

PD-1 及其配体在慢性病毒感染中的作用

陈定强 综述 郑伯建 审校

慢性病毒感染是严重威胁人类健康的世界性问题。据统计,仅由人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)引致慢性感染的人口即达 5 亿之多。慢性病毒感染的成因主要包括病毒迅速变异导致对机体的免疫逃避,以及人体内的特异性 T 细胞出现功能缺失而不能有效清除病毒。研究表明,后者可能与 T 细胞凋亡(apoptosis)、外周组织耐受(peripheral tolerance)和 T 细胞疲耗(exhaustion)等机制有关^[1]。T 细胞疲耗即激活的 T 细胞丧失了其作为效应细胞的功能,表现为增殖能力减弱,不能分泌细胞因子和失去细胞杀伤能力,从而无法清除病毒及其感染的细胞。慢性病毒感染中 T 细胞疲耗的分子机制一直未能得到很好的阐明,因此在疾病治疗上也难以调动人体自身的特异性 T 细胞从根本上消除病毒。近年来对 PD-1(programmed death 1)及其配体(ligand)的研究发现 PD-1 在调节 T 细胞功能的重要作用,揭示慢性病毒感染导致 T 细胞疲耗的关键机制。本文介绍 PD-1 及其配体在慢性病毒感染中的作用,和其在慢性感染研究及治疗工作的展望。

PD-1 及其配体简介

PD-1 最初是通过差减杂交从凋亡的胸腺 T 细胞分离得到的,因而得名,不过后续的研究并未发现 PD-1 与细胞凋亡有明显关联。它属于 CD28 家族,并与 CTLA-4 蛋白有 23% 的序列相似性。功能分析表明,PD-1 的胞质功能域包含 2 个酪氨酸信号传递基序(tyrosine signaling motif),磷酸化后可与酪氨酸磷酸化酶 SHP-2 结合,使下游效应分子如 Syk 和 PI3K 脱磷酸化,从而调节细胞的功能。PD-1 可在 CD4 T 细胞、CD8 T 细胞、自然杀伤性 T 细胞(NKT)、B 细胞和单核细胞等表面诱导表达^[2],因此在机体的免疫反应调节中扮演重要的角色。

PD-1 有 PD-L1(又名 B7-H1)和 PD-L2(又名 B7-

DC)2 种配体,它们都属于带有 IgV 样和 IgC 样功能域(IgV-like and IgC-like domains)的 I 型跨膜蛋白。PD-L1 在 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞和树突细胞中稳定表达,且其表达水平在这些细胞被激活后才能得到提高。PD-L1 还可被广泛诱导表达于多种组织器官的细胞表面^[3]。PD-L2 的表达则仅在激活的巨噬细胞和树突细胞中被检测到^[4]。由于 PD-L1 的广泛表达,它被认为是 PD-1 实现调节功能的最重要配体,该领域的研究也多集中于 PD-1 和 PD-L1 的相互作用上。

PD-1 及其配体对 T 细胞的负调节作用

与其他 CD28 家族蛋白一样,PD-1 与配体的结合仅在 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)与抗原结合时才发生信号转导。信号转导的结果使 TCR 信号途径中的分子脱磷酸化并失去信号传导能力,从而使 TCR/CD28 的信号传导减弱,T 细胞的各种免疫功能也因此削弱,甚至缺失。敲除 PD-1 基因的小鼠会产生自身免疫疾病,缺失 PD-L1 功能的小鼠则在病毒急性感染中不能像正常小鼠一样自愈,而是死于过度免疫反应导致的器官损害^[4]。这些证据显示,这种负调节作用的意义在于保护机体的正常组织和器官免受过度免疫反应的伤害。然而,这种负调节作用是 T 细胞出现功能缺失的重要原因。在许多肿瘤组织中,PD-L1 的高水平表达使肿瘤细胞能逃逸免疫反应的杀伤作用而继续增殖。许多病原体也利用宿主这种自我保护的机制,建立持续的慢性感染。

慢性病毒感染对 PD-1 及其配体表达的影响

Barber 等^[4]用淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)特异性的 T 细胞进行了全基因组的微阵列分析,发现疲耗的 T 细胞中 PD-1 的 mRNA 水平比正常 T 细胞高出几十倍。在以 LCMV 慢性感染小鼠为模型的实验中,他们进一步发现小鼠脾脏细胞的 PD-L1 的表达也比正常细胞有大幅提高,在病毒感染的细胞中尤为显著。该发现首次在分子水平上阐

作者单位:香港大学微生物系

通讯作者:郑伯建, E-mail: bzheng@hku. cc. hku. hk

明慢性病毒感染与 T 细胞疲耗之间的直接联系,具有重要的意义。随后,该发现在对 HIV 慢性感染病人的研究中得到了进一步证实。Day 等^[5]对约 500 个 HIV 慢性感染病人的特异性 T 细胞作了分析,发现 PD-1 的水平有明显升高;同时对血浆中病毒含量以及 CD4 T 细胞的数量作了对比研究,证实 PD-1 的表达与病情的发展显著相关。在另一份同时发表的研究报告中, Trautmann 等^[6]也通过相似的实验模型得到了相近的结论。

Muhlbauer 等^[7]用原代培养的人肝细胞作为模型,发现腺病毒感染的肝细胞 PD-L1 的表达比未感染病毒的肝细胞高出十几倍。他们同时比较了 2 种肝细胞系 Hep G2 和 Hep G2. 215 的 PD-L1 表达水平。整合了 HBV 基因组故能持续产生 HBV 的 Hep G2. 215 细胞有较高的 PD-L1 mRNA 量,而无 HBV 基因组整合的 Hep G2 中则检测不到 PD-L1 的表达。这些结果虽未在个体水平检测 HBV 慢性感染对 PD-L1 表达的影响,但对慢性乙型肝炎和 PD-1 传导途径的联系提供了重要的研究线索。

阻断 PD-1 信号传导途径对 疲耗 T 细胞功能的恢复

Barber 等^[4]用 PD-L1 特异性抗体对 LCMV 慢性感染的小鼠进行了 PD-1 至 PD-L1 信号传导途径的阻断,发现病毒特异性的 CD8 T 细胞反应得到加强。不仅 LCMV 特异的 CD8 T 细胞数量得到提升,这些细胞的一些功能,如 干扰素的分泌、细胞毒性等也得到一定程度的恢复。特异性 T 细胞功能的恢复使病毒感染得到控制,小鼠各器官的病毒滴度也明显下降了。更为重要的是,即使在缺少 CD4 T 细胞的辅助下,CD8 T 细胞的功能仍然能改善。这对慢性病毒感染,尤其是 HIV 慢性感染提供了颇具可行性的治疗方案。遵循这一思路,Day 等用 PD-L1 抗体对 PD-1 信号传导途径进行了阻断,发现 HIV 特异性 T 细胞的功能得到了改善,其增殖能力也有所恢复。在对 HCV 特异性疲耗 T 细胞的研究中,Urbani 等^[8]也对 PD-L1 进行了抗体介导的特异性阻断,发现随着抗体量的增加,特异性 T 细胞增殖也得到了有效恢复。尽管不同病人 T 细胞功能恢复的水平有所差异,但总体上都有明显改善。这些研究不仅在理论上阐明了 PD-1 信号途径在 T 细胞疲耗中的关键作用,更为它在慢性感染临床治疗上的应用开拓了很好的前景。

展望

虽然这些研究为慢性病毒感染的治疗指出了有效的药靶位点,但离 PD-L1 抗体作为临床治疗药物的使用仍有一段距离。PD-1 信号途径在保护机体免受免疫反应损伤中扮演重要角色,一旦受到阻断,很可能发生器官免疫伤害而导致严重的后果。PD-L1 缺陷小鼠在急性感染中死于自体免疫损伤就是一个很好的例子。在何种临床阶段用药、采用多大的剂量以及如何有效保护机体不受过度免疫反应的损害等,都是需要进一步探讨的问题。

除了临床治疗上的应用研究外,如何开发价格低廉、可长期有效且不良反应小的 PD-1 信号途径阻断药物,以替代昂贵的医疗抗体,也是迫切需要解决的问题。采用各种筛选方法寻找 PD-1 及其配体的小分子抑制剂,将会成为未来该领域研究的热点之一。另外,继续采用生物化学及免疫学研究技术对 PD-1 信号途径作进一步的阐明,将有助于发现更多的治疗靶位点;利用病毒学和细胞学的方法,研究各种特定病毒如何通过与宿主细胞的相互作用而改变 PD-1 信号途径,也会给各种病毒慢性感染的特异性治疗提供更多的理论依据。

参 考 文 献

1. Yao S, Chen L. Reviving exhausted T lymphocytes during chronic virus infection by B7-H1 blockade. *Trends Mol Med*, 2006, 12: 244 ~ 246
2. Greenwald RJ, Freeman G, Sharpe AH. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23: 515 ~ 548
3. Okazaki T, Honjo T. The PD-1-PD-L pathway in immunological tolerance. *Trends Immunol*, 2006, 27: 195 ~ 201
4. Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature*, 2006, 439: 682 ~ 687
5. Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T cell exhaustion and disease progression. *Nature*, 2006, 443: 350 ~ 354
6. Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, et al. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8⁺ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat Med*, 2006, 12: 1198 ~ 1202
7. Muhlbauer M, Fleck M, Schutz C, et al. PD-L1 is induced in hepatocytes by viral infection and by interferon alpha and gamma and mediates T cell apoptosis. *J Hepatol*, 2006, 45: 520 ~ 528
8. Urbani S, Amadei B, Tola D, et al. PD-1 expression in acute hepatitis C virus (HCV) infection is associated with HCV-specific CD8 exhaustion. *J Virol*, 2006, 80: 11398 ~ 11403

(收稿日期: 2007-02-15)