

断和治疗提供有力的支持。

参考文献

[1] 刘维薇,吕元. 蛋白质飞行时间质谱技术及其临床应用进展[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(5):363-367.

[2] 王晔茹,崔生辉,李凤琴. 基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱在沙门菌检测和鉴定分型中的应用研究[J]. 卫生研究,2008,37(6):685-689.

[3] 梁双花,王开正. SELDI-TOF-MS 技术诊断卵巢癌的系统评价[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(1):26-28.

[4] 赵学峰,王世鑫,涂植光. 应用 SELDI-TOF-MS 技术筛选矽尘暴露人群血清生物标记物和诊断决策树研究[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(6):492-495.

[5] 金宏伟,杨光,黄河清. 柱层析和 MALDI-TOF 质谱技术筛选食道癌血清标志多肽[J]. 检验医学,2009,24(11):792-795.

[6] 孙宗科,张伟,陈西平. 应用飞行时间质谱仪快速鉴定细菌的初步研究[J]. 卫生研究,2004,33(55):552-554.

[7] Bizzini A, Greub G. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification[J]. Clin Microbiol Infect, 2010,16(11):1614-1619.

[8] Ferreira L, Sánchez-Juanes F, González-Avila M, et al. Direct identification of urinary tract pathogens from urine samples by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2010,48(6):2110-2115.

[9] Emonet S, Shah HN, Cherkaoui A, et al. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology[J]. Clin Microbiol Infect, 2010,16(11):1604-1613.

[10] Edwards-Jones V, Claydon MA, Evason DJ, et al. Rapid discrimination between methicillin-sensitive and methicillin-resistant Staphylococcus aureus by intact cell mass spectrometry[J]. J Med Microbiol, 2000,49(3):295-300.

[11] Ferroni A, Suarez S, Beretti JL, et al. Real-time identification of bacteria and Candida species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2010,48(5):1542-1548.

[12] La Scola B, Raoult D. Direct identification of bacteria in positive blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry[J]. PLoS One, 2009,4(11):e8041.

[13] Christner M, Rohde H, Wolters M, et al. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by use of matrix-assisted laser desorption-ionization time of flight mass spectrometry fingerprinting[J]. J Clin Microbiol, 2010,48(5):1584-1591.

[14] Stevenson LG, Drake SK, Murray PR. Rapid identification of bacteria in positive blood culture broths by matrix-assisted laser de-

sorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. J Clin Microbiol, 2010,48(2):444-447.

[15] Prod'hom G, Bizzini A, Durussel C, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for direct bacterial identification from positive blood culture pellets[J]. J Clin Microbiol, 2010,48(4):1481-1483.

[16] Moussaoui W, Jaulhac B, Hoffmann AM, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry identifies 90% of bacteria directly from blood culture vials[J]. Clin Microbiol Infect, 2010,16(11):1631-1638.

[17] Liu H, Du Z, Wang J, et al. Universal sample preparation method for characterization of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry[J]. Appl Environ Microbiol, 2007,73(6):1899-1907.

[18] Marinach-Patrice C, Fekkar A, Atanasova R, et al. Rapid species diagnosis for invasive candidiasis using mass spectrometry[J]. PLoS One, 2010,25;5(1):e8862.

[19] Seng P, Drancourt M, Gouriet F, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Clin Infect Dis, 2009,49(4):543-551.

[20] Cherkaoui A, Hibbs J, Emonet S, et al. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level[J]. J Clin Microbiol, 2010,48(4):1169-1175.

[21] Majcherczyk PA, McKenna T, Moreillon P, et al. The discriminatory power of MALDI-TOF mass spectrometry to differentiate between isogenic teicoplanin-susceptible and teicoplanin-resistant strains of methicillin-resistant Staphylococcus aureus[J]. FEMS Microbiol Lett, 2006,255(2):233-239.

[22] Camara JE, Hays FA. Discrimination between wild-type and ampicillin-resistant Escherichia coli by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem, 2007,389(5):1633-1638.

[23] Marinach C, Alanio A, Palous M, et al. MALDI-TOF MS-based drug susceptibility testing of pathogens: the example of Candida albicans and fluconazole[J]. Proteomics, 2009,9(20):4627-4631.

[24] Bittar F, Ouchenane Z, Smati F, et al. MALDI-TOF-MS for rapid detection of staphylococcal Pantone-Valentine leukocidin[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009,34(5):467-470.

[25] 石桂英,孙宗科,陈西平. 应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱检测细菌耐药性的初步研究[J]. 卫生研究,2008,37(1):82-84.

(收稿日期:2011-01-21)

• 综 述 •

自噬和抗肿瘤免疫关系的研究进展

丁洁颖,胡水清 综述,陈福祥 审校

(上海交通大学医学院附属第九人民医院检验科 200011)

关键词:自噬; 炎症; 抗肿瘤免疫

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.032

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1725-04

自噬是真核细胞进化过程中相对固定的蛋白质降解途径。真核细胞通过自噬实现对长寿命蛋白质和细胞器的降解和重

复利用。自噬在维持真核细胞合成代谢和分解代谢的平衡作用上备受关注。肿瘤细胞普遍存在着合成代谢和分解代谢的

紊乱。针对自噬在肿瘤细胞发生、发展中的作用,研究发现,肿瘤细胞存在着自噬关键基因的缺陷,将自噬关键基因重新引入后,肿瘤细胞的生存能力下降^[1]。进一步研究揭示,自噬主要通过隔离受损细胞器,促进病变细胞分化,增强蛋白质的分解代谢,直接或间接地影响机体的免疫功能等机制发挥抗肿瘤作用。本文就自噬对机体免疫功能的影响来探讨自噬的抗肿瘤作用。

1 自噬的特性

1.1 自噬的分类 自噬主要分为 3 种类型:微自噬、分子伴侣蛋白介导的自噬和大自噬。微自噬主要由溶酶体内腔产生的包含溶酶体成分的小泡组成,机制尚不明。分子伴侣蛋白介导的自噬是通过 LAMP-2a 转运体将底物直接运送到溶酶体降解,其转运底物是单肽链,转运方式类似于蛋白质的跨膜转运。热休克蛋白 70(HSC70)等伴侣蛋白是 LAMP-2a 重要的协同蛋白^[2]。自大噬是胞质成分降解的主要途径。降解底物被包裹在双层杯状膜结构的自噬体中并与溶酶体融合,在溶酶体内降解自噬体膜及其内容物,降解产物能被细胞反复利用。此类自噬体的形成是自噬过程的关键。自噬信号传导入细胞后,哺乳动物西罗莫司作用的靶蛋白(mTOR)复合物活性降低使自噬相关蛋白 Atg13 去磷酸化并活化 Atg1。Atg1 活化后能招募 Vps34 和 Atg6 的结合,这种结合是膜结构形成的开始。其中 Atg8、Atg12-Atg5 对自噬体的形成至关重要。Atg8 被半胱氨酸酶 Atg4 切割并释放甘氨酸残基(G120)后具备硫酯键活性,在泛素激活酶(E1)样酶 Atg7、泛素连接酶(E2)样酶 Atg3 的共同作用下与磷脂酰乙醇胺(PE)连接,这个复合体被认为是自噬底物的锚定点。Atg12 则通过 C 末端甘氨酸残基(G140)和 Atg5 的赖氨酸残基结合,此反应由 E1 样酶 Atg7 和 E2 样酶 Atg10 活化,形成自噬前体,Atg12-Atg5 与 Atg16 形成复合物结合在自噬体外膜上^[3-4]。

1.2 自噬的信号传导途径 虽然自噬的具体信号传导途径不明,但是大量的实验表明,mTOR 复合物是自噬传导途径的关键点。各种信号途径均能通过 mTOR 复合物调节自噬的发生。其中对 mTOR 的调节主要包括磷酸酰肌醇 3 激酶-Akt 途径(PI3K-Akt 途径)^[5]、小三磷酸鸟苷(GTP)酶 Ras 途径^[6]、单磷酸腺苷(AMP)依赖的蛋白激酶(AMPK)途径^[7]等,这些信号途径的异常直接影响细胞自噬的正常发生。

1.2.1 PI3K-Akt 途径 细胞生长因子与相应生长因子活化受体酪氨酸激酶(RTKs)结合能激活 2 个主要的信号传导因子:小 GTP 酶 Ras 和 PI3K。胞内残存物质能启动Ⅲ型 PI3K,进一步活化下游靶蛋白 Akt,Akt 激活 mTOR,抑制自噬活性。在此信号途径中,抑制 PI3K 或 Akt 活性的蛋白均能活化自噬^[5]。

1.2.2 小 GTP 酶 Ras 途径 细胞生长因子与相应生长因子活化受体酪氨酸激酶(RTKs)结合能激活小 GTP 酶 Ras 途径。二磷酸鸟苷(GDP)和抑制性 G 蛋白 $\alpha 3$ 亚基(Gai3)的结合形式是自噬的启动形式。由小 GTP 酶活化蛋白(GAIP)水化 GTP 成为 GDP 能刺激自噬的产生。由 AGS3 基因表达的 GAIP 还能稳定 GDP 和 Gai3 的结合形式。GAIP 由 Ras-Raf-1-ERK1/2 信号系统调控的。活化的 Ras 结合 Raf-1、ERK1/2 能降低 mTOR 的活性介导自噬作用。在氨基酸缺乏的情况下,ERK1/2 能直接磷酸化 GAIP,刺激对 Gai3 的小 GTP 酶活性,启动自噬。然而这一信号途径能被 Akt 干扰。研究表明,生长因子受体活化能导致 ERK1/2 和 Akt 的活化。在这种情况下,虽然 ERK1/2 活化,但 GAIP 和自噬仍不能启动,因为

Akt 通过磷酸化使 Raf-1 失活^[6]。

1.2.3 AMPK 途径 AMPK 是一个异三聚体,包含 2 个 α 亚基、2 个 β 亚型、3 个 γ 亚基。 α 亚基起催化作用, β 亚型连接 α 、 γ 亚基和糖原结合区域。 γ 亚基能交替结合 2 个 AMP 或 ATP。AMP/ATP 比例的升高使 AMPK 的数量增加。AMPK 上游存在 LKB1,其磷酸化能活化 AMPK 活性残基 Thr172。Thr172 的磷酸化使 α 亚基的功能被激活。但孤立的 LKB1 不能激活 AMPK,与 2 个接头蛋白 STRAD 和 MO25 结合时才能激活 AMPK 激酶活性。STRAD 和 MO25 蛋白有 2 个同工型(α 、 β)存在于人类细胞中。LKB1 与每个蛋白 α 同工型的复合体有更强的 AMPK 激酶活性。除了加强 AMPK 活性,STRAD 和 MO25 也有定位 LKB1 于细胞质的作用。AMPK 的活化影响 mTOR 的活性,激活自噬^[7]。

而氨基酸缺乏或氮源缺乏时出现的 mTOR 活化则推测是由核糖体蛋白质 S6(p70S6)^[8] 和真核起始因子 4E 介导的^[9]。此外,研究表明海藻糖能通过非调节 mTOR 的方式激活自噬^[10],其对细胞自噬的改变有待进一步研究。

2 自噬参与的抗肿瘤免疫机制

2.1 自噬与抗微生物感染 现代研究表明,肿瘤和微生物感染有很大的相关性。在 3 种自噬类型中,抗微生物感染的自噬主要集中在对自大噬的研究上。早期实验观察到自噬能限制植物单链 RNA 烟草花叶病毒复制,而单链 RNA 外衣病毒引起的脑髓炎症状可随 Atg6 的高表达而改善^[10]。目前发现自大噬主要通过 3 种方式限制微生物对细胞的感染^[11]:第 1,自噬体将游离的细菌包被并转运到溶酶体中溶解。A 群链球菌、立克次体、产单核李斯特菌均被证实由自噬体吞噬并被溶酶体消化。第 2,自噬清除吞噬有细菌或寄生虫的吞噬体,如结核分枝杆菌。第 3,通过自噬递呈病毒核酸等病原体相关分子模式(PAMP)到 Toll 样受体(TLR)启动 I 型干扰素(INF)依赖的适应性免疫反应。最近的研究表明,自噬不仅能通过递呈 PAMP 启动 TLR 参与的免疫识别,而且 TLR 信号途径能通过激活自噬来清除病原体。此外,细胞因子途径如 IFN、肿瘤坏死因子(TNF- α)均能启动自噬的抗微生物感染能力。IFN I、II 在敏感细胞中介导自噬。在体内和体外,IFN I 信号途径介导的自噬能限制单纯疱疹病毒 HSV-1 的感染,而 IFN II 能通过自噬增强结核分枝杆菌和立克次氏体在感染细胞中的降解^[12]。

2.2 自噬与慢性炎症反应 自噬可通过固有免疫系统和适应性免疫系统来干预慢性炎症反应的进程。

在固有免疫方面,自噬主要通过 TLR 参与慢性炎症反应的调控。有研究发现,小鼠巨噬细胞吞噬外源性微粒活化 TLR 后,能将 Atg8 募集到吞噬体^[11]。Xu 等^[13]发现自噬能通过 TLR4-TRIF-RIP1-p38MAPK 途径参与 TLR 对炎症反应的调节,其中受体相关蛋白(RIP1)是一个关键因子。RIP1 能够决定是否通过 C-Jun 氨基端激酶(JNK)途径启动自噬。数据表明,由脂多糖(LPS)介导的自噬需要 8~16 h(细胞营养缺乏时产生的自噬只要 1~2 h),这种自噬体形成的延迟反应可能与细胞的吞噬相关联。在炎症反应中,吞噬和自噬有序展开。吞噬将病原体内化,自噬体成熟并与吞噬体融合,最后被溶酶体降解。Delgado 等^[14]发现一些 PAMP 包括单链 RNA(ssRNA)和咪喹莫特能介导自噬,而这些 PAMP 能结合相应的 TLR。包含未甲基化的胞嘧啶磷酸鸟嘌呤(CpG)功能域的细菌 DNA 能被 TLR9 识别为炎症信号。现在 CpG-ODN 被应用于前期临床试验,通过免疫介导的抗肿瘤效应来治疗各类肿

瘤。CpG 介导的自噬的精细调节机制不明,但 CpG 可能与胞质的甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)升高刺激 Atg12 表达相关。另一种联系自噬和慢性炎症反应的是自噬对凋亡细胞的清除。异常细胞如未能及时被凋亡清除,则引起局部组织的炎症反应。Qu 等^[15]发现在 Atg5^{-/-}患者死亡的红细胞不能表达清除信号。这种功能的缺陷导致组织中炎症反应的持续发生和凋亡细胞的清除障碍。

在适应性免疫方面,自噬主要通过抗原递呈参与对炎症反应的调节。除了限制病原体的复制外,自噬也能将病毒、细菌和寄生虫的抗原递呈给吞噬体^[16]。大自噬和分子伴侣蛋白介导自噬的转运体能将抗原转运入主要组织相容性复合体(MHC)Ⅱ装载体(MⅡCs)。同时 MHC Ⅱ类分子也能通过自噬递呈内源性抗原。糜酶(CMA)能降解 MHC Ⅱ类抗原递呈的主要蛋白。此外,2 种哺乳动物 Atg8 同型物被分别从人和鼠的 MHC Ⅱ分子上分离出来^[17]。这些数据表明大自噬和 CMA 参与 MHC Ⅱ类分子的胞内抗原递呈。由于自噬能在胸腺和外周的专职和非专职抗原递呈细胞上递呈存在内源性抗原的 MHC Ⅱ类分子,所以对 CD4⁺ T 细胞的中枢和外周免疫耐受起较大的作用。在克罗恩病患者中,这种机制可能被损坏。对单链构象多态性研究发现,Atg16L1 基因(T300A 变异体)是克罗恩病的新危险因子^[18]。虽然研究尚未表明这些变异体是如何导致自噬作用缺陷,推测 Atg16 的变异体可能损伤了对入侵细菌的固有免疫抵抗,使得过量的抗原触发了炎症反应,或是变异体对肠道内自体抗原和共生物的自身免疫耐受不足。研究表明,病毒和肿瘤抗原在自噬途径完整的情况下能更有效地促进抗原递呈细胞(APC)的 MHC 交叉递呈以激活 CD8⁺ T 细胞。该研究证实甲型流感病毒感染凋亡缺陷的鼠胚胎成纤维细胞(Bax/Bak^{-/-})比野生型细胞具有更强的交叉递呈效率。利用小干扰 RNA(siRNA)沉默 Atg5 产物时,这种交叉递呈活跃的表现被抑制。而利用 siRNA 沉默 Atg6 和 Atg12 产物时,黑色素瘤细胞系对黑色素细胞分化抗原 gp100 的交叉递呈被抑制^[19]。

2.3 自噬与抑癌基因 在细胞肿瘤化的过程中,肿瘤细胞通常会出现 DNA 损伤、自分泌生长因子或生长因子受体高表达等特征。细胞中的抑癌基因则会通过激活自噬来清除这些细胞。生长因子高表达时,生长因子活化受体(PTRs)能激活 2 种关键的信号转导分子:小 GTP 酶 Ras 和 PI3K。抑制 Ras 和 PI3K 能活化 mTOR 以刺激细胞生长和抑制自噬。当这 2 个关键成分的调控因子发生突变,或者其下游效应分子突变,又或者这些蛋白的负调节因子的基因改变均能诱发肿瘤。抑癌基因 P53 能活化一种介导自噬的基因。研究发现,P53 依赖的自噬能在 DNA 损伤、Arf 激活的细胞中出现。但最近发现在 P53 失活或抑制时仍能触发自噬,这种现象在一些肿瘤细胞中较普遍。研究进一步证实,核内的 P53 激活 P53 依赖的自噬,而胞质内的 P53 是自噬的抑制剂^[20]。

自噬过程中 Beclin1 基因活化也被认为具有抑制肿瘤的作用。其编码 Beclin1 与 Ambra-1、Bif、耐紫外线辐射相关基因编码蛋白(UVRAG)等结合活化 Vps34 蛋白激活自噬。其中 Beclin1 和 UVRAG 具有肿瘤抑制的作用,两者的无意义突变常发现于胃肠道肿瘤^[21],其具体机制的研究有待进一步深入。

死亡相关蛋白激酶 1(DAPK-1)是另一种肿瘤抑制成分,某些肿瘤细胞中 DAPK-1 甲基化而失活。DAPK-1 能通过独立的机制介导自噬和凋亡,特别是在细胞缺乏氨基酸时,

DAPK-1 激活微管相关蛋白(MAP1B)能激活 Atg8^[22]。

3 结 语

肿瘤的发生与微生物感染、慢性炎症损伤及基因损伤相关。而自噬能通过多种途径抑制致肿瘤微生物的生长、调控慢性炎症反应引起的致癌作用、早期激活抑癌基因清除肿瘤细胞。因此,自噬的激活途径及调控途径应成为自噬研究的方向。目前,较多的研究致力于通过诱导肿瘤细胞的自噬性死亡以治疗肿瘤^[23-24]。笔者认为,诱导肿瘤细胞的自噬性死亡与提高自噬导致的抗肿瘤免疫反应同时成为自噬治疗肿瘤的新方向。如何激活自噬打破肿瘤细胞的生长平衡以发挥其抗肿瘤作用将为肿瘤治疗带来新的曙光。

参考文献

- [1] Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth[J]. Nature, 2006, 441(7092): 424-430.
- [2] Massey A, Kiffin R, Cuervo AM. Pathophysiology of chaperone-mediated autophagy[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(12): 2420-2434.
- [3] Levine B, Klionsky DJ. Development by selfdigestion: molecular mechanisms and biological functions of autophagy[J]. Dev Cell, 2004, 6(4): 463-477.
- [4] Maiuri MC, Zalckvar E, Kimchi A, et al. Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(9): 741-752.
- [5] Baehrecke EH. Autophagy: dual roles in life and death[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005, 6(6): 505-510.
- [6] Gohla A, Klement K, Piekorz RP, et al. An obligatory requirement for the heterotrimeric G protein G_i in the antiautophagic action of insulin in the liver[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(8): 3003-3008.
- [7] Lippai M, Csikós G, Maróy P, et al. NF4 Agamma, the Drosophila AMPK gamma subunit is required for regulation of developmental and stress-induced autophagy[J]. Autophagy, 2008, 4(4): 476-486.
- [8] Blommaert EF, Luiken JJ, Blommaert PJ, et al. Phosphorylation of ribosomal protein S6 is inhibitory for autophagy in isolated rat hepatocytes[J]. J Bio Chem, 1995, 270(5): 2320-2326.
- [9] Balakumaran BS, Porrello A, Hsu DS, et al. MYC activity mitigates response to rapamycin in prostate cancer through eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1-mediated inhibition of autophagy[J]. Cancer Res, 2009, 69(19): 7803-7810.
- [10] Sarkar S, Davies JE, Huang Z, et al. Trehalose, a novel mTOR-independent autophagy enhancer, accelerates the clearance of mutant huntingtin and alpha-synuclein[J]. J Biol Chem, 2007, 282(8): 5641-5652.
- [11] Schmid D, Münz C. Innate and adaptive immunity through autophagy[J]. Immunity, 2007, 27(1): 11-21.
- [12] Lünemann JD, Münz C. Autophagy in CD4⁺ T-cell immunity and tolerance[J]. Cell Death Differ, 2009, 16(1): 79-86.
- [13] Xu Y, Kim SO, Li Y, et al. Autophagy contributes to caspase-independent macrophage cell death[J]. J Biol Chem, 2006, 281(28): 19179-19187.
- [14] Delgado MA, Elmaoued RA, Davis AS, et al. Toll-like receptors control autophagy[J]. J EMBO, 2008, 27(7): 1110-1121.
- [15] Qu X, Zou Z, Sun Q, et al. Autophagy gene-dependent clearance of apoptotic cells during embryonic development[J]. Cell, 2007, 128(5): 931-946.

[16] Brazil MI, Weiss S, Stockinger B. Excessive degradation of intracellular protein in macrophages prevents presentation in the context of major histocompatibility complex class II molecules[J]. Eur J Immunol, 1997, 27(6):1506-1514.

[17] Suri A, Walters JJ, Rohrs HW, et al. First signature of islet beta-cell-derived naturally processed peptides selected by diabetogenic class II MHC molecules[J]. J Immunol, 2008, 180(6):3849-3856.

[18] Rioux JD, Xavier RJ, Taylor KD, et al. A Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn's disease and implicates autophagy in disease pathogenesis[J]. Nat Genet, 2007, 39(5):596-604.

[19] Münz C. Antigen processing for MHC presentation by autophagy[J]. F1000 Biol Rep, 2010, 2:61.

[20] Maiuri MC, Tasdemir E, Criollo A, et al. Control of autophagy by oncogenes and tumor suppressor genes[J]. Cell Death Differ, 2009, 16(1):87-93.

[21] Chen N, Karantza V. Autophagy as a therapeutic target in cancer[J]. Cancer Biol Ther, 2011, 11(2):157-168.

[22] Harrison B, Kraus M, Burch L, et al. DAPK-1 binding to a linear peptide motif in MAP-1B stimulates autophagy and membrane blebbing[J]. J Biol Chem, 2008, 283(15):9999-10014.

[23] Edinger AL, Thompson CB. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy[J]. Curr Opin Cell Biol, 2004, 16(6):663-669.

[24] Mujumdar N, Saluja AK. Autophagy in pancreatic cancer[J]. Autophagy, 2010, 6(7):997-998.

(收稿日期:2011-02-11)

• 综 述 •

EV71 感染致手足口病对机体免疫功能影响的研究进展

王倩倩 综述, 许红梅 审校
(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科 400014)

关键词:手足口病; 免疫; 研究
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.033 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2011)15-1728-02

手足口病(HFMD)是由多种肠道病毒引起的常见传染病,多发于5岁以下婴幼儿,以发热和手、足、口腔等部位的皮疹、疱疹或溃疡为主要特征,大多数患者症状轻微,个别患儿可出现心肌炎、肺水肿、无菌性脑膜炎等严重并发症。HFMD在不同地区、不同年代,流行的病毒有所不同,上世纪70年代以前以柯萨奇病毒A组16型(CoxA16)为主,此后肠道病毒71型(EV71)感染与CoxA16感染交替出现,成为HFMD的主要病原体。EV71感染引起重症病例的比例较高。

1 EV71 及其感染所致 HFMD

EV71已被公认为是继脊髓灰质炎病毒被消灭以后最重要的嗜神经性肠道病毒^[1],为小RNA病毒科,肠道病毒属。病毒基因组为7408个核苷酸的单链正向RNA,基因组中仅有1个开放阅读框,编码含2194个氨基酸的多聚蛋白,根据病毒衣壳蛋白VP1核苷酸序列的差异,可将EV71分为A、B、C3个基因型,其中B型和C型又进一步分为B1、B2以及C1、C2、C3、C4亚型^[2]。中国台湾及大陆各地以EV71-C4亚型为流行株。蔡丽君和许红梅^[3]对2009年重庆地区HFMD患儿进行病原学研究,发现63% HFMD为EV71所致,对EV71进行分离、鉴定、测序、同源性分析也显示其为C4亚型。

EV71所致HFMD全年均可发病,以5~7月为高峰季节,无地域性限制,潜伏期2~10 d,平均3~5 d。传染源可为患者、隐性感染及健康带毒者;传播途径多,可经消化道、呼吸道及直接接触传播,故常引起聚集甚至难以控制的流行^[4];主要感染对象是学龄前儿童。患者发病前几天就有传染性,发病后1周内传染性最强,病毒可持续存在于患儿的口鼻分泌物中达3~4周,肠道排病毒则可持续6~8周。临床上常引起脑炎、无菌性脑膜炎、急性迟缓性瘫痪、HFMD、疱疹性咽峡炎、急性出血性结膜炎等,其中以HFMD及疱疹性咽峡炎最为常见。EV71对中枢神经系统有极高的感染性,较其他肠道病毒感染病程进展快、病情重、预后差,并发脑干脑炎者,可迅速发生神经源性肺水肿、肺出血以及广泛脑干损害而死亡^[5]。Lin等^[6]

对台湾EV71感染死亡患儿研究发现,中枢神经系统病变部位有EV71及淋巴细胞存在,这一现象在感染小鼠的动物模型中得到证实^[7],说明病毒侵犯组织是始动因素。

2 EV71 感染对机体免疫功能的影响

EV71感染所致HFMD患儿出现细胞免疫、体液免疫和先天性免疫功能紊乱,并与疾病的严重程度有关^[2,8]。

2.1 EV71感染对细胞免疫的影响 细胞免疫的主要细胞是T细胞,在肠道病毒感染后的免疫发病机制中起介导作用。其中,CD4⁺T淋巴细胞又称为辅助性T淋巴细胞(Th),它通过其分泌的细胞因子和表达的分子调节免疫网络中其他细胞的生物学活性,在调节免疫系统中具有重要的作用,对免疫反应的启动、最终表现形式和强弱起着关键作用。CD8⁺T淋巴细胞又称为细胞毒性T淋巴细胞(CTL),其最重要的功能是直接杀伤靶抗原(如病毒和肿瘤细胞等)^[9]。在正常情况下,CD4⁺和CD8⁺T淋巴细胞起到了T细胞的免疫调节作用,两者的协调维持了机体的正常免疫。

有研究表明,EV71感染患儿的CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞增多,CD4⁺/CD8⁺比值降低^[10]。Wang等^[11]的研究显示,EV71感染并发脑干脑炎(尤其是伴肺水肿)患儿的CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞明显降低。Chen等^[12]进行的体外研究显示,EV71可直接感染T淋巴细胞,并激活其Fas配体表达及诱导凋亡。提示HFMD患儿出现细胞免疫功能紊乱^[10]。

2.2 EV71感染对体液免疫的影响 在肠道病毒感染中,体液免疫系统具有免疫监视与防御病毒感染的作用,是机体的特异性免疫的重要组成部分^[13]。体液免疫的主要细胞是B淋巴细胞。在B淋巴细胞表面的多种受体中,膜表面免疫球蛋白(SmIg)为B淋巴细胞所特有,未成熟的幼稚B淋巴细胞多为SmIgM(+)和SmIgD(+),成熟的B淋巴细胞多为SmIgG(+),SmIgA(+)或SmIgD(+)^[14]。有研究表明HFMD患儿血清IgG、IgA水平降低,IgM水平明显升高,但补体C3及C4水平无显著变化^[15]。数个研究显示,脑干脑炎(尤其是伴肺水