

Recent Advance in GITR/GITRL Signaling Pathway and Bronchial Asthma

Yaping Ying¹, Tongsheng Xia^{2*}, Xiaohong Jin¹, Zezhong Yao¹

¹Department of Pediatrics, The Affiliated Taizhou Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou

²Department of Pediatrics, Taizhou hospital of Integrated Chinese and Western Medicine, Taizhou

Email: *xshtzg@163.com

Received: Mar. 13th, 2013; revised: Mar. 15th, 2013; accepted: Apr. 12th, 2013

Copyright © 2013 Yaping Ying et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: Bronchial asthma is a global respiratory allergic disease, with the rising incidence of bronchial asthma in children. It has seriously affected children's growth and mental health, and even may be life-threatening. But its pathogenesis has not fully elucidated so far, and the traditional view is that the disorder of Th1/Th2 balance plays an important role in the onset of asthma. But with the study of other T cell subsets besides Th1 and Th2, we gradually find that there exists a close relationship between CD4⁺CD25⁺ Regulatory T cell (Treg) and asthma. Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (GITR) is one member of Tumor necrosis factor receptor (TNFR) superfamily, and is highly expressed in CD4⁺CD25⁺ Treg. When combining with its ligand GITRL (Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor ligand). They can not only enhance the activation and proliferation of T cell, enhance the effect of MAPKs and NF-κB, but also inhibit the function of CD4⁺CD25⁺ Treg cells. GITR/GITRL signal is beneficial to anti-tumor immune and antiviral immunity and plays a complex role in the regulation of the immune system.

Keywords: GITR; GITRL; Bronchial Asthma

GITR/GITRL 信号通路与支气管哮喘的研究进展

应亚萍¹, 童夏生^{2*}, 金小红¹, 姚泽忠¹

¹温州医学院附属台州医院儿科, 温州

²台州市中西医结合医院儿科, 台州

Email: *xshtzg@163.com

收稿日期: 2013年3月13日; 修回日期: 2013年3月15日; 录用日期: 2013年4月12日

摘要: 本文采用基于密度泛函理论(DFT)框架下广义梯度近似平面波超软赝势法, 支气管哮喘是一种全球性的发病率日益升高的呼吸道变应性疾病, 支气管哮喘严重影响儿童的生长发育和心理健康, 甚至威胁到他们的生命。但其发病机制目前尚未完全阐明, 传统的观点认为 Th1/Th2 平衡失调理论在哮喘的发病中起着重要的作用。但随着对 Th1, Th2 以外的其他 T 细胞亚群的研究, 人们逐渐发现 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞与哮喘有着密切的关系。而糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor GITR)是属于肿瘤坏死因子受体(Tumor necrosis factor receptor TNFR)超家族的成员之一, 在 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞(Regulatory T cell Treg)细胞高表达, 与其配体糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体配体(Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor ligand GITRL)结合后能增强 T 细胞激活、增殖、分泌细胞因子、MAPKs 和 NF-κB 激活效应、抑制 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的功能, 从而加强效应性 T 细胞的活性, 有利于增强抗肿瘤免疫和抗病毒免疫, 在免疫系统的调节中起着复杂的作用。

*通讯作者。

关键词: GITR; GITRL; 支气管哮喘

1. GITR-GITRL 的结构

GITR 又被命名为 TNFR 超家族的活化诱导成员 (The activation induced members of the TNFR superfamily AITR) 或者肿瘤坏死因子受体超家族成员 18 (Tumor necrosis factor receptor superfamily member 18, TNFRSF18), 1997 年 Nocentini 等^[1]首次从受地塞米松刺激后的小鼠 T 杂交瘤细胞中成功克隆出小鼠 GITR。小鼠和人类的 GITR/GITRL 的同源性程度达 50%~60%。GITR 是一个由 228 个氨基酸构成的富含半胱氨酸的糖蛋白, 相对分子质量为 66,000~70,000, 属于 I 型跨膜糖蛋白, 其相关基因定位于 1p36.3, 包含 5 个外显子, 前 3 个编码细胞外域, 外显子 4 编码一小部分的细胞外域, 跨膜区域和部分的细胞质的领域, 外显子 5 编码胞浆的领域。GITR 的胞外区有 3 个富含半胱氨酸的非经典区域。GITR 的结构中没有死亡区域, 但是通过结合蛋白能诱导凋亡, 在它的中心区域有一个死亡域的同源区域, 叫做 Siva。Siva 调节 Bcl-2 家族成员和半胱天冬酶的活化^[5]。GITR 的细胞质区域与 TNFR 的其他成员, 包括 CD27、CD134、CD137、OX40、4-1BB 等具有很大的同源性^[6]。人类 GITR 及其配体于 1999 年分别被克隆获得, 小鼠 GITRL 是 2003 年被 Tone 等和 Kime 等同时发现^[24]。GITRL 也属于 TNFRSF, 基因定位于 1q23, 是一个相对分子质量约 20,000 的 II 型跨膜糖蛋白^[7]。人类的 GITRL 是一个三聚体, 但是也可以是单体或者表现为其他的多聚体形式, 然而小鼠的 GITRL 表现为二聚体形式^[8]。GITRL 是由 N 端的胞浆区域、一个跨膜区域、一个 COOH 端的细胞外区域组成。GITRL 的胞浆区域与 OX40L 相比更短, 但是两者有很高的同源性。哺乳动物 GITRL 的胞浆区域有很大的相似性, 相同的接口是 E-x-M-P-L-x(2)-S-x(2)-Q-x-A-x-R-x(2)-K-x-W-L^[5]。

2. GITR/GITRL 的分布

GITR 在人类和小鼠的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的静息状态下能高表达, 在活化后表达量会增加, 在其他的调节细胞(如 CD4⁺CD25⁻, CD8⁺CD25⁺和 CD8⁺CD28⁺T 细胞)也有较高的表达水平。GITR 在 CD4⁺和 CD8⁺T

效应细胞表达量低, 但是其活化后能正调节 GITR。大部分的 GITR mRNA 是在细胞活化后的数天在初级和活化的 T 细胞和 NK 细胞中表达上调的^[10]。GITR 除了 T 细胞和 NK 细胞外也在血液细胞中表达, 包括肥大细胞、中性粒细胞、B 细胞、巨噬细胞、NK 细胞和其他的抗原提呈细胞^[9]。在这些细胞中的表达与 T 细胞一样在活化后上调。GITR 也能在破骨前体细胞、角质细胞、视网膜色素上皮细胞检测到。另外在小鼠和人类的某些非血液的组织中像皮肤和肺也能找到 GITR mRNA 的表达。重要的是, 一些体内试验表明 GITR 在 T 细胞上的表达形式和表达水平并不尽相同, 也因疾病状态的不同而不同。Li et al 等报道了非感染性葡萄膜炎的病人体内的 CD4⁺T 细胞比健康的对照组表达更高量的 GITR, 而且 GITR 的表达与病程相关^[11]。T. P. Lahey 等发现在艾滋病病毒感染的个体中, GITR 在 CD4⁺T 细胞上的基础表达量比正常的志愿者要高^[12]。B. Wilde 等报道了在 Wegener's 肉芽肿病的患者中, CD4⁺CD25⁺T 细胞的表达量与疾病的活动性相关^[13]。Leetal 等报道了活动性的系统性红斑狼疮患者体内的 GITR 的表达量比非活动性的患者要高^[14]。I 型糖尿病的患儿与正常的对照组相比, T 调节细胞上表现出 GITR-mRNA 表达量的减少^[16]。这些数据表明 GITR 的表达量甚至功能都与各自的免疫效应器的细胞群的活化水平有关。GITRL 在专业的和非专业的抗原提呈细胞(Antigen-presenting cells, APC)中均有表达, 包括未刺激的骨髓树突状细胞(Dendritic cells, DC)细胞集、浆细胞 DC 的前体、B 细胞和单核细胞^[17]。高表达量的 GITRL 在上皮细胞中检测到, 尤其是在微血管来源的上皮细胞^[16]。但 GITRL 比较独特的一点是, 其主要表达在静息性 APC 上, 刺激 BCR、CD40 或不同的 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)后, GITRL 的表达下调。OX40-L, 4-1BB-L 在静息的 APC 上检测不到, 但以 TLR 刺激 APC 活化后, 它们的表达可上调^[22]。与强有力的共刺激配体 CD86 相比, 抗原性的或者 TLR 刺激并没有实质性上调骨髓 DC 的 GITRL 的表达, 反而在刺激后量减少。可以证实这点的是在小鼠的接触性超敏反应或者肿瘤移植模型中, 抗原性刺激后在局部的淋巴结 DC 细胞中没

有观察到实质性的 GITRL 的诱导^[18]。GITRL 也被报道在人类脐静脉上皮细胞和微血管来源的上皮细胞表达^[19]。在眼睛中, GITRL 在人类的视网膜色素上皮细胞、穆勒细胞、视网膜感光细胞上表达, 在小鼠的角膜上皮细胞和虹膜睫状体表达^[20]。中枢神经系统的小胶质细胞上也有 GITR 和 GITRL 的表达, 并参与神经炎症疾^[21]。GITR/GITRL 在组织中的分布目前尚未有一致的结论。

3. GITR 与 Treg 的关系

Treg 是具有独特免疫调节功能的 T 细胞亚群, 具有免疫抑制和免疫无能作用。Treg 细胞分为两大类: 天然调节 T 细胞(Natural regulatory T cells, nTreg)以及适应性调节 T 细胞(Adaptive regulatory T cells, aTreg), 后者主要包括 I 型调节 T 细胞和 T 辅助细胞 3。nTreg 表达转录因子叉头状/翅膀状螺旋转录因子(Foxp3)和高水平 IL-2R α 链(CD25)。nTreg 在胸腺内由其自身抗原诱导而生成, 通过细胞-细胞接触的方式发挥作用, 而 aTreg 细胞来源于外周血, 由自身抗原和外源性抗原共同诱导生成, 通过分泌细胞免疫因子介导免疫抑制效应^[24]。Treg 的表面分子包括 GITR, Foxp3, CD3, CD25, CD62L, CD69, BTLA, GITR, ICOS, Neuropilin-1(Nrp-1)和 PD-1 等。在人类, GITR 的表达对 Treg 具有负性调节作用。抗 GITR 抗体(DTA-1)能起到生理性 GITRL 的作用, 可消除 Treg 细胞的抑制活性, 提高 Treg 细胞的活性或数量可以逆转 GITRL 刺激引起效应 T 细胞的免疫应答。GITR 和 GITRL 的相互作用可抵抗 Treg 细胞的抑制功能。GITR/GITRL 系统的活化有几个可能的机制。其中最经典的说法是 GITRL 触发了 GITR 的活化, 并上调了包括 ICAM-1、P 选择素、E 选择素等粘附分子的表达水平。有研究证明 GITR 活化信号在 CD3⁺细胞中能调节 P 选择素和 E 选择素的表达, 而 GITR-FC 融合蛋白能减少肺部的炎症细胞和减少博来霉素处理后的纤维化也证明了这一机制。另外一个假说是认为 GITRL 起到一个类似粘附分子的作用, 在表达 GITR 的细胞如淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞的渗出中起作用^[26-29]。GITR/GITRL 导致 Treg 抑制作用减弱的机制目前尚未达成一致的意见。Joetham A. 等发现 GITR 导致 Treg 的抑制作用减少是依赖 C-Jun 氨基端激酶(即应激活

化蛋白激酶 JNK)的活化。他们用 GITR 配体在体外刺激 Treg 后, JNK 的磷酸化增加了, 但是细胞外的信号调节蛋白激酶 ERK 或者 P38mak 并没有增加。接下来使用 SP600125-JNK 通路的抑制剂, 抑制 GITR 介导的 JNK 的磷酸化。然后检测标志着 JNK 激活的磷酸化的 C-jun, 发现其在野生型的小鼠的 Treg 的免疫沉淀物中能检测出来, 但是在 JNK 或者 GITR 缺陷的小鼠中检测不出。用 JNK 磷酸化抑制剂处理后, 所有由 GITR 诱导的 Treg 的表型及功能都发生了完全相反的改变, 即完全恢复了肺部过敏反应抑制功能及体外的 CD4⁺CD25⁻T 细胞的增殖。因此, 可以推断出 JNK 的磷酸化在 Treg 的抑制作用减少中发挥重要的作用^[30]。Khom 等研究表明 Treg 可能是通过抑制 IL-2 的产生来起到细胞抑制作用, 进而降低 GITR 的表达, 降低效应 T 细胞活化的共刺激信号, 从而起到抑制效应 T 细胞的作用。因此, DTA-1 取消 Treg 细胞抑制活性的可能的机制是: 刺激 GITR 使 CD4⁺效应 T 细胞活化增殖, 产生更多的 IL-2, 同时使 GITR 的表达进一步增加, 这种表达增加的 GITR 可进一步促进 CD4⁺效应 T 细胞的活化增殖, 对 Treg 细胞的免疫调节产生抵抗; 另一方面, Treg 细胞上 GITR 受到刺激后又可取消 Treg 细胞的免疫抑制作用, 从而形成一个循环放大效应。GITR 触发在效应 T 细胞能活化一条能特异性对抗免疫抑制反应的通路, 这条通路不同于 CD28 活化的通路^[31,32]。另外的研究表明 GITR 触发能激活 Treg 细胞的信号通路, GITR 协同触发的 Treg 细胞中的颗粒酶 B 的调节是这个的直接证据^[33]。体内, 体外试验表明, Treg 细胞的 GITR 的触发是活化的效应 T 细胞增加的原因。GITR 触发后, Treg 细胞的抑制器的活化的抑制是短暂的。另外, GITR 协同刺激的 Treg 细胞失去它的免疫无能状态, 开始增殖。Treg 细胞的数量在 GITR^{-/-}小鼠的数量减少也提示 GITR 在 Treg 细胞的发展中的生理作用。GITR 触发在 Treg 效应细胞相互作用有 3 点作用: 1) 短暂地抑制 Treg 细胞的抑制器的活性; 2) 效应 T 细胞对 Treg 的抑制反应的敏感性减低; 3) Treg 细胞的增殖和扩展^[5]。

4. GITR-GITRL 的共刺激作用

目前研究表明, GITR/GITR 系统可作为 T 细胞活化的共刺激信号, 与 T 细胞受体介导的信号一起调节

T 细胞的活化和增殖。GITR 的协同刺激增加了 T 细胞受体(T-cell receptor, TCR)触发的 CD4⁺CD8⁺T 细胞的活化和增殖。研究表明抗 GITR 和抗 CD3 的抗体共同处理比单独使用抗 CD3 抗体处理能产生更多的 IL-2 和 IFN- γ , 诱导更高表达的 T 细胞活化标记。已经证实的是 CD28 和配体 CD80、CD86 的结合能降低 T 细胞活化的临界值, 导致 T 细胞活化的同时产生更多水平的 IL-2, 这样提高了 T 细胞的效应功能^[34] ^[36] ^[39]。但 GITR 的协同刺激的效力似乎比 CD28 更低, 且从本质上来说两者是不同的。一项对 GITR^{-/-}和 CD28^{-/-}小鼠的淋巴结细胞群的研究表明当 CD3 和 IL-2 触发较弱的时候(喂养中缺少可溶性 CD3 抗体), CD28 的缺乏仅仅是部分损害了 T 细胞的活化, 然而缺乏 GITR 却完全抑制了 T 细胞的活化^[34]。此外, 研究视网膜色素上皮细胞在 T 细胞增殖中的效应时, 发现 GITR 触发取消了其介导的免疫抑制, 然而 CD28 触发后只是造成更弱的效应, 这提示 CD28 和 GITR 的效应的不同。与 GITR/GITRL 一样发挥共刺激作用的还有 CD28-B7 家族的成员和一些细胞质尾部缺乏死亡域的 TNFR 家族成员, 如 CD27、CD30、CD137(4-1BB)、CD134(OX40)和 HVEM 等。另外一些研究表明, GITR 在 CD4⁺和 CD8⁺细胞的特殊作用与 CD28 有关。在 CD4⁺CD25⁻细胞的活化过程中, GITR 的上调主要依靠 CD28 的刺激, CD28 触发后能导致 GITR 的表达增加, 但是当使用抗 CD80/86 抗体抑制 CD28 的聚集后, GITR 的上调基本被抑制。所以在 CD4⁺细胞, GITR 被认为是属于 CD28 触发的通路。在 CD8⁺T 细胞中, GITR/CD28 关系有些不同^[40]。当 GITR 缺乏后, 使用未达标准剂量的抗 CD3 的抗体, CD8⁺细胞就不能被 CD28 激活, 但是缺乏 CD28 时, GITR 能正常行使它的协同活化功能。这样, 在 CD8⁺细胞中, GITR 似乎是 CD28 协同刺激活化的一个必要的分子。这些发现可以解释为什么在一些体内研究中 GITR 的活化对 CD8⁺细胞的反应的增强效果比 CD4⁺效应细胞好^[37,38]。当然, GITR/GITRL 系统在 T 细胞中扮演的角色远不止共刺激信号。Carrier Y 等通过设计一种抗原提呈细胞上能结构性地表达 GITR 的配体 GITRL 的小鼠, 应用 Mimics 系统来研究 GITRL 在体内的生理分布。发现 GITR/GITRL 相互作用能加强 IL-27 的表达和诱导产 IL-10 的 Tr-1 类似细胞, 从

而说明 GITR/GITRL 相互作用对 T 细胞反应的调节作用是多效的, 包括提升 T 调节细胞 1 类似细胞的分化, 促进外周 T 细胞的耐受性^[41]。

5. GITR-GITRL 在支气管哮喘及其他疾病中的作用

GITR/GITRL 与支气管哮喘: GITR/GITRL 的相互作用可打破 Treg 细胞介导的免疫耐受, 因此, GITR/GITRL 可诱发或加重自身免疫性疾病。另一方面, GITR 与 GITRL 的相互作用又参与了炎症反应以及诱导对肿瘤的免疫应答等。因此, GITR/GITRL 系统的紊乱必将导致免疫调节功能的紊乱。支气管哮喘是一种慢性气道炎症性疾病, 其主要特征包括气道高反应性、嗜酸性粒细胞和肥大细胞浸润、气道黏膜分泌功能亢进及气道重塑等。传统的 Th1/Th2 失衡理论被认为是哮喘的免疫调节基础, 大量的证据表明 CD4⁺T 细胞中的 Th2 细胞在哮喘发病中起着重要的作用。在过敏性炎症中, 表达 Th2 型细胞因子 mRNA 的细胞数目明显增多, Th2 细胞通过分泌白介素 4(IL-4)和 IL-13 等细胞因子发挥体液免疫效应和过敏原产生反应。但随着 Treg 细胞和 GITR 的发现, 我们对哮喘的发病机制有了新的认识, Treg 细胞被认为在哮喘的发病中发挥重要的作用。目前认为 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞通过接触抑制的方式抑制小鼠 CD4⁺T 细胞向 Th2 细胞分化^[25]。不少研究发现哮喘患儿 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞数量比无哮喘儿童要低, 且哮喘患儿的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞无法抑制 Th2 细胞的活化、炎症细胞因子的分泌^[27]。GITR 和 FOXP3、CD3, CD25, CD62L, CD69, BTLA, GITR, ICOS, Neuropln-1(Nrp-1)和 PD-1 等共同为 Treg 细胞的表面分子, GITR 与 GITRL 结合后能共刺激活化, 进而消除 Treg 细胞的抑制作用, 导致了免疫系统的活化, 加重自身免疫性疾病。非调节性 T 细胞受到 GITR 刺激后也能对抗 Treg 细胞的抑制功能。GITR 的表达对 Treg 具有负性调节作用。对小鼠哮喘模型进行研究, 发现 GITR/GITRL 参与了肺部炎症反应。在卵白蛋白(Ovalbumin, OVA)引起的哮喘的小鼠中使用抗 GITR 抗体的激动剂后能增加疾病的炎症程度, 肺泡灌洗液中的嗜酸性细胞成倍增加, 气管周围及肺组织血管周围的炎症浸润放大^[42]。另外, 来自抗 GITR 和 OVA 共同处理的小鼠的

淋巴细胞 OVA 特异性的 IgE 抗体升高, 细胞因子的水平增加, 包括 IL-2, IL-5 和 IFN- γ 。Motta AC 等在体外将 Th1 和 Th2 效应细胞导入 CD4⁺CD25⁻细胞, 然后使用抗 GITR 竞争性抗体, 评估其对细胞因子产生的影响。结果表明 GITR 在体外对完全分化的 Th1 和 Th2 细胞的细胞因子释放作用不同, 能增强 Th2 细胞的细胞因子的产生, 导致 Th1/Th2 失衡, 但是对 Th1 细胞没有效果。然后对 BALB/c 小鼠分别予有无抗 GITR 抗体的处理, 然后予 OVA 致敏, 观察 GITR 活化对小鼠哮喘模型中的气道高反应及抗原炎症的影响。结果表明 GITR 信号的触发能导致气道高反应的增强, 血清 IgE 以及体内 Th2 细胞因子的释放。使用抗 GITR 单抗同样显著加重了小鼠的过敏原气道炎症反应, 释放更多的 OVA 特异性的 IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-5 和 IgE^[45]。Karwot R. 等发现使用抗 GITR 抗体处理核因子活化 T 细胞胞浆蛋白 2(Nuclear factor of activated T cells cytoplasmic protein, NFATc2)缺陷的小鼠后抑制了 Treg 的功能, 从而增加肺部活化的 CD4⁺T 细胞的数量, 同时增加了过敏性哮喘的气道的 IL-2 和 pSTAT-5 的表达。有人做了关于 GITR 在慢性肺部炎症中的作用的研究表明在 GITR^{-/-}的小鼠在博来霉素缓慢气管内注入之后能产生较轻的炎症反应及肺部损伤。然而在 GITR^{+/+}的小鼠中博来霉素治疗能引起死亡(大于 30%), 和体重下降(7 天内下降 4 g), 在 GITR^{-/-}小鼠既没有观察到死亡或者体重下降的现象, 证明 GITR/GITRL 系统参与了肺部渗出过程。然而, GITR/GITRL 参与了肺部炎症渗出及水肿形成可能是由于其对 Ecs 的直接作用也有可能是间接的效果^[47,48]。

GITR/GITRL 与其他疾病: Cuzzocrea S 等发现 GITR 的激活在生理上能加剧休克。当 GITR^{+/+}和 GITR^{-/-}小鼠同时遭受内脏动脉闭塞术后的肠系膜感染时, GITR^{-/-}小鼠的存活率比 GITR^{+/+}高出很多(70%比 5%)^[44]。Placke T 等发现巨核细胞在分化中表达了 GITR 及其配体 GITRL, GITRL 在血小板中表达。在肿瘤细胞发生血行转移中, 被血小板包围的肿瘤细胞能通过 GITR/GITRL 来抑制 NK 细胞的细胞毒性和 IFN- γ 的产量, 阻断 NK 细胞上的 GITR 能实现恢复, 说明由血小板衍生出的 GITRL 是通过 GITR 来抑制 NK 细胞的。血小板参与促进肿瘤细胞逃离 NK

细胞的免疫监视是与 GITR/GITRL 有关^[45]。有报道在对人类的动脉粥样硬化斑块进行免疫组织化学和原位分子杂交分析时发现 GITR 及其配体大部分在脂肪丰富的巨噬细胞中表达。GITR 的激活能导致(NF)- κ B 依赖的 MMP9 和促炎细胞因子在人类和小鼠的单核细胞/巨噬细胞(分别是 THP1 和 RAW264.7)的活化。GITR 和 GITRL 可能通过诱导细胞因子/化学因子的表达对动脉粥样硬化斑块的不稳定造成影响, 展示了多种多样的促炎症活动。MMP-9, 能通过降解动脉粥样硬化斑块的纤维帽而使其不稳定^[46]。在消除病毒方面, DTA-1 或 GITRL 表达的增加起正面的作用。He 等用 DTA-1 治疗急性 FV 感染中, 发现 DTA-1 可延缓 FV 急性感染的发作, 减轻临床症状的严重性并能使 CD8⁺T 细胞快速活化增殖, 并产生 IFN- γ , 而且能使淋巴细胞分化为记忆表型细胞的比例增多^[49]。GITR/GITRL 系统参与先天性免疫反应和后天性免疫反应的复杂的反应, 对于器官特异性免疫性疾病来说, 阻断 GITR/GITRL 的相互作用有利于疾病的治疗; 另一方面, 增强 GITR/GITRL 共刺激信号的有助于清除机体感染、发挥抗肿瘤免疫的作用。GITR/GITRL 的作用机制及其在体内引起的反应尚未完全明确, 目前不同的实验模型分析的结果也是不尽相同, 需要进一步探讨、研究。

6. GITR/GITRL 在疾病治疗中的作用

虽然 100 多年来人类都有证据证明免疫系统能检测并消除肿瘤的生长。免疫治疗途径最近才成为癌症治疗的一个选择。免疫佐剂习惯上被用作非特异性的免疫调节剂来增强识别和活化所需要的抗原。通过提供危险信号给免疫系统, 免疫佐剂激活了初级免疫反应, 从而增强了保护性和治疗性的适应性免疫反应的发展。而目前流行的目标性的免疫调节性治疗是以 T 细胞活化或者效应细胞的反应中的共刺激受体的活化(比如 4-1BB, OX40 and GITR)或者共抑制受体的阻断为主要重点的^[52]。从目前最有前途的临床结果看, 免疫调节治疗已经成为免疫治疗方法的主要部分。其中通过 GITR 活化的免疫调节的通路来开展癌症的治疗这个目标在 2006 年被美国国家癌症研究所列为是癌症免疫治疗最有希望的方法^[50]。临床前期试验表明以 GITR 为靶位, 使用受体拮抗剂或自然的配体, 能

作为有效的抵抗癌症。研究发现系统性的使用 4-1BB 竞争性抗体能导致一系列的免疫系统异常情况, 目前抗 4-1BB 的临床实验已经被终止了。然而, 迄今为止, 相似的抗 GITR 的治疗毒性实验还没有在小鼠模型上报道^[51]。目前用于支气管哮喘的免疫治疗主要有细胞因子治疗、抗体阻断治疗、抗原特异性免疫治疗、特异性受体封闭治疗、结核分枝杆菌疫苗、基因治疗等。能否通过调节 GITR/GITRL 的共刺激来进行哮喘的免疫调节治疗将是未来研究的热门。

7. 展望

目前虽然对于 GITR/GITRL 的研究已经是非常的热门, 但是由于 GITR/GITRL 信号本身的复杂性, 且通过多种方式参与调节免疫反应, 其在动物体内与人体内的表达水平及发挥的作用有所区别, 目前就其确切的功能尚未达成一致的共识。对 GITR/GITRL 途经的进一步研究将有助于我们了解 GITR/GITRL 信号对 T 细胞的调节机制以及它们间的相互作用在免疫性疾病及肿瘤发生、发展中的作用。从而有助于我们为疾病的治疗开拓新的领域和思路。

参考文献 (References)

- [1] J. E. Nichols. Human lymphocyte apoptosis after exposure to an influenza A virus. *Journal of Virology*, 2001, 75(13): 5921-5929.
- [2] L. M. Snell, G. H. Lin, A. J. McPherson, et al. T-cell intrinsic effects of GITR and 4-1BB during viral infection and cancer immunotherapy. *Immunological Reviews*, 2011, 244(1): 197-217.
- [3] E. C. Shin, J. S. Shin, J. H. Park, et al. Expression of Fasligand in human hepatan cell lines role of hepatitis-B virus (HBV) in induction of Fasligand. *International Journal of Cancer*, 1999, 82(4): 587-591.
- [4] G. P. Garlet, C. R. Cardoso, F. S. Mariano, et al. Regulatory T cells attenuate experimental periodontitis progression in mice. *Journal of Clinical Periodontology*, 2010, 37(7): 591-560.
- [5] G. Nocentini, C. Riccardi, et al. GITR: A modulator of immune response and inflammation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2009, 647(10): 156-173.
- [6] M. Azuma. Role of the glucocorticoid-induced TNFR-related protein (GITR)-GITR ligand pathway in innate and adaptive immunity. *Immunology*, 2010, 30(6): 547-557.
- [7] K. Chattopadhyay, U. A. Ramagopal, M. Brenowitz, et al. Evolution of GITRL immune function: Murine GITRL exhibits unique structural and biochemical properties within the TNF superfamily. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 2008, 105(2): 635-640.
- [8] T. Placke, H. G. Kopp, H. R. Salih, et al. Glucocorticoid-induced TNFR-related (GITR) protein and its ligand in antitumor immunity: Functional role and therapeutic modulation. *Clinical and Developmental Immunology*, 2010, Article ID: 239083.
- [9] D. A. Schaefer, J. T. Murphy, J. D. Wolchok, et al. Modulation of GITR for cancer immunotherapy. *Current Opinion in Immunology*, 2012, 24(2): 217-224.
- [10] A. Alunno, G. Nocentini, O. Bistoni, et al. Expansion of CD4⁺CD25⁺GITR⁺ regulatory T-cell subset in the peripheral blood of patients with primary Sjögren's syndrome: Correlation with disease activity. *Reumatismo*, 2012, 64(5): 293-298.
- [11] S. H. Kim, J. Youn. Rheumatoid Fibroblast-like synoviocytes downregulate foxp3 expression by regulatory T cells via GITRL/GITR interaction. *Immune Network*, 2012, 12(5): 217-212.
- [12] T. P. Lahey, S. D. Loisel, W. Wieland-Alter, et al. Glucocorticoid-induced tumornecrosis factor receptor family-related protein triggering enhances HIV-specific CD4⁺ T cell cytokine secretion and protects HIV-specific CD4⁺ T cells from apoptosis. *Journal of Infectious Diseases*, 2007, 196(1): 43-49.
- [13] B. Wilde, S. Dörfel, X. Cai, et al. CD4⁺CD25⁺ T-cell populations expressing CD134 and GITR are associated with disease activity inpatients with Wegener's granulomatosis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2009, 24(1): 161-171.
- [14] J.-H. Lee, L.-C. Wang, Y.-T. Lin, et al. Inverse correlation between CD4⁺ regulatory T-cell population and autoantibody levels in paediatric patients with systemic lupus erythematosus. *Immunology*, 2006, 117(2): 280-286.
- [15] W. Łuczynski, N. Wawrusiewicz-Kurylonek, A. Stasiak-Barmuta, et al. Diminished expression of ICOS, GITR and CTLA-4 at the mRNA level in T regulatory cells of children with newly diagnosed type 1 diabetes. *Acta Biochimica Polonica*, 2009, 56(2): 361-370.
- [16] B. Nardelli, L. Zaritskaya, W. McAuliffe, et al. Osteostat tumor necrosis factor superfamily 18 inhibits osteoclastogenesis and is selectively expressed by vascular endothelial cells. *Endocrinology*, 2006, 147(1): 70-78.
- [17] L. M. Borrego, M. J. Arroz, P. Videira, et al. Regulatory cells, cytokine pattern and clinical risk factors for asthma in infants and young children with recurrent wheeze. *Clinical & Experimental Allergy*, 2009, 39(8): 1160-1169.
- [18] J. Piao, Y. Kamimura, H. Iwai, et al. Enhancement of T-cell-mediated antitumour immunity via the ectopically expressed glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor-related receptor ligand (GITRL) on tumours. *Immunology*, 2009, 127(4): 489-99.
- [19] M. Pietruczuk, M. Eusebio, L. Kraszula, et al. Phenotypic characterization of ex vivo CD4⁺CD25⁺ high CD127⁺ low immune regulatory T cells in allergic asthma: Pathogenesis relevance of their FoxP3, GITR, CTLA-4 and FAS expressions. *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, 2012, 26(4): 627-639.
- [20] H. Jori, H. Taniguchi, M. Wang, et al. GITR ligand-mediated local expansion of regulatory T cells and immune privilege of corneal allografts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2010, 51(12): 6556-6565.
- [21] A. M. Byrne, E. Goleva, D. Y. Leung, et al. Identification of glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein ligand on keratinocytes: Ligation by GITR induces keratinocyte chemokine production and augments T-cell proliferation. *Journal of Investigative Dermatology*, 2009, 129(12): 2784-2794.
- [22] D. C. Borges, N. M. Araujo, C. R. Cardoso, et al. Different parasite inocula determine the modulation of the immune response and outcome of experimental Trypanosoma cruzi infection. *Immunology*, 2013, 138(2): 145-156.
- [23] 郑雪平, 胡学强. GITR/GITRL 系统在免疫调节中的作用[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2007, 23(4): 385-387.
- [24] A. Qin, Z. Wen, Y. Zhou, et al. MicroRNA-126 regulates the induction and function of CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells through PI3K/AKT pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2013, 17(2): 252-264.
- [25] 鞠云飞, 孙立锋, 胡华等. CD4⁺CD25⁺Treg 细胞与支气管哮喘[J]. *中华哮喘杂志(电子版)*, 2011, 5(6): 439-441.
- [26] L. McKelvey, H. Gutierrez, G. Nocentini, et al. The intracellular portion of GITR enhances NGF-promoted neurite growth through an inverse modulation of Erk and NF-κB signalling. *Biology Open*, 2012, 1(10): 1016-1023.
- [27] S. Cuzzocrea, G. Nocentini, R. Di Paola, et al. Proinflammatory

- role of glucocorticoid-induced TNF receptor-related gene in acute lung inflammation. *Immunology*, 2006, 177(1): 631-641.
- [28] S. P. Mahesh, Z. Li, B. Liu, et al. Expression of GITR ligand abrogates immunosuppressive function of ocular tissue and differentially modulates inflammatory cytokines and chemokines. *European Journal of Immunology*, 2006, 36(8): 2128-2138.
- [29] G. Nocentini, S. Cuzzocrea, R. Bianchini, et al. Modulation of acute and chronic inflammation of the lung by GITR and its ligand. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2007, 1107: 380-391.
- [30] A. Joetham, H. Ohnishi, M. Okamoto, et al. Loss of T regulatory cell suppression following signaling through glucocorticoid-induced tumor necrosis receptor(GITR) is dependent on c-Jun N-terminal kinase activation. *Biological Chemistry*, 2012, 287(21): 17100-17108.
- [31] L. Kraszula, M. Eusebio, M. Kupczyk, et al. The use of multi-color flow cytometry for identification of functional markers of nTregs in patients with severe asthma. *Pneumonologia i Alergologia Polska*, 2012, 80(5): 389-401.
- [32] S. P. Mahesh, Z. Li, B. Liu, et al. Expression of GITR ligand abrogates immunosuppressive function of ocular tissue and differentially modulates inflammatory cytokines and chemokines. *European Journal of Immunology*, 2006, 36(8): 2128-2138.
- [33] R. Bianchini, O. Bistoni, A. Alunno, et al. CD4⁽⁺⁾ CD25^(low) GITR⁽⁺⁾ cells: A novel human CD4⁽⁺⁾ T-cell population with regulatory activity. *European Journal of Immunology*, 2011, 41(8): 2269-2278.
- [34] L. Kraszula, M. Eusebio, M. Kupczyk, et al. The use of multi-color flow cytometry for identification of functional markers of nTregs in patients with severe asthma. *Pneumonologia i Alergologia Polska*, 2012, 80(5): 389-401.
- [35] F. Kanamaru, P. Youngnak, M. Hashiguchi, et al. Costimulation via glucocorticoid-induced TNF receptor in both conventional and CD25⁽⁺⁾ regulatory CD4⁽⁺⁾ T-cells. *Immunology*, 2004, 172(12): 7306-7314.
- [36] L. McKelvey, H. Gutierrez, G. Nocentini, et al. The intracellular portion of GITR enhances NGF-promoted neurite growth through an inverse modulation of Erk and NF- κ B signalling. *Biology Open*, 2012, 1(10): 1016-1023.
- [37] R. Tomizawa, M. Watanabe, N. Inoue, et al. Association of functional GITR gene polymorphisms related to expression of glucocorticoid-induced tumour necrosis factor-receptor (GITR) molecules with prognosis of autoimmune thyroid disease. *Clinical & Experimental Immunology*, 2011, 165(2): 141-147.
- [38] J. Kim, W. S. Choi, H. Kang, et al. Conversion of alloantigen-specific CD8⁽⁺⁾ T-cell anergy to CD8⁽⁺⁾ T-cell priming through in vivo ligation of glucocorticoid-induced TNF receptor. *The Journal of Immunology*, 2006, 176(9): 5223-5231.
- [39] S. P. Mahesh, Z. Li, B. Liu, et al. Expression of GITR ligand abrogates immunosuppressive function of ocular tissue and differentially modulates inflammatory cytokines and chemokines. *European Journal of Immunology*, 2006, 36(8): 2128-2138.
- [40] S. Z. Josefowicz, L. F. Lu, et al. Regulatory T cells: Mechanisms of differentiation and function. *Annual Review of Immunology*, 2012, 30(5): 531-564.
- [41] Y. Carrier, M. J. Whitters, J. S. Miyashiro, et al. Enhanced GITR/GITRL interaction augment IL-27 expression and induce IL-10-producing Tr-1 like cells. *European Journal of Immunology*, 2012, 42(6): 1393-1404.
- [42] A. C. Motta, J. L. Vissers, R. Gras, et al. GITR signaling potentiates airway hyperresponsiveness by enhancing Th2 cell activity in a mouse model of asthma. *Respiratory Research*, 2009, 10(93): 1-8.
- [43] M. Patel, D. Xu, P. Kewin, et al. Glucocorticoid-induced TNFR family-related protein (GITR) activation exacerbates murine asthma and collagen-induced arthritis. *European Journal of Immunology*, 2005, 35(12): 3581-3590.
- [44] S. Cuzzocrea, R. Nocentini, R. Di Paola, et al. Glucocorticoid-induced TNF receptor family gene (GITR) knockout mice exhibit a resistance to splanch-nic artery occlusion (SAO) shock. *Leukocyte Biology*, 2004, 76(5): 933-940.
- [45] T. Placke, H. R. Sali and H. G. Kopp. GITR ligand provided by thrombopoietic cells inhibits NK cell antitumor activity. *Immunology*, 2012, 189(1): 154-160.
- [46] M. Azuma. Role of Glucocorticoid-induced TNF receptor family gene (GITR)-GITR ligand pathway in innate and adaptive immunity. *Critical Reviews in Immunology*, 2010, 30(6): 547-557.
- [47] S. Cuzzocrea, R. Nocentini, R. Di Paola, et al. Proinflammatory role of glucocorticoid-induced TNF receptor-related gene in acute lung inflammation. *Immunology*, 2006, 177(1): 631-641.
- [48] T. Placke, H. Sali, H. G. Kopp, et al. GITR ligand provided by thrombopoietic cells inhibits NK cell antitumor activity. *The Journal of Immunology*, 2012, 189(2): 154-160.
- [49] J. Wang, E. Guan, G. Roderiquez, et al. Synergistic induction of apoptosis in primary CD4⁽⁺⁾ T cells by macrophage-tropic HIV-1 and TGF-beta1. *The Journal of Immunology*, 2001, 167(6): 3360-3366.
- [50] D. A. Schaer, J. T. Murphy, J. D. Wolchok, et al. Modulation of GITR for cancer immunotherapy. *Current Opinion in Immunology*, 2012, 24(2): 217-224.
- [51] L. M. Snell, G. H. Lin, A. J. Mcpherson, et al. T-cell intrinsic effects of GITR and 4-1BB during viral infection and cancer immunotherapy. *Immunological Reviews*, 2011, 244(1): 197-217.
- [52] F. Avogadri, J. Yuan, A. Yang, et al. Modulation of CTLA-4 and GITR for cancer immunotherapy. *Current Topics in Micro-Biology and Immunology*, 2011, 344(10): 211-244.
- [53] D. A. Schaer, A. D. Cohen, J. D. Wolchok, et al. Anti-GITR antibody—Potential clinical applications for tumor immunotherapy. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 2010, 11(12): 1378-1386.
- [54] L. T. Krausz, R. Bianchini, S. Ronchetti, et al. GITR-GITRL system, a novel player in shock and inflammation. *Scientific World Journal*, 2007, 1(7): 533-566.
- [55] G. Nocentini, S. Ronchetti, S. Cuzzocrea, et al. GIT/GIT RL: More than an effector T cell co-stimulatory system. *European Journal of Immunology*, 2007, 37(5): 1165-1169.
- [56] T. Girtsman, Z. Jaffar, M. Ferrini, et al. Natural Foxp3(+) regulatory T cells inhibit Th2 polarization but are biased toward suppression of Th17-driven lung inflammation. *Leukocyte Biology*, 2010, 88(3): 537-546.