

## 细菌及内毒素活化树突状细胞的研究进展

李建明 肖光夏

严重感染是大面积烧伤患者死亡的重要原因之一。严重烧伤早期可出现明显的细菌移位或内毒素移位。细菌、内毒素是触发烧伤后全身炎症反应综合征(system inflammatory reaction signs, SIRS)的重要因素。一般认为由内毒素介导的单核-巨噬细胞的激活在其中起重要作用<sup>[1]</sup>。近年来,对抗原递呈细胞(antigen-presenting cell, APC)中的树突状细胞(dendritic cell, DC)有了更深入的了解。APC 包括 DC、巨噬细胞和 B 细胞等。DC 是功能最强的 APC, 因其成熟时伸出许多树突状或伪足样突起而得名。DC 最大的特点是能够显著刺激初始型 T 细胞增殖, 而巨噬细胞及 B 细胞仅能刺激已活化或记忆性 T 细胞, 因此 DC 是机体免疫反应的始动者, 在免疫诱导的应答中具有独特地位。目前一致认为, 具有典型树突状形态, 膜表面高表达 MHC II 类分子, 能移行至淋巴器官刺激初始型 T 细胞增殖, 并具有一些相对特异性表面标志的细胞, 才能称为 DC<sup>[2]</sup>。DC 的分化、激活及其功能的表达与炎症反应的调控密切相关。细菌、内毒素对 DC 的活化与免疫炎症反应调控的关系, 将为揭示 SIRS 和多器官功能障碍综合征(MODS)的机制提供重要的线索。

### 一、细菌、内毒素触发 DC 成熟

研究表明<sup>[3]</sup>, DC 可被炎性刺激物如细菌、内毒素等活化。近期的研究表明, 含有 CpG 的细菌 DNA 也可以活化 DC<sup>[4]</sup>, DC 活化后可募集巨噬细胞、中性粒细胞、自然杀伤细胞(NK)和非成熟的淋巴细胞至炎症部位, 然后它们迁移至淋巴器官寻找抗原特异的 T 细胞, DC 趋于成熟, 最终细胞发生凋亡。与巨噬细胞相比, DC 在分化成熟后其消化细菌能力受限、吞噬作用下调以及迁移特性增强<sup>[2]</sup>。细菌活化 DC 是一个主动的过程, 热灭活的细菌、惰性颗粒如乳胶并不能活化 DC。

DC 在成熟后其特性发生了许多改变。通常在大多数组织中, DC 以不成熟的状态出现, 它不能刺激 T 细胞的活化, 缺乏 T 细胞活化的辅助信号分子如 CD40、CD54 及 CD86。未成熟的 DC 适宜于捕捉

抗原, 它通过吞噬作用处理较大的颗粒及微生物; 通过吞饮作用摄取细胞外液和溶液; 通过受体介导的内吞方式处理抗原。通过大吞饮和受体介导的抗原收集方式可使对抗原的捕捉更有效, 可捕捉到皮摩尔及纳摩尔浓度的抗原<sup>[2]</sup>。完整的细菌、LPS 以及细胞因子如 IL-1、GM-CSF 和 TNF 都可刺激 DC 的分化, 而 IL-10 可抑制之<sup>[3,5-7]</sup>。

### 二、DC 对细菌抗原的处理

数量很少的成熟的 DC 即可刺激 T 细胞发生强的免疫反应。在体内, 免疫反应由淋巴器官的 DC 所启动, DC 与 T 细胞簇集, 以此可活化那些在感染或炎症部位对被捕捉抗原特异的 T 细胞。一般认为, 内源性抗原的呈递与 MHC I 类分子有关, 而内吞抗原的呈递与 MHC II 类分子有关。研究表明 DC 中, 细菌抗原的呈递与这两类分子均有关。在抗原的细胞内化途径中, 巨噬细胞中的大多数蛋白质底物被送到溶酶体内, 在此抗原被完全消化为氨基酸, 溶酶体内只有很少的 MHC II 类分子; 在 DC 情况并非如此, 非成熟的 DC 中, MHC II 类分子的隔室(MHCCs)的含量极为丰富。MHCCs 为含 HLA-DM 或 H-2M 物质的后期核内体结构, 它可增加或编辑多肽与 MHC II 类分子的结合。在 DC 的分化过程中, MHCCs 将 MHC-多肽复合物释放至细胞表面。在非成熟 DC 的 MHCCs 中, MHC II 类分子不断地被降解, 当 DC 将抗原摄入该处时, 抗原的片段可被载上 MHC II 类分子, 然后送到细胞表面<sup>[8]</sup>。

### 三、细菌稳定多肽-MHC 复合物

细菌或 LPS 可上调人或鼠 DC MHC I 类分子的合成, 其动力学是不同的。MHC II 类分子合成迅速, 其终止也十分迅速。与此相对, MHC I 类分子的产生较迟, 其合成高峰来临也较迟。MHC 合成的不同动力学与抗原递呈所需的时间相关连。细菌蛋白在 MHC I 类分子的呈递速度较慢, 需 48 h, 而且细菌可极大地增加 MHC I、II 类分子的半衰期。单独以 LPS 处理仅增加 MHC II 类分子的半衰期<sup>[8]</sup>。

### 四、DC 共刺激和粘附分子的表达

DC 具有两种不同的功能阶段。在未成熟期, 它具有强的抗原摄取和处理能力, 较弱的 T 细胞刺激

功能;而在成熟期,则具有高效的 T 细胞刺激功能和弱的抗原摄取和处理能力。DC 自始至终经历着不同的转变过程。DC 具有较高的迁移特性。当 DC 受到适当的刺激,它们很快牢固地粘附,这与  $\beta 2$  整合素如 LFA-1、ICAM-1 的下调和 DC 成熟早期增强的微吞饮特征相关。炎症导致 DC 在局部粘附,它通过产生大量的趋化因子如巨噬细胞炎性蛋白-1 (MIP-1)、MIP-2、单核细胞趋化蛋白-2 (MCP-2) 和炎性细胞因子如 TNF 等聚集 DC<sup>[2]</sup>。体外应用 LPS 进行刺激时,在诱导 DC 成熟的同时,其 CCR1 受到调节,DC 可被 CC 趋化因子包括 MIP-1、MIP-5 有效吸引,并且 DC 自身 MIP-2、RANTES、IP-10 和 MCP-1 等趋化因子的表达也受到调节。研究表明<sup>[5]</sup>,在 DC 成熟过程中,其趋化因子受体表达谱会发生一些改变,这样不同成熟阶段的 DC 对不同趋化因子可表现出不同的反应性。非成熟阶段 DC 表达高水平的 CCR1、CCR2、CCR5、CXCR1、CXCR2 和 CXCR4,对 CC 趋化因子包括 MIP-1、MIP-1、RANTES、MCP-3 具有显著的趋化反应性,但对 CC 趋化因子 MIP-3 和 CXC 趋化因子 SDF-1 反应性较弱。但当通过 LPS、TNF 或 IL-1 体外诱导 DC 成熟后,DC 对上述 CC 趋化因子的反应性基本丧失,而对原先反应性较弱的 MIP-3 和 SDF-1 的反应性显著增加。然后 DC 进入下一阶段,获得迁移特性,迁移至淋巴结,同时 MHC II 类分子移位至细胞膜,MHC II 类分子新的合成途径被关闭。与此相对,MHCI 类分子合成缓慢上调,与细菌源性 I 类多肽的产生相协调。一旦细菌源性多肽以 MHC II-多肽复合物的形式在细胞表面呈现,DC 细胞表面 B7-2、MHC II、CD40 的表达在消化细菌后 18 h 迅速上调至最高值,而 B7-2 和 MHCI 的表达则相对滞后,这与该类分子合成延迟有关。当 DC 到达淋巴结时,它们失去了迁移的特性,滞留在淋巴组织的 T 细胞区,产生 T、B 细胞刺激的细胞因子,如 IL-12、IL-6 和干扰素等。事实上,在淋巴结,DC 递呈抗原主要来源于被吞噬细菌,它以稳定的多肽-MHC 复合物的形式存在于细胞表面。研究表明,大鼠静脉注射内毒素后,可使肠 DC 释放入淋巴增多,其产量在注射 LPS 后 6 h 内增加,12~24 h 之间达高峰,为正常的 8~15 倍,同时淋巴细胞的产量明显减少。DC 的释放可被 TNF 的单克隆抗体所阻滞,DC 的释放并不是在内毒素作用下由淋巴结释放至输出淋巴液,免疫组织化学显示,释放至淋巴的 DC 主要来源于小肠粘膜固有层<sup>[9]</sup>。有证据表明,注射 LPS 后引起 TNF、IL-1 等细胞因子的

增加与非淋巴组织 DC 迁移有关<sup>[10-12]</sup>。

五、DC 对细菌、内毒素的识别、受体及其信号转导通路

细菌、内毒素对 DC 的影响既有 LPS 对 DC 的直接作用,也有 LPS 所引起的细胞因子如 TNF、IL-1 等的释放对 DC 的作用<sup>[13]</sup>。与巨噬细胞受体表达类似,DC 也表达数种与细菌、内毒素内化有关的受体(4), II、III 型 Fc $\gamma$  受体可在 DC 表面表达,但它们在活化的时候并未受到调节;由 Fc  $\gamma$  链传递的信号可引起 DC 的活化和免疫复合物抗原的呈递;CR3 补体受体参与 DC 细菌的内化,但与巨噬细胞及中性粒细胞不同,它在 DC 活化的过程中也未受到调节。天然免疫在多细胞生物的各种抗感染机制中发挥重要作用。天然免疫对微生物的识别是通过胚胎细胞编码的受体来识别微生物的保守成分,如革兰阴性菌的 LPS、革兰阳性菌的磷壁酸甚至细菌 DNA 序列。天然免疫识别的靶分子代表一种分子模式—病原体相关分子模式。CD11、CD18、CD14、甘露糖受体、补体受体、清道夫受体及 Toll 受体均为识别病原微生物的天然免疫受体,它们与细菌、内毒素的识别内化及其信号转导有关<sup>[14]</sup>。目前已确定,在 DC 中存在甘露糖受体、补体受体、清道夫受体,它们与细菌、内毒素的识别有关。LPS 受体属于多构件受体,LBP 和 CD14 结合后在识别 LPS 分子上具有重要作用,但 LPS 与 mCD14 或 sCD14 结合后,仍需将 LPS 转移至另一特定的受体<sup>[15]</sup>,而这一受体已确定为 Toll 样受体 4 (TLR4),TLR4 的突变可引起小鼠对 LPS 的无反应性<sup>[16]</sup>。最近的研究表明,TLR4 与革兰阴性菌和 LPS 的识别与信号转导有关<sup>[17]</sup>,TLR2 与革兰阳性菌的识别与信号转导有关<sup>[17]</sup>,TLR9 与细菌 DNA 的识别有关<sup>[18]</sup>。TLR 家族在机体识别细菌内毒素的机制中起重要作用。在 DC 也存在 TLR4,它将细菌、内毒素信号转导到细胞核。大多数的 DC 源于骨髓,粒细胞、单核细胞和 DC 具有共同的前体来源。但 DC 表面缺乏 mCD14,因而在 DC 中,细菌、内毒素与可溶性 CD14 结合形成复合物,LBP 可以调理这种结合,细菌、内毒素-可溶性 CD14 复合物与 TLR4 其细胞外区域中富含亮氨酸的重复序列相互作用,进而将细菌、内毒素信号传入细胞内。TLR4 及其他 TLRs 具 TIR (toll-IL-1 receptor) 胞浆内同源序列,该结构域与接头分子髓性分化蛋白 MyD88 的对应区域相互作用,该接头分子与激酶之间通过各自的死亡区域相互作用,然后激酶与 TRAF-6 相互作用,引起转核因子  $\kappa B$  (NF-



$\kappa\text{B}$  诱导激酶 (NIK) 的活化, 最终引起抑制蛋白 I $\kappa\text{B}$  的磷酸化并自 NF- $\kappa\text{B}$  解离, NF- $\kappa\text{B}$  转向核内, 活化一些基因启动子和增强子的  $\kappa\text{B}$  结合位点, 并活化这些基因, 这些基因编码 TNF、IL-1、IL-6、IL-8、IL-12 P40 蛋白及共刺激分子 CD80、CD86 等, TNF 和 IL-1 又能激活 NF- $\kappa\text{B}$ 。NF- $\kappa\text{B}$  并不是调节这些炎症和免疫基因的惟一转录因子, 它与其它转录因子如活化蛋白-1 (AP-1) 共同起中心调节作用。内毒素所介导的 DC 的活化是通过 NF- $\kappa\text{B}$  所介导的, NF- $\kappa\text{B}$  移位的抑制可阻止 DC 的活化<sup>[7]</sup>。有研究表明, 细菌、内毒素还可激活 DC 的另一信号转导通路, 从而使 DC 在生长因子撤除后仍旧存活, 该通路涉及 MAP 激酶 ERK 激酶的磷酸化, 其中也有 Toll 样受体的参与, 该实验还观察到 P38 通路也有一定的激活<sup>[7]</sup>。研究认为 P38 与 LPS 诱导的炎性细胞因子的产生有关<sup>[19]</sup>, 因而炎性细胞因子的产生需要多个信号通路的整合及多个转录因子的调节。

#### 参 考 文 献

- Downey JS, Han J. Cellular activation mechanisms in septic shock. *Front Biosci*, 1998, 3:468-476.
- Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*, 1998, 392:245-252.
- Cella M, Engering A, Pinet U, et al. Inflammatory stimuli induce accumulation of MHC class II complexes on dendritic cells. *Nature*, 1997, 388:783-787.
- Behboudi S, Chao D, Klenerman P, et al. The effects of DNA containing CpG motif on dendritic cells. *J Immunology*, 2000, 99:361-366.
- Rescigno M, Granucci F, Citterio S, et al. Coordinated events during bacteria induced DC maturation. *Immunol Today*, 1999, 20:200-203.
- Granucci F, Ferrero E, Foti M, et al. Early events in dendritic cell maturation induced by LPS. *Microbe Infect*, 1999, 1:1079-1084.
- Rescigno M, Martino M, Sutherland CL, et al. Dendritic cell survival and maturation are regulated by different signaling pathways. *J Exp Med*, 1998, 188:2175-2180.
- Pierre P, Turley SJ, Gatti E, et al. Developmental regulation of MHC class II transport in mouse dendritic cells. *Nature*, 1997, 388:787-791.
- MacPherson GG, Jenkins CD, Stein MJ, et al. Endotoxin mediated dendritic cell release from the intestine: characterization of released dendritic cells and TNF dependence. *J Immunol*, 1995, 154:1317-1322.
- Roake JA, Rao AS, Morris PJ, et al. Systemic lipopolysaccharide recruits dendritic cell progenitors to nonlymphoid tissues. *Transplantation*, 1995, 59:1319-1324.
- Roake JA, Rao AS, Morris PJ, et al. Dendritic cell loss from nonlymphoid tissues after systemic administration of lipopolysaccharide, tumor necrosis factor, and interleukin 1. *J Exp Med*, 1995, 181:2237-2247.
- De Smedt T, Pajak B, Muraille E, et al. Regulation of dendritic cell numbers and maturation by lipopolysaccharide in vivo. *J Exp Med*, 1996, 184:1413-1424.
- Riva S, Nalli ML, Lutz MB, et al. Bacteria and bacterial cell wall constituents induce the production of regulatory cytokines in dendritic cell clones. *J Inflamm*, 1998, 46:98-105.
- Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, et al. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science*, 1999, 284:1313-1318.
- Chow JC, Young DW, Golenbock DT, et al. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide induced signal transduction. *J Biol Chem*, 1999, 274:10689-10692.
- Poltorak A, He XL, Smirnova I, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutation in TLR4 gene. 1998, 282:2085-2088.
- Underhill DM, Ozinsky A, Hajjar AM, et al. The toll-like receptor 2 is recruited to macrophage phagosomes and discriminates between pathogens. *Nature*, 1999, 401:811-815.
- Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*, 2000, 7, 408:740-745.
- 姜勇, 韩家准. P38MAPK 信号传导通路. *生命科学*, 1999, 11:102-106.

(收稿日期:20001-01-07)

(本文编辑:赵云)

#### · 产品信息 ·

### 利浦松软膏

#### 双重功效:防治瘢痕和促进愈合

- 防止成纤维细胞在伤口处的过度增殖和扩散,降低酸性粘多糖和胶原量,从而防止异常瘢痕的形成
- 调控胶原纤维结构中脯氨酸与丙氨酸等的固定,引导正常胶原纤维的生成,促进良性肉芽组织的生长,加速伤口愈合
- 促进表皮生成和覆盖,降低纤维变性

#### 临床应用:

- II 度烧伤,加速上皮覆盖并减少瘢痕,缩短愈合时间
- III 度烧伤,促进良性肉芽组织的生长,为顺利植皮提供适宜的基础组织
- 植皮后,供皮区和受皮区的护理,加快愈合,保证植皮成功,防止后遗症
- 上皮化后,立即使用可防止异常瘢痕的生成

#### 适应证:

- 烧伤伤口及供、受皮区伤口的治疗
- 异常瘢痕的治疗
- 整形手术前的护理与手术后的治疗

生产厂家:韩国东国制药株式会社

中国总代理:汕头市南粤药品有限公司