

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.02.019

次要组织相容性抗原在异基因造血干细胞移植中应用的研究进展

Application of minor histocompatibility antigens in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: an update

董 征 综述;王丹红*,艾辉胜 审阅(解放军第307医院 血液内科,北京 100071)

[摘要] 异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)是目前治愈血液系统恶性疾病的有效手段。由于次要组织相容性抗原(minor histocompatibility antigens, mHags)本身的特性及其免疫学效应,在allo-HSCT后的移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)和移植物抗白血病效应(graft versus leukemia effect, GVL)中都发挥了重要的作用。研究发现,一些mHags分布广泛,在各种细胞中均有表达,如HA-3、HA-4等;另外一些则限制性表达在造血细胞起源的细胞表面,如HA-1、HA-2等。目前正在研究利用mHags分布的差异应用于allo-HSCT中,以达到加强GVL和减少GVHD的目的。

[关键词] 异基因造血干细胞;移植;次要组织相容性抗原;移植物抗宿主病;移植物抗白血病效应

[中图分类号] R733.7; R730.54

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)02-0195-04

异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)后机体主要通过供体免疫细胞介导的移植物抗白血病效应(graft versus leukemia effect, GVL)来消除残存的肿瘤细胞。与GVL相关的免疫细胞有T细胞和NK细胞,其中CTLs发挥了重要作用。在HLA相合的allo-HSCT中,供体CTLs细胞主要通过识别供受者之间不同的次要组织相容性抗原(minor histocompatibility antigens, mHags)来发挥GVL效应,而在HLA不相合的allo-HSCT中,供体CTLs细胞主要通过识别HLA分子-mHags复合物来发挥GVL效应。一些mHags能诱导产生GVL效应,而另一些则与移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)相关。下面主要将可能与GVL效应、GVHD相关的mHags作一综述。

1 mHags 组织分布及其免疫学效应

mHags由种群内某些多态性基因编码,是可以被MHC分子提呈的蛋白多肽。其中一些mHags发现较早,如HA-3、HA-4、HA-6、HA-7及H-Y,且分布广泛,在各种细胞中均有表达;而HA-1、HA-2、HA-5和ACC-6则只在造血细胞起源的细胞(包括白血病及其前体细胞)表面表达^[1-3];此外还发现HB-1在B细胞性恶性肿瘤(包括ALL和淋巴瘤)中高表达,而在正常组织中低水平表达^[4]。这些造血组织限制性表达的mHags可能与allo-HSCT后的GVL效应有关。最近有研究^[5]显示在慢性髓细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)的患者中所有的CD34⁺细胞亚群表达相似水平的mHags HA1和SMCY,提示针对这2个mHags的靶向治疗可能有助于GVL效应。Holloway等^[6]发现可以被CD4⁺CTLs识别的mHags 3AB11,主要表达在由EB病毒转化的B细胞系、骨髓瘤细胞系UM9以及单核细

胞,而很少表达在T细胞,也不存在于CD40L刺激的外周血B细胞和正常细胞表面。正是因为HLA-II限制的3AB11抗原有比较高的表达率以及明显的造血组织限制性,所以可以作为细胞治疗的一个有用抗原。由PANE1基因编码HLA-A*0301限制的mHags选择性表达在CD19⁺B细胞以及慢性B淋巴细胞性白血病(B-chronic lymphocytic leukemia, B-CLL)细胞,而在正常B细胞上表达水平明显降低,提示PANE1基因编码的mHags可以作为治疗B-CLL的潜在靶分子^[7]。此外还发现一些mHags,如HA-8、SMCY高表达于上皮细胞,UGT2B17大量表达于胃肠道和肝脏^[8-9],提示这些mHags可能与GVHD相关。以上这些研究表明,mHags在不同组织的分布不同,特别是那些与造血组织密切相关的mHags可以被利用来增加GVL效应、减少GVHD发生以及成为过继性免疫治疗的目标抗原。

2 mHags 的特性及其在 allo-HSCT 中的作用机制

因为基因的多态性,mHags在供受者之间是不同的,可以被供者T细胞识别。在allo-HSCT后,尽管使用了免疫抑制剂来阻断同种异体反应,但T细胞仍然能产生GVHD和GVL效应,说明mHags的高免疫原性。其次,在allo-HSCT后被分离出来的大多数的mHags特异的T细胞克隆都有着高亲和力^[10],增加了它们识别那些低水平表达MHC或者自身抗原的肿瘤

[基金项目] 国家高技术研究发展(863)计划资助项目(No. 2002AA216081)。Supported by the National High Technology Research and Development(863)Program of China(No. 2002AA216081)

[作者简介] 董征(1983-),男,安徽省芜湖市人,硕士生,主要从事白血病与造血干细胞移植方面的研究

*通讯作者(Corresponding author). E-mail: wangdanhong307qq@sina.com

细胞的可能性,显示 mHags 在 T 细胞识别、清除肿瘤细胞中可能发挥一定的作用。CD8⁺ CTL 通过 T 细胞受体(TCR)/CD3 识别抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APC)或靶细胞上与 I 类分子结合的 mHags,从而启动 I 类分子介导的抗原识别机制,通过分泌的穿孔素/颗粒酶直接溶解靶细胞,破坏肿瘤细胞以及产生有益于效应细胞的炎症因子。CD4⁺ Th 细胞通过 TCR/CD3 识别 APC 上与 II 类分子结合的 mHags,通过 Fas/FasL 相互作用溶解靶细胞,通过 CD40/CD40L 途径刺激 APC,产生并且分泌细胞因子促进免疫反应。

3 mHags 在异基因造血干细胞移植中的应用

有研究^[11]显示,在 HLA 相合的 allo-HSCT 中受者表达 HA-1 而供者不表达 HA-1 比供受者都表达 HA-1 有较低的白血病复发率,而 GVHD 的发生率没有明显升高,提示 HA-1 可以作为将 GVL 效应从 GVHD 中分离的抗原。另外有研究^[12-15]证实,在移植后复发的患者接受供者淋巴细胞输注后的 5~7 周,在其外周血中检测到对 HA-1 或 HA-2 特异的 CD8⁺ T 细胞。在这些 CTLs 出现的同时伴有恶性肿瘤的完全缓解和 100% 供者嵌合状态;体外实验也显示,这些 CTLs 可以溶解受者白血病细胞和抑制白血病细胞集落形成,提示对 HA-1 或 HA-2 特异的 CTLs 细胞可以用于肿瘤过继性免疫治疗来增加 GVL 效应。但是也有相互矛盾的资料^[16]提示,HA-1 在 GVHD 中有一定的作用,原因可能是在一些局部的炎症反应中 T 细胞对受者树突状细胞上的 HA-1 起反应,使得 T 细胞浸润更加容易并且诱导了对其他抗原的反应。HLA-B44 限制的 HB-1 编码 mHags 特异的 T 细胞可以在 allo-HSCT 后患者外周血中分离出来,并且发现可以溶解急性淋巴细胞白血病细胞^[4],提示在 HLA B44 阳性的 ALL 患者中,HB-1 有可能作为造血干细胞移植后免疫治疗的一个靶抗原。一个男性患者接受了其全相合姐姐的 allo-HSCT 后,样本中分离出 CD8⁺ CTL 克隆,可以识别一个新的由 DDX3Y 编码的 HLA-B * 2705 限制的 H-Y 抗原。在 HLA-B * 2705 的男性患者中,淋系和髓系的白血病细胞表面都有 DDX3Y 编码的 H-Y 抗原。而且在动物实验中,DDX3Y 特异的 T 细胞可以阻止人类白血病细胞植入免疫缺陷小鼠体内^[17]。这些实验结果说明,DDX3Y 编码的 H-Y 抗原也可以表达在白血病细胞,对 DDX3Y 特异的 CD8⁺ T 细胞可能有助于女供男的 allo-HSCT 后的 GVL 作用。

mHags 在许多组织表达,不太可能用造血组织特异的 mHags 来作为靶分子治疗所有接受造血干细胞移植的患者。用既在白血病细胞也在上皮细胞表达的 mHags 作为靶分子可增强 GVL 作用,但是有可能会伴

随一定程度的 GVHD。初步资料表明上皮细胞的 mHags 表达水平决定 GVHD 发生的风险。表达 HA-8 的受者接受 HA-8 阴性供者移植产生急性 GVHD 的比例高于供受者相匹配的移植^[18-19]。此外,已经在存在肝脏和肠道 GVHD 的患者体内分离出对 UGT2B17 特异的 T 细胞^[9]。在接受女性供者造血干细胞移植并出现 GVHD 的男性受者体内检测出大量由 SMCY(一个高表达于上皮细胞的 Y 染色体基因)编码的 mHags 特异 T 细胞,而当供者是男性时不增加 GVHD^[20]。以上研究显示,T 细胞对 HA-8、UGT2B17、SMCY 的反应可能伴随着 GVHD。

那些在上皮细胞上低水平表达的 mHags 在被 T 细胞识别后可以引起轻度的 GVHD,因此判定这些抗原诱导 GVL 作用将是比较安全的。举例来说,Y 染色体基因 UTY 编码的 mHags,通过 HLA B8 分子被 CD8⁺ T 细胞提呈,而 CD8⁺ T 细胞对 UTY 起反应并不伴随着临床上的 GVHD。在体外对 B8/UTY 特异的 CTL 克隆可以溶解造血细胞但是不溶解成纤维细胞,这些活性与 UTY 的 mRNA 的表达有关。UTY mRNA 在造血组织高表达而在非造血组织包括皮肤成纤维细胞低水平表达^[21]。研究表明,UTY 抗原表位,在造血和非造血组织之间的表达差异足够影响 CTL 细胞识别,通过选择这个抗原作为靶分子可能选择性加强 GVL 作用。因此,在受者是男性供者是女性的造血干细胞移植中,UTY 可能作为一个广泛的靶分子能减少白血病的复发及 GVHD 的发生。

随着研究的深入不断有新的 mHags 被发现,其中一些可能在 allo-HSCT 中发挥重要的作用。BCL2A1 是抗细胞凋亡基因 BCL2 家族中的一员,编码 2 个 mHags ACC-1 和 ACC-2,主要在造血组织中表达。有临床资料^[22]显示,供受者之间 ACC-1 表达不同可以减少移植后白血病的复发,而且不会增加 GVHD 的发生率。Kloosterboer 等^[23]发现 BCL2A1 在间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)上的表达受 TNF- α 和 IFN- γ 的正调节。BCL2A1 特异的 T 细胞不识别未经处理的或是只经过 IFN- γ 处理的 MSCs,但是可以特异性识别并且杀伤经过 TNF- γ 和 IFN- α 处理的 MSCs。推断在稳定环境中对 BCL2A1 特异的 T 细胞可能相对专一地只作用于造血组织,但是当有炎症出现时也可能会对非造血组织出现反应。因此,BCL2A1 特异 T 细胞对于 GVL 和 GVHD 差异诱导的关键是发生 GVHD 时是否伴随着炎症反应。由常染色体 HLA-DQB1 * 0603 限制的 mHags LB-PI4K2B-1S 在一个 CML 患者中被发现,在 DLI 后分离出的对 LB-PI4K2B-1S 特异的 CD4⁺ T 细胞可以识别并且溶解 CD34⁺ CML 细胞、其他白血病细胞以及高表达 HLA-DQ 的正常造血细胞,而

表达 HLA-DQ 的非造血系统起源的正常细胞则不被 T 细胞识别^[24],因此推断, LB-PI4K2B-1S 特异的 CD4⁺T 细胞不仅通过直接溶解肿瘤细胞而且可以作为刺激 CD8⁺T 细胞免疫的辅助细胞来介导抗肿瘤反应。在一对 HLA 全相合的供受者之间,由 TRIM22-442C 编码 HLA-0201 限制的 mHags 优先表达在受者造血干细胞表面,供者淋巴细胞在移植前接受了患者外周血中单个核细胞的刺激,发现对 TRIM22-442C 特异的 T 细胞长期存在于造血干细胞移植后患者体内^[25],提示由 TRIM22-442C 编码的 mHags 可以诱导持续的 GVL 作用。此外,组织蛋白酶 H 在蛋白质水平广泛地表达,可能与 GVHD 和 GVL 都有联系。然而 Torikai 等^[26]发现组织蛋白酶 H 编码的 HLA-A * 3101 和 HLA-A * 3303 限制的 2 个次要组织相容性抗原,其特异的 CTLs 主要溶解造血细胞起源的靶细胞,提示由组织蛋白酶 H 编码的 mHags 可以作为 GVL 作用的靶分子。

4 结 语

mHags 在 allo-HSCT 中起着重要的作用,通过对 mHags 不断地研究,有可能实现 GVL 效应和 GVHD 的分离。同时对 mHags 特异的 CTLs 细胞的转移性输注,有可能增加 GVL 效应和改善 allo-HSCT 后复发患者的预后。未来异基因造血干细胞移植可能会联合应用非清髓造血干细胞移植和 T 细胞治疗,通过设计去除干细胞移植中引起 GVHD 的 T 细胞亚型,混合必要的 mHags 或白血病相关抗原特异的 T 细胞来增加 GVL 效应。

[参考文献]

- [1] Mommaas B, Kamp J, Drijfhout JW, *et al.* Identification of a novel HLA-B60-restricted T cell epitope of the minor histocompatibility antigen HA-1 locus [J]. *J Immunol*, 2002, 169(6): 3131-3136.
- [2] Pierce RA, Field ED, Mutis T, *et al.* The HA-2 minor histocompatibility antigen is derived from a diallelic gene encoding a novel human class I myosin protein [J]. *J Immunol*, 2001, 167(6): 3223-3230.
- [3] Kawase T, Akatsuka Y, Torikai H, *et al.* Alternative splicing due to an intronic SNP in HMSD generates a novel minor histocompatibility antigen [J]. *Blood*, 2007, 110(3): 1055-1063.
- [4] Dolstra H, de Rijke B, Fredrix H, *et al.* Bi-directional allelic recognition of the human minor histocompatibility antigen HB-1 by cytotoxic T lymphocytes [J]. *Eur J Immunol*, 2002, 32(10): 2748-2758.
- [5] Yong AS, Keyvanfar K, Eniafe R, *et al.* Hematopoietic stem cells and progenitors of chronic myeloid leukemia express leukemia-associated antigens: implications for the graft-versus-leukemia effect and peptide vaccine-based immunotherapy [J]. *Leukemia*, 2008, 22(9): 1721-1727.
- [6] Holloway PA, Kaldenhoven N, Kok-Schoemaker HM, *et al.* A class II-restricted cytotoxic T-cell clone recognizes a human minor histocompatibility antigen with a restricted tissue distribution [J]. *Br J Haematol*, 2005, 128(1): 73-81.
- [7] Brickner AG, Evans AM, Mito JK, *et al.* The PANEL gene encodes a novel human minor histocompatibility antigen that is selectively expressed in B-lymphoid cells and B-CLL [J]. *Blood*, 2006, 107(9): 3779-3786.
- [8] Terakura S, Murata M, Warren EH, *et al.* A single minor histocompatibility antigen encoded by UGT2B17 and presented by human leukocyte antigen-A * 2902 and -B * 4403 [J]. *Transplantation*, 2007, 83(9): 1242-1248.
- [9] Murata M, Warren EH, Riddell SR. A human minor histocompatibility antigen resulting from differential expression due to a gene deletion [J]. *J Exp Med*, 2003, 197(10): 1279-1289.
- [10] Warren EH, Gavin M, Greenberg PD, *et al.* Minor histocompatibility antigens as targets for T-cell therapy after bone marrow transplantation [J]. *Curr Opin Hematol*. 1998, 5(6): 429-433.
- [11] Murata M, Emi N, Hirabayashi N, *et al.* No significant association between HA-1 incompatibility and incidence of acute graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone marrow transplantation in Japanese patients [J]. *Int J Hematol*, 2000, 72(3): 371-375.
- [12] Marijt WA, Heemskerk MH, Kloosterboer FM, *et al.* Hematopoiesis-restricted minor histocompatibility antigens HA-1- or HA-2-specific T cells can induce complete remissions of relapsed leukemia [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(5): 2742-2747.
- [13] Kircher B, Stevanovic S, Urbanek M, *et al.* Induction of HA-1-specific cytotoxic T-cell clones parallels the therapeutic effect of donor lymphocyte infusion [J]. *Br J Haematol*, 2002, 117(4): 935-939.
- [14] Hambach L, Nijmeijer BA, Aghai Z, *et al.* Human cytotoxic T lymphocytes specific for a single minor histocompatibility antigen HA-1 are effective against human lymphoblastic leukaemia in NOD/scid mice [J]. *Leukemia*, 2006, 20(2): 371-374.
- [15] Kloosterboer FM, van Luxemburg-Heijs SA, van Soest RA, *et al.* Direct cloning of leukemia-reactive T cells from patients treated with donor lymphocyte infusion shows a relative dominance of hematopoiesis-restricted minor histocompatibility antigen HA-1 and HA-2 specific T cells [J]. *Leukemia*, 2004, 18(4): 798-808.
- [16] Lin MT, Gooley T, Hansen JA, *et al.* Absence of statistically significant correlation between disparity for the minor histocompatibility antigen-HA-1 and outcome after allogeneic hematopoietic cell transplantation [J]. *Blood*, 2001, 98(10): 3172-3173.
- [17] Rosinski KV, Fujii N, Mito JK, *et al.* DDX3Y encodes a class I MHC-restricted H-Y antigen that is expressed in leukemic stem cells [J]. *Blood*, 2008, 111(9): 4817-4826.
- [18] Akatsuka Y, Warren EH, Gooley TA, *et al.* Disparity for a newly identified minor histocompatibility antigen, HA-8, correlates with acute graft-versus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling [J]. *Br J Haematol*, 2003, 123(4): 671-675.
- [19] Pérez-García A, De la Cámara R, Torres A, *et al.* Minor histocompatibility antigen HA-8 mismatch and clinical outcome after HLA-

- identical sibling donor allogeneic stem cell transplantation [J]. *Haematologica*, 2005, 90(12): 1723-1724.
- [20] Mutis T, Gillespie G, Schrama E, *et al.* Tetrameric HLA class I-minor histocompatibility antigen peptide complexes demonstrate minor histocompatibility antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in patients with graft-versus-host disease [J]. *Nat Med*, 1999, 5(7): 839-842.
- [21] Warren EH, Gavin MA, Simpson E, *et al.* The human UTY gene encodes a novel HLA-B8-restricted H-Y antigen [J]. *J Immunol*, 2000, 164(5): 2807-2814.
- [22] Nishida T, Akatsuka Y, Morishima Y, *et al.* Clinical relevance of a newly identified HLA-A24-restricted minor histocompatibility antigen epitope derived from BCL2A1, ACC-1, in patients receiving HLA genotypically matched unrelated bone marrow transplant [J]. *Br J Haematol*, 2004, 124(5): 629-635.
- [23] Kloosterboer FM, van Luxemburg-Heijs SA, van Soest RA, *et al.* Up-regulated expression in nonhematopoietic tissues of the BCL2A1-derived minor histocompatibility antigens in response to inflammatory cytokines: relevance for allogeneic immunotherapy of leukemia [J]. *Blood*, 2005, 106(12): 3955-3957.
- [24] Griffioen M, van der Meijden ED, Slager EH, *et al.* Identification of phosphatidylinositol 4-kinase type II beta as HLA class II-restricted target in graft versus leukemia reactivity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(10): 3837-3842.
- [25] Wölfel C, Lennerz V, Lindemann E, *et al.* Dissection and molecular analysis of alloreactive CD8⁺ T cell responses in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(6): 849-857.
- [26] Torikai H, Akatsuka Y, Miyazaki M, *et al.* The human cathepsin H gene encodes two novel minor histocompatibility antigen epitopes restricted by HLA-A * 3101 and -A * 3303 [J]. *Br J Haematol*, 2006, 134(4): 406-416.
- [收稿日期] 2009 - 02 - 24 [修回日期] 2009 - 03 - 17
- [本文编辑] 王莹

(上接第 194 页)

- [21] Wei L, Laurence A, Elias KM, *et al.* IL-21 is produced by Th17 cells and drives IL-17 production in a STAT3-dependent manner [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(48): 34605-34610.
- [22] Brüstle A, Heink S, Huber M, *et al.* The development of inflammatory T(H)-17 cells requires interferon-regulatory factor 4 [J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(9): 958-966.
- [23] Huber M, Brüstle A, Reinhard K, *et al.* IRF4 is essential for IL-21-mediated induction, amplification, and stabilization of the Th17 phenotype [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(52): 20846-20851.
- [24] Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, *et al.* Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1123-1132.
- [25] Park H, Li Z, Yang XO, *et al.* A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17 [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1133-1141.
- [26] Kleinschek MA, Owyang AM, Joyce-Shaikh B, *et al.* IL-25 regulates Th17 function in autoimmune inflammation [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(1): 161-170.
- [27] Batten M, Li J, Yi S, *et al.* Interleukin 27 limits autoimmune encephalomyelitis by suppressing the development of interleukin 17-producing T cells [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(9): 929-936.
- [28] Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH, *et al.* Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(9): 937-945.
- [29] Laurence A, Tato CM, Davidson TS, *et al.* Interleukin-2 signaling via STAT5 constrains T helper 17 cell generation [J]. *Immunity*, 2007, 26(3): 371-381.
- [30] Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, *et al.* Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells [J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(9): 942-949.
- [31] Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, *et al.* Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells [J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(9): 950-957.
- [32] Zhou L, Lopes JE, Chong MM, *et al.* TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function [J]. *Nature*, 2008, 453(7192): 236-240.
- [33] Manel N, Unutmaz D, Littman DR. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor RORgamma [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(6): 641-649.
- [34] Volpe E, Servant N, Zollinger R, *et al.* A critical function for transforming growth factor-beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human T(H)-17 responses [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(6): 650-657.
- [35] Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C, *et al.* IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human Th17 cells [J]. *Nature*, 2008, 454(7202): 350-352.
- [36] Li MO, Wan YY, Flavell RA. T cell-produced transforming growth factor-beta1 controls T cell tolerance and regulates Th1- and Th17-cell differentiation [J]. *Immunity*, 2007, 26(5): 579-591.
- [收稿日期] 2009 - 01 - 22 [修回日期] 2009 - 03 - 25
- [本文编辑] 王莹