

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.06.017

幽门螺杆菌对树突状细胞功能影响的研究进展

Research advance in the impact of *Helicobacter pylori* on functions of dendritic cells

李巧珍^{1,2}综述,陈玉强^{1,2}审阅(1. 福建医科大学 福总临床医学院,福建 福州 350025; 2. 中国人民解放军第 174 医院 肿瘤治疗中心,福建 厦门 361003)

[摘要] 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是人类胃癌的 I 类致癌原, Hp 感染与胃癌的发生和预后密切相关。树突状细胞(dendritic cell, DC)是机体功能最强的专职抗原提呈细胞,可启动并调节免疫应答。胃癌组织中 DC 的状态及浸润程度与胃癌 TNM 分期和淋巴结转移密切相关。Hp 阳性者胃黏膜中 DC 数量和活性高于 Hp 阴性者。近年来研究发现, Hp 可诱导 DC 成熟,上调 DC 表面成熟标志分子如 CD80、CD83、CD86 和 MHC II 等的表达,促进细胞因子 IL-6、IL-8 及 IL-12 等的分泌,但主要诱导 DC 分泌 Th1 细胞因子,促使 Th0 细胞增殖分化为 Th1 细胞,介导细胞免疫反应,促进 DC 和效应 T 细胞产生 IFN- γ , 增强抗肿瘤活性。研究还显示, Hp 对 DC 成熟状态和活化水平的影响与 Hp 刺激时间、Hp 感染复数、Hp 成分及 Hp 制备方法密切相关, Hp 刺激 DC 成熟和活化的机制可能与 MyD88 和转录因子 E2F1 相关。

[关键词] 树突状细胞;幽门螺杆菌;胃癌

[中图分类号] R735.2; R730.2; R730.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)06-0656-06

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)是定植于胃黏膜表面的革兰阴性螺旋状微需氧菌,生长缓慢,是慢性胃炎、消化性溃疡的主要致病因子,并且与胃癌和胃黏膜相关淋巴样组织淋巴瘤的发生密切相关。流行病学调查^[1]显示,中年人群中 Hp 感染率在发达国家和发展中国家分别为 58% 和 74%,而且 63.4% 的胃癌归因于 Hp 感染。树突状细胞(dendritic cell, DC)是机体功能最强的专职抗原提呈细胞,也是唯一能激活初始型 T 细胞的抗原提呈细胞,在诱导高效而特异的抗肿瘤免疫中起关键作用。研究^[2]发现,胃组织中 HLA-DR⁺ DC 能被 Hp 激活,从而诱导 Th1 型免疫效应,分泌大量 IFN- γ , 并且 Hp 阳性者胃黏膜中 HLA-DR⁺ DC 数量和活性高于 Hp 阴性者。胃癌组织中 DC 的浸润程度与胃癌 TNM 分期和淋巴结转移密切相关,可作为胃癌预后指标之一^[3]。胃癌术后患者的预后情况分析显示,血清 Hp 阳性患者优于阴性患者,推测 Hp 可能促进机体抗肿瘤免疫反应^[4,5]。因此,了解 Hp 对 DC 功能的影响,可以为以 DC 疫苗为核心的胃癌免疫治疗提供更多启发和参考。本文就近年来关于 Hp 对 DC 功能影响的研究进展作一综述。

1 Hp 对 DC 成熟状态的影响

DC 在分化发育过程中存在不成熟和成熟 2 个阶段,各阶段具有不同的生物学功能和细胞表型^[6]。未成熟 DC(imature DC, iDC)通过吞噬和胞

饮作用摄取抗原,仅表达少量的主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC) I、II 类分子和共刺激分子(CD80、CD86),在所摄取的抗原和炎性因子的活化作用下, iDC 转变为成熟 DC(mature DC, mDC)。mDC 的抗原摄取能力明显下降,但具有高水平的抗原提呈及刺激 T 细胞活化能力。伴随细胞功能的改变, mDC 的表型也发生明显变化,主要表现为 MHC II 类分子从胞内到胞膜的重新分配,以及细胞表面共刺激分子(CD80、CD86)、CD40、MHC I 类分子和黏附分子(CD48、CD58)等的表达上调。Hp 可使胃上皮细胞的尖端复合连接体断裂,从而增加 DC 直接接触 Hp 的可能性^[7]。Hp 与 DC 的相互作用可以影响 DC 表面标志的表达和细胞因子的分泌水平^[7-10]。

1.1 Hp 对 DC 表面标志表达的影响

众多学者针对不同制备方法所得的 Hp(如 Hp

[基金项目] 福建省自然科学基金资助项目(No. 2010D013); 南京军区医学科技创新课题(No. 10MA068); 厦门市科技计划创新项目(No. 3502z20104014)。Project supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province(No. 2010D013), the Medical Science and Technology Innovation Subject of Nanjing military region(No. 10MA068), and the Science and Technology Innovation Project of Xiamen(No. 3502z20104014)

[作者简介] 李巧珍(1987-),女,福建省泉州市人,硕士研究生,主要从事肿瘤生物治疗研究。E-mail: lqzali123@yahoo.com.cn

[通信作者] 陈玉强(CHEN Yu-qiang, corresponding author), E-mail: chenylq707@163.com

活菌、灭活菌和超声裂解物)、不同 Hp 菌株类型及 Hp 的不同成分对 DC 表面标志的影响进行研究。Kranzer 等^[7]把 Hp 血清学阳性或阴性志愿者的外周血单核源性的 iDC 与 Hp 活菌或大肠杆菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 共培养,发现 Hp 活菌能诱导 DC 成熟,高表达 DC 表面成熟标志 CD83 分子、协同刺激分子 (CD80、CD86) 和 MHC II 类分子 (HLA-DR),且表达水平与 LPS 诱导 DC 的阳性对照组相似^[9-11],同时还发现 DC 表面成熟标记分子的表达水平与 Hp 血清学阳性或阴性无关。此外, Hp 活菌、超声裂解物和 4% 多聚甲醛固定的灭活菌刺激 iDC 后均能上调 DC 表面成熟标记分子的表达,且表达水平无明显差异^[8,11]。然而,也有学者用 Hp 活菌和多聚甲醛灭活菌致敏 DC,两者均可导致 DC 的 MHC II 类分子堆积在细胞质而不能转运至细胞表面,使 IFN- γ 诱导 DC 成熟表达共刺激分子 CD80、CD86 和 MHC II 类分子的能力下降^[12]。

Hp 毒力基因主要包括 *VacA* 和 *CagPAI*,据此将 Hp 菌株分成两种菌株:含有 *CagPAI* 和 *VacA* 菌株,不含 *CagPAI* 和 *VacA* 菌株^[8]。近年来,关于 *CagPAI* 和 *VacA* 对 DC 成熟的影响存在争议。用 *CagPAI*⁺ *VacA*⁺ 和 *CagPAI*⁻ *VacA*⁻ 的 Hp 菌株分别刺激外周血单核细胞源性的 iDC,经流式细胞仪检测发现,DC 表面标记分子 CD80、CD83、CD86 和 HLA-ABC 的表达水平无明显差异,提示 *CagPAI* 和 *VacA* 不影响 Hp 刺激 DC 成熟^[8]。然而,Tanaka 等^[13]用 *CagA*⁺ 和 *CagA*⁻ 的 Hp 菌株分别刺激小鼠骨髓来源的 iDC 成熟,比较 mDC 表面共刺激分子 CD86 的表达水平,发现 *CagA*⁺ 菌株组低于 *CagA*⁻ 菌株组,提示 Hp 的 *CagA* 蛋白抑制 DC 的成熟。此外,*VacA* 蛋白亦可抑制大肠杆菌 LPS 诱导 DC 的成熟,降低 DC 表面标志 CD40、CD80、CD86 和 MHC II 类分子的表达^[14]。与 Hp 全菌相比, Hp 的膜蛋白诱导 DC 成熟和上调共刺激分子 CD80、CD86 表述的能力较低,且不能上调 MHC II 分子 HLA-DR 的表达^[10]。

1.2 Hp 对 DC 分泌细胞因子的影响

mDC 可分泌 IL-10、IL-12、IL-6、IL-8、IL-1 β 、IL-23 及 TNF 等细胞因子。Hp 可影响 DC 分泌细胞因子, Hp 刺激时间、Hp 感染复数 (multiplicity of infection, MOI)、Hp 成分及 Hp 制备方法等均影响 DC 分泌细胞因子的水平,目前关于具体细胞因子分泌水平和动力学尚存在争议,尤其是 IL-12 和 IL-10^[7-8,12-13]。

Hp 刺激时间的长短对 DC 分泌细胞因子存在影响。Kranzer 等^[7]通过 Hp (MOI = 10) 与 iDC 共培

养获得 DC 释放细胞因子的动力学参数:IL-6 和 IL-8 在 Hp 刺激 4 h 后开始分泌,且在 24 h 达稳定高水平;IL-10 和 IL-12 分别在刺激 6 h 和 8 ~ 10 h 后开始分泌,两者均于 48 h 达到最大量,随后在 48 ~ 72 h 稍减少。Hp 刺激 DC 分泌细胞因子 IL-10、IL-6 及 IL-8 的能力同大肠杆菌 LPS 相当,且分泌 IL-12 的能力显著高于大肠杆菌 LPS。然而,Mitchell 等^[11]用 Hp 刺激 iDC 8 h 后可检测到大量 IL-10 和 IL-12 细胞因子的分泌,而 48 h 则几乎未检测到,表明短时间 Hp 刺激可诱导 DC 成熟,而 Hp 的慢性暴露 (即长时间刺激)抑制 DC 的功能。此外,有报道^[15]认为, Hp 刺激 DC 分泌最大量细胞因子的最佳刺激时间为 24 h。

MOI 对 Hp 刺激 DC 成熟、诱导细胞因子分泌的影响,目前研究尚未完全明确。Obonyo 等^[15]发现,IL-10 的分泌水平与 Hp 的 MOI 成正相关,而 IL-12 则相反,TNF- α 分泌水平随 HpSD4 野生型菌株 MOI 增高而降低,随 Hp SD4*cagE* 突变菌株 MOI 增高而升高。另有研究^[7]表明,IL-6、IL-10 和 IL-12 细胞因子的释放量在 MOI 为 10 ~ 50 时达到最大水平,IL-8 释放量在 MOI 在 0.01 ~ 100 范围内依次增大,且在 MOI 为 10 时已达较高水平,认为 MOI 为 10 时是 Hp 刺激 DC 分泌细胞因子的最佳剂量。

不同制备方法得到的 Hp 刺激 DC 分泌细胞因子亦有不同。Kranzer 等^[8]报告 Hp 活菌、10% 甲醛灭活菌及超声裂解物 3 种不同制备方法均不影响细胞因子 IL-6、IL-8、IL-10 和 TNF 的分泌,而仅在 Hp 活菌、灭活菌组检测到相似水平的 IL-12 和 IL-1 β 分泌,在超声裂解物组未检测到 IL-12 和 IL-1 β 的释放。然而也有研究^[12]持不同观点, Hp 活菌和多聚甲醛灭活菌均刺激 DC 分泌 IL-6、TNF- α ,且表达水平无明显差异,仅 Hp 活菌能刺激 DC 分泌 IL-10,两者均未检测到 IL-12 分泌。这些研究均表明, Hp 损害 DC 成熟功能。

不同 Hp 成分对 DC 分泌细胞因子水平的影响不同。Hp 的 IV 型分泌系统由 *CagPAI* 编码的蛋白构成,可转运细菌蛋白类毒素和其他致病因子到宿主细胞,发挥一系列生物学效应^[16]。Hp 刺激 DC 分泌最大量 IL-12 依赖于 Hp 的 IV 型分泌系统功能的完整性,而 IL-10、IL-6、IL-1 β 及 TNF- α 的分泌与此系统完整性无关^[15,17]。Kranzer 等^[8]分别用 *CagPAI*⁺ *VacA*⁺ 和 *CagPAI*⁻ *VacA*⁻ 菌株刺激外周血单核细胞源性的 iDC,ELISA 检测细胞因子发现,IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-1 β 和 TNF 的分泌水平相似,表明 *CagPAI* 和 *VacA* 两种蛋白均不影响 Hp 刺激 DC

分泌细胞因子功能。但也有研究^[13]显示, CagA⁺ 和 CagA⁻ 的不同 Hp 菌株均能诱导 DC 的成熟及分泌细胞因子, CagA⁺ 菌株组释放 TNF- α 和 IL-12p40 水平低于 CagA⁻ 组, 而 IL-10 水平则相反。VacA 蛋白可抑制 LPS 诱导 DC 的成熟, 降低细胞因子(IL-1 β 、IL-12p70 和 TNF- α)的释放^[14]。Hp 的外膜蛋白 18 (outer membrane protein 18, Omp18)刺激 DC 成熟分泌高水平 IL-12, 而无 IL-10 分泌^[18]。这与其他报道^[19]显示的 Omp18 刺激 DC 成熟分泌高水平 IL-12 和 IL-10 不一致。Volland 等^[20]提示, Hp 细胞膜总蛋白和外膜蛋白均能浓度依赖的诱导 IL-12 的释放, 而 Hp 的内膜蛋白则不能, 同时发现 Hp 的重组尿素酶 A 和尿素酶 B 能诱导 DC 成熟, 分泌大量的 IL-12 和微量的 IL-10。此外, Hp 诱导 DC 成熟、释放细胞因子等过程不能被 LPS 抑制剂多黏菌素 B 抑制, 表明 Hp 的 LPS 在此过程未发挥作用^[8-9]。Hp 刺激 DC 成熟、分泌细胞因子在 Hp 血清学阳性和阴性个体间无差异^[10]。

综上, 大多数学者支持 Hp 能诱导 DC 成熟、上调 DC 表面成熟标志的表达和促进细胞因子的分泌, 但这些与个体间 Hp 血清学阳性或阴性无关; Hp 的外膜蛋白、尿素酶能刺激 DC 成熟, Hp 的 LPS 在 Hp 诱导 DC 成熟过程未发挥作用, 而 Hp 的 CagA 蛋白、VacA 蛋白是否抑制 DC 成熟, 以及 Hp 诱导 DC 成熟的最佳刺激时间、最佳 Hp 感染复数及最佳 Hp 制备方法尚存争议。

2 Hp 对 DC 活化水平的影响

在 Hp 感染个体的胃黏膜固有层中活化的 DC 和 T 淋巴细胞数量增多, 且活化的 DC 可迁移至局部淋巴结与其他免疫细胞相互作用, 发挥生物学效应^[9]。而 Hp 活化的 DC 对 T 细胞和 NK 细胞等免疫细胞的影响均尚未明确。

2.1 Hp 致敏 DC 对 T 淋巴细胞的影响

DC 通过分泌不同细胞因子及改变其膜表面共刺激分子表达, 调节 Th 亚群分化、发育, 并影响适应性免疫应答的类型和强度。DC 加工处理抗原, 通过 MHC 分子提呈抗原肽给 T 细胞, 在抗原肽-MHC 复合物(第一信号)的识别和共刺激分子(第二信号)、细胞因子(第三信号)的刺激作用下引起 T 细胞活化^[21]。大量研究^[10, 20, 22]表明, Hp 可刺激 DC 诱导 CD4⁺ T 细胞增殖分化为 Th1 细胞, 介导细胞免疫反应。Hansson 等^[10]把 Hp 活菌或膜蛋白刺激 48 h 的外周血单核源性 DC 与自体 CD4⁺ T 或 CD8⁺ T 细胞共培养 5 d, 用³H 胸腺嘧啶核苷掺入法(³H-TdR)

检测 T 细胞增殖水平, 结果表明, Hp 活菌和膜蛋白均能刺激 DC 诱导 CD4⁺ T 增殖, 而不能诱导 CD8⁺ T 细胞增殖, 且刺激 CD4⁺ T 细胞增殖能力在 Hp 感染志愿者和未感染者之间无明显差异。然而, Mitchell 等^[11]用 Hp 活菌或 4% 多聚甲醛固定的灭活菌致敏 DC 8 和 48 h 后, 与同种异体 T 细胞共培养 5 d, 发现刺激时间 8 h 组 Hp 活菌和灭活菌致敏 DC 活化的 T 细胞均分泌大量 Th1 细胞因子 IFN- γ , 但几乎不分泌 Th2 细胞因子 IL-5, 而 48 h 组 IFN- γ 分泌量明显减少, IL-5 分泌量增加, 表明随着 Hp 刺激时间延长, Hp 致敏 DC 活化 T 细胞分泌 IFN- γ 的量减少, 且 Hp 活菌组和灭活菌组间无明显差异, Hp 的慢性暴露损害了 DC 的活化功能, 抑制 Th1 细胞介导的细胞免疫。

Kranzer 等^[8]报道, CagPAI 和 VacA 不影响 Hp 致敏 DC 刺激同种异体 T 细胞活化的能力。然而也有研究^[13]发现 CagA 蛋白抑制 DC 激活 CD4⁺ T 分化为 Th1 细胞的功能。研究^[14, 23]已证实 Hp 的 VacA 蛋白能够抑制初始 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞和 B 淋巴细胞等免疫细胞增殖, 但 VacA 蛋白对抗原提呈细胞的作用仍知之甚少。Torres 等^[23]为观察 VacA 蛋白对抗原提呈细胞的作用, 将 VacA 蛋白致敏的 DC 与 CD4⁺ T 淋巴细胞混合培养, 发现 VacA 蛋白可抑制 DC 激活初始 CD4⁺ T 细胞的功能, 该抑制反应归因于 VacA 蛋白对 T 细胞的直接抑制作用, 而不能证明 VacA 蛋白直接抑制 DC 的增殖。Rathinavelu 等^[18]利用 Omp18 致敏的 DC 诱导小鼠脾细胞增殖, ELISA 检测上清液中细胞因子的分泌, 可检测到 Th1 细胞因子 IFN- γ , 而无 Th2 细胞因子(IL-4、IL-5), 且分泌 IFN- γ 水平是大肠杆菌 LPS 组的 2 倍, 但低于 Hp 全菌组, 提示 Omp18 可致敏 DC 诱发 Th1 介导的细胞免疫反应, 且作用低于 Hp 活菌, 这与其他研究相符^[10]。但也有研究^[9]认为, Hp 膜蛋白致敏 DC 刺激 CD4⁺ Th1 免疫反应能力强于 Hp 全菌。Hp 细胞膜总蛋白和外膜蛋白能有效激活初始 Th1 淋巴细胞反应, 而 Hp 内膜蛋白不能^[20]。此外, 与肠道细菌 LPS 相比, 来源于 Hp 的 LPS 生物学活性低, 不能刺激 DC 活化^[18]。Hp DNA 可抑制 DC 成熟活化以及 IL-12 和 I 型 IFN 的分泌^[24]。

因此, Hp 诱导 DC 分泌 Th1 细胞因子(如 IL-12、IFN- γ), 使 Th0 细胞增殖分化为 Th1 细胞, 介导细胞免疫反应, 促进 DC 和效应 T 细胞产生 IFN- γ , 增强抗肿瘤活性, 而这种作用与 Hp 的刺激时间和不同 Hp 成分密切相关, 目前尚存争议, 有待进一步研究探索。

2.2 Hp 致敏的 DC 对 NK 细胞的影响

NK 细胞具有直接杀伤靶细胞包括肿瘤细胞、细菌感染细胞等的的能力,在抗感染、抗肿瘤和免疫调节中具有重要意义。Hafsi 等^[9]的实验结果提示, Hp 诱导的 mDC 可激活 NK 细胞,但此类 NK 细胞不能发挥细胞毒性杀伤作用,推测激活的 NK 细胞通过分泌 TNF- α 和 IFN- γ 对免疫反应的自我平衡发挥重要作用,而不能直接参与抗 Hp 感染。Volland 等^[20]将重组尿素酶诱导的 mDC 与 NK 细胞或 T 淋巴细胞共培养,ELISA 检测到 TNF- α 和 IFN- γ 的分泌情况,结果表明 Hp 尿素酶可激活 NK 细胞,但不能有效激活 T 淋巴细胞。

3 Hp 影响 DC 成熟和活化的可能机制

3.1 Hp 活化 MyD88 介导的 TLR-NF- κ B 通路影响 DC 的功能

Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)识别特异性配体以髓样分化因子 88(medullary differentiation factor 88, MyD88)依赖和非依赖两种方式进行^[25]。MyD88 依赖 TLR 介导的信号转导途径大体是^[26-27]: 当 TLR 与 PAMP 结合, MyD88 依赖性的 TLR 信号转导由 TLR 的 TIR 结构域和接头蛋白 MyD88 相互作用而起始。MyD88 接头蛋白在 N 端有“死亡”结构域, C 端有 TIR 结构域,“死亡”结构域可以募集含有“死亡”功能域且具激酶活性的白介素 1 受体相关激酶(interleukin1 receptor associate kinase, IRAK); IRAK 自身磷酸化激活肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TNFR-associated factor 6, TRAF6), 而 TRAF6 进一步激活 NF- κ B 抑制物的激酶(inhibitor of NF- κ B kinase, IKK)复合物, IKK 在 IKK 复合物的作用下磷酸化,磷酸化的 IKK 发生泛素化而降解,使核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)从静息状态下受 IKK 结合的抑制状态得以解除, NF- κ B 转入细胞核中诱导特定基因的表达,从而启动炎症细胞因子、共刺激分子等基因的转录。

NF- κ B 的活化引起 DC 成熟、抗原加工处理和提呈以及细胞因子分泌过程中相关基因的转录^[28]。NF- κ B 的激活是 DC 刺激 T 细胞活化的必要条件,通过延长 NF- κ B 激活状态的时间可加强 DC 刺激 T 细胞的功能^[29]。Hp 已被证实能够活化单核细胞和胃上皮细胞的 NF- κ B 信号通路,然而对 DC 的 NF- κ B 信号通路的影响知之甚少^[14]。Rad 等^[30]为了解 Hp 诱导 DC 成熟、活化的过程中 TLR 和 MyD88 的作用,用 Hp 活菌或裂解物分别刺激野生型、Myd88^{-/-}、IL-1R^{-/-}、IL-18^{-/-} 小鼠骨髓源性 iDC

(TLR、IL-1 及 IL-18 信号均需 Myd88 接头蛋白介导,此 IL-1R^{-/-}、IL-18^{-/-} 组作为对照排除 IL-1 及 IL-18 信号的影响),结果提示,与野生型、IL-1R^{-/-}、IL-18^{-/-} 组相比, Myd88^{-/-} 组 Hp 上调 DC 共刺激分子、MHC II 分子表达和细胞因子的分泌能力明显破坏,表明 Hp 诱导 DC 成熟依赖 Myd88 接头蛋白介导的 TLR 信号通路。通过分析野生型和 Myd88^{-/-} 组 DC 成熟、活化等过程相关基因转录情况和小鼠血清中 Hp 特异 IgG2c/IgG1 抗体比例, Myd88^{-/-} 组细胞因子 mRNA 表达水平显著降低,血清中 Th1 细胞免疫相关的 IgG2c 抗体水平明显减少,提示 Hp 刺激 DC 分化成熟、抗原提呈和活化等免疫调节过程相关的大部分基因转录变化依赖 MyD88 信号通路,且 MyD88 依赖信号通路参与 Hp 诱导 DC 激活 Th1 细胞介导的细胞免疫反应。Hp 诱导胃上皮细胞 NF- κ B 活化已被证实依赖 TLR2、TLR5,而胃隐窝细胞中 NF- κ B 活化则依赖 TLR4^[7],而在 DC 中有待探求。该学者进一步研究发现,在 Hp 裂解物刺激 DC 表达共刺激分子、MHC 分子和分泌细胞因子(IL-6、IL-12p40)过程中, DC 表面 TLR2 起着主要作用, DC 表面 TLR4 也影响 DC 活化,但程度较低,而其他 TLR 则不影响 DC 活化; Hp 活菌刺激 DC 不依赖 TLR2/4,但存在 Myd88 依赖的胞内 TLR 活化^[31]。

3.2 Hp 通过转录因子 E2F1 影响 DC 的功能

转录因子 E2F1 传统意义上被认为在细胞周期调控和细胞增殖方面起到调节作用。E2F1 能够结合在 NF- κ B 的 p65 亚基上,并和 p50 亚基竞争性的结合 p65,从而抑制 NF- κ B 的转录活性^[29]。近来一些研究发现, E2F1 在 DC 成熟过程中起着重要的调节作用。Fang 等^[29]报道, E2F1 在人源 DC 和小鼠 DC2.4 细胞成熟过程中都有暂时性的降低,当 E2F1 敲低时 DC2.4 细胞在表型和功能都趋向成熟。相反, E2F1 过表达则抑制了 LPS 对 DC2.4 的成熟诱导作用,提示转录因子 E2F1 可在功能和表型两方面对 DC 的成熟起抑制作用。同时发现,敲除 E2F1 可激活 DC 成熟过程中起重要作用的信号转导通路(包括 Erk1/2, NF- κ B 和 PI3K/Akt)。E2F1 对 DC 成熟的抑制作用同时在 E2F1 敲除小鼠骨髓来源的 DC 上同样得到了证实。

E2F1 是否参与调节 Hp 对 DC 成熟的诱导过程尚未清楚。Kim 等^[14]将 HpVacA 蛋白 + 大肠杆菌 LPS 或单用 LPS 诱导 DC 成熟,发现 VacA 蛋白 + LPS 组 E2F1 mRNA 表达下降程度和 IKK α 磷酸化水平较单用 LPS 组明显降低。进一步用 VacA + LPS 刺激 NF- κ B 敲除或野生型小鼠骨髓来源 DC,两组

均显示 HpVacA 抑制 LPS 诱导 DC 成熟。结果提示 HpVacA 抑制 DC 成熟过程是通过 E2F1 的恢复, 而与 NF- κ B 信号通路无关。

4 结语

Hp 和 DC 与胃癌的预后关系密切, 研究^[3,4] 已证实, 血清 Hp 阳性和胃癌组织内 DC 浸润越多的胃癌患者预后更佳, 然而 Hp、DC 和胃癌的关系仍未完全阐明。近年来, 人们努力探索 Hp 对 DC 功能的影响, 取得了一定的进展。但是目前仍存在许多问题, 如: Hp 刺激 DC 表达成熟标记分子和分泌细胞因子的最佳 MOI 和最佳刺激时间仍存在较大争议, Hp 刺激 DC 成熟和活化的分子机制尚未完全明确, Hp 对血清 Hp 阳性胃癌患者外周血单核细胞源性的 iDC 功能的影响等等。当前, Hp 对 DC 功能的影响尚未进行深入研究, 但随着临床医学、分子免疫学、分子肿瘤学等学科的发展, 相信人们将能完全阐明 Hp 对 DC 功能的影响及其作用机制, 为以 DC 疫苗为基础的胃癌生物治疗提供更多的依据。

[参考文献]

- [1] Rathbone M, Rathbone B. Helicobacter pylori and gastric cancer [J]. Recent Results Cancer Res, 2011, 185: 83-97.
- [2] Bimeczok D, Clements RH, Waites KB, et al. Human primary gastric dendritic cells induce a Th1 response to H. pylori [J]. Mucosal Immunol, 2010, 3(3): 260-269.
- [3] 关弘, 温文, 黄忠华, 等. 肿瘤浸润树突状细胞在胃腺癌分布及 P53 表达的病理意义 [J]. 中外医疗, 2009, 28(22): 26-27.
- [4] Xue LJ, Su QS, Yang JH, et al. Autoimmune responses induced by helicobacter pylori improve the prognosis of gastric carcinoma [J]. Med Hypotheses, 2008, 70(2): 273-276.
- [5] Meimarakis G, Winter H, Assmann L, et al. Helicobacter pylori as a prognostic indicator after curative resection of gastric carcinoma: A prospective study [J]. Lancet Oncol, 2006, 7(3): 211-222.
- [6] Shurin GV, Tourkova IL, Chatta GS, et al. Small Rho GTPases regulate antigen presentation in dendritic cells [J]. J Immunol, 2005, 174(6): 3394-3400.
- [7] Kranzer K, Eckhardt A, Aigner M, et al. Induction of maturation and cytokine release of human dendritic cells by helicobacter pylori [J]. Infect Immun, 2004, 72(8): 4416-4423.
- [8] Kranzer K, Söllner L, Aigner M, et al. Impact of helicobacter pylori virulence factors and compounds on activation and maturation of human dendritic cells [J]. Infect Immun, 2005, 73(7): 4180-4189.
- [9] Hafsi N, Voland P, Schwendy S, et al. Human dendritic cells respond to helicobacter pylori, promoting NK cell and Th1-effector responses *in vitro* [J]. J Immunol, 2004, 173(2): 1249-1257.
- [10] Hansson M, Lundgren A, Elgbratt K, et al. Dendritic cells express CCR7 and migrate in response to CCL19 (MIP-3b) after exposure to helicobacter pylori [J]. Microbes Infect, 2006, 8(3): 841-850.
- [11] Mitchell P, Germain C, Fiori PL, et al. Chronic exposure to helicobacter pylori Impairs dendritic cell function and inhibits Th1 development [J]. Infect Immun, 2007, 75(2): 810-819.
- [12] Wang YH, Gorvel JP, Chu YT, et al. Helicobacter pylori impairs murine dendritic cell responses to infection [J]. PLoS One, 2010, 5(5): e10844-e10853.
- [13] Tanaka H, Yoshida M, Nishiumi S, et al. The CagA protein of helicobacter pylori suppresses the functions of dendritic cell in mice [J]. Arch Biochem Biophys, 2010, 498(1): 35-42.
- [14] Kim JM, Kim JS, Yoo DY, et al. Stimulation of dendritic cells with helicobacter pylori vacuolating cytotoxin negatively regulates their maturation via the restoration of E2F1 [J]. Clin Exp Immunol, 2011, 166(1): 34-45.
- [15] Obonyo M, Cole SP, Datta SK, et al. Evidence for interleukin-1-independent stimulation of interleukin-12 and down-regulation by interleukin-10 in helicobacterpylori-infected murine dendritic cells deficient in the interleukin-1 receptor [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2006, 47(3): 414-419.
- [16] Polk DB, Peek RM Jr. Helicobacter pylori: Gastric cancer and beyond [J]. Nat Rev Cancer, 2010, 10(6): 403-414.
- [17] Galgani M, Busiello I, Censini S, et al. Helicobacter pylori induces apoptosis of human monocytes but not monocyte-derived dendritic cells: Role of the cag pathogenicity island [J]. Infect Immun, 2004, 72(8): 4480-4485.
- [18] Rathinavelu S, Kao JY, Zavros Y, et al. Helicobacter pylori outer membrane protein 18 (Hp1125) induces dendritic cell maturation and function [J]. Helicobacter, 2005, 10(5): 424-432.
- [19] Voland P, Hafsi N, Zeitner M, et al. Antigenic properties of HpaA and Omp18, two outer membrane proteins of helicobacter pylori [J]. Infect Immun, 2003, 71(7): 3837-3843.
- [20] Voland P, Zeitner M, Hafsi N, et al. Human immune response towards recombinant helicobacter pylori urease and cellular fractions [J]. Vaccine, 2006, 24(18): 3832-3839.
- [21] Schreibeit G, Tel J, Sliopen KH, et al. Toll-like receptor expression and function in human dendritic cell subsets: Implications for dendritic cell-based anti-cancer immunotherapy [J]. Cancer Immunol Immunother, 2010, 59(10): 1573-1582.
- [22] Bimeczok D, Grams JM, Stahl RD, et al. Stromal regulation of human gastric dendritic cells restricts the Th1 response to helicobacter pylori [J]. Gastroenterology, 2011, 141(3): 929-938.
- [23] Torres VJ, VanCompernelle SE, Sundrud MS, et al. Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin Inhibits activation-induced proliferation of human T and B lymphocyte subsets [J]. J Immunol, 2007, 179(8): 5433-5440.
- [24] Luther J, Owyang SY, Takeuchi T, et al. Helicobacter pylori DNA decreases proinflammatory cytokine production by dendritic cells and attenuates dextran sodium sulphate-induced colitis [J]. Gut, 2011, 60(11): 1479-1486.
- [25] Bhaskar S, Shalini V, Helen A. Quercetin regulates oxidized LDL

- induced inflammatory changes in human PBMCs by modulating the TLR-NF- κ B signaling pathway [J]. Immunobiology, 2011, 216 (3):367-373.
- [26] Kawai T, Akira S. TLR signaling [J]. Semin Immunol, 2007, 19 (1): 24-32.
- [27] Islam MA, Cinar MU, Uddin MJ, et al. Expression of Toll-like receptors and downstream genes in lipopolysaccharide-induced porcine alveolar macrophages [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2012, 146(1): 62-73.
- [28] Bao B, Thakur A, Li Y, et al. The immunological contribution of NF- κ B within the tumor microenvironment: A potential protective role of zinc as an anti-tumor agent [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1825(2): 160-172.
- [29] Fang F, Wang Y, Li R, et al. Transcription factor E2F1 suppresses dendritic cell maturation [J]. J Immunol, 2010, 184(11): 6084-6091.
- [30] Rad R, Brenner L, Krug A, et al. Toll-like receptor-dependent activation of antigen-presenting cells affects adaptive immunity to helicobacter pylori [J]. Gastroenterology, 2007, 133(1): 150-163.
- [31] Rad R, Ballhorn W, Volland P, et al. Extracellular and intracellular pattern recognition receptors cooperate in the recognition of helicobacter pylori [J]. Gastroenterology, 2009, 136(7): 2247-2257.
- [收稿日期] 2012-06-15 [修回日期] 2012-09-25
[本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

非经典活化的组织巨噬细胞对体温调节的作用

巨噬细胞在机体稳态的调节和免疫防御中起着重要的作用。一般而言,巨噬细胞可通过两种方式活化,即在感染、炎症等情况下由 Th1 细胞活化产生的经典型巨噬细胞活化(M1 型巨噬细胞活化),和在创伤修复等情况下由 Th2 细胞活化产生的替代型巨噬细胞活化(M2 型巨噬细胞活化)。这篇发表于 Nature 上的论文,通过对脂肪组织中巨噬细胞的研究,揭示出巨噬细胞在体温调节中的新功能,是替代型巨噬细胞活化研究的里程碑式的工作。

论文作者对低温刺激后的小鼠黄/白脂肪组织巨噬细胞的活化进行分析,发现在低温刺激后,组织巨噬细胞表现为替代型活化巨噬细胞。当巨噬细胞替代型活化信号通路被阻断后,小鼠出现热代谢紊乱以及对低温耐受能力的降低。之后通过基因条件敲除的方法,作者进一步证明,低温刺激可诱导替代型活化巨噬细胞,并且替代型活化巨噬细胞在小鼠对于寒冷的耐受及低体温应激反应中起到重要作用。在机制的探讨中,作者发现替代型活化巨噬细胞可通过分泌儿茶酚胺类激素,调控白脂肪组织细胞的脂肪酸分解代谢,提高外周血游离脂肪酸水平;替代型活化巨噬细胞还可调节黄脂肪组织细胞对脂肪酸的利用,提高氧化产热代谢的水平。作者将研究结果和前人的工作进行整合,提出了一个描述替代型活化组织巨噬细胞对体温调节的模型,此模型认为低温使脂肪组织巨噬细胞通过 IL-4/IL-13-Stat6 信号通路诱导替代型巨噬细胞活化,活化后的脂肪组织巨噬细胞通过分泌儿茶酚胺类激素作用于黄/白脂肪细胞,从而调节产热及脂肪酸代谢,维持机体的体温相对恒定。

该研究让人们对于巨噬细胞,尤其是组织巨噬细胞的功能有了新的认识,提示巨噬细胞对于机体稳态调节有着更为重要的作用。但是,该文章也让大家产生了更多的疑问,比如诱导替代型巨噬细胞活化的信号分子 IL-4/IL-13 来源是什么?是什么细胞感受到低温刺激,进而调控脂肪组织巨噬细胞的活化和功能?这类调节机制在进化中的保守性,以及在其他应激反应及机体代谢中的功能?可以预见,未来会有更多更深入的研究去解开这些疑问,并且验证这篇论文中所提出的巨噬细胞活化假说。

[薛逸荃 摘译,李楠 审阅. Nguyen KD, Qiu Y, Cui X, et al. Nature, 2011, 480(7375): 104-108.]