响,以期为耐药的鼻咽癌治疗探索一种新的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

分离NK细胞用缓冲液(磷酸盐缓冲液, pH 7.2,加入0.5% BSA, 2 mmol/L EDTA)、CD56 MicroBeads均为Miltenyi Biotec公司产品, RPMI 1640为Gibco公司产品,淋巴细胞分离液为上海试剂二厂产品, rhIL2及PHA为Sigma公司产品,鼠IgG1-PE-CY5、IgG1-PE和鼠抗人CD45-PE-CY5、CD56-PE均为美国Pharmingen公司产品。人鼻咽癌细胞株CNE2/DDP购于军事医学科学院李春海教授^[7]。15~20g的4~6周BALB/c裸鼠12只,雌雄各半,由南方医科大学动物实验中心提供(动物合格证号为2002-009 2005A045),并在南方医科大学SPF动物实验中心饲养。

1.2 NK细胞的分离纯化

采用常规密度梯度离心法分离3例健康人外周血单个核细胞, PBS洗涤2次,计数细胞,用CD56 MicroBeads分选试剂盒阳性分选纯化NK细胞,获得CD3⁻CD16⁺CD56⁺细胞即为NK细胞。

1.3 细胞培养

细胞培养液为含10%胎牛血清、100 U/ml青霉

素和100 μg/ml链霉素的RPMI 1640。培养NK细胞时加入1 000 U/ml rhIL-2, PHA 10 μg/ml。

1.4 CNE2/DDP细胞人白血病抗原(human leucocyte antigen, HLA)-A、B、Cw基因分型

采用PCR-SSP法,按PCR-SSP-A、B、Cw特异性引物试剂盒说明书操作。

1.5 杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer-cell inhibitory receptor, KIR)基因分型

采用PCR-SSP法,按KIR基因分型试剂盒说明书操作。

1.6 裸鼠皮下移植瘤的制备及NK细胞治疗实验

12只BALB/c裸鼠随机分为2组,每组6只。两组裸鼠每只背部皮下接种 1×10^6 个CNE2/DDP细胞,治疗组裸鼠同时每只经尾静脉注入 3×10^7 个NK细胞(每例健康者的NK细胞分别注射2只BALB/c裸鼠,效靶比30:1是基于体外杀伤实验结果)。尾静脉注射NK细胞与皮下注射CNE2/DDP细胞同一天进行。

1.7 肿瘤生长的监测及肿瘤的病理变化观察

自细胞注射之日起,观察2组裸鼠成瘤时间、成瘤率;待肿瘤出现后每3~4 d用游标卡尺测量肿瘤块2个方向的直径,分别记为a、b,肿瘤体积计算公式^[8]: $V = 1/2ab^2$ 。肿瘤出现后3周处死裸鼠,取瘤块称重,计算肿瘤生长抑制率:肿瘤生长抑制率(%)=(1-处理组肿瘤重量/对照组肿瘤重量)×100%^[9]。肿瘤标本称重后,常规甲醛溶液固定,石蜡包埋,5 μm连续切片,分别行H-E染色,观察病理变化。

1.8 皮下移植瘤裸鼠外周血人NK细胞的检测

移植瘤成瘤后3周眼眶取血,流式细胞术检测2组裸鼠外周血中人CD45⁺CD56⁺细胞。

1.9 统计学处理

应用SPSS10.0软件进行数据处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, NK细胞治疗组与对照组之间成瘤时间、肿瘤重量的比较采用独立样本t检验。

2 结果

2.1 流式细胞术检测人NK细胞(CD3⁻CD16⁺

CD56⁺细胞的纯度

流式细胞术检测人外周血单个核细胞中获得的 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 细胞的纯度为 (93.57 ± 0.64)%。

2.2 CNE2/DDP 细胞的 HLA-A、B、Cw 基因型

CNE2/DDP 细胞的 HLA-A、B、Cw 基因型为 A2, 24; B18, 35; Cw4, 7。

2.3 PCR-SSP 法检测 NK 细胞 KIR 基因型

3 例健康人的 NK 细胞均表达 KIR2DL1、KIR2DL3、KIR3DL1、KIR3DL2。

2.4 CNE2/DDP 细胞组和 CNE2/DDP + NK 细胞治疗组的成瘤情况

单纯接种 CNE2/DDP 细胞组和 CNE2/DDP + NK 细胞治疗组成瘤率均为 100%，两者肿瘤出现时间分别为 (17.17 ± 1.17) d、(24.83 ± 1.47) d，NK 细胞治疗组成瘤时间较 CNE2/DDP 细胞组明显延长 ($P < 0.01$)。

2.5 NK 细胞对 CNE2/DDP 移植瘤体积的抑制

实验结果表明 NK 细胞能有效抑制移植肿瘤细胞的增殖，生长曲线显示 NK 细胞能明显减缓 CNE2/DDP 细胞 BALB/c 裸鼠体内移植瘤体积的增长速度(图 1)。

2.6 NK 细胞对 CNE2/DDP 细胞皮下移植瘤重量的抑制

CNE2/DDP 细胞组和 CNE2/DDP + NK 治疗组裸鼠的肿瘤重量分别为 (1.60 ± 0.22) g、(1.28 ± 0.52) g。NK 细胞治疗组肿瘤抑制率为 20%。

2.7 荷瘤裸鼠外周血中人 NK 细胞的检测

流式细胞术检测显示，治疗组裸鼠外周血可检测到人 NK 细胞，约占裸鼠外周血白细胞的 0.03%，对照组裸鼠外周血中未检测到人 NK 细胞的存在(图 2)。

2.8 CNE2/DDP 细胞组和 NK 细胞治疗组肿瘤细胞的病理改变

成瘤组织经 H-E 病理切片鉴定为低分化鳞状上皮细胞癌，细胞呈多边形，细胞核卵圆形或不规则形，核仁较明显，核分离相多见。NK 细胞治疗组可见肿瘤组织有淋巴细胞浸润，较对照组有更多的肿瘤坏死区(图 3)。

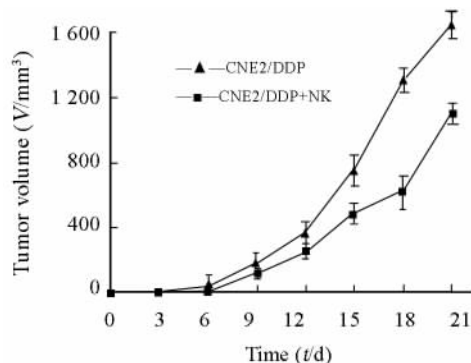


图 1 NK 细胞对 CNE2/DDP 移植瘤增殖的抑制作用
Fig. 1 Inhibitory effect of NK cells against transplantable tumor of CNE2/DDP cells in BALB/c nude mice

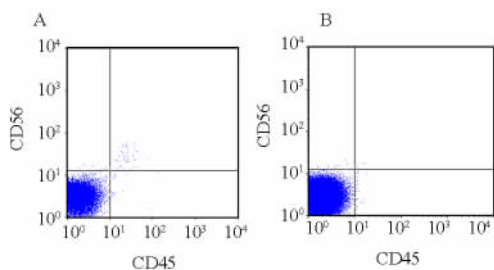


图 2 荷瘤裸鼠外周血人 NK 细胞的检测
Fig. 2 Human NK cells in peripheral blood of mice analyzed by flow cytometry
A: CNE2/DDP + NK group; B: CNE2/DDP group

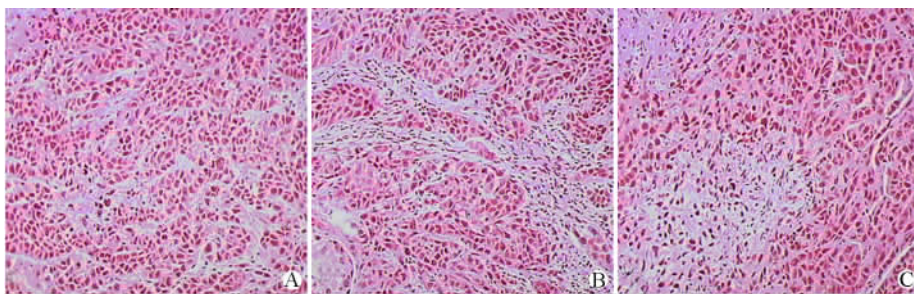


图 3 CNE2/DDP 组及 CNE2/DDP + NK 细胞治疗组移植瘤组织的病理学改变(H-E, ×200)

Fig. 3 Pathological changes of CNE2/DDP transplanted tumor after treatment of allogeneic NK cells
A: The control group; B: Lymphocytes infiltration in the treatment group; C: Necrosis in the treatment group

3 讨 论

鼻咽癌是我国南方常见的恶性肿瘤,早期患者采用放射治疗常能取得较好的治疗效果,晚期患者放射治疗联合化学治疗虽能提高局部控制率,但因癌细胞产生多药耐药性未能提高总体生存率^[1],因此有必要寻找新的治疗措施。

NK 细胞是机体内重要的淋巴细胞亚群,在肿瘤免疫中 NK 细胞构成了第一道杀伤防线。NK 细胞表面的抑制性杀伤细胞免疫球蛋白样受体(KIR)与靶细胞表面特定的 HLA-I 类分子结合可以明显抑制 NK 细胞的活性,靶细胞缺乏 KIR 特定的配体(KIR-配体错配)将激发 NK 细胞对靶细胞的杀伤活性^[2-3]。Re 等^[10]体外研究证实,KIR-配体错配的 NK 细胞可有效地杀伤原代的胃癌、肾癌、肠癌、卵巢癌肿瘤细胞,KIR-配体不错配的 NK 细胞不具有杀伤效应。Igarashi 等^[11]亦证实 KIR-配体错配的 NK 细胞可有效地杀伤恶性黑色素瘤、肾癌细胞。

不同的 KIR 分子识别并结合不同的 HLA-I 类分子。KIR2DL1 识别 HLA-Cw2、Cw4、Cw5、Cw6; KIR2DL2/2DL3 识别 HLA-Cw1、Cw3、Cw7、Cw8; KIR3DL1 识别 HLA-Bw4; KIR3DL2 识别 HLA-A3、A11;其余的 KIR 配体尚未明确。KIR2DL1、KIR2DL2/2DL3、KIR3DL1、KIR3DL2 是目前已知的影响 NK 细胞同种异体反应性的主要抑制性受体^[2]。

本研究表明 CNE2/DDP 细胞表面 HLA-A、B、Cw 表型为 A2、A24、B18、B 35、Cw4、Cw7,不表达 Bw4、A3、A11 分子,因此 3 例健康个体体内表达 KIR3DL1、KIR3DL2 的 NK 细胞与 CNE2/DDP 细胞之间存在 KIR-配体错配现象。KIR3DL2 为 NK 细胞的框架基因,任意个体的 NK 细胞均表达 KIR3DL2^[12],因此任意个体的 NK 细胞均与 CNE2/DDP 细胞之间存在着 KIR-配体错配现象。

NKG2D 是介导 NK 细胞杀伤活性的主要活化性受体^[13],表达在所有 NK 细胞表面,靶细胞表面的 MICA/MICB 分子是 NKG2D 的主要活化性配体,MICA/MICB 与 NKG2D 结合后可以激活 NK 细胞对表达 MICA/MICB 分子的肿瘤细胞的杀伤^[14-16]。

此前研究表明 CNE2/DDP 细胞表面表达 NK 细胞活化性受体 NK2D 的配体 MICA/MICB,结合 KIR 检测结果表明任意个体的 NK 细胞均存在杀伤 CNE2/DDP 细胞的分子基础,体外杀伤实验显示 NK 细胞对 CNE2/DDP 细胞的杀伤活性在效靶比 30:1 时为(40.29 ± 2.73)%^[6]。

本实验研究 NK 细胞对人鼻咽癌细胞多药耐药细胞 CNE2/DDP 裸鼠皮下移植瘤的抑制作用,探讨 NK 细胞对治疗耐药的鼻咽癌的价值。结果表明,NK 细胞治疗组成瘤时间较对照组明显延长,治疗组肿瘤体积较对照组明显减小,NK 细胞对 CNE2/DDP 细胞裸鼠皮下移植瘤的抑制率为 20%。有研究^[17]表明鼠源性 NK 细胞的 NKG2D 的配体与人 NK 细胞的 NKG2D 的配体有不同的氨基酸序列,因而鼠 NK 细胞不能识别人 NK 细胞 NKG2D 的配体。Fodstad 等^[18]的研究表明,裸鼠体内自身的 NK 细胞状态与皮下移植瘤的生长无相关性。Harada 等^[19]证实同种异体的 NK 细胞可以在裸鼠体内至少存活 2 个月以上。本实验中注射到裸鼠体内的 NK 细胞纯度达 90% 以上。实验结束后,在治疗组裸鼠外周血中可以检测到人的 NK 细胞,而对照组不能检测到人 NK 细胞。成瘤组织病理学证实 NK 细胞治疗组可见明显肿瘤坏死和淋巴细胞浸润,而对照组无明显淋巴细胞浸润。据此本研究认为,NK 细胞能有效抑制 CNE2/DDP 细胞裸鼠皮下移植瘤的生长,该治疗作用是由注射到裸鼠体内的人 NK 细胞特异性介导的。

本研究提示 NK 细胞能有效抑制 CNE2/DDP 裸鼠移植瘤的生长,为耐药鼻咽癌的治疗提供了另一种方法,但尚需大规模的体内实验,为临床应用提供充分的依据。

[参 考 文 献]

- [1] Chua DT, Sham JS, Au GK, *et al.* Concomitant chemoradiation for stage III-IV nasopharyngeal carcinoma in Chinese patients: results of a matched cohort analysis[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2002, 53(2): 334-343.
- [2] Hsu KC, Keever-Taylor CA, Wilton A, *et al.* Improved outcome in HLA-identical sibling hematopoietic stem-cell transplantation for acute myelogenous leukemia predicted by KIR and HLA genotypes [J]. *Blood*, 2005, 105(12): 4878-4884.
- [3] Ruggeri L, Capanni M, Mancusi A, *et al.* Natural killer cell alloreactivity in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Int J Hematol*, 2005, 81(1): 13-17.
- [4] Ruggeri L, Capanni M, Mancusi A, *et al.* The impact of donor natural killer cell alloreactivity on allogeneic hematopoietic transplantation [J]. *Transpl Immunol*, 2005, 14(3-4): 203-206.
- [5] Sconocchia G, Lau M, Provenzano M, *et al.* The antileukemia effect of HLA-matched NK and NK-T cells in chronic myelogenous leukemia involves NKG2D-target-cell interactions [J]. *Blood*, 2005, 106(10): 3666-3672.
- [6] 梅家转,周健,郭坤元,等.低表达 MICA/MICB 导致 NK 细胞对人鼻咽癌多药耐药细胞(CNE2/DDP)杀伤活性下降[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(5): 349-352.

- [7] 姜润德,张立新,岳文,等. 人鼻咽癌顺铂耐药细胞系(CNE2/DDP/DDP)的建立及耐药相关基因的筛选[J]. 癌症,2003,22(4):337-345.
- [8] Vanhaesebroeck B, Mareel M, Van Roy F, *et al.* Expression of the tumor necrosis factor gene in tumor cells correlates with reduced tumorigenicity and reduced invasiveness *in vivo*[J]. Cancer Res, 1991, 51(8):2229-2238.
- [9] Mivechi NF, Dewey WC. DNA polymerase alpha and beta activities during the cell cycle and their role in heat radiosensitization in chinese hamster ovary cells[J]. Radiat Res, 1985, 103(3): 337-350.
- [10] Re F, Staudacher C, Zamai L, *et al.* Killer cell Ig-like receptors ligand-mismatched alloreactive natural killer cells lyse primary solid tumors[J]. Cancer, 2006, 107(3): 640-648.
- [11] Igarashi T, Wynberg J, Srinivasan R, *et al.* Enhanced cytotoxicity of allogeneic NK cells with killer immunoglobulin-like receptor ligand incompatibility against melanoma and renal cell carcinoma cells [J]. Blood, 2004, 104(1): 170-177.
- [12] Ruggeri L, Capanni M, Mancusi A, *et al.* Alloreactive natural killer cells in mismatched hematopoietic stem cell transplantation[J]. Blood Cells Mol Dis, 2004, 33(3): 216-221.
- [13] Houchins JP, Yabe T, McSherry C, *et al.* DNA sequence analysis of NKG2, a family of related cDNA clones encoding type II integral membrane proteins on human natural killer cells[J]. J Exp Med, 1991, 173(4): 1017-1020.
- [14] Pende D, Rivera P, Marcenaro S, *et al.* Major histocompatibility complex class I -related chain A and UL16-binding protein expression on tumor cell lines of different histotypes: analysis of tumor-susceptibility to NKG2D-dependent natural killer cell cytotoxicity [J]. Cancer Res, 2002, 62(21):6178-6186.
- [15] Hayakawa Y, Smyth MJ. NKG2D and cytotoxic effector function in tumor immune surveillance[J]. Semin Immunol, 2006, 18(3): 176-185.
- [16] Coudert JD, Held W. The role of the NKG2D receptor for tumor immunity[J]. Semin Cancer Biol, 2006, 16(5): 333-343.
- [17] Diefenbach A, Hsia JK, Hsiung MY, *et al.* A novel ligand for the NKG2D receptor activates NK cells and macrophages and induces tumor immunity[J]. Eur J Immunol, 2003, 33(2): 381-391.
- [18] Fodstad O, Hansen CT, Cannon GB, *et al.* Lack of correlation between natural killer activity and tumor growth control in nude mice with different immune defects [J]. Cancer Res, 1984, 44(10): 4403-4408.
- [19] Harada H, Suzu S, Ito T, *et al.* Selective expansion and engraftment of human CD16⁺ NK cells in NOD/SCID mice [J]. Eur J Immunol, 2005, 35(12): 3599-3609.
- [收稿日期] 2007 -01 -30 [修回日期] 2007 -04 -30
[本文编辑] 郁晓路

· 科技动态 ·

地塞米松通过上调 GITRL 的反向信号传导在变态反应中活化 IDO

免疫系统中有一种称为“反向”或“由外向内”的双向信号传递系统,即相邻细胞上配对的共受体通过互为受体-配体而发生交互作用,其中以 TNF 家族成员为典型代表。如三联共受体——CTLA-4, CD28 和 B7 之间的相互作用可对 T 淋巴细胞和 DC 发生双相或单相的信号调控。CTLA-4 与鼠和人 DC 表面的 B7 分子结合后可活化色氨酸代谢调控途径。此代谢途径起始于吡啶胺-2,3-双氧化酶(IDO)的活化,已经被认为是表面表达 CTLA-4 的 Treg 细胞的一种接触依赖性效应机制。

除 CTLA-4 以外, Treg 细胞还表达糖皮质激素诱导的 TNF 受体(GTR)。GTR 首次发现于 T 淋巴细胞,地塞米松可上调其表达,该受体能抑制 T 细胞受体诱导的凋亡。它的天然配体 GITRL 属于 TNF 超家族,表达在不同的细胞表面,包括成熟的或未成熟的 DC。当 GITRL 与 GTR 结合后,能逆转 Treg 的抑制功能,并能对效应 T 细胞发挥共刺激作用。多数观点一致认为, TNF 家族成员间的交互作用能介导细胞活化或免疫应答的增强。近期实验结果表明,活化 TNF 受体家族成员 4-1BB,能阻断实验性自身免疫性疾病的进展。这种作用依赖于色氨酸的代谢并且需要特异性的 Treg 细胞亚群和 DC 参与。

浆细胞样 DC(pDC)代表一种特化的细胞群体,可在对病毒感染发生应答时产生大量 I 型干扰素(IFN)。pDC 参与了抵抗病毒感染和调控免疫应答,包括诱导和维持耐受。以 CTLA-4-Ig 和 CD200-Ig 蛋白或富含 CpG 的寡聚脱氧核苷酸(ODN)刺激 pDC,可诱导 IDO 介导的色氨酸代谢调控途径。

作者制备了可溶性的 GTR-Ig 蛋白,与 pDC 结合后,通过流式细胞仪检测证实 pDC 表面表达 GITRL,且能与 GTR-Ig 蛋白发生结合。作者利用皮肤敏感实验证实了与 GTR-Ig 结合的 pDC 具有抑制超敏反应的能力,并通过色氨酸代谢实验证明了这种抑制作用与 IDO 相关。由于已知 IFN 能调控 IDO 的表达,作者又证明了 IFN 在 GTR-Ig 效应中的作用,发现 IFN- α 在 GTR-Ig 诱导 IDO 表达中是必须的。由于 TNF 家族主要通过非经典的 NF- κ B 途径发挥作用,作者检测了非经典 NF- κ B 途径中 IKK α 和 NIK 磷酸化情况及 p52、RelB 的表达情况,证明了 GITRL 介导的反向信号传导活化了非经典 NF- κ B 途径,继而诱导了 IDO 依赖的免疫调控。作者发现地塞米松处理的小鼠通过诱导 CD4⁺ T 细胞中 GTR 和 DC 中的 GITRL 表达从而活化了 IDO,从而对过敏性支气管肺曲霉病有负相调控功能。

该研究作者证实了 pDC 表面的 GITRL 能介导反向信号传导,通过活化非经典的 NF- κ B 途径,诱导了 IDO 依赖的免疫调控;并提出了糖皮质激素无论作为生理介质还是治疗制剂,均可能主要通过 GITRL 依赖的色氨酸代谢的调控来发挥作用。

[吴亚男 摘译,李楠 审阅. Grohmann U, Volpi C, Fallarino F, *et al.* Nat Med, 2007(8), <http://nature.com/nm/archive/index.html>]