

移植排斥反应中趋化因子及其受体表达的研究进展

肖亮,傅宏,丁国善*

(第二军医大学长征医院器官移植科肝移植部,上海 200003)

[摘要] 器官移植术后急、慢性排斥反应是导致移植物功能丧失的重要原因之一。趋化因子在器官移植早期表达异常活跃,它们特异性募集 T 细胞和抗原提呈细胞到移植组织内,激发并加剧炎症发展,致使移植物功能损害。因此,动态监测趋化因子及其受体的表达状况可成为判断急、慢性排斥反应发生的重要依据;筛选出一个或多个特异性趋化因子或受体作为抗排斥治疗的新靶点对提高器官移植术后疗效有很重要的意义。本文就近年来这一领域的研究进展作一综述。

[关键词] 趋化因子类;受体,趋化因子;器官移植;移植物排斥

[中图分类号] R 617 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)06-0659-03

Expression of chemokines and chemokine receptors in organ-graft rejection: recent progress

XIAO Liang, FU Hong, DING Guo-shan* (Department of Liver Transplantation, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China)

[ABSTRACT] Acute and chronic graft rejection are the major factors leading to graft non-function. There is an active expression of chemokines early after transplantation. They recruit T cells and antigen presenting cells selectively to the graft, leading to inflammatory reaction and finally to graft non-function. Accordingly, monitoring the expression status of chemokines and their receptors regularly may help to the diagnose rejection. To determine one or more chemokines or their receptors as the new targets for anti-rejection therapy will be of great clinical significance. This review focuses on the research progression in the above areas.

[KEY WORDS] chemotactic factors; receptors, chemokine; organ transplantation; graft rejection

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(6): 659-661]

趋化因子及其受体对白细胞的活化,淋巴细胞的生成、游走、分化、归巢以及免疫调节均起很重要的作用,在器官移植领域中有重要意义。近年来,随着新的趋化因子及其受体的不断发现和研究,其在器官移植领域中的作用越来越受到重视。

1 趋化因子家族及其受体

趋化因子(chemokine)是一类结构相似,具有白细胞趋化性的低分子量蛋白($Mr < 14 \times 10^3$),为细胞因子超家族成员,迄今已确认超过 50 种。趋化因子一般由 60~90 个氨基酸组成,多含有 4 个高度保守的半胱氨酸(Cys)序列。传统上依据 N 末端两个 Cys 残基区域的不同,可将趋化因子分为 4 个亚族,具有各自的结构和功能特点^[1]: CC 亚族,靠近 N 端的两个半胱氨酸相毗邻,其成员最多(分别用 CCL1~CCL28 来表示),主要由活化 T 细胞产生,对包括单核细胞、T 细胞、嗜酸/碱粒细胞、NK 细胞和树突状细胞(DC)在内的多种白细胞有趋化活性。CXC 亚族包括 16 名成员(分别用 CXCL1~CXCL16 表示),根据 CXC 类趋化因子的 N 端与第 1 个 Cys 之间是否存在“谷氨酸-亮氨酸-精氨酸(ELR)”结构,将它们分为含 ELR 的 CXC 类趋化因子和不含 ELR 的 CXC 类趋化因子。前者对中性粒细胞有很强的趋化作用;后者对活化的 Th1 细胞、NK 细胞、巨噬细胞和树突状细胞有趋化活性^[2-4]。C 亚族的羟基端与 CC 亚族具有同源性,仅含有 2 个 Cys 序列,缺乏 Cys 序列的第 1、3 号

Cys;成员包括淋巴细胞趋化因子(lymphotactin)——SCM-1 α 与 SCM-1 β ,能特异性趋化 T 细胞^[5]。CX3C 亚族只有 fractalkine 一个成员,为一种膜结合蛋白,同时具有趋化因子与黏附分子的作用,对 IL-2 活化的 NK 细胞和 CD8⁺ T 细胞有黏附与趋化作用。

趋化因子受体属于 G 蛋白偶联受体,迄今已确认超过 20 种,可表达于多种细胞如淋巴细胞、树突状细胞、中性粒细胞、单核细胞以及其他的炎性细胞表面^[6]。受体与配体结合后发生内化与磷酸化,激活细胞内信号转导通路,调节靶细胞的生物活性。一种趋化因子能结合多种受体,一种受体又能结合多种配体。例如, Lasagni 等^[7]提出 CXCR3 又可细分为 CXCR3-A 和 CXCR3-B,后者为一新发现类型,其主要功能与 CXCR3-A 相反,与 CXCL9、CXCL10、CXCL11 结合抑制人微血管内皮细胞的增殖。这表明趋化因子的细胞效应具有特异性趋化作用和非趋化作用两方面,因此能行使调控免疫细胞定向迁移和相互作用的生物学功能^[8]。

2 趋化因子及其受体在移植排斥反应中的作用

排斥反应是器官移植面临的难题之一。临床上为抑制

[基金项目] 上海市科委自然科学基金重点项目(044119614)。Supported by Key Program of the Natural Science Foundation of Shanghai Municipal Government(044119614)。

[作者简介] 肖亮,硕士生。E-mail: erjunda163@163.com

* Corresponding author. E-mail: dingguoshan@medmail.com.cn

排斥反应而大量使用免疫抑制剂,因其对受者免疫系统非选择性地广泛抑制,常引起感染、肿瘤等诸多继发病。选择性抑制排斥反应是移植研究的理想目标之一,趋化因子在其中的作用越来越受到关注。

不论是同种移植术后早期缺血/再灌注损伤,还是后期排斥反应过程,移植器官中的免疫细胞均可表达多种趋化因子,而同种反应性T细胞在向移植器官浸润的过程中,也表达多种趋化因子受体,可以针对趋化因子产生选择性应答。近年来的实验和临床研究发现,阻断趋化因子受体CCR1、CCR5(配体为RANTES、MCP-1等)和CXCR3(配体为IP-10、Mig、I-TAC)中任一受体就能减弱或阻止急性排斥反应进程。这表明上述3种趋化因子受体在移植排斥反应机制中具有重要功能^[9]。

2.1 趋化因子与炎性细胞募集 Kapoor等^[10]将同种器官移植时发生的炎症反应分为两个阶段:第一阶段为抗原非特异性的免疫反应,由创伤修复引起,在同种异体和同系移植时均可出现。移植手术时的组织损伤促使血管内皮细胞产生IL-1、TNF- α 等炎症因子,这些因子通过自分泌的方式进一步促进移植体释放具有中性粒细胞和巨噬细胞趋化活性的趋化因子(CC亚族成员),如IL-8、GRO(鼠类为KC)、MCP-1与MIP-1 α 等,使血液中的白细胞沿着内皮细胞层滚动、附壁、牢固黏附,细胞变形,最终穿越内皮细胞层间质到达目的微环境,实现向炎症组织特异性“归巢”移动,该过程也称为白细胞多步骤导航模式。Belperio等^[11]评价了Mig、IP-10、I-TAC及其受体CXCR3在大鼠肺移植模型急性排斥中的作用,发现在急性排斥期三者表达均升高,表达CXCR3的T细胞及单核细胞大量浸润,其中Mig mRNA及IP-10 mRNA的表达均明显高于I-TAC mRNA的表达,在急性排斥发生的高峰时间(术后6 d左右),Mig mRNA的表达大约是IP-10 mRNA的15倍。这表明Mig/CXCR3的相互作用可能在大鼠肺移植模型急性排斥反应中起重要作用。最近,丁国善等^[12]连续动态检测30例肝移植患者术前1 d和术后1、3、5、7 d血清中趋化因子Mig、IP-10、I-TAC的表达,发现急性排斥(AR)组9例患者术后各时间点的趋化因子表达均高于非排斥组(NAR);确诊AR当天Mig、IP-10、I-TAC的表达与Banff排斥活动指数(RAI)呈正相关;经冲击治疗逆转后,3种趋化因子的表达也相应下降,从而认为肝移植术后血清趋化因子Mig、IP-10、I-TAC的表达可作为早期诊断急性排斥反应辅助特异、敏感的参考指标。

2.2 趋化因子与炎性细胞激活 早期的非抗原特异性反应给机体免疫系统指明了炎症部位,进而循环中的T细胞向该炎症部位定向迁移、聚集、活化,并通过分泌细胞因子和胞溶作用发挥针对移植体组织的攻击效应,构成移植相关炎症的第二阶段。这一过程中,趋化因子对T细胞活化增殖及其产生效应的过程中提供共刺激信号,选择性趋化T淋巴细胞。T细胞向Th1型和Th2型分化是细胞免疫应答的中心环节。Th1细胞多表达CCR5、CXCR3,而Th2细胞常表达CCR4、CCR8与CCR3^[13]。因此在不同的免疫病理过程中趋化因子受体表达不同可能是不同T细胞亚群浸润的主要调控因素。Panzer等^[14]通过PCR等方法连续动态检测26例

发生急性排斥反应的肾移植患者术后3~9 d体内趋化因子CXCR3及其配体IP-10、I-TAC和CCR5的配体RANTES,发现在急性排斥时,RANTES mRNA、I-TAC mRNA表达较术前明显上调,达到了原先的5.7和7.2倍;同时通过免疫组化方法检测了肾穿刺活检标本,在移植体的浸润细胞中发现了大量的IP-10 mRNA及CXCR3 mRNA,提示在发生急性排斥过程中IP-10、I-TAC及RANTES通过结合表达在Th1细胞上的受体CXCR3、CCR5等从而诱发T细胞对移植体的浸润。

在皮肤、肺、心脏及小肠移植急性排斥反应时,同样观察到CXCR3的配体IP-10和Mig表达增强,相应伴随表达CXCR3的活化T细胞浸润,阻断IP-10或Mig可有效抑制排斥反应。这表明此类趋化因子对Th1细胞介导的排斥反应尤为关键。进一步的研究还发现,在CXCR3的配体之中,IP-10出现最早,在移植后3 d出现,至移植后第7日排斥反应最显著的时候,IP-10表达下降,而Mig与I-TAC表达在移植7 d时明显升高。虽然它们同为CXCR3的配体,但是表达次序有先后,提示可能具有各自不同的功能,目前对此尚不十分清楚^[15]。

2.3 趋化因子的时空调配 移植相关炎症第一阶段的持续时间和强度对第二阶段的产生和进程有着直接的影响。Kapoor等^[10]在小鼠同种心脏移植术后30 min应用角质细胞起源趋化因子(KC)特异性抗血清,结果可减轻后续炎症反应,包括显著降低移植体内IP-10和Mig表达水平,减轻术后7 d移植体细胞浸润以及延长移植体存活。这表明早期阶段的中性粒细胞活性对循环中抗原反应性T细胞向移植体的聚集有着重要的影响;同时提示由中性粒细胞和巨噬细胞介导的早期炎症反应可能是白细胞向移植体聚集和细胞性排斥反应所必需的过程。

需要指出的是,趋化因子在不同器官和移植组织中的表达十分复杂,既有时相调控,又表现为组织特异性^[16]。Goddard等^[17]分析了CXC类趋化因子在肝移植急、慢性排斥反应中的表达,发现CXCR3的3个配体在供肝组织中分布不同,IP-10主要在肝窦血管内皮细胞上表达;Mig在肝窦血管内皮细胞以及Kupffer细胞均表达;I-TAC主要分布在门静脉和肝静脉内皮细胞上。IP-10、Mig和I-TAC在发生排斥反应时其mRNA水平均明显上调。由于I-TAC主要分布在门静脉和肝静脉内皮细胞上,Goddard等指出I-TAC mRNA水平的升高可能与肝移植慢性排斥反应的发生关系更为密切。

3 基于趋化因子及其受体的抗排斥靶向治疗

对趋化因子及其受体在移植免疫中作用机制的研究,使人们有理由相信基于趋化因子的预防、治疗排斥反应将是有效的方法之一^[18]。具体可通过阻断针对移植体的早期天然免疫,从而阻止非特异性细胞浸润;或者调节趋化同种反应性T细胞募集因子的表达,从而选择性抑制适应性免疫应答。已有单一趋化因子或受体基因敲除的小鼠模型可供使用。Hancock等^[19]利用IP-10 KO小鼠作为同种异体心脏移植的供者或受者,发现供者心脏不表达IP-10,能显著延长移

植物的存活;而缺乏 IP-10 的受者不仅排斥供者的心脏,而且不延长移植植物存活时间。这提示同种异体移植植物分泌的炎症趋化因子可以直接导致急性排斥。杨建军等^[20]研究发现趋化因子受体拮抗剂 Met-RANTES 能明显抑制大鼠异位小肠移植术后急性排斥反应,有效保护移植肠功能,并可增强小剂量他克莫司(FK506)的免疫抑制作用。

4 结 语

基础及临床研究已证明趋化因子及其受体在移植植物排斥反应中有重要作用,动物实验中应用趋化因子单克隆抗体、基因敲除技术及趋化因子拮抗剂获得了良好的效果。但趋化因子是一个庞大的家族,不断有新的趋化因子及其受体被发现,因此,加强趋化因子及其受体免疫学特性的研究,筛选出临床适用的特异性强、副作用小的趋化因子拮抗剂,探讨其与常规免疫抑制剂联用的方法与效果,将有可能开辟一条高效、低毒、选择性强的免疫抑制途径,从而提高治疗排斥反应的疗效,延长移植植物存活时间,改善患者的生活质量。

[参 考 文 献]

- [1] Carvalho-Gaspar M, Billing J S, Spriewald B M, et al. Chemokine gene expression during allograft rejection: Comparison of two quantitative PCR techniques [J]. *J Immunol Methods*, 2005, 301(1-2):41-52.
- [2] Janatpour M J, Hudak S, Sathe M, et al. Tumor necrosis factor-dependent segmental control of MIG expression by high endothelial venules in inflamed lymph nodes regulates monocyte recruitment[J]. *J Exp Med*, 2001, 194:1375-1384.
- [3] Solomon M F, Kuziel W A, Simeonovic C J. The contribution of chemokines and chemokine receptors to the rejection of fetal proislet allografts[J]. *Cell Transplant*, 2004, 13:503-514.
- [4] Hu H, Aizenstein B D, Puchalski A, et al. Elevation of CXCR3-binding chemokine in urine indicates acute renal-allograft dysfunction[J]. *Am J Transplant*, 2004, 4:432-437.
- [5] Rossi D, Zlotnik A. The biology of chemokines and their receptors[J]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18:217-242.
- [6] Zhao D X, Hu Y, Miller G G, et al. Differential expression of the IFN-gamma-inducible CXCR3-binding chemokines, IFN-inducible protein 10, monokine induced by IFN, and IFN-inducible T cell alpha chemoattractant in human cardiac allografts: association with cardiac allograft vasculopathy and acute rejection[J]. *J Immunol*, 2002, 169:1556-1560.
- [7] Lasagni L, Francalanci M, Annunziato F, et al. An alternatively spliced variant of CXCR3 mediates the inhibition of endothelial cell growth induced by IP-10, Mig, and I-TAC, and acts as functional receptor for platelet factor 4[J]. *J Exp Med*, 2003, 197:1537-1549.
- [8] 高 锐, 卢一平. 趋化因子及其受体在器官移植中的研究进展[J]. *国外医学·移植与血液净化分册*, 2004, 2:38-41.
- [9] 陈 实. 移植学前沿[M]. 武汉:湖北科学技术出版社, 2002: 111-112.
- [10] Kapoor A, Fairchild R. Early and late chemokine cascades during acute allograft rejection[J]. *Transplant Rev*, 2000, 14:82-95.
- [11] Belperio J A, Keane M P, Burdick M D, et al. Role of CXCL9/CXCR3 chemokine biology during pathogenesis of acute lung allograft rejection[J]. *J Immunol*, 2003, 171:4844-4852.
- [12] 丁国善, 甘树杰, 傅 宏, 等. 肝移植术后趋化因子 Mig, IP-10, ITAC 的变化对早期诊断急性排斥反应的意义[J]. *第二军医大学学报*, 2006, 27:470-473.
- [13] Xanthou G, Duchesnes C E, Williams T J, et al. CCR3 functional responses are regulated by both CXCR3 and its ligands CXCL9, CXCL10 and CXCL11[J]. *Eur J Immunol*, 2003, 33: 2241-2250.
- [14] Panzer U, Reinking R R, Steinmetz O M, et al. CXCR3 and CCR5 positive T-cell recruitment in acute human renal allograft rejection[J]. *Transplantation*, 2004, 78: 1341-1350.
- [15] Gerard C, Rollins B J. Chemokines and disease[J]. *Nat Immunol*, 2001, 2:108-115.
- [16] Yamada A, Laufer T M, Gerth A J, et al. Further analysis of the T-cell subsets and pathways of murine cardiac allograft rejection[J]. *Am J Transplant*, 2003, 3:23-27.
- [17] Goddard S, Williams A, Morland C, et al. Differential expression of chemokines and chemokine receptors shapes the inflammatory response in rejecting human liver transplants [J]. *Transplantation*, 2001, 72:1957-1967.
- [18] Lazzeri E, Romagnani P. CXCR3-binding chemokines: novel multifunctional therapeutic targets[J]. *Curr Drug Target Immune Endocr Metabol Disord*, 2005, 5:109-118.
- [19] Hancock W W, Gao W, Csizmadia V, et al. Donor-derived IP-10 initiates development of acute allograft rejection[J]. *J Exp Med*, 2001, 193:975-980.
- [20] 杨建军, 王为忠, 李 瑞, 等. 趋化因子受体拮抗剂对大鼠小肠移植的影响[J]. *第四军医大学学报*, 2004, 25:449-451.

[收稿日期] 2006-10-25

[修回日期] 2007-03-05

[本文编辑] 贾泽军