

# 天然免疫系统非克隆识别机制的进展

王伯瑶 吴琦 黄宁

(华西医科大学感染免疫研究室, 成都 610041)

**[摘要]** 本文综述了高等动物存在两大相互依存、相互作用的完整的抗感染防御系统, 即天然免疫的非克隆识别机制和以克隆选择为基础的获得性免疫。天然免疫的非克隆识别机制诱导抗原提呈细胞表达共刺激因子, 触发获得性免疫反应, 并通过释放细胞因子引导获得性免疫系统发生特异的免疫效应反应。在天然免疫反应中, 通过胚胎细胞编码的受体识别病原体几种特有的保守分子, 诱导天然免疫细胞表达抗菌肽、共刺激因子和效应细胞因子。认识天然免疫识别的分子机制, 在疫苗设计和发展免疫治疗新举措上, 意义重大。

**[关键词]** 天然免疫, 识别机制, 共刺激作用

自从 40 年前提出克隆选择理论以来, 免疫学领域的研究大多集中在以克隆选择为基础的获得性免疫上, 天然免疫常常被认为在免疫功能上是次要的系统, 甚至被认为是在免疫系统的进化中被“废弃”的器官, 天然免疫的研究似乎已不再叫“免疫学”。近几年来天然免疫的研究在多个实验室获得长足进展, 引起免疫学界和医学界的广泛关注。本文介绍天然免疫系统非克隆识别机制的最新进展, 评述其在发展新疫苗和免疫治疗新举措上的意义。

## 1 抗感染免疫反应的非克隆识别与克隆识别机制

复细胞生物在进化过程中, 为抵抗微生物的侵袭, 通过微生物给予的压力选择, 发展出各种抗感染防御机制。在发生学上最古老的防御机制叫做天然免疫, 是低等的无脊椎动物(包括植物)唯一的抗感染防御机制<sup>[1]</sup>; 到了脊椎动物才出现获得性免疫机制, 即现今人们所熟知的所谓“经典”免疫学。

两大免疫系统的主要区别在于对病原微生物的识别机制<sup>[2-4]</sup>: 天然免疫系统使用胚胎细胞编码的受体来识别微生物的保守的分子成分, 如革兰氏阴性细菌的 LPS、革兰氏阳性细菌的磷壁酸、霉菌的甘露糖和 RNA 病毒的双链 RNA 等, 产生抗微生物及其毒性因子的免疫反应; 而获得性免疫却是使用在

个体发育期间通过体细胞性基因重排而随机产生的特异抗原受体, 介导机体对某一特定病原体的防御反应。这些受体以克隆方式分布在 T 和 B 淋巴细胞上。B 和 T 淋巴细胞使用重排激活基因 RAG1 和 RAG2 的表达产物, 重排 Ig 和 TCR 胚胎基因 V, D, J 元件, 产生  $10^{11}$  个不同的 B 和 T 淋巴细胞克隆, 每一个克隆细胞表达一种特定的抗原受体。

由体细胞性基因重排机制产生的抗原受体具高度特异性和极大的多样性, 可能识别任何抗原, 包括微生物抗原、自身抗原和外环境中的无毒抗原。因此, 如果识别了自身抗原或外环境的过敏原而诱导的免疫反应, 将导致自身免疫病或过敏性疾病。

基于克隆选择的获得性免疫机制的抗微生物免疫反应, 被认为必需天然免疫识别机制的指导<sup>[4,5]</sup>。天然免疫系统引导 B 和 T 淋巴细胞对抗原的选择, 诱导辅助 T 淋巴细胞的分化, 分泌相应的细胞因子, 促进合适的抗感染免疫反应。

## 2 获得性免疫反应必需天然免疫反应提供第二信号

### 2.1 获得性免疫反应双信号系统<sup>[3]</sup>

由于淋巴细胞抗原受体的特异性是通过体细胞性基因重排而随机表达的, 因此它不能确定其识别的配体分子的来源和生物学背景。通过抗原受体产

生的信号本身不足以诱导一个特定的免疫反应。淋巴细胞必须接受2类刺激信号才能发生有效的免疫反应。第一信号是抗原信号,保证其反应的特异性;第二信号由天然免疫反应提供,以促进特异的淋巴细胞克隆增殖,分化成效应细胞和免疫记忆细胞。

## 2.2 T淋巴细胞的第二信号系统<sup>[3-6]</sup>

(1)共刺激因子(costimulators)与共刺激作用(costimulation):现已明确的T淋巴细胞共刺激因子是在抗原提呈细胞上表达的B7分子家族中的2个成员,即B7-1和B7-2。它们由微生物诱导产生,或由在天然免疫反应中产生的细胞因子诱导而表达。T淋巴细胞上的CD28受体识别B7分子,传递激活信号,引起T淋巴细胞表达抗凋亡蛋白(Bcl-XL/Bcl),并产生IL-2,导致抗原特异的T淋巴细胞克隆增殖。T淋巴细胞还可能表达第二个B7受体,叫做CTLA-4。它识别B7分子可终止免疫反应,或使免疫无能,产生免疫耐受。

(2)天然免疫反应产生的细胞因子与 $T_H1$ 和 $T_H2$ 细胞的分化:消除不同的微生物感染需要不同的免疫反应。总体上可分为I型反应和II型反应。I型反应表现为细胞介导免疫以消除胞内感染(包括细胞毒性T淋巴细胞的克隆扩增和增强巨噬细胞的杀菌活性),以及B淋巴细胞产生调理吞噬抗体。II型反应主要表现为肥大细胞和嗜酸性粒细胞的增殖和激活,B淋巴细胞合成和分泌IgE,以消除蠕虫感染,且抑制巨噬细胞的激活和产生抗炎作用。 $T_H1$ 细胞分泌 $\gamma$ -干扰素、IL-2和TNF等细胞因子促进I型反应; $T_H2$ 细胞通过分泌IL-4、IL-5、IL-10、IL-13等细胞因子介导II型反应。天然免疫反应产生的信号可介导 $T_H1$ 和 $T_H2$ 细胞的分化。某些微生物成分刺激巨噬细胞合成和分泌IL-12,促进 $T_H1$ 细胞的分化发展;蠕虫成分和过敏原刺激“天然”T细胞合成和分泌IL-4,促进 $T_H2$ 细胞的分化发展。共刺激作用亦参与 $T_H1$ 和 $T_H2$ 细胞的分化。

(3)B淋巴细胞的第二信号:现已明确的第二信号是补体系统激活的降解产物C3d<sup>[7]</sup>。B细胞膜CD21受体与C3d结合,在 $T_H1$ 细胞的协调下,促进识别了特异抗原的B淋巴细胞克隆的增殖和分化。微生物可直接激活补体系统第二通路,产生C3d,或触发IgM抗体反应以激活补体经典通路,产生C3d。

## 3 天然免疫非克隆识别机制

### 3.1 天然免疫识别抗原的特征<sup>[6]</sup>

(1)天然免疫识别病原体保守的分子结构。这

些结构为一大群病原体所共有的分子要素。例如脂多糖(LPS)为所有革兰氏阴性细菌共有的分子结构,一个受体识别LPS的保守区段类脂A将可发现任何革兰氏阴性细菌的存在。因此天然免疫识别的靶分子代表一种分子型态,而不是特定的抗原表位结构。这种分子型态被叫做病原体相关分子型态(pathogen associated molecular patterns,缩写为PAMPs)。机体发生发展了一套能特异识别PAMPs的受体,被称为分子型态识别受体(pattern recognition receptors,缩写为PRRs)。这种识别机制防止了微生物突变株逃避免疫识别,且让胚胎细胞系编码的有限受体能够识别种类繁多的病原体。

(2)天然免疫识别病原微生物赖以生存的独特点。PAMPs为病原体的生存和致病性所必需,药物或突变影响其结构将导致病原体死亡或成为无毒株;且与宿主细胞的分子结构完全不同。现已知的所有具免疫刺激活性的微生物成分,如LPS、革兰氏阳性细菌胞壁酸、霉菌细胞壁甘露糖、RNA病毒双链RNA等,均具上述特点。因此,天然免疫识别机制不仅能区别自身抗原与非自身抗原,而且能区分外环境非自身无毒抗原与病原体相关的非自身抗原。同样,人工制造的非自身抗原,除非其分子设计摹拟PAMPs活性,否则亦不能被天然免疫识别。

### 3.2 天然免疫系统的受体<sup>[4-6]</sup>

天然免疫由多个不同的受体蛋白家族介导。从分布上可分为细胞受体和体液性受体2大类。从功能上可分为循环血中的体液性受体蛋白、在细胞膜上表达的内吞受体(endocytic receptors)和信号受体(可在细胞膜或胞内表达)等3类。

(1)细胞性受体:这类PRRs在天然免疫效应细胞上表达。这些细胞包括参与获得性免疫反应的职能抗原提呈细胞,如巨噬细胞、树突状细胞、成纤维细胞和内皮细胞等;在感染过程中最先遭遇病原体的细胞,如上皮细胞。代表性受体包括LPS受体(CD14)、甘露糖受体、补体受体、清道夫(Scavenger)受体和Toll受体等。

(2)体液性受体:代表性体液PRRs包括C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白、甘露糖结合蛋白、LPS结合蛋白和C3等,这些分子在急性期反应时,由肝细胞合成;此外,可溶性CD14受体亦属此类受体,被认为是细胞膜CD14分子的细胞外区段脱落进入血循环而产生。

天然免疫系统的主要受体的分子结构特征、表达部位、配体和功能可归纳为表1所示。

表1 天然免疫系统的主要免疫识别受体

受体蛋白家族	举 例	表达部位	配 体	功 能
<b>C型凝集素</b>				
体液性	甘露糖结合蛋白	血浆蛋白	细菌和病毒碳水化合物	调理吞噬作用;激活补体
细胞性	巨噬细胞C型凝集素	巨噬细胞,树突状细胞	N-乙酰半乳糖胺受体	诱导巨噬细胞杀肿瘤活性
	巨噬细胞甘露糖受体	巨噬细胞,树突状细胞	甘露糖	吞噬作用
	DEC205	巨噬细胞,树突状细胞	甘露糖	吞噬作用
	NKR-P1	NK细胞	未知碳水化合物	细胞溶解功能;γ-干扰素分泌
富亮氨酸蛋白	Ly49	NK细胞	I型组织相容型复合物	抑制NK活性
	CD14	巨噬细胞,上皮细胞	细菌脂多糖	传递内毒素信号
清道夫受体	Toll蛋白	单核吞噬细胞	未知	传递信号给转录因子NF-κB
	RP105	B细胞	未知	B细胞分裂
	巨噬细胞清道夫受体	巨噬细胞	细菌胞壁	吞噬作用
Pantraxins	MARCO	巨噬细胞	细菌胞壁	未知
	WC1	γT细胞	未知	未知
	C反应蛋白	血浆蛋白	磷脂酰胆碱	调理吞噬作用;激活补体
脂质转移酶	血清淀粉样蛋白	血浆蛋白	细菌胞壁	调理吞噬作用;激活补体
	脂多糖结合蛋白	血浆蛋白	脂多糖,其他糖脂	结合脂多糖,转移到CD14
整合素	杀菌通透性增高蛋白	血浆蛋白	脂多糖,其他糖脂	杀菌活性;中和内毒素
	CD11b,c;CD18	巨噬细胞,树突状细胞, NK细胞,T细胞	脂多糖	吞噬作用;传递脂多糖信号

3.3 天然免疫识别的效应作用<sup>[5,6]</sup>

天然免疫系统的某些受体可直接识别 PAMPs, 如 CD14、甘露糖受体、甘露糖结合蛋白等;另一些受体(如补体受体和 Toll 蛋白)仅接受 PAMPs 识别后所产生的信号。天然免疫系统的激活一方面诱导抗菌肽合成,直接杀伤侵入的病原微生物;另一方面诱导内源性信号的表达,如炎症细胞因子和趋化细胞因子(chemokines),共刺激因子等,以便更有效地动员机体的防御力量来抵抗微生物侵入。

3.4 Toll/NF-κB 宿主防御信号转导通路<sup>[8,9]</sup>

Toll/NF-κB 通路是一保守的宿主防御信号转导

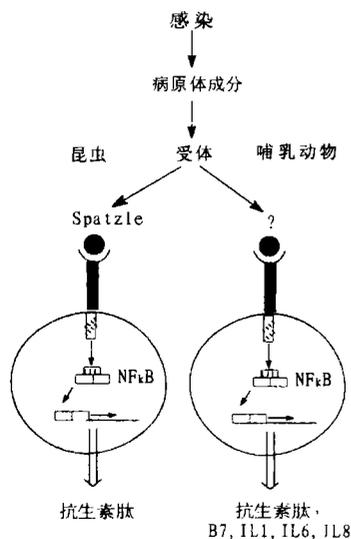


图1 机体天然防御机制的 Toll/NFκB 通路

通路,在无脊椎动物和脊椎动物均已发现该通路(图1)。NF-κB 为多种免疫和炎症相关基因的转录激活因子。果蝇感染时,其 fat 细胞 PRR 识别 PAMP,产生 spatzle,激活 Toll/NF-κB 通路,诱导抗菌肽基因的表达,合成产生抗霉菌和抗细菌的抗生素肽。在哺乳动物,Toll/NF-κB 通路的激活,除了诱导抗生素肽的产生外,同时诱导共刺激分子和细胞因子的表达,以促进获得性免疫反应。在植物防御系统中也发现类似通路,进一步说明非克隆识别的天然免疫机制起源古老<sup>[1]</sup>。

3.5 天然免疫基因 Nramp<sup>[10]</sup>

在研究近交系小鼠间对病原体的抵抗力之差异时,发现了天然抵抗基因 Nramp1,该基因与天然抵抗某些细胞内病原体(如结核分枝杆菌、利什曼原虫和沙门氏菌等)的感染相关。从果蝇到人均鉴定出了 Nramp 基因家族,显示其极大的保守性。但是,Nramp 基因在决定人类对感染性疾病的敏感性上的作用尚需确立。有趣的是 Nramp1 调控鼠 T 淋巴细胞对成血细胞肿瘤的排斥反应,把天然抵抗性与肿瘤监视联系起来。

4 天然免疫识别机制在临床医学中的应用展望

4.1 疫苗研制

(1)免疫佐剂的研制:由于天然免疫识别机制研究的进展,人们现已明了用纯化抗原免疫动物时必须

须使用佐剂才能诱导其免疫反应的原因,即佐剂中含携带了 PAMPs 的微生物成分,被天然免疫系统识别,诱导产生共刺激因子(如 B7)和效应细胞因子(如 IL-12),如前所述,这些信号为特异淋巴细胞克隆的激活与分化所必需。因此,分子疫苗的研制必须考虑合适的佐剂。迄今动物免疫使用的佐剂大多数都因其副作用而不能用于临床。鉴定佐剂中的活性成分,并修饰其分子以减少副作用,亦是分子疫苗研制的重要任务。

(2) 双功能分子疫苗的研制:鉴定天然免疫系统 PAMPs 非克隆受体及其第二信号,将提供另一个诱导获得性免疫反应的强有力的手段。例如,将 C3dg 与一抗原融合可诱导极强的特异免疫反应;IL-12 与抗原同用,产生强大的  $T_H1$  反应,实验证明具免疫保护性。

#### 4.2 免疫治疗

诱导抗菌肽基因在上皮细胞高效表达可能解决粘膜感染对传统抗生素治疗的耐药性问题,以有效防治呼吸道、泌尿生殖道和消化道的顽抗性感染;IL-12 由于其抑制 IL-4 介导的活性,亦已实验性用作“抗病理性”疫苗来抗过敏性和纤维化综合症;阻滞共刺激作用可抗移植排斥反应,等。

#### 参 考 文 献

- [1] Medzhitov R, Janeway Jr. C A. An ancient system of host defense. *Curr. Opin. Immunol.* 1998, **10**:12—15.
- [2] Fearon D T. Seeking wisdom in innate immunity. *Nature*, 1997, **388**: 323—324.
- [3] Parijs L V, Abbas A K. Homeostasis and self-tolerance in the immune system: turning lymphocytes off. *Science*, 1998, **280**:243—248.
- [4] Medzhitov R, Janeway Jr. C A. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.* 1997, **9**:4—9.
- [5] Fearon D T, Locksley R M. The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science*, 1996, **272**:50—53.
- [6] Medzhitov R, Janeway, Jr. C A. Innate immunity: the virtues of a non-clonal system of recognition. *Cell*, 1997, **91**:295—298.
- [7] Dempsey P W, Allison MED, Akkaraju S et al. C3d of complement as a molecular adjuvant: bridging innate and acquired immunity. *Science*, 1996, **271**:348—350.
- [8] Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L et al. The dorsoventral regulatory gene cassette *spatzle/Toll/cactus* control the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*, 1996, **86**:973—983.
- [9] Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway Jr CA. A human homologue of the *Drosophila Toll* protein signals activation of adaptive immunity. *Nature*, 1997, **388**:394—397.
- [10] Vidal S, Tremblay M L, Govanni G et al. The *Ity/Lsh/Bcg* locus: Natural resistance to infection with intracellular parasites is abrogated by disruption of the *Nramp1* gene. *J Exp Med.*, 1995, **182**:655—666.

### ADVANCES IN NONCLONAL RECOGNITION OF INNATE IMMUNE SYSTEM

Wang Boyao    Wu Qi    Huang Ning

(*Research Unit of Infection & Immunity, West China University of Medical Sciences, Chengdu 610041*)

**Abstract** This paper stated that the host defense against infection is based on two distinct recognition systems: nonclonal recognition of innate immunity and clonal recognition of adaptive immunity. The innate, nonclonal system controls the initiation of the clonal-based adaptive immune response by regulating the expression of costimulatory activity on antigen presenting cells, and instructs the adaptive immune system to develop a particular effector response by releasing effector cytokines. Recognition of several conserved molecules derived from pathogens initiates the innate immune response by the germ-line encoded recognition receptors. Understanding of the molecular mechanisms would be of a great benefit to designing vaccine and to developing immunotherapeutic strategies.

**Key words** innate immunity, recognition, costimulation