

·学科进展·

# 免疫系统细胞凋亡研究进展

范晓强 卫立辛 时玉舫

(第二军医大学国际合作肿瘤研究所,上海 200433)

**[摘要]** 综述了近年来免疫系统细胞凋亡的研究进展,特别介绍了作者对于 Fas/FasL 在免疫系统细胞凋亡特别是 AICD 中的作用和调节及共刺激与免疫细胞凋亡等方面的研究成果。

**[关键词]** 细胞凋亡, Fas, FasL, 免疫细胞

细胞凋亡,又称程序性细胞死亡,在很多的生理过程中发挥重要作用,其失调可导致许多疾病的发生,包括自身免疫、肿瘤、肿瘤抗药性的获得、中风、某些退行性病变和 AIDS。对免疫系统而言,其不仅是免疫系统发育过程中必不可少的一个环节,而且是免疫系统行使功能的一种方式。我们对免疫系统中的细胞凋亡进行了深入的研究,取得了一些成果,现综述如下。

## 1 激活所诱发的细胞死亡是 T 细胞负选择的重要机制

免疫应答的特征是其为针对抗原的特异性反应。T 淋巴细胞对抗原的特异性识别是由 T 细胞抗原受体的可变区所决定的。此可变区具有高度的多样性,来源于 T 细胞在胸腺内发育过程中抗原受体基因的重排。由于可变区基因重排是一个随机过程,胸腺内产生的 T 细胞大部分都具有自身抗原反应性。这些识别自身抗原的 T 细胞通常并不进入外周免疫系统,而是在胸腺内经细胞凋亡从体内消除。自身免疫性 T 细胞的消除机制是免疫学上的一个重要研究课题。

我们假设在胸腺中,未成熟 T 细胞被自身抗原刺激后,不但不能像成熟的 T 细胞那样进入细胞周期,而只能进入细胞凋亡。我们对小鼠体内注射抗 T 细胞抗原受体的单克隆抗体(抗 CD3)。这一抗体可以激活所有具有 T 细胞抗原受体的细胞。我们发现注射后 12 h 内,抗 CD3 明显引起了未成熟 T 细胞的死亡。这些细胞死亡仅限于胸腺皮质区,而其他

淋巴组织内都未观察到细胞死亡。流式细胞仪分析证明这些死亡的细胞都是 CD4 + CD8 + 双阳性细胞,而 CD4、CD8 单阳性或双阴性细胞数目没有明显变化。这一实验证实未成熟 T 细胞被激活后即进入细胞凋亡,我们把这一现象命名为激活所诱发的细胞死亡(activation-induced cell death, AICD)。近年来,已陆续在 T 细胞抗原受体转基因小鼠以及超抗原的实验模型中观察到类似的现象。

为了避开在体动物实验技术上的困难,我们选用了 T 细胞杂交瘤 A1.1 作为体外模型来研究由激活所诱发的细胞死亡的分子生物学机制。A1.1 细胞表达 CD4 和 T 细胞抗原受体,受到抗 CD3 激活后产生一系列淋巴因子,同时进入细胞凋亡。通过许多研究,我们已经证明 A1.1 细胞中由激活所诱发的细胞死亡在许多方面都类似于不成熟 T 细胞负选择过程中的细胞凋亡。同时也发现了许多基因在由激活诱发的细胞死亡中起着调节作用,例如, *c-myc*, *Nur-77*, *cpp32*, *TDAG51*, *Fas*, *FasL* 等。应用可溶性 *Fas*、*M3mAb* 及 *Fas-Fc* 融合蛋白等 *Fas* 拮抗剂,可以阻断 CD3 抗体诱发的 AICD;而且已经证明在 *lpr*(*Fas* 突变)和 *gld*(*FasL* 突变)小鼠的活化 T 细胞中, AICD 明显降低;此后又发现抑制 *Fas*/*FasL* 的相互作用可能抑制再次刺激的 T 细胞发生 AICD,清楚的表明了 *Fas*/*FasL* 在 AICD 中的重要性。由于以上原因,人们一直认为 AICD 就是由 T 细胞受体与其配基的结合所诱发的信号传导事件导致的 *Fas* 及 *FasL* 基因表达而引发。但是,最新的实验表明,另一对死亡受体及其配基(*Apo2* 和 *Apo2L*)可能在此过程中亦发挥一定

本文于 2000 年 3 月 30 日收到。

的作用。Naval 等人发现, Jurkat 细胞、未成熟 T 细胞及新鲜分离的人 PBMC 被 PHA 活化后短时间内即在培养上清液中检测到含有 FasL 和 Apo2L 的微粒, 一段时间后, 细胞进入凋亡<sup>[1]</sup>。他们还观察到, 抗体 CD59 引起的交联可以诱导正常人未成熟 T 细胞的 AICD, 而这种 AICD 可以被抗 Apo2L 阻断性抗体所阻断, 提示 TRAIL 及其受体在某些细胞类型的 AICD 过程中发挥作用<sup>[2]</sup>。但鉴于 Fas/FasL 的表达研究较为充分, 下面仍将主要介绍 Fas/FasL 在免疫系统细胞凋亡特别是 AICD 中的作用及调节。

## 2 Fas/FasL 在免疫系统中的作用及其调节

Fas 属于 TNF/NGF 受体超家族的一个成员, 而其配体 FasL 则与 TNF 家族在结构上颇有相似之处。FasL/FasL 表达于多种免疫细胞, 和 TNF 家族其他成员一样, FasL 激活 Fas 时也需使 Fas 分子形成三聚体。Fas 通过其死亡区 (death domain, DD) 与 FADD (Fas-associated protein with death domain) 相连, 从而传导死亡信号。

### 2.1 Fas/FasL 在免疫系统中的作用

Fas/FasL 在免疫系统中发挥重要作用。首先, 它们是免疫反应的一种方式。杀伤性 T 细胞或自然杀伤细胞采用两种方法来攻击肿瘤或病毒感染细胞, 其一是依赖于穿孔素来传递杀伤因子, 另一则是通过释放 FasL 来诱导表面有 Fas 的靶细胞进入凋亡。其次, Fas/FasL 参与免疫系统中淋巴细胞数量的调控, 以维持免疫细胞的稳态。在 *lpr* 或 *gld* 小鼠中, Fas 和 FasL 分别发生了突变。这些小鼠由于细胞凋亡减少而导致淋巴细胞积聚, 进而发展为自身免疫病。现已发现人类中也存在 Fas、FasL 的突变, 这些病人出生后产生与 *lpr*、*gld* 小鼠相似的症状, 由于大量的淋巴细胞积聚而死于儿童期。淋巴细胞被抗原激活后进入细胞周期进行增殖, 并产生淋巴因子参与免疫反应。这些被激活的淋巴细胞同时也开始表达 Fas, 继而表达 FasL。Fas 和 FasL 的表达使这些免疫细胞在发挥其功能后立即通过细胞凋亡从体内被清除, 从而避免对机体的损伤。

### 2.2 Fas/FasL 的表达调节

目前, 人们对 Fas/FasL 的死亡信息传递途径已经有了相当的了解。相对而言, 对其基因调控的研究进展却较少。鉴于 Fas/FasL 在免疫系统及其他系统的重要作用, 阐明 Fas/FasL 的调控机理将为免疫系统的疾病治疗提供理论依据。

在对激活所诱导的细胞死亡的研究中, 我们发

现 T 细胞杂交瘤 A1.1 在休止状态时不表达 Fas、FasL。但一旦激活, A1.1 细胞在数小时内表达大量的 Fas 和 FasL, 释放淋巴因子, 同时进入细胞凋亡。T 淋巴细胞瘤 A1.1 为研究 Fas 和 FasL 的调控提供了一个非常有用的实验模型。

T 细胞抗原受体的激活信息传递过程非常复杂, 但可以简化为细胞内钙离子浓度的增加和 PKC 的激活两大方面。在 T 细胞杂交瘤 A1.1 中, 我们以 PMA 或 1-oleoyl-2-acetyl-sn-glycerol 激活 PKC, 能够诱导 Fas 的表达, 但不能诱导 FasL 的表达, 从而模拟了 TCR 信号。这种依赖于 PKC 的 Fas 表达亦可见于多种小鼠及人类肿瘤细胞系。应用 8-(diethylamino)-octyl-3, 4, 5-trimethoxybenzoatehydrochloride 阻断钙离子的重新分布, 能够阻断 TCR 信号诱导的 FasL 的表达, 而不能阻断 Fas 的表达, 因此, 可以认为 Fas 的表达不依赖于钙离子的动员。很有意义的是, TDAG51 这种新发现的 Fas 调节基因的表达, 亦依赖于 PKC 活性。PKC 活化只能诱导表达野生型 TDAG51 细胞的 Fas 表达。所以, 我们认为, Fas 表达可能为 PKC 通过 TDAG51 而调节<sup>[3]</sup>。

我们曾报道环孢霉素 A 对未分化 T 细胞激活所诱导的细胞死亡有抑制作用, 应用环孢霉素 A 通过抑制未成熟 T 细胞的 AICD 影响 T 细胞分化, 影响负选择机制, 从而使可发生自身免疫反应的 T 细胞进入外周淋巴器官。后来的研究发现, 环孢霉素 A 可以特异性抑制 FasL 的表达。环孢霉素 A 可以阻断细胞内钙离子浓度增加所引起的信号传递, 我们还发现 FasL 同时也受 PKC 活性的影响, PKC 抑制剂也可降低 FasL 的表达。我们的结果表明 Fas 的表达依赖于 PKC 的活性, 而 FasL 则受 PKC 和钙离子浓度两重调节。

以前, 我们证明了 *c-myc* 可以选择性影响细胞凋亡过程<sup>[4]</sup>。为研究 *c-myc* 的该作用和 Fas/FasL 表达的关系, 采用了 *c-myc* 的反义核苷酸和一种新发现的真菌代谢产物 FR901228。后者能特异性抑制纤维母细胞中 *c-myc* 的表达。我们发现 FR901228 能够有效的阻断 T 细胞杂交瘤的 AICD, 此与其抑制 *c-myc* 表达作用相关。FR901228 及 *c-myc* 反义寡核苷酸链均可抑制 FasL 的表达。这些处理不影响激活所诱导的 IL-2 的产生及 Fas 的表达。另外, FR901228 虽能抑制 3T3 细胞中 FasL 的表达, 却不能抑制转染了 *c-myc* 细胞 FasL 的表达, 表明 *c-myc* 在此过程中发挥特异性作用。因此, *c-myc* 在 FasL 的表达中发挥重要的调节作用, 而对 Fas 及 IL-2 的表

达无明显影响<sup>[5]</sup>。

目前已知某些外源性药物可以影响 Fas/FasL 的表达,如生理浓度的顺铂、丝裂霉素、甲氨喋呤、米托蒽醌、阿霉素和博来霉素可上调 Fas 及 FasL 的表达。我们的研究表明,用吗啡处理 T 细胞杂交瘤、初级小鼠脾细胞、人外周血淋巴细胞,能够在 mRNA 和蛋白水平诱导 Fas 的表达,但不能诱导 FasL 的表达。尽管吗啡处理的细胞仍具有活力,但一旦与抗 Fas 抗体或表达 FasL 的纤维母细胞共孵育,它们即发生凋亡。阿片类介导的 Fas 表达亦为体内实验所证实。给小鼠应用吗啡可诱导脾脏、肺和心脏中 Fas 表达的大幅度增加。而且,吗啡可大幅度减少脾脏淋巴细胞数量。特别是这种淋巴细胞减少可被可溶性 Fas 或抗 FasL 的单克隆抗体通过阻断 FasL 的作用而抑制。我们研究结果证明,阿片类可使通过诱导表达 Fas 使淋巴细胞发生凋亡。这些发现为进一步了解阿片类免疫抑制作用的效应打下了基础<sup>[6,7]</sup>。

我们对 Fas/FasL 的调控方面的研究表明,细胞内 Fas/FasL 的表达受不同的信号所调控。人为改变这些调控信号可能控制 Fas/FasL 的表达,从而达到控制和调节细胞凋亡的目的。

### 3 共刺激与淋巴细胞的凋亡

共刺激亦是细胞免疫学研究的热点之一。淋巴细胞的激活要求细胞表面抗原受体与抗原肽结合,同时还必需有其他受体感受另外的协同性刺激(又称共刺激)。共刺激对淋巴细胞的活化很重要。在小鼠脾脏 T 细胞的初次免疫反应中,如果没有共刺激信号,TCR 复合体的相互交连会导致 T 细胞的凋亡。但是,如果同时有 CD28 的交连,T 细胞则持续生长而无凋亡的发生。CD28 共刺激阻断凋亡的作用与 Bcl-XL 的增强表达有关,而 Bcl-2 转基因小鼠中 Bcl-2 的过度表达却不能起到保护作用。在上述两种情况下,初次反应后存活细胞均进入生长停止状态,如果有 CD28 与其配体的结合,则会有更多的细胞进入该状态。在二次反应中,这些细胞被重新激活,没有 CD28 共刺激的存活细胞在 TCR 信号下不能进一步增殖。相反,在初次反应如果同时予以 CD28 的共刺激,重新激活时便能很好地增殖。因此,CD28 的作用不仅在于反应初期活化静止 T 细胞,而且对于维持其在初次免疫反应中的活力和反应性非常重要。而且该结果进一步提示 Bcl-2 和 Bcl-XL 在不同的情况下调节 T 细胞的存活,其中,

Bcl-XL 在维持处于细胞周期中的激活的 T 细胞活力更为重要<sup>[8]</sup>。

我们还发现 CD28 在调节胸腺细胞 AICD 中具有新的作用<sup>[9]</sup>。体内或体内体外联合应用抗 CD28 抗体,能够阻断 TCR 复合体诱导的 CD4 + CD8 + 胸腺细胞的凋亡。长期予以抗 CD28 抗体,能够增加胸腺中 CD4、CD8 单阳性细胞的数量,而双阳性细胞无明显变化。而且,还会出现外周淋巴器官的极度增大,主要为 B 淋巴细胞增殖所致。脾脏中 CD4 + CD8 - T 细胞亦有轻度增加,而 CD4 - CD8 + T 细胞则无明显变化。除 CD28 外,另一种共刺激分子的受体 CTLA - 4,在功能上与 CD28 相拮抗,具有促进激活的淋巴细胞凋亡的作用。其促进凋亡是否是通过 Fas/FasL 的调控,还需进一步研究。最近, B7 家族又添新成员 B7-H1,据称,其不但可以刺激 T 细胞产生 IL-10,而且可以增加 T 细胞的凋亡<sup>[10]</sup>,从而提示共刺激不仅仅是刺激免疫细胞的激活,还在调节免疫细胞平衡中发挥重要作用。

目前,对免疫系统的凋亡研究方兴未艾。鉴于细胞凋亡在免疫系统的发育以及免疫反应的过程中起着决定性的作用,免疫系统凋亡的研究一方面可以加深我们对免疫系统诸多生理和病理现象的理解,另一方面,有望提出多种疾病的新的治疗方案。

### 参 考 文 献

- [1] Martinez-Lorenzo M J, Anel A, Gamen S et al. Activated human T cells release bioactive Fas ligand and APO2 ligand in microvesicles. *J. Immunol.*, 1999, **163**(3): 1 274—1 281.
- [2] Monleon I, Martinez-Lorenzo M J, Anel A et al. CD59 cross-linking induces secretion of APO2 ligand in overactivated human T cells. *Eur. J. Immunol.*, 2000, **30**(4): 1 078—1 087.
- [3] Wang R, Zhang L, Yin D et al. Protein kinase C regulates Fas (CD95/APO-1) expression. *J. Immunol.*, 1998, **161**: 2 201—2 207.
- [4] Shi Y, Bissonnette R P, Glynn J M et al. Inhibition of activation-induced apoptosis in T cell hybridomas by antisense oligodeoxynucleotides corresponding to c-myc. *Science*, 1992, **257**: 1 788—1 790.
- [5] Wang R, Brunner T, Zhang L et al. Fungal metabolite FR901228 inhibits c-Myc and Fas ligand expression. *Oncogene*, 1998, **17**: 1 503—1 508.
- [6] Yin DL, Mufson R A, Shi Y. Opioids induce the expression of the cell death receptor Fas. *Nature*, 1998, **397**: 218—220.
- [7] Yin D, Mufson R A, Wang R et al. Fas-mediated cell death promoted by opioids. *Nature*, 1999, **397**: 218.
- [8] Radvanyi L G, Shi Y, Vaziri H et al. CD28 costimulation inhibits TCR-induced apoptosis during a primary T cell response. *J. Immunol.*, 1996, **156**: 1 788—1 798.
- [9] Shi Y, Radvanyi L G, Sharma A et al. CD28-mediated signaling in vi-

vo prevents activation-induced apoptosis in the thymus and alters peripheral lymphocyte homeostasis. *J. Immunol.*, 1995, **155**:1 829—1 837.

[10] Dong Haidong, Zhu Gefeng, Koji Tamada et al. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nature Medicine*, 1999, **5**:1 365—1 368.

## APOPTOSIS IN THE IMMUNE SYSTEM

Fan Xiaoqiang    Wei Lixin    Shi Yufang

(*International Joint Cancer Institute, Second Military Medical University, Shanghai 200433*)

**Abstract** The authors reviewed their work on the function and regulation of Fas/FasL in the immune system, especially in the activation-induced cell death as well as their research on the relationship between co-stimulation and apoptosis in the system.

**Key words** apoptosis, Fas, FasL, immune system

·资料·信息·

### 海峡两岸昆虫学名词学术讨论会在北京召开

2000年5月9日,海峡两岸昆虫学名词学术讨论会在北京举行,来自祖国台湾的8位昆虫学科学家和祖国大陆20多位昆虫学科学家欢聚一堂,就海峡两岸昆虫学名词的统一(对照)进行研讨。国家自然科学基金委员会资助了这次会议。

海峡两岸长达半个世纪的分裂状况正是当代科学技术迅猛发展的时期,由于长期不交流,造成海峡两岸大量科技名词“同物异名”的状况,据统计,在高新技术领域,有近80%的科技名词不一致,在基础科学领域,也有约20%的名词不一致。海峡两岸本来是同文同种,现在却出现了语言障碍,给科技合作与交流带来很大的困难,国家的统一离不开语言的统一。因此,加强和促进海峡两岸在科技名词的统一(对照)工作更显得紧迫和必要,有着非常重要的意义。

近几年来,海峡两岸科技界的有识之士本着“积极交流,增进了解,择优选,统一为上,求同存异,逐步一致”的精神,按照“先急后缓,先易后难”和“新

词新办法,老词老办法”的方针,做了大量卓有成效的工作。目前,在全国科学技术名词审定委员会下属的53个分委员会中,天文、航海、大气、化学、物理、造船、测绘和昆虫等学科在海峡两岸科技名词的统一(对照)方面都取得了不同程度的进展,尤其是昆虫学科。近10年来,台湾昆虫学界有300多人次来大陆访问,大陆学者也有40多人次到台湾交流,彼此增进了了解,对两岸昆虫学名词的统一达成了共识。台湾昆虫学界就两岸昆虫学名词还成立了决策班子,成立了有40多名著名昆虫学家组成的委员会,台湾李国鼎科技发展基金会给予了经费的资助。在祖国大陆方面,国家自然科学基金委员会也给予了经费资助。经过海峡两岸昆虫学界的共同努力和有关机构的支持,海峡两岸昆虫学名词统一(对照)一书可望在2000年底前定稿,成为海峡两岸在科学技术名词统一(对照)方面的第一本书。

(国际合作局 汤锡芳 供稿)