

予有效的干预和帮助,仍将是心理、教育及社会工作者长期关注的焦点和重要的使命。

[参 考 文 献]

- [1] 潘琼,肖水源.病理性互联网使用研究进展[J].中国临床心理学杂志 2002,10(3):237-239.
- [2] 梁宁建,吴明证,杨轶冰,等.大学生网络成瘾与幸福感关系研究[J].心理科学 2006,29(2):294-296.
- [3] 陈亚玲.大学生网络成瘾的原因及引导[J].科技教育 2009(12):127.
- [4] 徐俊.大学生网络成瘾的现状分析及其心理治疗与预防策略研究[D].武汉理工大学 2004.
- [5] 顾海根.国外网络成瘾研究简介[J].外国中小学教育 2005(9):31-36.
- [6] Shapira NA, Goldsmith TD, Keck PE, et al. Preliminary communication: psychiatric features of individuals with problematic internet use[J]. J Affect Disord 2000,57(1):267-272.
- [7] Atmaca M. A case of problematic internet use successfully treated, with an SSR I-antipsychotic combination. Prog Neuropsychopharmacol 2007,31(4):961-962.
- [8] 杨国栋,刘悦,方政华,等.药物干预加心理疏导治疗网络成瘾综合症 6 例报告[J].中国药物滥用防治杂志 2001,11(1):37-39.
- [9] 卢官庐,郭继志,庄立辉.青少年网络成瘾防治研究进展[J].中国社会医学杂志 2006,23(2):102-106.
- [10] Davis RA. A cognitive-behavior model of pathological internet use[J]. Comput Hum Behav 2001,17(2):187-195.
- [11] Yang SC, Tung CJ. Comparison of internet addicts and non-addicts, in Taiwanese high school [J]. Comput Hum Behav 2007,23(1):79-96.
- [12] Young KS. Internet addiction: symptoms, evaluation, and treatment [M]//van de Creek L, Jackson TL. Innovations in clinical practice. Volume 17. Sarasota FL: Professional Resource Press, 1997:19-31.
- [13] Hall AS, Parsons J. Internet addiction: college students case study using best practices in cognitive behavior therapy [J]. J Ment Health Counsel 2001,23(4):312-327.
- [14] 杨容,邵智,郑涌.中学生网络成瘾征的综合干预[J].中国心理卫生杂志 2005,19(7):457-459.
- [15] 樊富珉.团体咨询的理论与实践[J].北京:清华大学出版社,1996.
- [16] 杨彦平,崔丽娟,赵鑫.团体心理辅导在青少年网络成瘾者矫治中的应用[J].当代教育科学 2004(3):46-48.
- [17] 于衍治.团体心理干预方式改善青少年网络成瘾行为的可行性[J].中国临床康复 2005,9(20):81-83.
- [18] 钟欣,陶然,祖思,等.团体心理干预对青少年网络成瘾的效果研究[J].首都医科大学学报 2009,30(4):494-499.
- [19] 谭锦花.一例对网络成瘾大学生的干预报告[J].民办高等教育研究 2009,6(1):53-55.
- [20] 宫本宏,王晓敏,叶建群,等.青少年网络成瘾家庭治疗效果评价[J].中国学校卫生 2010,31(3):300-301.
- [21] 杨放如,郝伟.52例网络成瘾青少年心理社会综合干预的疗效观察[J].中国临床心理学杂志 2005,13(3):343-345.
- [22] 朱莉,周学荣.青少年学生网络成瘾行为的体育干预个案研究[J].军事体育进修学院学报 2007(2):108-110.

(本文编辑 姚仁斌)

[文章编号] 1000-2200(2011)03-0318-06

· 综 述 ·

树突状细胞在疟疾红内期免疫应答中功能的研究进展

孔评石^{1,2}, 夏惠¹

[关键词] 疟疾; 树突状细胞; 免疫应答; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 531.3 [文献标识码] A

树突状细胞(dendritic cells, DC)在免疫系统中桥接固有免疫和适应性免疫,起着核心的作用。作为最有力的抗原递呈细胞,树突状细胞是最早发起免疫响应和免疫调节的细胞之一。通过对病原体产生合适的免疫应答以及产生免疫记忆,保护机体抵御后续的病原体入侵。未成熟DC居于大多数的组织中,通过吞噬和胞饮作用,持续探测环境中可能的入侵病原体,通过细胞表面模式识别受体(PRR)等识别、结合,启动DC向淋巴组织迁移和释放功能性细胞因子,并伴随发育成熟为功能完全的抗原提呈细胞(APC)^[1]。在引流淋巴结或脾,活化的DC通过递呈抗原给T细胞启动适应性免

疫应答。成熟的DC吞噬功能降低,胞膜表达的主要组织相容性分子(MHC)结合加工处理的抗原肽复合物,同时表达共刺激分子,协同活化能够识别结合此抗原的T细胞克隆。

疟疾是全球死亡率最高的寄生虫病,疟原虫在红细胞内期的发育和裂体增殖造成疟疾发病,红内期是产生致死性病理变化的主要阶段。围绕着疟疾红内期免疫应答的研究,长期以来疟原虫感染中树突状细胞活化与否一直是争论的焦点。诸多的研究证明DC的成熟受到疟原虫的抑制,导致共刺激分子和组织相容性分子的表达下调,炎性介质的分泌亦受到抑制,进而抑制了T细胞的活化^[2-4]。但也有很多证据支持DC功能受到疟原虫的正向调节^[5-7]。在机体感染疟原虫时,DC能够保持着完整的功能,DC由疟原虫抗原诱导而成熟,上调MHC II和共刺激分子,分泌Th1分化型细胞因子和促炎症因子。由于DC在疟疾感染中的作用存在众多分歧,因而有必要对已往关于人型疟疾或鼠类疟疾模型中的

[收稿日期] 2010-10-27

[作者单位] 1. 蚌埠医学院 病原生物学教研室,安徽 蚌埠 233030;

2. 江苏省第二中医院 检验科,江苏 南京 210017

[作者简介] 孔评石(1975-)男,硕士。

DC 功能研究进行系统地考察分析,以全面理解疟疾感染免疫中 DC 的作用。本文就此作一综述。

1 DC 在疟原虫感染后活化与否

1.1 人源性 DC 在疟疾中的研究 Urban 等^[2]最初用单核来源的 DC (moDC) 研究发现,恶性疟感染红细胞 (PfPRBC) 能够下调 DC 的成熟和功能。PfPRBC 通过 *P. f* 感染的红细胞表面分子恶性疟原虫红细胞膜蛋白 1 (PfEMP1) 和清道夫受体 CD36 黏附于 DC 后, LPS 无法诱导 DC 活化, DC 表面的 MHC II、共刺激分子和黏附分子的表达及白介素-2 (IL-2)、IL-12 的分泌受到抑制,而 IL-10 分泌增加,从而抑制了 T 细胞的活化增殖^[8]。疟原虫代谢产物-疟色素 (HZ) 亦被证明能损伤单核细胞向 DC 分化^[9]。在越南、肯尼亚、泰国进行的临床研究^[10-12]亦发现恶性疟患者脾脏或外周血 DC 的 MHC II 分子表达下调。而另一些研究^[13]则显示疟原虫感染后 DC 产生正向应答,如间日疟孢子冲击的 DC 能够激发对肝期原虫进行特异性杀伤,从外周单个核细胞 (PBMC) 中分离的外周骨髓样 DC 通过 *P. f* 抗原组分 (CIDR-1 α)、PfPRBC 刺激既能产生 IL-12、IL-18,也可产生 IL-10^[14],但 IL-12、IL-18 的分泌存在于刺激的早期,而 IL-10 则表现为持续性分泌。

鉴于 DC 诱导的 T 细胞应答类型的差别依赖于 T 细胞受刺激时 DC 分泌的细胞因子的差别,这种 IL-10 的持续分泌有可能最终解释 T 细胞在感染中的抑制。短期内诱导活化的 DC 有可能诱导正常的 Th1 型的应答,而后继产生 IL-10 的 DC 有可能下调 T 细胞应答,或导致调节性 T 细胞 (Treg) 的产生。

1.2 DC 在鼠类疟疾模型中的研究 疟原虫感染中 DC 功能的研究更多的是采用夏氏、约氏和伯氏疟原虫 [*P. chabaudi* (*P. c*) *P. yoelii* (*P. y*) *P. berghei* (*P. b*)] 等虫种的鼠疟模型进行的。由于虫种、接种剂量和研究的 DC 类型不同,众多针对 DC 功能的研究结果同样充满矛盾。非致死 *P. c* 可活化对粒细胞-巨噬细胞等刺激因子 (GM-CSF) 诱导的鼠骨髓来源的 DC (BMDC) 分泌 TNF- α 、IL-6、IL-12 P40 和 IL-12 P70,上调表达共刺激分子 CD40、CD54 (ICAM-1) 和 CD86,继而刺激 T 细胞活化迁移^[6]。*P. y* 感染的鼠脾的 CD11c⁺ DC 的 MHC II 和共刺激分子表达均显著表达上调,能够刺激抗原特异性 T 细胞的活化并诱导 T 细胞分泌 Th1 型特征的 IL-2、干扰素 (IFN- γ) 和肿瘤坏死因子 (TNF- α)^[15]。这些体内外的研究表明鼠 DC 能在鼠疟中活化。但也有相反的研究结果。有研究^[16]显示 DC 在与 *P. c* 和 *P. y* 感染的 iRBC 共培养之中不能成熟;尽管 DC 能够提呈抗原,但其聚集功能却受到损害,导致 T 细胞的增殖相对较少^[17]。还有研究^[4]显示 *P. y* 感染的 iRBC 能抑制 LPS 诱导 DC 的成熟,并且抑制 CD8⁺ T 细胞对肝期原虫的响应。通过对 5 个不同株感染鼠 DC 功能的比较,研究者^[18]发现这些 DC 的功能和表型在致死株和非致死株感染中出现明显的差别。分析发现在非致死性 *P. y* 和 *P. c* 疟原虫应答中 DC 保持完整的功能,能够分泌高水平的 IL-12;当 DC 从非致死株感染鼠过继到未感染鼠,被接种鼠能够

分泌 IL-12 抵抗致死性虫株的冲击。相反,DC 在感染三种致死株的鼠 *P. y* str. Ym、*Plasmodium vinckei* 和 *P. b* 中则功能不全,不能分泌 IL-12 和激活 T 细胞。在致死株 *P. b* str. ANKA 感染中,DC 也能诱导抗疟原虫的特异性 CD4⁺ T 细胞的响应,但导致了实验性脑疟的发生。这些研究表明了在 DC 激发抗疟免疫中重要的种株特异性影响,强调了在评估 DC 功能时必须充分考虑到这些虫株因素。疟原虫感染进程的不同时相中 DC 的功能亦有差别。在非致死性 *P. y* 感染的后期阶段,DC 会丧失 Toll 样受体 (TLR) 介导的 IL-12 和 TNF- α 产生能力^[19],此阶段表现为 Th1 向 Th2 细胞应答的转变,与 IL-4 介导的抗体保护相关。在对非致命性 *P. y* 17XN1 株和致命性 *P. b* 和 *P. y* Ym 虫株研究中发现,大约在感染 7~10 天表达 CD11c^{low} CD45Rb^{high} 的 DC 替代 CD11c⁺ DC 成为脾脏主要的 DC 亚群,且这些 DC 诱导产生 IL-10 的 T 细胞产生,从而介导免疫抑制^[20]。综合分析这些研究,存在着一个可能的趋势:在低密度的早期原虫血症时(或非致死株感染时)表现为 DC 的活化,而后期高的原虫血症时(或致死株感染时)表现为功能的抑制。这种活化或抑制与环境中的细胞因子类型密切相关。

2 DC 亚群和调节性 DC 在疟疾感染中的研究

2.1 DC 亚群在鼠疟感染中的不同作用 DC 包含不同的亚群,属于不同谱系,具有异质的形态和功能^[21]。以往的研究者大多把 DC 当作一个单一的同质的细胞群。直至近年,DC 亚群在鼠疟感染中的不同作用才得到研究^[6,22]。

有研究^[3]显示 *P. c* 感染的小鼠被输入抗卵清蛋白特异性 CD4⁺ T 后 12 天,抗原特异性 T 细胞也能发生与未感染鼠相似的活化;但这些感染鼠中增殖的 T 细胞与正常鼠中不同,其原因可能为浆细胞样 DC 成为主要的 DC 亚群,其分泌高水平的 IL-10 和极低水平的 IL-12,从而在非致命性 *P. c* 和 *P. y* 17XN1 感染时对启动 T 细胞应答表现为低效作用。近年来一些研究^[22-24]报道 CD11c^{low} CD45Rb^{high} DC 亚群具有潜在调节功能,研究证实了在约氏疟原虫感染的鼠疟模型中这种 CD11c^{low} CD45Rb^{high} DC 取代了传统的 CD11c^{high} DC 成为鼠脾中主导性的 CD11c⁺ DC,并且这种 DC 诱导分泌 IL-10 的 CD4⁺ T 细胞的产生。此外,当鼠注射了亚致死性剂量的 LPS 之后,体内发生调节性 DC 亚群扩大和传统 DC 亚群减少的现象,相似的改变同样在疟疾感染鼠的脾脏中发生。

CD11c^{low} CD45Rb^{high} DC 除可在鼠脾中观察到外,也可通过在体外分化培养的骨髓起源的 DC 加入 IL-10 来衍生。它们可特征性分泌高水平的 IL-10 而不分泌 IL-12,且低水平表达 CD86 和 MHC II。CD11c^{low} CD45Rb^{high} DC 的调节能力是通过它们在体内和体外诱导 T 细胞来实现的。当 CD11c^{low} CD45Rb^{high} DC 在体外被分化后接种到鼠体内,能够诱导抗原特异性的免疫耐受以及抑制 LPS 诱导的机体炎症反应,表明高炎症刺激能够使 DC 亚群向 CD11c^{low} CD45Rb^{high} DC 为主导亚群转变。在急性 *P. y* 感染中,CD11c^{low} CD45Rb^{high} DC 数量高度增长,超过脾全部

CD11c⁺ DC 的 85% ,同时伴随 CD11c^{high} DC 亚群的降低^[20]。这种调节性 DC 亚群的增殖与虫株的危害能力似乎并不相关,在非致命性 *P. y* 17XNL 和致命性 *P. b* ANKA、*P. y* YM 的感染中均发生同样的 DC 亚群转换;但不同的虫株有可能诱导调节性 DC 分泌不同的细胞因子和不同的 T 细胞应答,导致不同的原虫清除机制。业已证实传统 DC 与 T 细胞共孵育时可诱导其产生高水平的炎性细胞因子,原虫早期感染时血清中存在大量 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-12 以抵抗致命性感染^[25],但炎症效应的复杂性导致实验性脑疟等诸多的疟疾相关的免疫病理的发生,而 IL-10 作为重要的抗炎型介质能够阻止这种威胁^[26-27]。因而足够比例的 CD11c^{low} CD45Rb^{high} DC 的负性调节效应将改变高炎性因子条件下的适应性免疫应答方向,减少免疫病理损害的发生。

2.2 人浆细胞样 DC (PDC) 亚群在疟疾中的功能 在人类有两个 DC 前体的亚群,可以通过细胞表型和形态加以鉴定。CD11c⁺ 是髓系 DC,表达髓样标志 CD13 和 CD33^[28],而 CD11c⁻ 具有浆细胞样形态,不表达髓样标志而表达 CD123,称为 PDC。髓样 DC 和 PDC 表达不同的 TLR。在对 TLR2 和 TLR4 配基的响应中,髓样 DC 产生 TNF- α 、IL-6 和 IL-12 等,而 PDC 主要通过对 TLR9 配基响应产生 IFN- α ^[29]。研究还表明二者均能表达 TLR7,但响应 TLR7 配基所产生的细胞因子不同,髓样 DC 产生 IL-12,而 PDC 产生 IFN- α 。

PDC 通常是居于血液、骨髓和次级淋巴结 T 细胞区中。它们通过产生高水平 IFN- α 对病毒和微生物的 DNA 或 CpG-DNA 刺激进行响应,在固有免疫中扮演重要的角色^[30]。静息的 PDC 表达较低水平的共刺激分子,而活化的 PDC 可成为高效的 APC 而参与适应性免疫应答^[31]。有报道不同种株 *P. f* 裂殖体均能活化 PDC 表达 CD86,但不能表达 CD40;能够产生 IFN- α 但不产生 TNF- α ,并能促进 $\gamma\delta$ T 细胞的增殖和产生 IFN- γ ,在介导固有免疫中起重要作用。

在人重症和非重症疟疾中均可发现 IFN- α 的升高,在淋巴组织可观察到 PDC 的显著活化,而循环 PDC 的显著减少可能与迁移至脾等淋巴组织有关^[32]。在裂殖体可溶性裂解物作用下 PDC 表达 CCR7 上调,也表明了这种迁移的可能。因此 *P. f* 诱导的 PDC 体内活化可能是通过裂殖体释放的可溶性分子(经由 TLR9-MYD88 信号通路)激活 PDC 从而产生 IFN- α 、活化 $\gamma\delta$ T 细胞发挥功能的。激活和增殖的 $\gamma\delta$ T 细胞具有双重的作用,既能直接抑制原虫的生长,也会因 $\gamma\delta$ T 细胞活化产生高水平的促炎性因子而导致病理反应^[33]。

3 HZ 对 DC 功能的影响

HZ 是原虫对亚铁血红素处理后产生的以高铁血红素为核心,并与宿主或疟原虫的蛋白、磷脂结合后形成一种 β -羟高铁血红素样结构的杂合物^[34]。以往的研究^[35]发现, HZ 通过产生 IL-10 或产生过氧化物酶衍生物激活受体(peroxisome proliferator activated receptor, PPAR) 损伤了人单核细胞和鼠巨噬细胞的分化和功能。

Schwarzer 等^[36]在恶性疟的研究中发现吞噬 HZ 会导致

蛋白激酶 C 的抑制等,提出疟原虫有可能是通过降低关键的胞内信号分子来抑制 DC 的功能。后来的研究揭示 HZ 能与宿主和原虫的膜不饱和脂肪酸结合,导致大量的脂过氧化物衍生物经由亚铁血红素的非酶促反应生成,其中 HETE_s 和 HNE-4 分别是 PPAR 的配基和诱导物^[37],刺激 PPAR 会负性的干扰单核细胞向 DC 的成熟。Skorokhod 等^[9]研究表明 PPAR 的 mRNA 表达能被 HZ 上调并因此抑制共刺激分子的表达。HZ 介导的 DC 的抑制效应能被合成的 HZ 或 HZ 来源的配基如 HETE 和 4-HNE 和 PPAR 诱导物所模拟,或被 PPAR 抑制剂所抑制。因此 HZ 导致 DC 的功能损伤经由亚铁血红素晶体或其他复合物产生的高度异质性复合物介导的。

也有学者^[38]提出纯化 HZ 能够促进 DC 成熟,但更多的报道表明^[9]用人工合成的纯化 HZ 和 β -血红素的实验均得出与天然 HZ 类似的结果,去除脂质和 GPI 锚蛋白的 HZ 仍然严重损害单核细胞发育为成熟 DC。

4 疟原虫感染免疫中 DC 相关受体

4.1 通过 CD36 进行识别 CD36 属于 B 族清道夫受体,介导巨噬细胞对凋亡细胞的吞噬和清除^[39],也是主要的原虫黏附受体。研究^[8]表明,PIRBC 是通过 PIEMP-1 与 CD36 结合调节 DC 的功能。在人和鼠 DC 中 CD36 的表达明显不同,仅在鼠脾的动脉周围淋巴鞘中 CD8a⁺ DC 能表达 CD36^[40]。CD36 可能被原虫利用以调节宿主的免疫响应,以减轻炎症反应减缓原虫的清除。有研究^[41]发现,CD36 还能够与 TLR2/6 结合识别某些微生物的产物,提示 PIRBC-CD36 相互作用可影响宿主通过 TLRs 的应答,有待于深入研究。

4.2 通过 TLR 的作用 近年来 TLRs 越来越受到关注。TLR 是模式识别受体 (PRR) 表达于 DC 等固有免疫细胞上,在人类至少有 11 个成员,分别能识别不同的细菌、真菌和原虫产物的疾病模式分子。TLRs 是固有免疫系统的关键组分,同时在继发适应性免疫的启动中也起着关键作用,可控制 DC 的多种功能和刺激信号。联合应用 TLR 激动剂对 DC 有以下正向效应^[42]:上调 CCR7、CD40、CD80、CD86 等 DC 重要表面分子的表达;上调 Delta-4 并下调 Jagged-4 的表达(前者为促 Th1 配体,后者为促 Th2 配体);介导 IFN- γ 、IL-12、TNF、IL-6 等的分泌;一定程度上阻断 Treg 细胞的负向调节作用。

TLR 在 DC 的活化中起中心作用,能够依次上调共刺激分子,向 T 细胞提呈抗原和分泌细胞因子调节适应性免疫应答。在红内期感染中,当寄生虫释放再次感染其他红细胞时,持续释放的物质能够激活 TLRs 并诱导炎症因子的产生。MYD88(髓样分化因子)是连接大部分 TLR 启动下游信号传导的必须分子。Adachi 等^[43]报道,红内期 *P. b* 能经 TLRs-MYD88 依赖的信号途径诱导 IL-12 产生,导致肝细胞的损伤。目前已有证据表明 TLR2、TLR4 和 TLR9 能够识别 PIRBC 的产物。

有报道^[44]证实 TLR9 能识别 *P. f* HZ,导致 TNF- α 、IL-6

和 IL-12 的产生; *P. f*-GPI 能结合 TLRs, 通过人巨噬细胞 TLR2 和部分 TLR4 导致 TNF- α 分泌。目前仅知的 TLR9 配基是病原体 DNA 中的 CpG 模体, 但是研究表明在人型疟的裂殖体可溶性物质中的 TLR9 配基可以被硫酸铵沉淀, 因而该配基并非 DNA 而是蛋白质, 表明存在一个新的尚不为所知的与 IFN- α 相关的 TLR-9 配基。

对 TLRs 的过度刺激会导致 DC 进一步活化功能的丧失, 而随着感染的进行性发展原虫载量的增加, 理论上 DC 会形成 TLR 耐受, 导致随后阶段的 DC 免疫功能异常, 因此原虫接种剂量可能对 DC 表面受体的功能状态非常关键。研究表明^[45], 低剂量的肝期原虫较重度感染能够诱导更高更有效的免疫力, 或许就是因为避免了抗原过载造成的 TLR 耐受的后果。

5 DC 功能对细胞因子的影响

疟疾感染中, 机体的细胞因子水平伴随着原虫感染的发展而变化, DC 在这一调控中同样起到关键性的作用。

急性疟疾感染会导致机体广泛的炎症反应, 诱导高水平的 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-12, 以增强对原虫的杀伤能力。但过高的 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-12 水平亦可能导致激活巨噬细胞产生内源性致热源 TNF- α 、IL-1、IL-6, 导致炎症级联放大效应, 导致免疫病理反应, 引起重症疟疾的发生^[46]。鼠疟模型解释了在免疫保护和病理中 IFN- γ 均处于中心的地位, 一个及时且适度的 IFN- γ 响应是有效的抗原虫反应的表现^[47]。由于自然杀伤细胞 (NK) 在干扰素分泌上是一个始动的因素^[48], 而 *P. f* 对 NK 的活化高度依赖单核巨噬细胞和 DC 分泌的 IL-12 和 IL-18, 因此单核巨噬细胞和 DC 对急性疟疾感染中 NK 分泌 IFN- γ 发挥重要作用。

随着感染的发展, *Pf*RBC 通过黏附不成熟 DC 导致其成熟抑制, 造成 DC 的功能发生转变, IL-12 分泌下降, 并转向分泌 IL-10、TGF- β , 导致 Th1/IFN- γ 的促炎症反应被 TGF- β 和 IL-10 等介导的抗炎效应取代^[49]。*P. c* 感染的敲除 IL-10 的小鼠较野生组显示了较高的死亡率, 表明细胞因子的平衡对于解除疟原虫感染和避免病理反应非常重要。*P. f* 感染导致 DC 功能的下调和血浆 IL-10 水平的升高, 引起调节性 T 细胞比例升高^[50], 细胞因子平衡负向偏移, 从而有利于减少免疫病理反应的发生, 但也对病原体的清除造成不利影响。因而机体 IL-10、TGF- β 和促炎性因子如 IL-12、IL-18 的平衡对疟疾转归至为重要。

6 结语

免疫学研究和流行病学调查已经表明, 细胞免疫和体液免疫均参与了机体的抗疟应答, 但持续的疟疾感染只能建立低水平的保护性免疫。DC 能激发所有的适应性免疫, 以及部分参与固有免疫应答, DCs 在抗疟应答中扮演关键角色, 因而也是原虫调控的重要目标。从 Urban 第一次报道 *P. f* 影响 DC 功能始, 关于疟疾中包括人型疟疾和鼠疟中 DC 功能研究的报道存在众多冲突。这些矛盾并非要归因于实验本

身缺乏重复性, 而是由于牵涉到人和鼠模型的使用, 不同的虫种虫株的差异, 以及红前期和红内期的阶段差别、DC 的应答时相、不同的模式识别受体等不同因素。

鉴于疟疾免疫中 DC 功能的复杂性, 更确切的阐释不同疟原虫是通过何种机制影响 DC 功能, 调控宿主的抗疟免疫, 逃避宿主的免疫攻击以及是否能够通过调节机体 DC 功能来控制疟疾感染有赖于进一步深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] Banchereau J, Briere F, Caux C, *et al*. Immunobiology of dendritic cells [J]. *Immunol Annu Rev* 2000, 18: 767 - 811.
- [2] Urban BC, Ferguson DJ, Pain A, *et al*. Plasmodium falciparum-infected erythrocytes modulate the maturation of dendritic cells [J]. *Nature* 1999, 400(9): 73 - 77.
- [3] Millington OR, Di Lorenzo C, Phillips RS, *et al*. Suppression of adaptive immunity to heterologous antigens during Plasmodium infection through hemozoin induced failure of dendritic cell function [J]. *J Biol* 2006, 5(2): 5.
- [4] Ocana-Morgner C, Mota M, Rodriguez A. Malaria blood-stage suppression of liver-stage immunity by dendritic cells [J]. *Exp Med* 2003, 197(2): 143 - 151.
- [5] Ing R, Segura M, Thawani N, *et al*. Interaction of mouse dendritic cells and malaria-infected erythrocytes: uptake, maturation, and antigen presentation [J]. *J Immunol* 2006, 176(1): 441 - 450.
- [6] Leisewitz AL, Rockett KA, Gumet B, *et al*. Response of the splenic dendritic cell population to malaria infection [J]. *Infect Immun*, 2004, 72(7): 4233 - 4239.
- [7] Luyendyk J, Olivares OR, Ginger LA, *et al*. Antigen presenting cell function during Plasmodium yoelii infection. *Infect [J]. Immun*, 2002, 70(6): 2941 - 2949.
- [8] Urban BC, Willcox N, Roberts DJ. A role for CD36 in the regulation of dendritic cell function [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(15): 8750 - 8755.
- [9] Skorokhod OA, Alessio M, Mordmuller B, *et al*. Hemozoin (malarial pigment) inhibits differentiation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells: a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-mediated effect [J]. *J Immunol* 2004, 173(6): 4066 - 4074.
- [10] Urban BC, Hien TT, Day NP, *et al*. Fatal Plasmodium falciparum malaria causes specific patterns of splenic architectural disorganization [J]. *Infect Immun* 2005, 73(4): 1986 - 1994.
- [11] Urban BC, Mwangi T, Ross A, *et al*. Peripheral blood dendritic cells in children with acute Plasmodium falciparum malaria [J]. *Blood* 2001, 98(9): 2859 - 2861.
- [12] Pichyangkul S, Yongvanitchit K, Kum-arb U, *et al*. Malaria blood stage parasites activate human plasmacytoid dendritic cells and murine dendritic cells through a Toll-like receptor 9-dependent pathway [J]. *J Immunol* 2004, 172(8): 4926 - 4933.
- [13] Vichchathorn P. Induction of specific immune responses against the Plasmodium vivax liver-stage via in vitro activation by dendritic cells [J]. *Parasitol Int* 2006, 55(4): 187 - 193.
- [14] Lanzavecchia A, Sallusto F. The instructive role of dendritic cells on T cell responses: lineages, plasticity and kinetics [J]. *Curr*

- Opin Immunol 2001 ,13(3) : 291 – 298.
- [15] Perry JA ,Rush A ,Wilson RJ *et al.* Dendritic cells from malaria-infected mice are fully functional APC [J]. J Immunol 2004 ,172 (5) : 475 – 482.
- [16] Pouniotis DS ,Proudfoot O ,Bogdanoska V *et al.* Dendritic cells induce immunity and long-lasting protection against blood-stage malaria despite an in vitro parasite-induced maturation defect [J]. Infect Immun 2004 ,72(9) : 5331 – 5339.
- [17] Millington OR ,Gibson VB ,Rush CM *et al.* Malaria impairs T cell clustering and immune priming despite normal signal 1 from dendritic cells [J]. PLoS Pathog 2007 ,3(2) : 1380 – 1387.
- [18] Wykes MN ,Liu XQ ,Beattiel L *et al.* Plasmodium strain determines dendritic cell function essential for survival from malaria [J]. PLoS Pathog 2007 ,3(7) : e96.
- [19] Perry JA ,Olver CS ,Burnett RC *et al.* Cutting edge: the acquisition of TLR tolerance during malaria infection impacts T cell activation [J]. J Immunol 2005 ,174(10) : 5921 – 5925.
- [20] Wong KA ,Rodriguez A. Plasmodium infection and endotoxic shock induce the expansion of regulatory dendritic cells [J]. J Immunol 2008 ,180(2) : 716 – 726.
- [21] Shortman K ,Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes [J]. Nat Rev Immunol 2002 ,2(3) : 151 – 161.
- [22] Svensson M ,Maroof A ,Kaye PM. Stromal cells direct local differentiation of regulatory dendritic cells [J]. J Immunol 2004 ,172(4) : 805 – 816.
- [23] Wakkach A ,Fournier N ,Brun V *et al.* Characterization of dendritic cells that induce tolerance and T regulatory cell differentiation in vivo [J]. J Immunol 2004 ,172(8) : 605 – 617.
- [24] Fujita S ,Seino K ,Sato K *et al.* Regulatory dendritic cells act as regulators of acute lethal systemic inflammatory response [J]. Blood 2006 ,107(9) : 3656 – 3664.
- [25] Stevenson MM ,Tam MF ,Wolf SF *et al.* IL-12-induced protection against blood-stage Plasmodium chabaudi AS requires IFN- γ and TNF- α and occurs via a nitric oxide-dependent mechanism [J]. J Immunol 1995 ,155(5) : 2545 – 2556.
- [26] Mackintosh CL ,Beeson JG ,Marsh K *et al.* Clinical features and pathogenesis of severe malaria [J]. Trends Parasitol 2004 ,20 (12) : 597 – 603.
- [27] Gerard C ,Bruyins C ,Marchant A *et al.* Interleukin 10 reduces the release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia [J]. J Exp Med 1993 ,177(2) : 547 – 550.
- [28] Nakano H ,Yanagita M ,Gunn MD. CD11c⁺ B220⁺ Gr-1⁺ cells in mouse lymph nodes and spleen display characteristics of plasmacytoid dendritic cells [J]. J Exp Med 2001 ,194 (12) : 1171 – 1178.
- [29] Ito T ,Amakawa R ,Kaisho T *et al.* Interferon- α and interleukin-12 are induced differentially by Toll-like receptor 7 ligands in human blood dendritic cell subsets [J]. J Exp Med 2002 ,195 (11) : 1507 – 1512.
- [30] Siegal FP ,Kadowaki N ,Shodell M *et al.* The nature of the principal type I interferon-producing cells in human blood [J]. Science 1999 ,284(5421) : 1835 – 1837.
- [31] Cella M ,Facchetti F ,Lanzavecchia A *et al.* Plasmacytoid dendritic cells activated by influenza virus and CD40L drive a potent Th1 polarization [J]. Nat Immunol 2000 ,1(4) : 305 – 310.
- [32] Cruz Cubas AB ,Rolland L ,Bricave F *et al.* Role of spleen cells in protection against malaria [J]. Presse Med 2000 ,29(21) : 1186 – 1190.
- [33] Yanez DM ,Batchelder J ,van der Heyde HC *et al.* $\gamma\delta$ T-cell function in pathogenesis of cerebral malaria in mice infected with Plasmodium berghei ANKA [J]. Infect Immun 1999 ,67(1) : 446 – 448.
- [34] Arese P ,Schwarzer E. Malarial pigment (haemozoin): a very active inert substance [J]. Ann Trop Med Parasitol 1997 ,91(5) : 501 – 516.
- [35] Deshpande P ,Shastri P. Modulation of cytokine profiles by malaria pigment-hemozoin: role of IL-10 in suppression of proliferative responses of mitogen stimulated human PBMC [J]. Cytokine 2004 ,28(6) : 205 – 213.
- [36] Schwarzer E ,Turrini F ,Giribaldi G *et al.* Phagocytosis of P. falciparum malarial pigment hemozoin by human monocytes inactivates monocyte protein kinase C [J]. Biochim Biophys Acta 1993 ,1181(1) : 51 – 54.
- [37] Pizzimenti S ,Laurora S ,Briatore F *et al.* Synergistic effect of 4-hydroxynonenal and PPAR ligands in controlling human leukemic cell growth and differentiation [J]. Free Radical Biol Med 2002 ,32(3) : 233.
- [38] Coban C ,Ishii KJ ,Sullivan DJ *et al.* Purified malaria pigment (hemozoin) enhances dendritic cell maturation and modulates the isotype of antibodies induced by a DNA vaccine [J]. Infect Immun 2002 ,70(7) : 3939 – 3943.
- [39] Mota MM ,Jarra W ,Hirst E *et al.* Plasmodium chabaudi-infected erythrocytes adhere to CD36 and bind to microvascular endothelial cells in an organ-specific way [J]. Infect Immun 2000 ,68(7) : 4135 – 4144.
- [40] Belz GT ,Vremec D ,Febbraio M *et al.* CD36 is differentially expressed by CD8⁺ splenic dendritic cells but is not required for crosspresentation in vivo [J]. J Immunol 2002 ,168 (12) : 6066 – 6070.
- [41] Hoebe K ,Georgel P ,Rutschmann S *et al.* CD36 is a sensor of diacylglycerides [J]. Nature 2005 ,433(7025) : 523 – 527.
- [42] Creagh EM ,O'Neill LA. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity [J]. Trends Immunol 2006 ,27(8) : 352 – 357.
- [43] Adachi K ,Tsutsui H ,Kashiwamura S *et al.* Plasmodium berghei infection in mice induces liver injury by an IL-12- and toll-like receptor/myeloid differentiation factor 88-dependent mechanism [J]. J Immunol 2001 ,167(10) : 5928 – 5934.
- [44] Zhu J ,Krishnegowda G ,Gowda DC. Induction of proinflammatory responses in macrophages by the glycosylphosphatidylinositols of Plasmodium falciparum: the requirement of extracellular signal-regulated kinase ,p38 ,c-Jun N-terminal kinase and NF- κ B

- pathways for the expression of proinflammatory cytokines and nitric oxide[J]. *J Biol Chem* 2005, 280(9): 8617-8627.
- [45] Pombo DJ, Lawrence G, Hirunpetcharat C, *et al.* Immunity to malaria after administration of ultra-low doses of red cells infected with *Plasmodium falciparum* [J]. *Lancet*, 2002, 360(9333): 610-617.
- [46] Stevenson MM, Riley EM. Innate immunity to malaria [J]. *Nat Rev Immunol* 2004, 4(3): 169-180.
- [47] Luty AJ, Lell B, Schmidt-Ott R. Interferon-gamma responses are associated with resistance to reinfection with *Plasmodium falciparum* in young African children [J]. *J Infect Dis*, 1999, 179(4): 980-988.
- [48] Carnaud C, Lee D, Donnars O, *et al.* Cutting edge. Cross-talk between cells of the innate immune system: NKT cells rapidly activate NK cells [J]. *J Immunol*, 1999, 163(9): 4647-4650.
- [49] Omer FM, Kurtzhals JA, Riley EM. Maintaining the immunological balance in parasitic infections: a role for TGF- β [J]. *Parasitol Today* 2000, 16(1): 18-23.
- [50] O'Garra A, Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control [J]. *Nat Med* 2004, 10(8): 801-805.

(本文编辑 刘畅)

[文章编号] 1000-2200(2011)03-0323-04

· 综述 ·

WWOX 抑癌基因及其与恶性肿瘤的研究进展

王 军 综述 彭开桂 审校

[关键词] 肿瘤; WWOX 抑癌基因; 凋亡; 染色体脆性位点; 综述
[中国图书资料分类法分类号] R 73 [文献标识码] A

在恶性肿瘤的发生中, 抑癌基因的失活或缺失具有重要作用。脆性位点是染色体的一个基本特征, 它最活跃、最不稳定, 在特殊条件易发生基因断裂、重排和重组, 被认为与肿瘤的生长抑制有关。WW 结构域氧化还原酶(WW domain containing oxidoreductase, WWOX) 基因是 2000 年由 Bednarek 等^[1]在染色体普通脆性位点(common fragile of sites, CFSs) FRA16D(16q23.3~24.1) 区域克隆出的新基因。该基因近年研究发现与乳腺癌、肺癌、前列腺癌、卵巢癌等恶性肿瘤的发生、发展密切相关, 被认为是一个新的候选抑癌基因。本文就 WWOX 基因与恶性肿瘤的研究进展作一综述。

1 WWOX 基因的结构及特征

WWOX 基因全长约 1.1 Mb, 位于 16q23.3~24.1 区域, 跨越微卫星体标记 D16S515-D16S504, 包含常见的脆性位点 FRA16D, 所以别名为脆性位点 FRA16D 氧化还原酶。WWOX 基因由 9 个外显子组成, 其外显子本身并不大, 但其内含子 5 和 8 非常大, 仅内含子 8 就有 779 639 bp。WWOX 开放阅读框架长约 1 245 bp, 编码由 414 个氨基酸残基组成的分子量 46 000 的单链蛋白, 其氨基末端的 88 个氨基酸与 WW 域蛋白家族的序列同源。WWOX 基因含有两个 N 端 WW 结构域和一个 C 端的短链氧化还原酶结构域(SDR)。在两个 WW 结构域之间还含有一个核定位信号序列, 定向诱变此序列可取消 WWOX 的核转位。WW 区域是指两个糖基化的色氨酸区域, 大概含有 40 个氨基酸, 均包含高度保守的脯氨酸和色氨酸残基, 能与特殊的富含脯氨酸的配体相结合, 起着调节蛋白-蛋白之间的相互作用, 其本质是传递信号转导信息。C 端氧化还原酶结构域位于羧基端, 具有短链脱氢酶/还原酶结构域是 SDR 酶家族的结构特征。SDR 家

族是在功能上多样性的一组酶类, 其中重要一类是羟化类固醇脱氢酶, 该酶常与类固醇的新陈代谢有关, 例如性激素的分泌。Aqeilan 等^[2]在研究性激素相关器官如乳腺、前列腺、睾丸后得出 WWOX 氨基酸序列与 SDR 家族的蛋白同源, WWOX 脱氢酶结构域具有 SDR 的特点, 进而提示 WWOX 是一种性激素新陈代谢的酶, 在睾丸、卵巢和乳腺等性器官 WWOX 的表达是正向调节, 同样在性激素依赖的肿瘤如乳腺癌、前列腺癌中起着举足轻重的作用。

2 WWOX 基因的生物学作用及机制

WWOX 肿瘤抑制作用的机制可能与 p73、激活蛋白 2 γ (activator protein-2 γ , Ap-2 γ)、正性联合蛋白(yes-associated protein, YAP) 等细胞凋亡相关因子及外界致癌因素有关。

2.1 WWOX 与 p73 的关系 Aqeilan 等^[3]研究发现, WWOX 通过它的第一个 WW 区域与 p73 基因的 PPPY 序列相互作用, 酪氨酸激酶 Src 与磷酸化 WWOX 的 Tyr33 作用后可以增强与 p73 的结合, p73 与 p53 在结构和功能上是一致的, 都是肿瘤抑制蛋白, p73 不仅能识别和结合 p53 靶向基因主要包括 p21^{Waf1/Cip1}、BAX 启动子区域的 p53 反应元件, 而且能不同程度上反式激活这些靶基因的转录活性等。p73 主要存在于细胞核内, WWOX 主要存在于细胞质内, WWOX 的高表达触发 p73 从细胞核到细胞质的转移, 提高 p73 基因促细胞凋亡作用, 因此, 肿瘤细胞 WWOX 的丢失导致细胞核内 p73 基因的促细胞凋亡作用的下降。WOX1 是 WWOX 在鼠类的直系同源基因, 在 JNK1、p53 等介导的压力刺激感应下的凋亡所必需的, 在 TRADD(TNF receptor1-associated death domain protein) 介导的细胞死亡中 WOX1 与 p53 还具有协同作用^[4]。

2.2 WWOX 与 Ap-2 γ 的关系 Aqeilan 等^[5]报道 WWOX 通过它的第一个 WW 区域与 Ap-2 γ 的 PPPY 基因相结合, 当 WWOX 表达后促发细胞核内 Ap-2 γ 重新分布, 使 Ap-2 γ 移位至细胞质并与其结合, 抑制 Ap-2 γ 进入核内而减弱 Ap-2 γ 的

[收稿日期] 2010-01-22

[作者单位] 蚌埠医学院第一附属医院 放疗科 安徽 蚌埠 233004

[作者简介] 王 军(1982-), 男, 硕士研究生。