文章编号:1000-5404(2005)01-0083-03

综述

ICOS和PD-1共刺激分子的免疫学作用

Immunological roles of ICOS and PD-1

丁涵露 综述,吴雄飞 审校 (第三军医大学西南医院肾内科,重庆 400038)

可诱导共刺激分子(inducible costimulatory molecule, ICOS)和程序性死亡-1 (programmed death-1, PD-1)共刺激分子作为B_7家族的新成员主要作用于已致敏的T淋巴细胞。ICOS、PD-1及其受体介导的信号途径,对免疫应答分别发挥正向、负向调控作用,正在成为对临床疾病进行免疫干预有希望的手段之一。

目前普遍认为,抗原特异性T细胞的活化需要两个不同的信号,第一信号来自抗原肽-MHC分子组成的复合物与T细胞受体(T cell receptor, TCR)的相互作用;第二信号由抗原递呈细胞(antigen-presenting cells, APC)表面表达的协同刺激分子传递给T细胞。近十几年研究表明,协同刺激信号可促进T细胞生长、分化和细胞因子的产生,以及为防止T细胞发生凋亡提供生存信号。此外,协同刺激信号对诱导和维持T细胞的无能(anergy)也至为关键。而且,由于控制协同刺激信号可以成为增强或终止免疫应答的一种手段,因而已日益受到关注。

在众多的共刺激分子中,经典的B_7途径,即CD28-B_7-1/B_7-2,主要是调节初始T细胞的激活,而B_7家庭的新成员,B_7RP-1/ICOS,B_7-H_1/PD-1,则对已致敏的效应性、记忆性T细胞的调节起重要作用。现对此两个新成员在疾病发病中的作用及免疫治疗的研究进展做一综述。

1 ICOS及其配体

ICOS是新发现的表达于活化T细胞和效应性T细胞的共刺激分子[1],属于CD28/CTLA-4家族,其小鼠配体B_7RP-1和人类配体B_7H_2主要表达于B细胞和单核细胞[2],另外,树突状细胞、内皮细胞、成纤维细胞等也有表达。人类ICOS通路可被抗原-TCR信号和IL-2激活。该共刺激通路诱导T细胞分化,增殖并分泌IL-4、IL-10、IFN-γ和TNF-α等细胞因子,对B细胞和CTL细胞免疫应答也有一定的影响,阻断ICOS通路会引起T细胞凋亡。ICOS与CD28通路无功能交叉性,在效应性免疫应答过程中具有重要而且独特的作用。虽然Th1和Th2细胞都受到ICOS的调节,但是Th2细胞免疫应答比Th1细胞免疫应答更依赖于共刺激分子(ICOS选择性刺激细胞因子分泌)。目前仍无足够的根据解释ICOS通路对Th1和Th2之间平衡的影响,这可能与ICOS的刺激使GATA-3和C-Maf水平上调而T-bet的水平下调有关,另一种可能是Th2细胞受到生长信号(如IL-4)的调节,而Th1细胞的分化只需要抗原提呈细胞释放的信号(如IL-12和IL-15)。

1.1 阻断ICOS通路在移植领域的研究

Engin发现抗ICOS可延长小鼠同种异体心脏移植物的存活率,甚至若联合使用抗ICOS与环孢霉素A可以导致永久性移植物耐受[3]。研究发现抗ICOS抗体可以抑制宿主白细胞和T细胞($CD4^+$和$CD8^+$)、巨噬细胞、IL-2R+细胞在移植物中的浸润,另外还通过抑制细胞分化来减弱自然杀伤细胞(nature kill, NK)、B细胞以及嗜酸性细胞的功能。ICOS阻断剂可抑制肺移植后Th2细胞调节炎症反应的能力。另外ICOS的缺陷将导致Th2数量大为减少,IL-4水平降低,这表示T细胞向Th2分化的能力受到影响。

1.2 阻断ICOS通路在实验性脑脊髓炎中的研究

研究表明ICOS通路在实验性脑脊髓炎(experimental allergical encephalomyelitis, EAE)的发生过程中具有特殊的作用[4]。当蛋白脂质类蛋白(paraovarian lymphatic plexus, PLP)诱导小鼠生成EAE后,浸润型$CD3^+$T细胞的ICOS mRNA和蛋白表达均进一步上调,在9~20 d阻断ICOS通路可抑制EAE疾病发生,相反在1~9 d促使其发作,推测与ICOS通路主要影响效应性T细胞的功能有关系,其具体机制尚需进一步研究。

1.3 阻断ICOS通路在胶原Ⅱ诱导的小鼠关节炎中的研究

胶原Ⅱ诱导的小鼠关节炎模型是用来研究人类类风湿关节炎发病机制、预防、治疗的模型。研究表明[5],ICOS、B_7RP-1在该模型的滑膜组织及淋巴结组织中有表达,在模型建立后的第5、7、9、11天分别给予抗B_7RP-1抗体,每次100 μg,可显著减轻关节炎症状,另外ICOS、B_7RP-1的表达下降,而且细胞因子TNFα、IL-1β、IL-6在关节腔液中的含量均下降,血清中抗胶原Ⅱ IgG1、IgG2α、IgG2b水平也明显下降。提示阻断ICOS通路可抑制类风湿性关节炎的发病。抗B_7RP-1抗体的抗炎症反应和抗Th1、Th2介导的免疫反应说明了ICOS-B_7RP-1通路在胶原Ⅱ诱导的关节炎发病中起重要作用。

1.4 阻断ICOS通路在呼吸系统疾病中的研究

在小鼠变态反应性呼吸道疾病模型中,抗原激发后21 d对ICOS进行拮抗,可显著减少气道抗原攻击引起的肺部炎症,如果在抗原激发的同时封闭ICOS,则对于随后的气道攻击引起的

作者简介:丁涵露(1970-),女,山东省日照市人,硕士,主治医师,主要研究慢性肾小球肾炎的发病机制及治疗方面的研究。电话:(023)68757446

通讯作者:吴雄飞,电话:(023)68754188

收稿日期:2004-06-07;修回日期:2004-11-01

肺部炎症不起作用。与此相关，在致敏时封闭 CD28 可以防止炎症反应，但是在效应相封闭 CD28 是无效的。

1.5 ICOS 通路在肾脏病中的研究

免疫组化提示[6]，正常肾脏在远端小管、集合管、尿路上皮上有 ICOS 配体表达，在人类同种异体肾移植移植肾组织及间质性肾炎中，近端小管可见 ICOS 配体表达，且靠近单核细胞浸润的区域。表达 MHC Ⅱ的肾小管上皮细胞在一定病理因素刺激下可作为抗原递呈细胞呈递外来抗原肽给 T 细胞，用抗 B_7RP-1 阻断肾小管上皮细胞的抗原递呈作用，可以抑制 T 细胞产生 IL-2 的水平。说明 ICOS 通路在肾小管上皮细胞介导的肾脏免疫激活作用中起抑制作用。

在狼疮性肾炎小鼠模型 NZB/WF(1)发现[7]，ICOS 在肾组织 T 细胞上高表达，而 ICOSL 在肾组织 B 细胞上表达下降，给予 NZB/WF(1)狼疮小鼠注射抗 ICOSL 抗体，不论是在发病之前还是发病之后，均可以减轻狼疮鼠的病情，包括自身抗体产生减少、肾组织病理改善等。小鼠慢性移植物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)模型，是类似于人类狼疮性肾炎的一种动物模型，ICOS 抗体注入慢性 GVHD 小鼠[8]，发现可抑制 B 细胞的激活、自身抗体的产生和肾炎的发展。

2 PD-1 及其配体

PD-1 分子是免疫球蛋白超家族激活诱导的抑制性受体，PD-L1(B_7-H_1)和 PD-L2(B_7-DC)是 PD-1 的两个配体，B_7-H_1 主要表达在树突状细胞、单核/巨噬细胞、B 细胞、激活的 T 细胞，在内皮细胞、肿瘤细胞上也有表达，B_7-DC 在树突状细胞、单核细胞上有表达，PD-L1-PD-1 结合后，发挥对效应 T 细胞作用的作用，可抑制 T 细胞增殖和产生细胞因子 IL-10、IFN-γ 等。在免疫反应的起始部位和效应部位双重抑制免疫反应，防止过度的免疫损伤和自身免疫性疾病的发生，有利于维持机体的免疫自稳。但有部分研究发现 PD-1 的刺激功能有可能是由于与其他未明受体作用，或者是由于 T 细胞群的不均一性而产生的综合作用，仍有待于进一步研究。PD-1-PD-L1 对 T、B 细胞抑制作用的发挥机制目前还不是很清楚，初步的研究表明，PD-1 胞浆区两个酪氨酸残基磷酸化后可分别与 SHP-1 和 SHP-2 结合发挥负性免疫调控功能，但对于何种情况通过 SHP-1，何种情况通过 SHP-2 发挥作用不清楚，T、B 细胞各通过哪条途径发挥作用或者是在不同条件下通过不同途径仍需要进一步研究。与 PD-1-PD-L1 的结合力相比，PD-1-PD-L2 表现出更高的结合力，是 PD-1-PD-L1 结合力的 2～6 倍，PD-L1、PD-L2 与 PD-1 不同的结合特性可能和二者不同的免疫反应有关[9]。

2.1 增强 PD-1 通路在移植领域的研究

在小鼠同种异体心脏移植术后[10]，PD-1、PD-L1、PD-L2 这 3 种分子的表达逐渐升高，至排异发生前表达最高，给予抗 CD154 抗体或抗 ICOS 抗体可在移植术后的早期阶段抑制其表达，当移植术后给予 PD-L1.Ig，在野生型小鼠，未延长移植物的存活，而在 CD28 基因敲除的小鼠，即使是 MHC 错配的移植，也可明显延长移植物的存活，若 PD-L1.Ig 与 CsA 联用治疗，则更加促进 CD28 基因敲除小鼠移植物的长期存活，防止慢性排斥反应的发生，同时伴随移植物内 IFN-r、RANTES、MIP-1β、MIP-1α、IL-10、CCR5、CCR3 等与 T 细胞激活有关的细胞因子、趋化因子及其受体的表达下降。通过 RNase 保护测定法发现上述细胞因子、趋化因子的变化均是从 mRNA 水平改变所致，即细胞因子的合成受到影响。说明增强 PD-1 通路的作用，可促进 T、B 细胞依赖的负性免疫反应从而减轻心脏移植排斥反应的发生。

在小鼠胰岛移植的动物模型发现[11]，单独给予 PD-L1.Ig 虽然在体外可以抑制 T、B 淋巴细胞的存活率，但在体内并不能延长小鼠的存活率，若和抗 CD154 抗体联合应用，即一方面激活淋巴细胞抑制性信号，另一方面抑制淋巴细胞的活化信号，则可延长小鼠的存活，认为 PD-L1.Ig 虽然是一个二聚体，但在体内时，大部分被血流冲走而不能和 PD-1 结合，有少部分的 PD-L1.Ig 依赖 Ig 的 Fc 段和抗原递呈细胞上的 Fc 受体结合，如同模拟体内 PD-L1 作为一个膜分子与 PD-1 结合的形式，而发挥抑制 T 细胞功能的作用。

2.2 阻断 PD-1 通路在抑制肿瘤细胞免疫逃避中的研究

$PD\text{-}L_1$ 与 PD-1 相互作用可抑制效应淋巴细胞的功能，而且 $PD\text{-}L_1$ 在人的肺癌、卵巢癌、结肠癌及黑色素瘤细胞上高表达，细胞因子 INF-r 上调癌细胞上 PD-L1 的表达，体外细胞培养发现，癌细胞相关的 PD-L1 促进抗原特异性的人类 T 细胞克隆的凋亡，而且这种致凋亡作用是通过一个或多个其它的非 PD-1 受体介导引起的[12]。故 PD-L1 在肿瘤细胞上的表达是否与肿瘤的免疫逃避有关呢？近来 Iwai 等[13]报道，在肿瘤细胞 P815 中转基因表达 PD-L1 后，较之缺乏 PD-L1 的亲代肿瘤细胞，转基因 P815 表现出对同源宿主较强的致瘤性和对正常组织的入侵性，而这种作用可被抗 PD-L1 抗体阻断。提示阻断 PD-1—PD-L1 作用为肿瘤的特异性免疫治疗提供了一个有希望的策略。

2.3 PD-1 在自身免疫性疾病中的研究

PD-1 基因敲除的 C57BL/6 小鼠可随年龄的增长而自发地发生狼疮样增殖性肾小球肾炎和关节炎，肾小球有过度地的补体 C3 和 IgG 沉积，踝关节出现颗粒性结节及骨损伤，而同龄同窝对照鼠则表现正常[14]。

自身反应性 TCR(2C-TCR)转基因鼠在剔除 PD-1 后可自发发生移植物抗宿主疾病，部分小鼠 10 周前死亡，其余则表现为不同程度的系统性损伤。2C-TCR-PD-$1^{+/+}$ 小鼠表现正常，可见 PD-1 基因缺陷是发生移植物抗宿主样疾病的重要原因[15]。在 PD-1 基因敲除的 BALB/c 鼠，10 周龄时即患充血性心力衰竭而死亡[16]。但 2C-TCR-PD-$1^{+/+}$ 和 BALB/c-PD-$1^{-/-}$ RAC-$2^{-/-}$ 鼠则正常生长。病理学检查可见整个扩张的心室的心肌细胞间遍布 IgG 及补体 C3 沉积，而无淋巴细胞的浸润，进一步研究发现自身抗体主要是针对一种表达于正常心肌细胞表面的相对分子质量为 33 000 的心肌肌钙蛋白[17]，与同遗传背景的 PD-$1^{+/+}$ 对照鼠相比，BALB/c-PD-$1^{-/-}$ 鼠的血清中也可检测到这种蛋白，以上结果表明，PD-1 在防止 BALB/C 鼠发生自身免疫性扩张性心肌病方面发挥了重要作用。

在实验性自身免疫性脑髓炎的动物模型发现[18]，给小鼠注射髓磷脂少突胶质细胞糖蛋白诱导此模型后的第 3 周时，可见 PD-1、PD-L1 的大量表达，PD-L2 的表达量无明显增加，注射抗

PD-L1 或抗 PD-L2 抗体均可加重中枢神经系统中淋巴细胞的浸润。说明 PD-1 通路在调节自身免疫性脑髓炎中有重要作用。

另外应当注意，同是 PD-1 基因缺陷，不同遗传背景的小鼠可有不同的病理表现，说明除 PD-1 外，还有其他功能尚未明确的基因参与了自身免疫性疾病的发生，这些基因可能决定疾病发生的靶点。

2.4 阻断 PD-1 通路在结肠炎中研究

在人类结肠炎和小鼠结肠炎动物模型中均可发现 PD-1 在 T 细胞上的表达，PD-L1 在 T、B、巨噬、树突状细胞中的表达，给小鼠结肠炎模型注射抗 PD-L1 抗体而非抗 PD-L2 抗体可以抑制结肠炎的发病，减轻淋巴细胞的浸润，减少 IFNγ、IL-1、TNFα 的产生，但对 IL-4、IL-10 无影响[19]。说明 PD-1-PD-L1 而非 PD-1-PD-L2 的相互作用及其阻断 PD-1-PD-L1 对结肠炎的发病有重要的影响，这与 PD-1-PD-L1 对 T 细胞起负性调节作用相矛盾，提示在诱导 T 细胞激活中 PD-L1 有未被确认的新受体存在。

3 结语

针对 T 淋巴细胞的刺激和抑制性信号的平衡对维持外周耐受状态非常重要，打破耐受是许多疾病的发病机制。在一定条件下，PD-1 通路可拮抗 ICOS 通路的作用，ICOS 共刺激引起的 IL-2 水平下降是决定 PD-1 这一作用的重要原因。体外实验同时证实能够激活 STAT5 信号通路的细胞因子如 IL-2、IL-7、IL-15 可以抑制 PD-1 的活性[20]。有关 PD-1 和 ICOS 通路之间的相互关系目前还不清楚，需进一步研究。

虽然阻断 T 细胞共刺激通路在部分疾病的动物模型上取得了较好的结果，但真正在人类本身疾病的治疗上效果如何还需进一步研究。人类在生物进化上更为成熟，故 T 细胞共刺激途径可能更为多样化，或许存在多条备选共刺激通路，进一步对 ICOS、PD-1 通路的功能及其机制的研究，以及其他还未知的共刺激通路研究将深化我们对免疫应答和免疫耐受的认识。

关键词：ICOS；PO-1；免疫学

中图法分类号：R392.11　　**文献标识码**：A

参考文献：

[1] Hutloff A, Dittrich A M, Beier K C, *et al*. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28[J]. Nature, 1999, 397(6716): 263 - 266.

[2] Yoshinaga S K, Whoriskey J S, Khare S D, *et al*. T-cell co-stimulation through B_7RP-1 and ICOS[J]. Nature, 1999, 402(6763): 827 - 832.

[3] Ozkanak E, Gao W, Shemmeri N, *et al*. Importance of ICOS-B_7RP-1 costimulation in acute and chronic allograft rejection[J]. Nature, 2001, 2(7): 591 - 596.

[4] Mcadam A J, Chang T, Lumelsky A L, *et al*. Mouse inducible costimulatory molecule (ICOS) expression is enhanced by CD28 costimulation and regulates differentiation of $CD4^+$ T cells[J]. J Immunol, 2000, 165(9): 5035 - 5040.

[5] Iwai H, Kozono Y, Hirose S, *et al*. Amelioration of collagen-induced arthritis by blockade of inducible costimulator-B_7 homologous protein costimulation[J]. J Immunol, 2002, 169(8): 4332 - 4339.

[6] Wahl P, Schoop R, Bilic G, *et al*. Renal tubular epithelial expression of the costimulatory molecule B_7RP-1 (inducible costimulator ligand)[J]. J Am Soc Nephrol, 2002. 13(6): 1517 - 1526.

[7] Iwai H, Abe M, Hirose S, *et al*. Involvement of inducible costimulator-B_7 homologous protein costimulatory pathway in murine lupus nephritis[J]. J Immunol, 2003, 171(6): 2848 - 2854.

[8] Ogawa S, Nagamatsu G, Wa tanabe S. Opposing effects of anti-activation-inducible lymphocyte-immunomodulatory molecule/inducible costimulator antibody on the development of acute versus chronic graft-versus-host disease[J]. J Immunol, 2002, 167(10): 5741 - 5748.

[9] Youngnak P, Kozono H, Iwai H, *et al*. Differential binding properties of B_7-H_1 and B_7-DC to programmed death-1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 307(3): 672 - 678.

[10] Ozkaynak E, Wang L, Goodearl A, *et al*. Programmed death-1 targeting can promote allograft survival[J]. J Immunol, 2002, 169(11): 546 - 6553.

[11] Gao W, Demirci G, Terry B, *et al*. Stimulating PD-1-negative signals concurrent with blocking CD154 co-stimulation induces long-term islet allograft survival[J]. Transplantation, 2003, 76(6): 994 - 999.

[12] Dong H, Strome S E, Salomao D R, *et al*. Tumor-associated B_7-H_1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion[J]. Nat Med, 2002, 8(8): 793 - 800.

[13] Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, *et al*. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape frome host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(19): 12293 - 12297.

[14] Nishimura H, Minato N, Nakano T, *et al*. Immunological studies on PD-1 deficient mice: implication of PD-1 as a negative regulator for B cell response[J]. Int Immunol, 1998, 10(3): 1563 - 1567.

[15] Nishimura H, Nose M, Hiai H, *et al*. Development of lupus-like autoimmune disease by disruption of the PD-1 gene encoding on ITIM motif-carrying immunoreceptor[J]. Immunity, 1999, 11(1): 141 - 151.

[16] Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, *et al*. Autoimmune dilated cardiomyopathyin PD-1 receptor-deficient mice[J]. Science, 2001, 291(5502): 319 - 322.

[17] Okazaki T, Tanaka Y, Nishio R, *et al*. Autoantibodies against cardiac troponin I are responsible for dilated cardiomyopathy in PD-1-deficient mice[J]. Nat Med, 2003, 9(12): 1477 - 1483.

[18] Salama A D, Chitnis T, Imitola J, *et al*. Critical role of the programmed death-1 (PD-1) pathway in regulation of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Exp Med, 2003, 198(4): 677 - 686.

[19] Kanai T, Totsuka T, Uraushihara K, *et al*. Blockade of B_7-H_1 suppresses the development of chronic interstinal inflammation[J]. J Immunol, 2003, 171(8): 4156 - 4163.

[20] Bennett F, Luxenberg D, Ling V, *et al*. Programmed death-1 engagement upon TCR activation has distinct effects on costimulation and cytokine-driven proliferation: attenuation of ICOS, IL-4, and IL-21, but not CD28, IL-7, and IL-15 responses[J]. J Immunol, 2003, 170(2): 711 - 718.

（编辑　张大春）