DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.10.027

association of HLA-B53 and resistance to severe malaria[J]. Nature, 1992, 360(6 403): 434—439.
[8] Sijts A J, Dssendorp F, Mengede E A, *et al*. Immunodominant mink cell focus-inducing MuLV-encoded CTL epitope identified by its MHC I-binding motif, explains MuLV-type specificity of MCF-directed CTL[J]. J Immunol, 1994, 152(1): 106—117.
[9] Kubo R T, Sette A, Grey H M, *et al*. Definition of specific peptide motifs for four major HLA-A alleles[J]. J Immunol, 1994, 152(8): 3 913—3 925.
[10] Kast W M, Brandt R M, Sidney J, *et al*. Role of HLA-A motifs in identification of potential CTL epitopes in human papillomavirus type 16 E6 and E7 proteins[J]. J Immunol, 1994, 152(9): 3 904—3 912.
[11] Ruppert J, Sidney J, Celis E, *et al*. Prominent role of secondary anchor residues in peptide binding to HLA-A2.1 molecules[J]. Cell, 1993, 74(5): 929—937.
[12] Parker K C, Bednarek M A, Coligan J E. Scheme for ranking potential HLA-A2 binding peptides based on independent binding of individual peptide side-chains[J]. J Immunol, 1994, 152(1): 163—175.
[13] Stryhn A, Pedersen L O, Romme J, *et al*. Peptide binding specificity of major histocompatibility complex class I resolved into an array of apparently independent subspecificities: quantitation by peptide libraries and improved prediction of binding[J]. Eur J Immunol, 1996, 26(8): 1 911—1 918.
[14] Adams H P, Koziol J A. Prediction of binding to MHC class I molecules[J]. J Immunol Methods, 1995, 185(2): 181—190.
[15] Gulukota K, Sidney J, Sette A, *et al*. Two complementary methods for predicting peptides binding major histocompatibility complex molecules[J]. J Mol Biol, 1997, 267: 1 258—1 267.
[16] Milik M, Sauer D, Brunmark A P, *et al*. Application of an artificial neural network to predict specific class I MHC binding peptide sequences[J]. Nat Biotechnol, 1998, 16(8): 753—756.
[17] Mata M, Travers P J, Liu Q, *et al*. The MHC class I-restricted immune response to HIV-gag in BALB/c mice selects a single epitope that does not have a predictable MHC-binding motif and binds to Kd through interactions between a glutamine at P3 and pocket D[J]. J Immunol, 1998, 161(6): 2 985—2 993.
[18] Lim J S, Kim S, Lee H G, *et al*. Selection of peptides that bind to the HLA-A2.1 molecule by molecular modelling[J]. Mol Immunol, 1996, 33(2): 221—230.
[19] Altuvia Y, Sette A, Sidney J, *et al*. A structure-based algorithm to predict potential binding peptides to MHC molecules with hydrophobic binding pockets[J]. Hum Immunol, 1997, 58(1): 1—11.
[20] Gulukota K. Skipping a step with neural nets[J]. Nat Biotechnol, 1998, 16(8): 722—723.
[21] Zhang C, Anderson A, Delisi C. Structural principles that govern the peptide-binding motifs of class I MHC molecules[J]. J Mol Biol, 1998, 281(5): 929—947.

（编辑 谢义霞）

综述

文章编号：1000-5404(2000)10-0992-06

特异性细胞毒性T细胞活化的研究进展

Advances in the activation of specific cytotoxic T lymphocyte

万 瑛，吴玉章 （第三军医大学基础医学部全军免疫学研究所，重庆 400038）

特异性细胞毒性T细胞(Cytotoxic T lymphocyte, CTL)的活化是现代细胞免疫的重要研究领域，是具有高度时空复杂性的生物学行为，是众多免疫细胞、免疫分子协同作用的结果。毫无疑问，此领域的研究进展将影响我们对抗感染免疫、肿瘤免疫、移植免疫、免疫发育、自身免疫疾病等乃至整个细胞免疫的理解。其中抗原的递呈处理和抗原递呈细胞(Antigen process cell, APC)与CTL相互作用作为CTL活化的初始阶段，决定了抗原激活CTL的有效性和特异性，是CTL活化的研究重点。现就近年来此领域的研究进展作一综述。

1 抗原的递呈

传统的上认为抗原通过所谓内源途径(Endogenous pathway)激活$CD8^+$细胞毒性T细胞，即内源抗原如胞内细菌、胞内病毒蛋白在胞浆经蛋白酶体复合物(Proteasome complex)的降解生成短肽，然后在抗原加工相关转运体(Transporter associated with antigen processing, TAP)的协同下穿过内质网，与新生成的MHC I类分子重链β微球蛋白(β_2m)二聚体相结合形成三聚体，继而在APC膜表面将肽递呈给CTL。但是近年来的发现大大增加了MHC I类限制抗原递呈的复杂性，首先是外源抗原如细胞相

作者简介：万 瑛(1972—)，男，湖北省沙市人，博士研究生，助教，主要从事分子免疫学方面的研究，发表论文11篇。电话：(023)68752236

收稿日期：2000-08-04；修回日期：2000-09-19

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

关抗原(Cell-associated antigen)、胞外感染微生物能通过尚不确定或者说众多 APC 递呈途径激活 CTL[1]。其次发现大量的热休克蛋白参与外源抗原递呈[2]。再次是一些肽修饰物如糖肽、脂肽通过 CD1 或非传统 MHC I 类分子(Nonclassical MHC-I)激活 CTL[3]。

1.1　外源抗原的 APC 递呈

外源抗原可简单分为外源细胞相关抗原和胞外感染微生物。外源细胞相关抗原激活特异 CTL 在 70 年代末被 Bevan 等人称之为交叉激活(Cross-priming),其与肿瘤、移植物、DNA 编码蛋白激活 CTL 紧密相关。对于胞外感染微生物,以前认为主要激活 MHC Ⅱ类分子限制的 $CD4^+$ T 细胞,而近年在体实验证实胞外感染微生物的抗原物质激活 MHC I 类分子限制的 CTL 是普遍、有效的。关于外源抗原的 APC 递呈途径的研究主要解决 3 个方面的问题:(1)外源抗原采用何种摄入方式进入胞内的抗原处理区域。(2)在何种胞内抗原处理区域那些蛋白降解酶处理外源抗原生成表位多肽。(3)表位多肽如何与 MHC I 类分子或 MHC I 类样分子结合。

1.1.1　参与外源抗原递呈的 APC　　各种专职 APC(Professional APC)如巨噬细胞(MΦ)[4]、树突状细胞(DCs)[5]、B 细胞[6]均被证实参与外源抗原的递呈。最近发现肥大细胞[7]也能吞噬外源抗原激活相应的 $CD8^+$ T 细胞,从而认识到肥大细胞在病原微生物的细胞免疫中也扮演着一定角色。但是这些实验大部分在体外完成,并多采用较高的抗原溶度。是否这些 APC 细胞就是体内参与外源抗原递呈的 APC 呢?体内是否存在特殊的 APC 亚类专职负责外源抗原递呈呢?针对外源细胞相关抗原和胞外染微生物体内是否采用不同类型 APC 来完成?现在的实验证据还不足以回答这些问题。有趣的是 Pulaski 等[8]在异源肿瘤细胞模型分离的递呈外源抗原的 APC 具有 MΦ 和 DCs 两种细胞的特点。

1.1.2　外源抗原摄入方式　　MΦ 能吞噬外源抗原,特别是颗粒抗原,这与颗粒抗原易于激活 CTL 反应相一致,而离体、在体抑制 MMΦ 吞噬作用影响外源蛋白激活 CTL 也证实 MΦ 吞噬作用在外源抗原的递呈中占重要地位。DCs 被认为是一种能有效激活 T 细胞(Naive T cell)的 APC,已证实 DCs 也能通过吞噬作用递呈 MHC I 类限制表位[5]。B 细胞则采用受体介导的方式摄入外源抗原[6]。

1.1.3　外源抗原在 APC 的处理　　外源抗原在 APC 中的处理途径可分为两类:一种是内体小泡(Endosome)参与的不依赖 TAP 途径,另一种是在胞浆中依赖 TAP 的途径。外源抗原的不依赖 TAP 途径与传统的内源递呈途径不同,能抑制蛋白酶体复合物和穿高尔基体小泡运输的化合物如 BFA(Brefeldin A)并不影响外源抗原的递呈,并且在 TAP 缺陷的转基因小鼠外源抗原仍能有效激活 CTL[9]。而一些外源抗原激活 CTL 则能被 BFA 抑制。Wick 等[10]发现大肠杆菌重组表达的卵白蛋白(Ovalbumin, OVA)和 OVA 包裹的颗粒以 TAP 依赖的方式递呈,而 OVA 表位在大肠杆菌融合表达则以不依赖 TAP 的方式递呈。这两种途径具体机制尚无实验阐明。理论上认为吞噬后的外源抗原从吞噬体(Phagosome)、吞噬溶酶体(Phagolysosome)、内体小泡进入胞浆后的递呈途径均是 TAP 依赖,相反在上述细胞器内外源抗原被现在尚不为人知的蛋白降解体系降解后与 MHC I 类分子结合则属于不依赖 TAP 途径。

1.1.4　MHC I 类分子与外源抗原表位的结合　　TAP 依赖途径的外源抗原表位可通过传统的内源途径与在内质网与 MHC I 类分子结合。而 TAP 非依赖途径的结合机制尚不确定,实验证据显示降解生成的 MHC-I 限制性表位可以在反吐到胞外与膜上的 MHC-I 类分子结合[11],但这种结合途径并不十分有效。另一种结合途径则与 MHC-I 分子的循环有关,膜上 MHC-I 重链分子与 β_2m、表位肽解离后,内化降解或者融合进内体小泡,与表位肽、β_2m 重新结合,再次循环递呈到膜表面。Abdel 等[12]发现改变 MHC-I 分子的膜锚定结构,使膜上 MHC-I 分子不能内化循环使用,同时也抑制了外源抗原的递呈,提示外源抗原表位采用这种循环使用的方式与 MHC-I 分子结合。近年来还发现细胞膜上存在一类未和 β_2m、表位肽结合的热稳定 MHC-I 重链分子,也参与外源抗原表位循环递呈途径[13]。

1.2　热休克蛋白参与外源抗原递呈

热休克蛋白(Heat shock proteins, Hsps)根据分子量分为 4 个大类:Hsp90 家族、Hsp70 家族、Hsp60 家族和小分子 Hsp 家族。现在认为 Hsp90 家族和 Hsp70 家族与外源抗原的摄入和参与 MHC-I 类分子的结合中有关,见表 1。

表 1　参与外源抗原递呈的热休克蛋白

基因	蛋白	另名	鼠源类似蛋白
Hsp 70 family			
HSPA1	Hsp70 protein1	Hsp72	Hsc70t, Hsp70-1, Hsp70-3
HSPA2	Hsp70 protein2		Hsp70-2
HSPA3	Hsp70 protein3		
HSPA4	Hsp70 protein4		
HSPA5	Hsp70 protein5	Bip, grp78	Grp78
HSPA8	Hsp70 protein8	Hsp73, Hsc70	
HSPA9	Hsp70 protein9	PBP74, grp75	Hsp74
Hsp 90 family			
HSPCB	Hsp90		Hsp90, Hsp84
TRA1	Gp96	grp94, endoplasmin	Tra1

免疫荧光显示 gp96 主要存在于内质网,与 grp78 一起参与免疫球蛋白(Igs)和 MHC-Ⅱ分子的合成后折叠,并协助 TAP 将表位肽转移到 MHC I 类分子。Hsp70 家族成员则主要存在胞浆,参与新生肽的折叠,并协助表位肽与 TAP 的结合。Hsp70 与 MHC-I 分子序列相似,二级结构预测显示 Hsp70 有类似 MHC-I 的表位结合部位,提示两类分子在进化中同源。非共价结合与 Hsp90 和 Hsp70 家族的各种表位可激发针对病源微生物、MHC、肿瘤相关抗原的 CTL 反应[14]。而相关的免疫显性肽(Immunodominant peptide)与 gp96 复合物也被分离获得。一些肿瘤相关抗原的表位肽与 Hsp 复合物(Heat shock protein-peptide complex,

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

HSPPC)作为疫苗已进入临床前评价。

但目前尚不清楚 Hsp 参与表位肽与 MHC-1 类分子的具体机制。实验提示 gp96 和 Hsp73 采用不同的递呈途径, Hsp73 参与的抗原递呈并不依赖 TAP, 而 gp96—肽复合物递呈则需要 TAP 的辅助, 能被 BFA(Brefeldin A)抑制[14]。

1.3 非传统 MHC I 类分子和 CD1 的抗原递呈

1.3.1 非传统 MHC I 类分子 在脊椎动物的 MHC 编码区远端存在大量 MHC I 类基因成员, 与传统的 MHC I 类基因不同, 此类基因缺乏多样性且表达水平较低, 被称为非传统 MHC I 类分子或 MHC-1b 型分子。人类非传统 MHC I 类分子包括 HLA-E、-F、-G、-H 及 MIC(MHC class I chain related)A 和 MIC B, 而小鼠的非传统 MHC I 类分子表示为 Q、T 和 M 类, 如 Qa1、Qa2、M3、T10。关于非传统 MHC I 类分子的作用是近年来免疫学研究热点, 见表 2。

表 2 非经典 **MHC I** 类分子的配体和受体

类别	反应细胞	抗原或配体
HLA-E	CD94/NKG2+ NK cells	VMAPRTVLL
Qa-1	CD94/NKG2+ NK cells	AMAPRTLLL
	Some TCRαβ, $CD8^+$ and γδT cells	x-M-xxxxxx-L or synthetic polymers of Gln and Tyr
HLA-G	ILT2+ or KIR2DL4+ NK cells	xx-hydro-P/G-xxxx-L
Qa-2	TCRαβ, $CD8^+$	x-Q/L-L/N-xxx-H-x-hydro
MICA/MICB	Vγ+ γδT cells	No antigen
T10/T22	γδT cells, mostly DN	Direct recognition of MHC
T18	TCRαβ, $CD8^+$ and γδT cells	?
H2-M3	TCRαβ T cells $CD8^+$	N-terminal formylated peptides

研究提示此类分子与 CTL 的活化有关, 如采用 $CD4^+$ Vβ8+的 T 细胞免疫可产生针对 Vβ8 的由 Qa1 限定的特异 $CD8^+$ T 细胞, 提示 Qa1 参与免疫调节。H2-M3 可以与 N-甲酰化表位肽、脂肽结合, 参与来源线粒体蛋白和细菌的 CTL 活化。但是在人体非传统 MHC I 类分子与 CTL 的活化的关系还值商榷, 因为在人类尚未发现 H2-M3 的同源基因, 并且尚无直接证据显示 Qa1 同源分子 HLA-E 参与 CTL 激活[15]。

1.3.2 CD1 CD1 是一类约 50×10^3 的膜上糖蛋白, 在人类已鉴定四种 CD1 蛋白: CD1-a、-b、-c、-d, 在小鼠只有两个同源基因被克隆: CD1D1、CD1D2。奇怪的是其基因位于 MHC 编码区之外。根据序列、组织分布和可能的功能将其分为两组: 组 1 包括 CD1-a、-b、-c, 组 2 包括 CD1-d。

组 1 的 CD1 蛋白与激活 CTL 关系密切。其特点是递呈特殊的脂性抗原激活 CTL[15]。现在已知的脂性抗原主要有 3 类: 一些细菌壁的糖脂(Glycolipid)成分、霉菌酸(Mycolic acid)、磷酸糖脂(Phosphoglycolipid)。CD1 蛋白的晶体结构与 MHC I 类分子相似, 结合沟深且疏水性强, 可与脂性抗原的疏水尾结合, 而脂性抗原的极性或亲水头则与 T 细胞受体(TCR)作用。关于组 1 的 CD1 蛋白参与脂性抗原递呈的机制, 现有资料提示 CD1b 合成后可定向转移到内体小泡, 而糖脂抗原也可通过甘露糖受体内陷到内体小泡[16], 糖脂抗原和 CD1b 结合在酸性环境稳定与内体小泡的呈酸性相吻合, 但此种机制是否具有普遍意义尚有待证实。

2 APC 与 CTL 的相互作用

APC 与 CTL 的相互作用是 CTL 的活化的关键性步骤。是众多配基、受体分子参与的具有高度时空复杂性的生物学行为。从空间上看, 在这两个细胞的区域性接触中, 包括 MHC I 类分子重链-β_2m-肽与 TCR、共刺激分子如(CD80、CD48 等)与其受体的空间结合。从时间上看, 包括 APC 膜表面 MHC I 类分子重链-β_2m-肽的形成、上述分子间相互结合及相应的信息传递、上述分子间结合变化和细胞间接触的解离。

2.1 MHC I 类分子-肽与 TCR 的结合

早在 80 年代就认识到 MHC-1 类分子-肽复合物的形成是细胞免疫 MHC 限制性的基础, 近年来的研究进展大大加深我们对此分子间结合的理解。首先得利于 MHC I 类分子与肽复合物、TCR 片断、MHC-TCR-肽复合物[17] 高分辨率的晶体结构解析, 能清晰的观察 MHC I 类分子-肽与 TCR 的结合的空间结构规律。其次是 TCR 与纯化的 MHC I 类分子与肽复合物亲和力的测量[18, 19], 它们提供 MHC I 类分子-肽与 TCR 结合与 CTL 激活的量化线索, MHC I 类分子的晶体结构首先是 Bjorkman 等人在 80 年代末完成的, 此晶体结构为 MHC-I 分子-肽-TCR 结合提供了一些重要的结论: (1)MHC-I 类分子氨基末端的两个结构域(α_1 和 α_2)构成了表位肽的结合区域。此区域由 8 条反向平行β-折叠片构成底层结构, 其上方为两个走向相反、平行排列的(螺旋, 三者构成的沟槽结构证实肽的结合区域, 见图 1Ⅱ。(2)MHC-I 类分子靠近细胞膜的结构域 α_3 形成于免疫球蛋白相似的"三明治结构", 与 β_2m 不对称结合, 见图 1Ⅰ。(3)根据肽的结合区域推测 TCR 的结合残基位于 MHC-1 类分子的顶端, 其中暴露于溶液的残基可能与 TCR 直接作用, 而侧链指向肽结合沟的残基则可能同时与 MHC-I 类分子与肽的特异性结合有关。而高分辨率的 MHC-I 类分子晶体结构显示肽结合沟中参与肽结合的残基组成 6 个(A-F)结合袋, 见图 1Ⅲ。

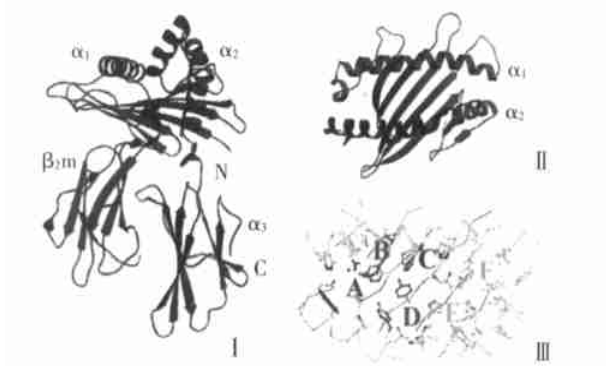


图 1 **HLA-A *0201** 的彩色条带图

Ⅰ: 侧面观; Ⅱ: 顶上观; Ⅲ: A 至 F 结合槽顶上观

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

其他受体、配体相比, MHC-I 类分子与肽的结合有着特殊之处。暴露在 APC 膜上的 MHC-I 类分子与肽复合物要维持一个较长的时间, 才能提供足够的 CTL 结合的机会, 这样就需要 MHC-I 类分子与肽牢固的结合, 但与 MHC-I 类分子结合的肽具有结构上的多样性, 这就迫使 MHC-I 类分子采用一种区域特异结合的方式来协调两者的矛盾。即 MHC-I 类分子结合肽的某些氨基酸残基与 MHC-I 类分子结合袋中残基形成氢键(或通过水分子形成间接氢键), 现称之为锚定残基(Anchors)和次级锚定残基(Secondary anchors), 而其他的肽残基则多位于结合袋之外, 构成肽与 TCR 的结合区域。1991 年 HLA-B *2705 与肽复合物的晶体结构即显示了这种结合方式, 肽第二位的精氨酸与 B 结合袋中的谷氨酸[45]和半胱氨酸[67]形成氢键, 而肽 C 末端的氨基酸位于 F 结合袋中, 与胳氨酸[84]、苏氨酸[143]和赖氨酸[146]形成氢键。随后在其他晶体结构也证实这种现象。大量 MHC-I 类分子结合肽的分离鉴定, 发现结合肽的某些位置的氨基酸高度保守, 形成一定的结合模式(Motif), 这与 MHC-I 类分子与肽复合物的晶体结构研究相一致。

TCR 是两条异源多肽链(多为 α,β)形成的二聚体, 在细胞膜上与 CD3 形成一个受体复合物。组成 TCR 的两条异源多肽链序列与免疫球蛋白十分相似, 提示 TCR 的α,β 可能形成免疫球蛋白样的β-桶结构。Mariuzza 等人 1995 年第一次获得 TCR Vβ Cβ 链、Vα 链的结晶结构, 发现三个结构域均形成类似免疫球蛋白样的β-桶结构, 见图 2, 在可变区(V 区)β-桶结构一侧形成四个环形结构, 其中三个形成互补决定区(Complementary-determining regions, CDR), 而第四个环形结构为超抗原的结合部位。在 Garcia 等人的 α,β 异源二聚体的晶体结构中可以看到 Vα 的 C″的β 片层转移到β-桶的另外一面, 这种结构变化可能与 TCR 的二聚化有关, 而 Cα 的免疫球蛋白样的β-桶结构中顶部的 c、f、g 片断并未通过氢键形成β 片层, 从而使 a、b、d、e 暴露给溶液, 这种结构变化可能与辅助分子如 CD3 的结合有关。

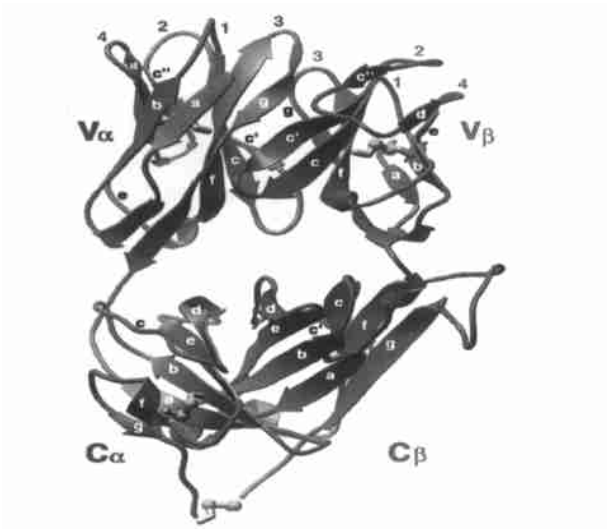


图 2　TCR2β 完整结构图

现在关于 MHC I 类分子-肽与 TCR 结合的主要信息来源两个 TCR-肽-MHC 复合物的晶体结构: 小鼠的 2C 与 H-2Kb-dEV8, 人源的 A6 与 HLA-A2-Tax。与早期 TCR、MHC 的突变研究相一致, TCR 以对角线的方式结合在肽-MHC 复合物上, 即 TCR 的 Vα 位于肽的氨基末端, TCR 的 Vβ 位于肽的羧基末端, 见图 3。这种结合方向也在其他 TCR-肽-MHC 复合物得到证实, 结合方向的形成是 Vα 与 MHC-I 类分子的残基作用结果。由于方向的原因 Vβ 链、Vα 链的 CDR2α 与 MHC-I 类分子 α_2 螺旋的 155～162 残基接触, CDR2β 与 MHC-I 类分子 α_1 螺旋的 72～76 残基接触, 而 CDR1、CDR3 则与 MHC-I 和肽两者接触, 见图 3。其中 CDR3 位于结合的中间部位, 与肽的 P4～P6 接触, 也是构成 TCR 特异性的主要部位。采用丙氨酸扫描突变的方法, 在 MHC I 类分子-肽与 TCR 结合能量主要来源 CDR1 和 CDR2 与 MHC I 类分子的接触, 约占 63%, 而肽只占 37%。

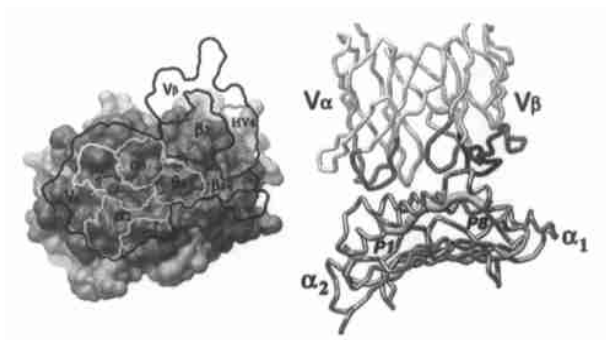


图 3　**TCR-肽-MHC** 复合物晶体结构图

随着 TCR、MHC-I 类分子的表达成功, 使获得 TCR 与肽-MHC 复合物的结合数据成为可能。采用的方法主要包括竞争结合实验[18]和表面胞质团共振(Surface plasmon resonance, SPR)[19]。这些结合实验的结果显示 TCR 与肽-MHC-I 复合物结合的亲和力为 5×10^{-7}～10^{-4} mol/L, 较抗原抗体结合的亲和力(一般为 10^{-9} mol/L)低 100～1 000 倍, 而 TCR-肽-MHC-I 复合物的接触面积约为 1 000 A^2, 较抗原抗体复合物的接触面积大(一般为 620 A_2)。但是 TCR-肽-MHC-I 复合物的动力学解离常数则较大(从 10^{-2}/s 到 1/s)。这些数据提示在 TCR 与肽-MHC-I 复合物采用多价结合的方式。

2.2　APC 与 CTL 的相互作用的时空模式

在 APC 与 CTL 的区域接触是众多生物分子参与动态变化的过程。从信息的角度, 此过程的目的是 CTL 将胞外的分子特异性信号转化成胞内的增殖、分化信号。CTL 的活化需要两个独立的分子结合信号, 即 MHC I 类分子-肽与 TCR 的结合构成第一信号, 共刺激分子如 B7-CD28、LFA1-ICAM1、CD2-CD80、4-1BB-TNFR 构成的第二信号。其中 MHC I 类分子-肽复合物与 TCR 结合的空间结构已获得大量研究资料, 但 TCR 是如何将胞外信号转化成胞内信号, 其所涉及的细胞、生物分子的动态变化还知之甚少。

由于 MHC I 类分子-肽复合物与 TCR 的亲和力较低, 并且

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

只要少量的MHC I类分子-肽复合物即可激活CTL反应，Valitutti等人推测在APC与CTL相互作用的过程中，一个MHC I类分子-肽复合物可连续与多个TCR结合，构成T细胞活化信号。实验证实一个肽-MHC-I复合物相续与100～200个TCR结合，导致8 000个TCR的内陷下调时，诱导CTL活化，Valitutti等[20]认为这种连续结合后导致TCR内陷下调的数目构成T细胞活化的第一信号，并且认为连续结合所构成的动力学方式扩大了TCR-肽-MHC-I复合物的特异性。但是将TCR下调作为第一信号也存在相反的证据，Cai等[21]观察到当无共刺激分子构成第二信号时，也可观察到TCR下调，但并不激活CTL。

理论上，在APC与CTL两个细胞间接触区域的形成涉及MHC I类分子-肽-TCR复合物及粘附分子在细胞膜上的运动方式，而运动方式和相应细胞膜的变化与CTL活化的关系是一个值得关注的事件。1999年Grakoui等[22]巧妙的显示了MHC I类分子-肽-TCR复合物及粘附分子在细胞膜上的运动方式与T细胞活化的关系，见图4，他们在玻片上的脂质双分子层中加入荧光标记的MHC-肽复合物和粘附分子ICAM-1，使分子可以自由的扩散运动，当相应的T细胞加入后，可观察到T细胞与脂质双分子层分三个阶段形成一个突触结构，第一阶段是粘附分子使T细胞与脂质双分子层形成连接，在连接的外环MHC-肽复合物与TCR结合。第二阶段TCR-肽-MHC-I复合物迁移到粘附分子形成的结合区域的中央。第三阶段是稳定阶段，TCR-肽-MHC-I复合物因尚不明的机制内陷下调。这是第一次将细胞膜行为与T细胞活化联系起来，其意义还有待进一步验证。

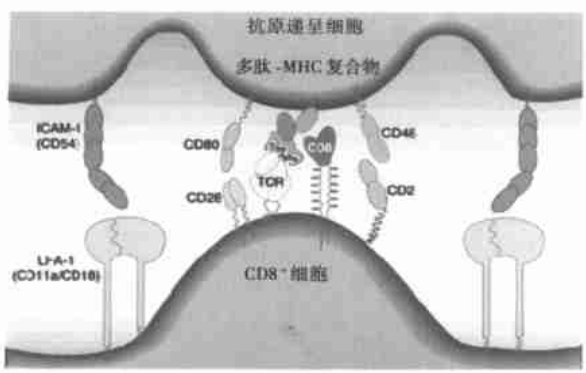


图4 $CD8^+$ T细胞与抗原递呈细胞间的免疫突触

关键词：细胞毒性T细胞；抗原递呈；免疫突触
中图法分类号：R392.12 文献标识码：A

参考文献：

[1] Yewdell J W, Norbury C C, Bennink J R. Mechanisms of exogenous antigen presentation by MHC class I molecules *in vitro* and *in vivo*: implications for generating $CD8^+$ T cell responses to infectious agents, tumors, transplants, and vaccines[J]. Adv Immunol, 1999, 73(1): 1—77.

[2] Porcelli S A. The CD1 family: a third lineage of antigen-presenting molecules[J]. Adv Immunol, 1995, 59(1): 1—98.

[3] Kronenberg M, Brossay L, Kurepa Z, *et al*. Conserved lipid and peptide presentation functions of nonclassical class I molecules [J]. Immunol Today, 1999, 20(11): 515—521.

[4] Pfeifer J D, Wick M J, Roberts R L, *et al*. Phagocytic processing of bacterial antigen for class I MHC presentation to T cells [J]. Nature, 1993, 361(6 410): 359—362.

[5] Böhm W, Schirmbeck R, Elbe A, *et al*. Exogenous hepatitis B surface antigen particles processed by dendritic cells or macrophages prime murine MHC class I-restricted cytotoxic T lymphocytes *in vivo*[J]. J Immunol, 1995, 155(7): 3 313—3 321.

[6] Ke Y, Kapp J A. Exogenous antigens gain access to the major histocompatibility complex class I processing pathway in B cell by receptor-mediated uptake[J]. J Exp Med, 1996, 184(3): 1 179—1 184.

[7] Malaviya R, Twesten N J, Ross E A, *et al*. Mast cells process bacterial Ags through a phagocytic route for class I MHC presentation to T cells[J]. J Immunol, 1996, 156(4): 1 490—1 496.

[8] Pulaski B A, Yeh K Y, Shastri N, *et al*. Interleukin 3 enhance cytotoxic T lymphocyte development and class I major histocompatibility complex‘representation’of exogenous antigen by tumor-infiltrating antigen-presenting cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(8): 36 669—36 674.

[9] Song R, Harding C V. Roles of proteasomes, transporter for antigen presentation (TAP), and β2-microglobulin in the processing of bacterial or particulate antigens via an alternate class I MHC processing pathway[J]. J Immunol, 1996, 156(11): 4 182—4 190.

[10] Wick M J, Pfeifer J D. Major histocompatibilty complex class I presentation of ovalbumin peptide 257～264 from exogenous sources: protein context influences the degree of TAP-independent presentation[J]. Eur J Immunol, 1996, 26(11): 2 790—2 799.

[11] Harding C V. Class I MHC presentation of exogenous antigens [J]. J Clin Immunol, 1996, 16(2): 90—96.

[12] Abdel Motal U M, Sentman C L, Zhou X, *et al*. Glycosylphosphatidylinositol-linked Dd does not induce an influenza-specific cytotoxic T lymphocyte response or recycle membrane-bound peptides[J]. Eur J Immunol 1995, 25(4): 1 121—1 124.

[13] Schimbeck R, Reimann J. Recycling‘empty’Ld molecules capture peptides from endocytosed, exgenous antigens for MHC class I-restricted presentation[J]. Eur J Immunol, 1996, 26(12): 2 812—2 822.

[14] Suto R, Srivastava P K. A mechanism for the specific immunogenicity of heat shock protein-chaperoned peptides[J]. Scince, 1995, 269(5 230): 1 585—1 588.

[15] Braud V M, David S J A, Mcmichae J A. Functions of nonclassical MHC and non-MHC-encoded class I molecules[J]. Curr

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Opin Immunology, 1999, 11(1): 100—108.

[16] Prigozy T I, Sieling P A, Clemens D, *et al*. The mannose receptor delivers lipoglycan antigens to endosomes for presentation to T cells by CD1b molecules[J]. Immunity, 1997, 6(2): 187—197.

[17] Madden D R. The three-dimensional structure of peptide-MHC complexes[J]. Annu Rev Immunol, 1995, 13: 545—622.

[18] Corr M, Slanetz A E, Boyd L F, *et al*. TCR-MHC class I peptide interactions: affinity, kinetics and specificity[J]. Science, 1994, 265(5 174): 946—949.

[19] Margulies D H, Plaksin D, Khilko S N. Studying interactions involving the T cell antigen receptor by surface plasmon resonance[J]. Curr Opin Immunol, 1996, 8: 262—270.

[20] Valitutti S, Muller S, Cella M, *et al*. Serial triggering of many T-cell receptors by a few peptide-MHC complexes[J]. Nature, 1995, 375(6 527): 148—151.

[21] Cai Z, Brunmark A B, Luxembourg A T, *et al*. Probing the activation requirements for naive CD8$^+$ T cell with Drosophila cell transfectants an antigen pricessing cells[J]. Immunol Rev, 1998, 165(1): 249—265.

[22] Grakoui A, Bromley S K, Sumen C, *et al*. The immunological synapse: A molecular mechine contralling T cell activation[J]. Science, 1999, 285(5 425): 221—227.

（编辑 汪勤俭）

文章编号: 1000-5404(2000)10-0997-07

综述

蛋白糖基化与细胞毒性 T 淋巴细胞应答

Relationship between protein glycosylation and response of cytotoxic T lymphocyte

周吉军, 吴玉章 （第三军医大学基础医学部全军免疫学研究所, 重庆 400038）

糖基化是已知的蛋白最重要的翻译后修饰。已知的蛋白糖基化有多种类型, 其中最常见的是发生在天冬酰胺(Asparagine, Asn)的 N-糖基化(N-linked glycosylation)和发生在丝氨酸(Serine, Ser)和苏氨酸(Threonine, Thr)的 O-糖基化(O-linked glycosylation)。糖蛋白中糖基的结构大小不一, 少者仅一个单糖, 稍复杂的寡糖链可由 12～15 个单糖残基衍生物组成, 甚至可多达 20～30 个单糖残基。糖链的结构类型与其在肽链上共价连接的氨基酸种类有关。蛋白(肽)糖基化后不仅亲水性增加, 对蛋白酶耐受能力(酶稳定性)增强, 而且二、三级结构也发生改变。糖基可改变蛋白的回形环(Loop cycle)、β-转角(Beta-turn)、α-螺旋(Alpha-helix)等空间构象。糖基化对蛋白生物学活性影响逐渐受到重视, 特异性糖结构参与细胞-细胞及细胞-底物交互作用, 从而影响淋巴细胞移动、免疫细胞激活、胚胎发生及肿瘤转移等过程。糖的种类和数目的变化(形成寡糖或多糖)、糖的异构性以及糖苷键所处位置不同, 决定了糖蛋白上糖的多样性, 也导致了糖蛋白的结构多样性和生物学活性的变化。

近年来, 越来越多研究表明糖参与或影响免疫反应[1]。糖基化结构在改变蛋白或肽的三维结构的同时, 还可通过改变蛋白表面表位或与 MHC 分子的结合位点影响细胞免疫。有研究表明 T 细胞所识别表位部分靠小的糖基结构确定[2]。糖基化可生成新的 T 细胞表位, 或相反, 废除识别[3]; 糖基化可阻断肽与 MHC-Ⅰ类分子结合, 也可通过糖直接与 MHC 分子交互作用, 恢复结合[3]; 有的糖基可帮助 Th 细胞对抗原肽识别的精确化学定位[4]; MHC-Ⅰ类分子上的一些糖基化结构可能干扰 T 细胞识别, 并限制 CD8$^+$ T 细胞应答[3]。病毒有可能通过上述机理逃避细胞免疫。糖基化结构也可通过改变肽抗体识别表位影响体液免疫[5]。一些寡糖结构本身就是半抗原(Hapten), 许多糖(单、双及多糖)本身就是半抗原, 即单独不具抗原性, 而连接在载体蛋白(或肽)骨架上, 则具抗原性, 可以诱导糖特异性的单克隆抗体(mAb)和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)[6]。

机体免疫系统对胞内感染病毒和肿瘤细胞的清除, 主要依赖细胞免疫, 特别是特异性的 CTL。但许多慢性病毒感染者(如慢性 HIV、HBV 感染者)和肿瘤病人不能清除病毒或肿瘤细胞, 即病毒和肿瘤细胞出现免疫逃避。病毒表面蛋白均为 GPs, 由宿主细胞合成, 在内质网经翻译后修饰糖基化, 因此不易与宿主 GPs 特别是糖结构区别, 如 HIV、HBV、流感病毒以及部分原生寄生生物等, 它们所具有的免疫逃避特性, 很可能与其表面蛋白糖基化有关。异常糖基化是肿瘤细胞重要表型之一, 肿瘤细胞也可能利用其异常糖基化结构逃避机体免疫监视和免疫识别。而一些特定的糖结构利用其半抗原性质, 可引起针对自身组织的免疫反应, 导致免疫损伤或自身免疫疾病, 包括胶原相关的类风湿性关节炎、多发性硬化症、糖尿病、IgA 肾病。

作者简介: 周吉军(1967—), 男, 重庆市人, 博士, 讲师, 主要从事表位糖基化与 HBV 特异性 CTV 应答方面的研究, 发表论文 6 篇, 现在第三军医大学附属西南医院全军感染病研究所, 重庆 400038。电话: (023)68754479

收稿日期: 2000-08-04; 修回日期: 2000-09-19

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net