

and interleukin-12 predict early, spontaneous hepatitis B virus e antigen seroconversion[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(1): 165-172.

[24] 俞富军, 何生松, 张淑玲, 等. IL-12 和 IL-4 水平对观察和预测拉米夫定治疗乙肝病毒感染中发生 YMDD 变异的意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2005, 13(12): 1460-1462.

[25] Berraondo P, Prieto J, Gonzalez-Aseguinolaza G. *Advances in in-*

terleukin-12 gene therapy for acquired liver diseases[J]. *Curr Gene Ther*, 2009, 9(2): 62-71.

[26] Carreno V, Zeuzem S, Hopf U, et al. A phase I/II study of recombinant human interleukin-12 in patients with chronic hepatitis B[J]. *J Hepatol*, 2000, 32(2): 317-324.

(收稿日期: 2011-10-08)

• 综 述 •

## 共刺激分子与类风湿关节炎

罗培欣 综述, 张莉萍<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第一医院检验科 400016)

**关键词:** 类风湿, 关节炎; 共刺激分子; 可溶性共刺激分子

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.02.025

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2012)02-0186-03

共刺激/抑制分子为 T 细胞提供正性和负性信号, 调控 T 细胞的活化、增殖、分化和功能成熟, 在 T 细胞的动态平衡中起重要的作用<sup>[1]</sup>。它们的表达失衡可能导致免疫性疾病的发生: ①共刺激分子如 CD28, 可诱导共刺激分子(ICOS)的上调, 有持续活化 T 细胞的能力; ②负调节因子如细胞毒性 T 细胞相关抗原 4 (CTLA-4), 程序性死亡蛋白 1 (PD-1) 的表达紊乱以及这些分子的可溶形式的功能拮抗导致免疫耐受的失调。虽然类风湿关节炎(RA)等常见的自身免疫性疾病的发病机制尚未明确, 但是近 1/4 个世纪的实验研究证明了共刺激/抑制信号参与了自身免疫性疾病的免疫调节紊乱。最近发现共刺激/抑制分子的可溶形式在一些自身免疫性疾病中特异地表达, 可能成为新的免疫学标记。而以共刺激信号通路为靶, 也为 RA 的治疗提供了新的思路。本文现就共刺激/抑制分子在 RA 的发病机制中的研究以及临床应用前景作一综述, 着重追踪了可溶性共刺激分子在 RA 等自身免疫性疾病中的新发现。

### 1 B7-1(CD80)/B7-2(CD86); CD28/CTLA-4(CD152)

T 细胞上的 CD28/CTLA-4 (CD152) 与抗原提呈细胞 (APC) 表面的天然配体 B7 分子家族成员 B7-1(CD80) 和 B7-2 (CD86) 是目前发现的最为重要的共刺激分子。CD28 表达于几乎所有 CD4<sup>+</sup> T 细胞和大约 50% 的 CD8<sup>+</sup> T 细胞。CTLA-4 在静息的 T 细胞上很低表达或测不出, 只在活化的 Th 细胞上表达。许多研究都显示 CD28 是最早表达的共刺激分子, 它促进 T 细胞的增殖, 调节 IL-2 和抗凋亡因子(如 Bcl-xL) 的产生, 也促进包括 ICOS、OX40、4-1BB 等其他共刺激分子的表达, 从而共同增强或是维持免疫反应<sup>[1]</sup>。相反, CTLA-4 对 T 细胞活化起负性调节作用。其抑制作用是通过改变它的外功能区的大小与 CD28 竞争配体 B7 以及通过它的胞内域传递负向信号而实现的<sup>[2]</sup>。

许多体内外实验均发现, RA 的发生和发展与 CD28/CTLA-4 的异常密切相关。RA 中调节性 T 细胞(Treg) 表达的 CTLA-4 明显减少, 且 CTLA-4 的胞内摄取作用增加, 其发挥的调节功能是受限的<sup>[3]</sup>。多项用 CTLA-4 Ig 治疗 CIA 模型(胶原诱发性关节炎、类风湿关节炎的动物模型) 的实验发现, 其能特异地同 B7 分子结合阻断共刺激信号而诱导免疫耐受, 使 II 型胶原抗体下降且不出现明显的病理改变。在对不同人种的 RA 基因多态性研究中显示 CD28 的单核苷酸多态性

(SNPs) 可能与 RA 的风险有关。但是 CTLA-4 的 SNP 与 RA 的易感性在一些研究中显示无显著的关系。

T 细胞共刺激信号作为治疗 RA 等自身免疫性疾病的重要靶点一直是研究的热点。这些努力在 Abatacept 于 2005 年被 FDA 批准用于治疗中到重度的 RA 而达到了高潮。Abatacept 是一种选择性 T 细胞共刺激调节因子, 其与 CD80/86 高亲和, 就如同天然的 CTLA-4 一样, 序贯阻止 T 细胞活化的下游事件的产生。近期治疗 RA 的实验研究还在共刺激通路中不断地进行探索, 如靶向 DNA 疫苗<sup>[4]</sup>、重组蛋白 Hph-1-ctCTLA-4<sup>[5]</sup>, 均在动物实验中证明有希望成为 RA 的治疗方法。

sCTLA-4 在静息的 T 细胞上表达且释放到血浆, 它可能通过阻断 CD80/CD86 与 CTLA-4 的相互作用, 从而干扰抑制信号的传递, 也可能直接干扰 B7:CD28 介导的 T 细胞活化, 有研究还发现, sCTLA-4 对免疫细胞的氨基酸代谢产生影响, 其有趣的调节稳态的作用还有待进一步的研究。sCTLA-4 在几种自身免疫疾病如系统性红斑狼疮(SLE)、重症肌无力等中增高, 可能成为自身免疫性疾病的潜在标志物。但有些研究却没有发现 sCTLA-4 在 RA 患者血清或关节滑膜液(SF) 中升高<sup>[6]</sup>。

### 2 PD-L1(B7-H1, CD274)/PD-L2 (B7-DC, CD273); PD-1

PD-1 是与 CD28 类似的免疫球蛋白超家族的成员。静息的 T 细胞表达低水平的 PD-1, 在活化后能被诱导表达。PD-1 的配体为 B7 家族成员 PD-L1 (PD ligand-1, B7-H1, CD274) 和 PD-L2 (B7-DC, CD273)。PD-1 在调节 T 细胞耐受中起关键作用, 早期即有研究发现 PD-1(-/-) 小鼠发展成为进行性的狼疮样自身免疫性增生性关节炎和有 IgG3 沉积的肾小球肾炎<sup>[7]</sup>。

PD-1/PDL-1 通路可能与 RA 的发病机制有关。PD-1 (-/-) 实验小鼠 CIA 的发病率和严重程度显著增加, 且和 II 型胶原反应的 T 细胞增殖和细胞因子(如 IFN- $\gamma$ 、IL-17) 的产生增多有关<sup>[8]</sup>。在一些人类基因多态性研究中, PD-1 的 SNPs 也被证明与 RA 的易感性相关。最近的实验研究给予 CIA 模型小鼠 PDL-Ig 或是 PDL-1, Fc 治疗后均显示可减少 T 细胞反应和改善 CIA<sup>[8-9]</sup>, 也证明该通路可能是治疗 RA 的另一个免疫调节靶点。但有些实验却发现, PD-1、PD-L1 等共抑制分子在滑膜组织及滑液 T 细胞、巨噬细胞上过表达<sup>[6, 8]</sup>, 这

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: liuzhangcq@yahoo.com.

一观察结果的原因尚不明确。

除了全长的膜结合 PD-1, PD-1 也有许多种可变剪接形式是值得关注的。其可溶形式(sPD-1)可能通过拮抗 mPD-1 阻断 PD-1 信号起到保护 T 细胞不受到凋亡的作用。Wan 等在 RA 患者血清及 SF 中均发现 sPD-1 和 sPD-1L1 的高表达, 更有趣的是血清中其浓度与 RF 的滴度相关, 而与其他实验室参数如 CRP、ESR 无关<sup>[6]</sup>, 故其可能成为局部炎症的生物标记。

### 3 B7-H3(CD276); B7-H3R (未知受体)

B7-H3 为 B7 家族成员。B7-H3 受体尚未确定, B7-H3Ig 结合于活化而不是静息的 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞, 提示其受体表达在活化的 T 细胞上。B7-H3 的作用迄今尚无统一的定论。最早的几项研究均显示 B7-H3 表现出促进 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 细胞的增殖和选择性上调 IFN- $\gamma$ 、IL-10 的分泌。但也有证据支持 B7-H3 对 T 细胞的活化起负性调节的作用, Suh 等<sup>[10]</sup>报道了 B7-H3 敲除的小鼠气道高反应性增加, 且实验性脑脊髓炎的发生提前。和其他 B7 家族成员一样, B7-H3 可能存在两种功能相反的受体, 同时能介导协调刺激效应和抑制效应。

RA 的成纤维细胞样滑膜细胞 (FLS) 和其他组织的成纤维细胞上不表达经典的 CD80 或 CD86, 却组成性的、选择性的在体内体外高表达 B7-H3<sup>[11]</sup>, 且它不受各种细胞因子的影响, B7-H3 介导 FLS/T 细胞的相互作用暗示这个分子在滑膜炎的病理机制过程中有独特而重要的作用。RA 中 B7-H3 同样表现出刺激或是抑制的双重作用, 并观察到 B7-H3 对 RA 的 FLS 和 T 细胞相互作用是基于 T 细胞的活化状态, 可能是静息的 T 细胞主要表达 B7-H3 的抑制性受体, 活化的 T 细胞可能主要表达 B7-H3 的活化受体。

sB7-H3 在所有健康人血清样本上均有高表达<sup>[12]</sup>, sB7-H3 可以与活化 T 细胞上的 B7-H3R 连接, 证明 sB7-H3 是有活性的。循环中的 sB7-H3 的功能可能与一些疾病有关, sB7-H3 的水平也可能成为评估免疫状态的生物标记。

### 4 HVEM; BTLA/CD160/LIGHT

单纯疱疹病毒侵入介质 (HVEM) 是一个肿瘤坏死因子受体超家族成员, 最初被认为是 1 型单纯疱疹病毒 (HSV-1) 的受体。除了与病毒入侵有关外, HVEM 在共刺激通路上的受体包括单纯疱疹病毒糖蛋白 D, 淋巴毒素  $\alpha$  (LT $\alpha$ ), BTLA (B、T 细胞活化因子), LIGHT (可诱导表达的, 可与 HSV 的包膜糖蛋白 D 竞争结合 HVEM 受体的淋巴毒素的同源体) 及 CD160。HVEM 是一个调节 T 细胞活化的双向开关, 其刺激和抑制信号的产生有赖于与受体的连接<sup>[13]</sup>。

许多研究证明了 BTLA 及 CD160 作为抑制性受体通过与 HVEM 连接及相互作用对预防自身免疫性疾病的发生起作用。在不同人群中对 BTLA 的基因研究也发现其与 RA 的易感性有关, 证明了 BTLA 的异常与 RA 的发病机制有关。另一受体 LIGHT 与 HVEM 连接被证明传递共刺激信号。Pierer 等<sup>[14]</sup>发现了 LIGHT mRNA 在 RA 的滑膜组织上表达, 而在骨关节炎 (OA) 上未发现。LIGHT/HVEM 也可能成为 RA 等自身免疫性疾病的治疗靶点。

用 ELISA 检测在多种自身免疫学疾病的血清中发现 sHVEM 的升高, 包括 RA 在内。另有研究也发现 sLIGHT 在 RA 关节滑液中的表达比 OA 中高<sup>[14]</sup>。sHVEM、sLIGHT 可能对特定的免疫性疾病的诊断和评估预后起作用。

### 5 B7h(B7RP-1, B7-H2, CD275, ICOSL); ICOS(CD278)

ICOS(CD278) 是 CD28 家族的另一个共刺激成员, 只诱导表达于活化的 T 细胞。ICOS 的配体, ICOS-L(CD275, B7RP-

1, B7-H2) 在 B 细胞和树突突细胞上高表达。但在最近的研究证明, B7-H2 也是人的 CD28 和 CTLA-4 的配体<sup>[15]</sup>。累积的研究证据表明 ICOS 和 ICOS-L 的相互作用对于 T-B 细胞的共同刺激、CD40 介导的免疫球蛋白种类转换重组起重要作用, 同时也调节 Th17 细胞的产生、调节性 T 细胞 (Treg) 的分化和 iNKT 细胞的稳态。虽然许多研究认为 ICOS 是免疫反应的正刺激因子, 但是 ICOS 的缺陷也被发现与自身免疫性疾病的发生有重要的关系。如目前报道的人类 ICOS 缺陷的病例中发现, 除了免疫缺陷病外, ICOS 缺陷的患者还出现了包括 RA、炎症性肠病和间质性肺炎等自身免疫性疾病<sup>[16]</sup>。

在对 RA 的研究中发现 ICOS 在活化的 T 细胞上高表达。在多个独立实验中用抗体阻断 ICOS 与其配体的相互作用, 可减少促炎症因子的产生、抗体的形成和显著减弱关节炎的严重程度, 还可以减少 CIA 模型小鼠的引流淋巴结和脾的滤泡辅助 T 细胞和生发中心 B 细胞的数量<sup>[17]</sup>。因此, ICOS 对 RA 的发生发展有密切的关系, 虽然阻止全身的 ICOS/ICOS-L 相互作用因为其产生副作用而未被证明是可行的, 但局部抑制滑膜内的 ICOS/ICOS-L 被认为是可行的治疗选择。

在对 SLE 的可溶性共刺激分子浓度的测定发现, ICOSL 血浆浓度与 SLE 的活跃程度相关<sup>[18]</sup>。但尚无 ICOSL/ICOS 的可溶形式在 RA 的研究。

### 6 OX40L(CD252, TNFSF4)/OX40(CD134, TNFRSF4)

OX40 (也叫 ACT35, CD134, TNFRSF4) 为肿瘤坏死因子受体超家族的成员。OX40 在活化的 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 细胞中同时被诱导, 但在静息的 T 细胞上没有被发现。OX40 的配体, OX40L (gp34, CD252, TNFSF4) 结构上与其他 TNF 超家族成员相似。像 CD28 一样, OX40 调节细胞内信号, 包括诱导 PI3K/Akt, NF- $\kappa$ B, JNK 和 p38 MAPK 的活化, 在对效应和记忆 T 细胞的生存和稳态中起关键作用<sup>[19]</sup>。

在 RA 患者的外周血中发现, OX40 在 CD4<sup>+</sup> T 细胞中表达增加, 且其与血清 CRP 水平呈正相关。另有发现 OX40 在 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 滑膜 T 细胞中均有表达, 且在 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达更高, 其水平与疾病的活化程度相关, 在 RA 的滑膜中表达 OX40L 的细胞同样可见<sup>[20]</sup>。虽然 OX40 和 OX40L 的表达在 RA 滑膜中增加, 但其介导的免疫反应作用尚不明确。动物模型实验中, 通过阻止 OX40 和 OX40L 间相互反应的研究被证明是可以极大地改善致敏老鼠的胶原诱导性关节炎的严重性。因此, 去除或中和 OX40 和 OX40L 的相互作用可能成为治疗手段。

sOX40 在多种自身免疫性疾病和肿瘤中被发现。但还尚未明确 sOX40 在 RA 等自身免疫性疾病中的作用。

## 7 结 语

类风湿关节炎为常见的自身免疫性疾病, 免疫调节的紊乱被认为是 RA 发生和发展的重要机制, 其中不同的共刺激分子的上调及共抑制信号的缺陷或功能拮抗使得 T 细胞自我平衡被打破, 向着过度活化方向发展。如果能够通过诱导共抑制分子过表达加强抑制作用或是阻断共刺激通路, 将可能重新建立免疫系统的平衡关系, 为类风湿关节炎提供治疗手段。sB7-H4 等 B7 家族成员被认为可能成为肿瘤标志物<sup>[21]</sup>, 而其他可溶性共刺激/抑制分子在 RA 中特异地表达, 也可能成为应用于 RA 诊疗过程中新的免疫学标志物, 其用于早期诊断的价值需进一步探索<sup>[22]</sup>。

## 参考文献

[1] Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation[J].

- Ann Rev Immunol, 2009, 27; 591-619.
- [2] Yokosuka T, Kobayashi W, Takamatsu M, et al. Spatiotemporal basis of CTLA-4 costimulatory molecule-mediated negative regulation of T cell activation[J]. Immunity, 2010, 33(3): 326-339.
  - [3] Flores-Borja F, Jury EC, Mauri C, et al. Defects in CTLA-4 are associated with abnormal regulatory T cell function in rheumatoid arthritis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(49): 19396-19401.
  - [4] Xue H, Liang F, Liu N, et al. Potent antirheumatic activity of a new DNA vaccine targeted to B7-2/CD28 costimulatory signaling pathway in autoimmune arthritis[J]. Hum Gene Ther, 2011, 22(1): 65-76.
  - [5] Choi JM, Kim SH, Shin JH, et al. Transduction of the cytoplasmic domain of CTLA-4 inhibits TcR-specific activation signals and prevents collagen-induced arthritis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(50): 19875-19880.
  - [6] Wan B, Nie H, Liu A, et al. Aberrant regulation of synovial T cell activation by soluble costimulatory molecules in rheumatoid arthritis[J]. J Immunol, 2006, 177(12): 8844-8850.
  - [7] Nishimura H, Nose M, Hiai H, et al. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor [J]. Immunity, 1999, 11: 141-151.
  - [8] Raptopoulos AP, Bertias G, Makrygiannakis D, et al. The programmed death 1/programmed death ligand 1 inhibitory pathway is up-regulated in rheumatoid synovium and regulates peripheral T cell responses in human and murine arthritis [J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(7): 1870-1880.
  - [9] Wang G, Hu P, Yang J, et al. The effects of PDL-Ig on collagen-induced arthritis[J]. Rheumatol Int, 2011, 31(4): 513-519.
  - [10] Suh WK, Gajewska BU, Okada H, et al. The B7 family member B7-H3 preferentially down-regulates T helper type 1-mediated immune responses[J]. Nat Immunol, 2003, 4: 899-906.
  - [11] Tran CN, Thacker SG, Louie DM, et al. Interactions of T cells with fibroblast-like synoviocytes: role of the B7 family costimulatory ligand B7-H3[J]. J Immunol, 2008, 180(5): 2989-2998.
  - [12] Zhang GB, Hou JQ, Shi JF, et al. Soluble CD276 (B7-H3) is released from monocytes, dendritic cells and activated T cells and is detectable in normal human serum [J]. Immunology, 2008, 123(4): 538-546.
  - [13] Murphy KM, Nelson CA, Sedy JR. Balancing co-stimulation and inhibition with BTLA and HVEM[J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6(9): 671-681.
  - [14] Pierer M, Brentano F, Rethage J, et al. The TNF superfamily member LIGHT contributes to survival and activation of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2007, 46(7): 1063-1070.
  - [15] Yao S, Zhu Y, Zhu G, et al. B7-h2 is a costimulatory ligand for CD28 in human[J]. Immunity, 2011, 34(5): 729-740.
  - [16] Takahashi N, Matsumoto K, Saito H, et al. Impaired CD4 and CD8 effector function and decreased memory T cell populations in ICOS-deficient patients[J]. J Immunol, 2009, 182(9): 5515-5527.
  - [17] Frey O, Meisel J, Hutloff A, et al. Inducible costimulator (ICOS) blockade inhibits accumulation of polyfunctional T helper 1/T helper 17 cells and mitigates autoimmune arthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2010, 69(8): 1495-1501.
  - [18] Her M, Kim D, Oh M, et al. Increased expression of soluble inducible costimulator ligand (ICOSL) in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Lupus, 2009, 18(6): 501-507.
  - [19] Croft M. Control of immunity by the TNFR-related molecule OX40 (CD134)[J]. Annu Rev Immunol, 2010, 28: 57-78.
  - [20] Yoshioka T, Nakajima A, Akiba H, et al. Contribution of OX40/OX40 ligand interaction to the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. Eur J Immunol, 2000, 30(10): 2815-2823.
  - [21] 华建江, 姜健, 吴雄君, 等. 新肿瘤标志物 sB7-H4 初探[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(5): 576-578.
  - [22] 周厚清, 吴瑾滨, 董敏. 类风湿因子阴性类风湿关节炎患者血清抗瓜氨酸肽或蛋白抗体、IL-10 及 IL-18 检测分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(13): 1441-1442.

(收稿日期: 2011-10-08)

## • 综 述 •

## 急性心肌梗死的新生标志物

李建珍<sup>1</sup>, 刘春江<sup>1</sup>综述, 田晋洪<sup>1△</sup>, 府伟灵<sup>2</sup>审校

(1. 武警山西省总队医院, 太原 030006; 2 第三军医大学西南医院检验科, 重庆 400038)

关键词: 心肌梗死; 生物学记; 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.02.026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)02-0188-04

急性心肌梗死(AMI)是临床常见的死亡原因。最新资料显示,美国每年因AMI死亡人数达20~25万,全世界每年因心脏猝死的人数达400~500万<sup>[1]</sup>。而及时明确诊断,给予纤溶治疗、冠状旁路移植或皮下冠状动脉介入治疗,可大大降低死亡率。心电图改变是诊断心肌梗死(MI)的强有力证据之一,而其对于非ST抬高型、非Q波型、亚急性心肌梗死等的诊断却有一定局限,这将直接影响临床治疗<sup>[2]</sup>。心电图诊断AMI的阳性率最多是80%,其余的20%必须依靠生物化学标志物确诊,因此,寻求有价值的生物标志物变得越来越重要。

因为这不仅使疾病的诊断更加准确,而且为疾病的预后提供更有价值的信息。有价值的生物标志物应具有以下特点:稳定存在且便于测量;有较高的敏感性和特异性;能够检测早期心肌损伤,其变化可以反映疾病的严重程度;能够提供临床表现以外的诊断信息。本文就近年来新生物标志物的特点和临床意义作一综述。

## 1 MI的定义及诊断标准

MI是在冠状动脉病变的基础上,发生冠状动脉血供急剧减少或中断,使相应的心肌严重而持久地急性缺血导致心肌坏

△ 通讯作者, E-mail: tianjohn2006@sina.com.