

免疫球蛋白样转录子 3 研究进展

蔡兆阳 俞淑文



通讯作者简介：俞淑文，女，微生物与生化药学博士，主任药师，曾以联合培养博士生身份到美国俄亥俄州立大学任访问学者 1 年，清华大学国际创新管理（医院药事管理）高级研修班结业。山东大学硕士生导师，山东大学药学院临床药学系副主任。现任山东大学附属济南市中心医院药学部主任。长期从事医院药学工作，主要研究方向为药事管理及流程、新药研究、合理用药、临床药学，是山东省卫生厅医院评审工作专家组成员。承担山东省科技厅科技发展计划 1 项，参与承担国家自然科学基金项目 1 项，横向课题 3 项。在国内外杂志上发表论文 15 余篇，参与学术著作 2 本。荣获中国药学会优秀药师、济南市改善医疗服务行动先进个人、济南市医院标准化建设工作先进个人、济南市第 11 届优秀科技工作者（记三等功 1 次）、济南市药品不良反应监测工作先进个人等多项荣誉。担任中国药理学会治疗药物监测研究专业委员会第二届委员会委员、山东省药事管理质控中心副主任、山东省医学会个体化用药检测与指导分会副主任委员、济南市药事质控中心主任等多项社会兼职。

【摘要】 免疫球蛋白样转录子 3 (ILT3) 是 ILT 超家族中的抑制性受体，特异性表达于单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞等，通过免疫受体酪氨酸抑制基序 (ITIM) 传导抑制信号，发挥免疫抑制作用。该文主要综述 ILT3 对免疫细胞、肺癌、胃癌、卵巢癌、白血病、心脏和胰岛等器官移植以及自身免疫性疾病的影响，并探讨影响 ILT3 表达的因素，以期对 ILT3 进一步的研究与开发应用提供理论依据。

【关键词】 免疫球蛋白样转录子 3；免疫抑制；免疫细胞

Research progress on immunoglobulin-like transcript 3 Cai Zhaoyang, Yu Shuwen. Institute of Pharmaceutics, Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author, Yu Shuwen, E-mail: yaoxuebu2012@163.com

【Abstract】 Immunoglobulin-like transcript 3 (ILT3) is an inhibitory receptor of the immunoglobulin-like transcript (ILT) superfamily, which specifically expressed in monocytes, macrophages and dendritic cells, etc. ILT3 exerts an immunosuppressive effect through the suppressive signal transduced by immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM). This article reviews the effect of ILT3 upon immune cells, lung cancer, gastric cancer, ovarian cancer, leukemia, organ transplantation such as heart and islets, and autoimmune diseases. The influencing factors of ILT3 expression is also investigated, aiming to provide theoretical basis for further research and development of ILT3.

【Key words】 Immunoglobulin-like transcript 3; Immunosuppression; Immune cell

免疫球蛋白样转录子 (ILT) 超家族是一种受体家族，该家族包括抑制性亚型 (ILT2、ILT3、ILT4、ILT5)、激活性亚型 (ILT1、ILT7、ILT8) 和可溶性亚型 (ILT6)，在单核细胞、巨噬细胞、

树突状细胞 (DC) 和 T 淋巴细胞等免疫细胞中广泛分布，发挥免疫抑制或免疫激活作用^[1]。

ILT3 是 ILT 超家族中的抑制性受体，又被称为白细胞免疫球蛋白样受体 5 (LIR5)、

CD85K, 有膜型 ILT3 (mILT3) 和可溶型 ILT3 (sILT3) 2 种存在形式。近年来, ILT3 在各种研究领域受到人们的广泛关注, 研究表明, ILT3 在抗原递呈细胞 (APC) 中表达可引起免疫细胞分化为免疫耐受细胞, 引发机体抑制。ILT3 在器官移植患者中的高表达可抑制对异体器官的免疫排斥作用, 提高器官移植的成功率。ILT3 等免疫抑制性分子若在体内表达过低, 会引起机体对自身的器官或细胞产生免疫反应, 从而引发自身免疫性疾病。此外, ILT3 在肿瘤细胞的免疫逃逸中发挥着重要作用, 抑制该分子的作用通路可以促进机体对肿瘤细胞的正常免疫杀伤作用, 抑制其进一步生长、扩散和恶性侵袭^[1]。

因此, ILT3 在细胞免疫、肿瘤、器官移植以及自身免疫性疾病中发挥着重要的作用, 在本文中笔者综述了 ILT3 的作用及影响因素, 以助同行们提高对 ILT3 生物学功能的认识。

一、ILT3 与细胞免疫

1. 高表达 ILT3 对免疫细胞的影响

DC 是专业的 APC, 双向调节抗原负载 T 淋巴细胞免疫反应或诱导免疫耐受, 在先天性免疫和适应性免疫中发挥重要作用。传统观念认为, DC 在辅助性 T 淋巴细胞 (Th) 和细胞毒性 T 淋巴细胞 (Tc) 的形成过程中发挥初始化作用, 近年来大量的证据表明, DC 也在诱导抑制性 T 淋巴细胞 (Ts) 和调节性 T 淋巴细胞 (Treg) 的分化中发挥免疫耐受作用。低表达共刺激分子和高表达抑制性受体为 DC 耐受特征^[2]。

DC 不同的功能状态可以对 T 淋巴细胞的免疫应答起促进或者抑制作用。初始 T 淋巴细胞的活化既需要由 T 淋巴细胞抗原受体 (TCR) 与 APC 上的抗原肽-主要组织相容性复合体 (MHC) 结合提供第一信号, 又需要由 APC 上的协同刺激分子与 T 淋巴细胞上的相应配体结合提供第二信号协同刺激^[3]。有研究表明, 高表达 ILT3 或 ILT4 的 DC 可抑制其 CD80、CD86 等共刺激分子的表达, 即抑制 T 淋巴细胞活化所需的第二信号, 进而抑制 T 淋巴细胞的增殖与活化^[1]。

ILT3 触发抑制 APC 成熟的作用已经越来越明确。有研究者证实 ILT3 可以向细胞内和细胞外双向传导信号^[4-5]。在细胞内, 通过募集含 SH2 结构的蛋白酪氨酸磷酸酶使其结合到免疫受体酪氨酸抑制基序 (ITIM) 上, 抑制核因子- κ B 或

促分裂素原活化蛋白激酶 (MAPK) p38 的转录激活作用, 从而抑制共刺激分子和黏附分子的转录和表达, 抑制细胞活化。在胞外, ILT3 可与活化的 T 淋巴细胞表面配体结合, 使之转化为 Treg, 并诱导新的 CD4⁺ Treg 和 CD8⁺ Ts 分化成熟。

有研究者发现, 具有高效免疫刺激活性的 DNA 片段 (Cp GDNA) 能使不成熟 DC 分泌 TNF、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 及 IL-6 等, 促进其发育及活化, 活化的 DC 表面 ILT3 表达明显减少, 而 CD40 和 CD86 等共刺激分子表达增加, 表明活化 DC 的 ILT3 表达下降, 反证了 ILT3 可能在耐受性 DC 的形成中发挥重要作用^[5]。

2. 多种因素可诱导 ILT3 高表达

Waschbisch 等^[7]发现可以用 IL-10 和 I 型 IFN (IFN- α 、IFN- β) 刺激单核细胞来源的并指状 DC (iDC) 来诱导高表达 ILT3、ILT4 的 DC 的产生。这种高表达 ILT3、ILT4 的 DC 使 T 淋巴细胞变得无能, 通过与其它 APC 相似的细胞接触依赖机制起作用, 使致耐受性级联反应持续, 而添加 IL-2 后可以恢复其反应性。另外, ILT3 的表达还可以由维生素 D3 类似物和环氧化酶-1/2 抑制剂 (阿司匹林和尼氟酸) 等诱导产生。

Stallone 等^[8]在雷帕霉素对肾移植受者的免疫调节作用研究中发现, 雷帕霉素诱导 DC 表面上的 ILT3 和 ILT4 的上调, 并且这种作用与 Treg 的数量增加和 CD8⁺/CD28⁻ T 淋巴细胞群的扩增有关。

Si 等^[9]发现, 暴露于环孢素的自然杀伤细胞中 ILT3 和 ILT4 的 RNA 和蛋白水平均有所增加, 因此认为环孢素上调 ILT3 和 ILT4 在自然杀伤细胞中的表达, 并且影响自然杀伤细胞对肿瘤细胞的细胞毒性及自然杀伤细胞的增殖。

二、ILT3 与肿瘤

长期以来, 免疫监视对于预防恶性肿瘤的发展起着重要的作用, 逃避免疫系统施加的选择性压力的恶性细胞具有明显的生存优势。大量研究表明, ILT3 在一些 APC 上的表达引起 APC 耐受, 从而抑制其抗原提呈能力, 抑制下游免疫细胞的激活, 促进肿瘤的免疫逃逸。ILT3 在肺癌、胃癌、白血病等肿瘤中高表达, 且与肿瘤患者的淋巴浸润、分化程度和生存期密切相关。

1. ILT3 在肺癌中的表达

ILT3 在多株肺癌细胞中高表达, 有关肺癌组织的研究表明, 肺癌组织高表达 ILT3 的患者的生存期比低表达 ILT3 患者的短。de Goeje 等^[10] 对非小细胞肺癌患者的研究首次证实了 ILT3 在骨髓源性抑制细胞(MDSC)上表达。结果显示循环 MDSC 的水平升高与生存率降低有关, 肿瘤组织中具有高含量 ILT3 的患者的中位生存期比 ILT3 含量低患者的短。因此, 在 MDSC 上表达 ILT3 可能反映了以前未知的机制, ILT3 通过该机制诱导免疫抑制。此外, Li 等^[11] 的研究证明, ILT3 可能是通过 MAPK 和磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K-Akt)途径上调血管内皮生长因子(VEGF-A)和成纤维细胞生长因子 1(FGF-1)等分子促进肺癌细胞的分化和侵袭。

2. ILT3 在消化道肿瘤中的表达

ILT3 mRNA 在胃癌细胞中的表达随着肿瘤细胞分化程度的增加而增加, Zhang 等^[12] 报道, LT3 蛋白在胃癌细胞的细胞质或细胞膜中表达, 但在正常胃组织中没有观察到 ILT3 表达, 在体外毒性试验中, 自然杀伤细胞对胃癌细胞的杀伤力随着 ILT3 的含量增加而降低。因此, 胃癌细胞通过某些途径表达 ILT3 并影响免疫细胞的杀伤活性。

在免疫组织化学染色实验中, 肿瘤相关 CD68⁺ 巨噬细胞在结直肠癌和胰腺癌中表现出密集型 mILT3 染色^[1]。肿瘤浸润淋巴结中表达 ILT3 的巨噬细胞的频率远高于非入侵淋巴结, 这表明, 高表达 ILT3 肿瘤相关巨噬细胞可以抑制 T 淋巴细胞对肿瘤相关抗原的反应性, 促进肿瘤浸润。

3. ILT3 在白血病细胞中的表达

ILT3 在不同种白血病中表达, 抑制细胞免疫敏感性, 促进免疫耐受。Dobrowolska 等^[13] 发现, ILT3 可作为一种高度敏感和特异性的标志物, 将急性髓细胞性白血病(AML)及单核细胞分化与其他类型的白血病区分开, 便于不同治疗策略的进一步实施。由于白血病细胞的 ILT3 的表达可能有助于抑制肿瘤特异性 T 淋巴细胞应答, 且在细胞中转染 ILT3 基因会导致体外和体内同种异体 T 淋巴细胞应答的显著降低, 因此, 用特异性抗体或拮抗剂阻断 ILT3 信号可能使 ILT3⁺ AML 细胞对分化剂和抗肿瘤 T 淋巴细胞应

答更敏感。Zurli 等^[14] 也在慢性淋巴细胞性白血病患者中发现其肿瘤细胞中 ILT3 异位表达, 认为其可能通过抑制 Akt 信号通路使肿瘤细胞耐受, 引起其侵袭性生长。

4. ILT3 在其他肿瘤中的表达

Chen 等^[15] 的研究表明, sILT3 存在于各种恶性肿瘤患者的血清中, 抑制混合淋巴细胞培养中的 T 淋巴细胞反应性, 诱导 T 淋巴细胞无能, 促进肿瘤微环境或前哨淋巴结中 CD8⁺ Ts 的分化。当加入抗 ILT3 单抗或消耗血清中的 ILT3 后, 这种抑制作用消失, 进一步验证了 ILT3 对肿瘤的抑制作用。此外, Khan 等在 2012 年提出, ILT3 在产蛋鸡卵巢肿瘤上皮细胞中高表达。

三、ILT3 与器官移植

器官移植排斥反应的本质是免疫应答反应, 探索控制移植后的排斥反应以提高移植物的存活率一直是移植免疫学家致力攻坚的堡垒。目前抑制同种异基因排斥的措施主要包括: 诱导受者对供者移植抗原的特异性耐受; 使用免疫抑制剂; 寻求与受者 MHC 相配的供体组织或器官。

1. ILT3 诱导移植受体的抗原特异性耐受

ILT3 对 T 淋巴细胞和耐受性 APC 的诱导在免疫耐受中起着至关重要的作用。有研究者在静止或经历免疫排斥的心脏、肾脏和肝脏移植接受者中进行了 Ts 诱导 ILT3 的研究。在来自静息患者的 T 淋巴细胞中, 可以在与移植供体相匹配的靶 APC 中离体诱导 ILT3, 而发生排斥的患者的 T 淋巴细胞则不能诱导产生 ILT3^[16]。Xu 等^[17] 报道, 通过慢性抗原刺激产生的特异性 CD8⁺ Ts 在 APC 上诱导 ILT3 和 ILT4 的上调。反过来, 高表达 ILT3 和 ILT4 的 APC 引起抗原特异性 Treg 细胞的分化, 因此他们认为抑制性 ILT 受体的诱导可用于在同种异体移植中建立耐受性。另外, 他们也认为, 移植患者静止和临床耐受的机制可能是异种 CD8⁺ Ts 诱导抑制性受体(ILT3/ILT4)上调和阻断移植体内皮细胞共刺激分子, 从而防止 CD4 受体和 CD8 细胞毒性细胞促进的供体人类淋巴细胞抗原(HLA)的同种异型识别、炎症和坏死。因为在没有炎症或坏死的情况下, 宿主 APC 不太可能被活化, 加工移植同种异体抗体, 并将其呈递给自体 Th。

2. ILT3 用作免疫抑制剂

有研究者开发了重组 ILT3-Fc, 并构建非肥

胖糖尿病/重症联合免疫缺陷(NOD/SCID)小鼠模型,结果显示 sILT3-Fc 诱导嵌合人 T 淋巴细胞的异种耐受性,阻止移植物抗宿主病的发展^[18]。此外,链脲佐菌素治疗可使糖尿病人源化小鼠在用 ILT3-Fc 处理时耐受同种异体人胰岛^[18]。他们认为,ILT3-Fc 是迄今为止在人源化 NOD/SCID 小鼠中测试的耐受性最强的药物,这一发现对于胰岛移植相当重要,因为所有目前使用的免疫抑制剂均具有致糖尿病性,而 sILT3 无毒性,不影响正常的胰腺功能^[18]。

3. ILT3 与自身免疫性疾病

机体维持对自身的耐受性主要归因于 CD4⁺CD25⁺天然 Treg 细胞,这种调节平衡一旦被打破就会导致器官特异性的自身免疫性疾病的发生,Treg 细胞和 APC 之间的相互作用在预防自身免疫性疾病中发挥关键作用。

Mark 等于 2010 年提出,ILT3 有助于 IFN- β 治疗多发性硬化,IFN- β 可能通过 ILT3 诱导耐受性 APC,从而引起 Ts 分化,阻止该自身免疫性疾病的急性发作、复发和进展。Waschbisch 等^[7]发现 ILT3 在神经炎症调节中起关键作用,因此,靶向 ILT3 可能是治疗自身免疫性疾病的新方向。

在 SLE 的研究中,Inui 等于 2016 年提出 ILT3 功能丧失多态性与 SLE 炎症细胞因子水平升高相关。Leskela 等在 2013 年指出,自身免疫性甲状腺疾病患者的外周血中 ILT3 的含量较正常者明显减少,这些研究均支持 ILT3 在免疫系统中的抑制作用。

四、结论与展望

ILT3 在 APC 中的表达可引起其表面共刺激分子和黏附分子的下调,不能为 T 淋巴细胞的活化提供第二信号,从而诱导 Ts 的产生,进一步放大免疫抑制的级联反应。因此,ILT3 在肿瘤患者组织和血清中的存在是肿瘤细胞免疫逃逸、免疫功能抑制的重要原因。其次,在同种异体的移植患者中,ILT3 能促进移植耐受,而 mILT3 和 sILT3 在机体特定器官的稳定表达可维持自身免疫性疾病的稳定,因此,靶向 ILT3 可能会成为肿瘤免疫、器官移植及自身免疫性疾病等领域的新疗法。目前,有研究者已将 ILT3 重组蛋白用作免疫抑制剂,该抑制剂可诱导 T 淋巴细胞无反应性的抑制信号的级联反应^[19]。笔者相信,

充分认识 ILT3 的免疫抑制作用及其机制,会为治疗上述疾病提供新靶点、新方法。

参 考 文 献

- [1] Kang X, Kim J, Deng M, John S, Chen H, Wu G, Phan H, Zhang CC. Inhibitory leukocyte immunoglobulin-like receptors: immune checkpoint proteins and tumor sustaining factors. *Cell Cycle*, 2016, 15 (1): 25-40.
- [2] Cousens L, Najafian N, Martin WD, De Groot AS. Tregitope: immunomodulation powerhouse. *Hum Immunol*, 2014, 75(12): 1139-1146.
- [3] 杨哲,牟思玉,陈艺,王祖森,吴力群. IgE 与肿瘤的相关性研究. *新医学*, 2018, 49 (2): 86-89.
- [4] Vlad G, Chang CC, Colovai AI, Berloco P, Cortesini R, Suciufoca N. Immunoglobulin-like transcript 3: a crucial regulator of dendritic cell function. *Hum Immunol*, 2009, 70 (5): 340-344.
- [5] Vlad G, Suciufoca N. Induction of antigen-specific human T suppressor cells by membrane and soluble ILT3. *Exp Mol Pathol*, 2012, 93 (3): 294-301.
- [6] Xiao BG, Duan RS, Link H, Huang YM. Induction of peripheral tolerance to experimental autoimmune myasthenia gravis by acetylcholine receptor-pulsed dendritic cells. *Cell Immunol*, 2003, 223 (1), 63-69.
- [7] Waschbisch A, Sanderson N, Krumbholz M, Vlad G, Theil D, Schwab S, Mäurer M, Derfuss T. Interferon Beta and vitamin D synergize to induce immunoregulatory receptors on peripheral blood monocytes of multiple sclerosis patients. *PloS One*, 2014, 9 (12): e115488.
- [8] Stallone G, Pontrelli P, Infante B, Gigante M, Netti GS, Ranieri E, Grandaliano G, Gesualdo L. Rapamycin induces ILT3 high ILT4 high dendritic cells promoting a new immunoregulatory pathway. *Kidney Int*, 2014, 85 (4): 888-897.
- [9] Si YQ, Bian XK, Lu N, Jia YF, Hou ZH, Zhang Y. Cyclosporine induces up-regulation of immunoglobulin-like transcripts 3 and 4 expression on and activity of NKL cells. *Transplant Proc*, 2012, 44 (5): 1407-1411.
- [10] de Goeje PL, Bezemer K, Heuvers ME, Dingemans AC, Groen HJ, Smit EF, Hoogsteden HC, Hendriks RW, Aerts JG, Hegmans JP. Immunoglobulin-like transcript 3 is expressed by myeloid-derived suppressor cells and correlates with survival in patients with non-small cell lung cancer. *Oncoimmunology*, 2015, 4 (7): e1014242.
- [11] Li J, Chen H, Li X, Wang L, Gao A, Zhang P, Lin W, Gao W, Yang D, Guo X, Liu J, Dang Q, Sun Y. Co-expression of podoplanin and fibroblast growth factor 1 predicts poor prognosis in patients with lung squamous cell carcinoma. *Mol Med Rep*, 2017, 16 (2): 1643-1652.
- [12] Zhang Y, Lu N, Xue Y, Zhang M, Li Y, Si Y, Bian X, Jia Y, Wang Y. Expression of immunoglobulin-like transcript (ILT) 2 and ILT3 in human gastric cancer and its clinical significance.

- Mol Med Rep, 2012, 5 (4): 910-916.
- [13] Dobrowolska H, Gill KZ, Serban G, Ivan E, Li Q, Qiao P, Suci-Foca N, Savage D, Alobeid B, Bhagat G, Colovai AI. Expression of immune inhibitory receptor ILT3 in acute myeloid leukemia with monocytic differentiation. *Cytometry B Clin Cytom*, 2013, 84 (1): 21-29.
- [14] Zurli V, Wimmer G, Cattaneo F, Candi V, Cencini E, Gozzetti A, Raspadori D, Campoccia G, Sanseviero F, Bocchia M, Baldari CT, Kabanova. Ectopic ILT3 controls BCR-dependent activation of Akt in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2017, 130 (18): 2006-2017.
- [15] Chen L, Xu Z, Chang C, Ho S, Liu Z, Vlad G, Cortesini R, Clynes RA, Luo Y, Suci-Foca N. Allospecific CD8 T suppressor cells induced by multiple MLC stimulation or priming in the presence of ILT3. Fc have similar gene expression profiles. *Hum Immunol*, 2014, 75 (2): 190-196.
- [16] Nowak I, Wilczyńska K, Wilczyński JR, Malinowski A, Radwan P, Radwan M, Kuśnierczyk P. KIR, LILRB and their ligands' genes as potential biomarkers in recurrent implantation failure. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2017, 65 (5): 391-399.
- [17] Xu Z, Ho S, Chang CC, Zhang QY, Vasilescu ER, Vlad G, Suci-Foca N. Molecular and cellular characterization of human CD8 T suppressor cells. *Front Immunol*, 2016, 7 (2): 549.
- [18] Chang CC, Vlad G, D' Agati VD, Liu Z, Zhang QY, Witkowski P, Torkamani AA, Stokes MB, Ho EK, Cortesini R, Suci-Foca N. BCL6 is required for differentiation of Ig-Like Transcript 3-Fc-Induced CD8⁺ T suppressor cells. *J Immunol*, 2010, 185 (10): 5714-5722.
- [19] Chang CC, Zhang QY, Liu Z, Clynes RA, Suci-Foca N, Vlad G. Downregulation of inflammatory microRNAs by Ig-like transcript 3 is essential for the differentiation of human CD8 (+) T suppressor cells. *J Immunol*, 2012, 188 (7): 3042-3052.

(收稿日期: 2018-02-03)

(本文编辑: 洪悦民)

