

· 综 述 ·

## 靶向纳米级脂质超声微泡在肿瘤治疗领域的研究进展\*

何承峻, 刘长安<sup>△</sup>综述, 肖林糠 审校

(重庆医科大学附属第二医院肝胆外科, 重庆 400010)

关键词: 纳米技术; 药物载体; 肿瘤; 治疗应用; 超声微泡

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.16.027

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)16-1631-04

肿瘤已成为威胁人类生命健康的主要疾病之一, 早期肿瘤多采用手术治疗, 必要时行术后辅助放、化疗, 晚期肿瘤多采取放、化疗、免疫治疗等综合性治疗, 由于其在杀伤肿瘤细胞的同时也对正常的组织、细胞存在损伤, 产生一系列的不良反应, 因而, 寻找一种靶向性好、不良反应低的治疗手段已成为当前肿瘤治疗的热点。随着超声医学技术的不断发展, 利用携带基因或药物的纳米级超声微泡(纳泡)与特异性的单克隆抗体偶联, 通过抗原-抗体的特异性结合, 使纳泡到达靶组织, 实现基因或药物的定向释放, 提高了转染效率, 增加了基因的表达, 从而很好达到了治疗肿瘤的效果, 弥补了对于晚期肿瘤患者手术根治率低、放疗、化疗、免疫治疗产生的严重的不良反应的不足。现将纳泡的构建、靶向性、载基因或药物、肿瘤治疗的机制及存在的不足和应用前景作一综述。

## 1 纳米级脂质超声微泡的制备

按粒径大小的不同, 超声微泡分为微米级超声微泡和纳米级超声微泡, 前者为普通超声微泡, 平均直径约  $2 \sim 4 \mu\text{m}$ , 小于红细胞, 随血液可以自由通过肺循环, 不产生肺栓塞, 但不能穿过血管内皮间隙, 只能产生血池显像<sup>[1-2]</sup>; 而纳米级超声微泡粒径更小, 极具穿透力, 当微泡粒径小于  $700 \text{ nm}$  时可穿透血管内皮间隙, 到达血管外组织, 实现超声靶向显像和治疗<sup>[3]</sup>。

### 1.1 制备过程

纳米级脂质超声微泡的制备与微米级脂质超声微泡相似, 主要由内充气体和外壳两部分组成。

**1.1.1** 目前, 为了防止气体的快速溶解, 超声造影剂多采用内含低溶解度如氟碳气体  $\text{C}_3\text{F}_8$ 、 $\text{C}_4\text{F}_{10}$  或氟硫气体  $\text{SF}_6$  作为超声微泡的内充气体<sup>[4]</sup>, 其在血液中的稳定性及循环时间明显高于空气核心的纳米级超声微泡, 超声医学显影相比空气核心微泡效果明显优越<sup>[5]</sup>。

**1.1.2** 多采用能生物降解的物质作为超声微泡外壳, 如: 磷脂、清蛋白、表面活性剂或高分子多聚物<sup>[6]</sup>, 它们有效地降低了微泡溶解性和弥散系数, 延长微泡在体内随血液循环的时间。为使超声微泡保持良好的“压缩-膨胀”性能的同时并产生散射信号, 一般采用蛋白质(如人血清蛋白)或脂质单分子层作为材料构建“薄”外壳(外壳厚约几个纳米)微泡<sup>[7]</sup>, 然而清蛋白外壳容易受温度的影响, 在高温下易发生变性, 脂质外壳不易受温度限制且由于其可变性有利于与特异性配体的偶联, 因而目前多选用脂质材料构建超声微泡的外壳。

### 1.2 具体方法

按一定比例称取二棕榈酰磷脂酰胆碱(dipalmitoyl phosphatidylcholine, DPPC)、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、二苯基磷酰基叠氮化物(diphenyl phosphoryl azide, DPPA), 三者混合后置

于管形瓶中, 在管形瓶中加入一定量甘油和磷酸盐缓冲液,  $45^\circ\text{C}$  孵育  $30 \text{ min}$ , 抽出管型瓶中的空气后充入全氟丙烷气体, 给予充分震荡数次, 所得乳白色液体即纳米脂质微泡造影剂<sup>[8]</sup>。

## 2 纳米级脂质超声微泡的靶向性

根据实现靶向机制和部位的不同, 靶向性纳米级超声微泡可分为被动型和主动型两种<sup>[9]</sup>。

**2.1 被动靶向性** 是指通过机体本身的固有免疫-吞噬细胞, 主要是单核巨噬细胞系统中的巨噬细胞, 在调理素的协同作用下对异物(超声微泡)的清理来实现<sup>[10]</sup>, 外壳的化学和电荷特性也可使之滞留于病灶部位, 从而在一定程度上具备一定的靶向性。

**2.2 主动靶向性** 是指通过对普通纳米级超声微泡的外壳进行特殊处理, 在其外壳表面装配具有靶向性识别的各种配体(如抗体、糖类、多肽类)来实现<sup>[11-13]</sup>, 即此配体能特异性识别并结合病变组织的细胞所表达的受体, 达到靶向显影, 载药、载基因靶向治疗的目的。实验中所采用的单克隆抗体多为鼠源性或兔源性, 诱导机体产生免疫应答, 产生免疫反应, 通过基因重组技术能产生无免疫原性的人源性单克隆抗体, 且可选择性和特异性识别表面标志物, 达到主动靶向作用<sup>[14]</sup>。

超声微泡外壳表面与配体的链接主要有两种基本方法: 通过生物素-亲和素非共价链接和直接共价键链接。生物素-亲和素非共价链接是一种较为简单的技术, 二者之间有高度亲和力, 在生理条件下即可发生快速而稳定的结合。将生物素化的配体经亲和素桥接到生物素化的微泡上, 通过该方法制备的靶向纳米级超声微泡可避免被血管网状内皮系统快速清除。此外, 在亲和素上有 4 个独立的生物素结合位点, 这可以结合较多生物素化的纳米级微泡, 使信号放大, 超声检测纳米级微泡的敏感性提高<sup>[15]</sup>。

超声微泡外壳表面与配体的共价键结合主要通过离子键、偶联剂等机制链接。共价键结合方法主要适用于肽键、碳水化合物、激素及微生物等小分子有机配体<sup>[16]</sup>。为了保证配体结合的完整性、增强靶向的亲和力、减少因外壳表面反应而引起的对靶向配体结合的干扰, 可在外壳活性功能区和靶向性配体间插入可变形的聚合隔离物, 如聚乙二醇、单己酸盐等。目前常用的单克隆抗体、靶向性配体及制作技术包括: 单克隆抗体及其碎片、蛋白多肽、去唾液酸糖蛋白和多聚糖、适体和噬菌体展示技术等。

## 3 靶向纳米级脂质超声微泡的肿瘤治疗

### 3.1 介导肿瘤细胞凋亡

在超声波作用下微泡产生压缩和膨胀现象, 称为超声的空

化效应。在低声压下,微泡产生对称性压缩和膨胀而不发生破裂,称为稳态空化;在高声压下,微泡压缩和膨胀呈不对称性,最终可发生破裂,此称瞬态空化<sup>[17]</sup>。超声微泡可通过空化效应和热效应诱导细胞凋亡或增强肿瘤细胞对化疗的敏感性<sup>[18-20]</sup>,低频功率超声联合微泡可增强超声对细胞的杀伤效应<sup>[20]</sup>,且超声微泡仅需平均声强不高的超声脉冲,故可避免高强度超声治疗,在实现对肿瘤治疗的同时也减轻了对周围正常组织的损伤。微泡作为外源性“空化核”经静脉导入,在超声波的动态监测下,当微泡达到靶组织,超声介导微泡的空化效应使微泡破裂,聚集的能量迅速释放产生的机械效应等可直接损伤肿瘤细胞,使肿瘤细胞发生明显的结构改变,引起细胞膜通透性增高、线粒体肿胀、髓样变和细胞质空化等,促进细胞凋亡。Feril 等<sup>[21]</sup>在体外实验中观察到超声联合微泡产生的空化作用下肿瘤细胞发生凋亡。

### 3.2 介导肿瘤微血管的栓塞

Lawrie 等<sup>[22]</sup>发现,单纯低频超声辐照或仅注入微泡不引起小鼠体内微血管破坏,而在注入微泡后加以超声辐照,微血管出现了损伤。血管生物学效应证实,超声造影剂在低频超声辐照下会损伤血管内皮表面<sup>[23]</sup>,损伤的血管内皮细胞激活内源性和外源性凝血,诱发血管内血栓形成,导致毛细血管栓塞,引起局部肿瘤细胞发生缺血、坏死。吴巍等<sup>[24]</sup>采用 Levovist 造影剂联合低功率超声在家兔肝中使照射野将近 90% 的毛细血管诱发栓塞形成。这些均为超声微泡直接治疗肿瘤提供了理论依据。

### 3.3 介导抗肿瘤基因或药物的运输

近年来一些研究表明 DNA 能够与微泡混合被运输到达靶组织<sup>[25]</sup>。基因或药物治疗的成功与否关键在于外源基因或药物在细胞和组织内的有效转染和表达,而细胞膜通透性的改变则是转染的前提。内膜屏障成为限制基因或药物靶向治疗成功的重要因素。低频超声介导微泡破坏可增强基因转染和药物传输<sup>[2,26-27]</sup>。Song 等<sup>[28]</sup>通过观察有机体内低频超声联合超声微泡治疗后局部组织发生的变化,发现在微泡破坏的部位立即发生了血管内皮细胞间隙增宽,大量的红细胞通过血管内皮间隙溢出。通过微泡造影剂运载基因或药物,到达特定空间(靶区),在一定能量超声辐照下破坏微泡,产生的休克波使细胞产生声孔,周围靶细胞的细胞间隙增宽,有利于携带的抗肿瘤基因或药物通过增宽的细胞间隙到达靶区,增加靶组织药物浓度,从而满足了在较低的血药浓度下获得较高的肿瘤细胞内药物浓度,降低化疗药物的不良反应,提高治疗效率。实验证明超声辐照条件是影响转染率的重要因素,当辐照超过一定阈值则会导致基因或药物的破坏。研究表明强度为 1.0~2.0 W/cm<sup>2</sup> 的超声破坏微泡后,对绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)质粒的影响不明显<sup>[29]</sup>。

Yuan 等<sup>[30]</sup>直接心肌内注射载小剂量血管生成因子的微泡后给予超声波辐照,加强了基因的表达及血管的生成。Matsuo 等<sup>[31]</sup>以超声微泡为载体增加了苯丙氨酸氮芥进入细胞,促进其抗肿瘤效应,有效地辅助治疗恶性黑色素瘤。Howard 等<sup>[32]</sup>通过超声微泡载腺病毒-绿色荧光蛋白基因,成功地将绿色荧光蛋白基因定向导入小鼠靶细胞内。Aoi 等<sup>[33]</sup>利用超声微泡作为载基因工具,成功地将单纯疱疹胸腺激酶基因导入肿瘤细胞中。Rapoport 等<sup>[34]</sup>制备载多柔比星多聚物微球和纳米微泡,利用低频超声联合载药微泡介导对人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 乳腺癌移植瘤进行治疗,发现超声辐照载药微球后释放出多柔比星并选择性渗透至肿瘤间质中,致使肿瘤组

织萎缩。Chen 等<sup>[35]</sup>利用超声联合载基因微泡作用于胰腺组织,观察到其能有效地将基因非侵袭性运输到胰腺胰岛,增加了胰腺细胞的调节功能。Haag 等<sup>[36]</sup>在同一动物上建立两个肿瘤,给予静脉注入载药物的微泡,其中一个肿瘤给予超声辐照,观察结果显示给予辐照组异羟基洋地黄毒苷在肿瘤组织高浓度聚集(16%~49%),未给予辐照组只有 2%~18% 聚集。

### 3.4 介导肿瘤的靶向治疗

微泡破坏后基因或药物释放入血,药物浓度将被血液稀释,要达到较高的血药浓度需要大剂量的基因和微泡,同时也对非靶向器官产生不良反应。在超声微泡上构建特异性识别肿瘤细胞的配体,毫无疑问能够进一步提高超声微泡的靶向抗肿瘤作用,使药物和基因的定向运输和释放更具有靶向性,减少对正常血管、组织、细胞的损害。大量的整合素、生长因子受体和黏附分子受体在肿瘤的新生血管内皮细胞表达,它们不仅是化疗药物的靶向位点,而且也是肿瘤滋养血管栓塞治疗的靶向位点,同时还是靶向微泡的作用位点。Leonq-Poi 等<sup>[37]</sup>通过生物素-亲和素链接方式将抗  $\alpha v \beta 3$  整合素的单克隆抗体链接到脂质微泡外壳表面,制备出能与  $\alpha v \beta 3$  特异性结合的微泡,实现了对肿瘤血管的靶向显影。Ellegala 等<sup>[38]</sup>在大鼠体内建立恶性神经胶质瘤模型后通过尾静脉注入连接了锯鳞血抑肽(echistatin)的微泡,观察发现肿瘤周边部位聚集更多的靶向微泡,而这些部位正是整合素表达最多的部位,并且其信号强弱与肿瘤血管内血量呈显著相关。

### 4 应用前景

利用超声微泡作为载体,联合超声辐照使基因及药物靶向释放到达局部病变组织增加了治疗效果,减轻了不良反应,在肿瘤的诊断及治疗方面具有很大的潜力。超声微泡作为一项新型技术在发展过程中也存在有待研究和解决的问题及难点:(1)制备纳米级超声微泡的关键技术步骤需进一步完善;(2)靶向纳米级超声微泡构建的步骤繁琐,在血液中稳定性有待提高;(3)寻找能主动识别肿瘤特异性标志物的配体,使其与微泡偶联;(4)超声微泡的应用存在一定的风险,超声破坏微泡引起细胞膜通透性增强的同时也有可能引起周围正常细胞和组织损伤<sup>[39]</sup>。通常是由于相对较高的微泡造影剂浓度、较长的超声脉冲和较高的声强度,导致细胞和组织的损伤<sup>[14,39]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 王志刚. 超声分子影像学研究进展[M]. 中国医学影像技术, 2009, 25(6): 921-924.
- [2] Postema M, Gilja OH. Contrast-enhanced and targeted ultrasound[J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(1): 28-41.
- [3] 张勇, 王志刚. 纳米级超声造影剂的研究进展[J]. 临床超声医学杂志, 2007, 9(2): 105-107.
- [4] Schutt EG, Klein DH, Mattrey RM, et al. Injectable microbubbles as contrast agents for diagnostic ultrasound imaging: the key role of perfluorochemicals[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2003, 42(28): 3218-3235.
- [5] Nanda NC, Wistran DC, Karlsberg RP, et al. Multicenter evaluation of SonoVue for improved endocardial border delineation[J]. Echocardiography, 2002, 19(1): 27-36.
- [6] Wrenn SP, Mleczko M, Schmitz G. Phospholipid-stabilized microbubbles: influence of shell chemistry on cavitation threshold and binding to giant uni-lamellar vesicles[J]. Appl Acoust, 2009, 70(10): 1313-1322.

- [7] Klivanov AL. Microbubble contrast agents; targeted ultrasound imaging and ultrasound assisted drug-delivery applications[J]. *Invest Radio*, 2006, 41(3): 354-362.
- [8] 朱叶峰, 冉海涛, 张群霞, 等. 靶向纳米级脂质超声造影剂制备及其体外寻靶能力实验研究[J]. *中国超声医学杂志*, 2009, 25(3): 220-222.
- [9] Lanza GM, Wickline SA. Targeted ultrasonic contrast agents for molecular imaging and therapy[J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2001, 44(1): 13-31.
- [10] Yanaqisawa K, Moriyasu F, Miyahara T, et al. Phagocytosis of ultrasound agent microbubbles by Kupffer cell [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2007, 33(2): 318-325.
- [11] Weler GE, Lu E, Csikari MM, et al. Ultrasound imaging of acute cardiac transplant rejection with microbubbles targeted to intercellular adhesion molecule-1[J]. *Circulation*, 2003, 108(2): 218-224.
- [12] Weler GE, Villanueva FS, Tom EM, et al. Targeted ultrasound contrast agents: In vitro assessment of endothelial dysfunction and multi-targeting to ICAM-1 and sialyl LewisX[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2005, 92(6): 780-788.
- [13] Hamilton AJ, Huang SL, Wamick D, et al. Intravascular ultrasound molecular imaging of atherosclerosis components in vivo[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(3): 453-460.
- [14] Hernot S, Klivanov AL. Microbubbles in ultrasound-triggered drug and gene delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(10): 1153-1166.
- [15] Avivi Levi S, Gedanken A. The preparation of avidin microspheres using the sonochemical method and the interaction of the microspheres with biotin[J]. *Ultrason Sonochem*, 2005, 12(5): 405-409.
- [16] Klivanov AL. Ligand-carrying gas filled microbubbles; ultrasound contrast agents for targeted molecular imaging [J]. *Bioconjug Chem*, 2005, 16(1): 9-17.
- [17] 李晓东, 王志刚. 超声波空化效应的生物学机制[J]. *临床超声医学杂志*, 2004, 6(1): 40-41.
- [18] Ashush H, Rozenszajn LA, Blass M, et al. Apoptosis induction of human myeloid leukemic cells by ultrasound exposure[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(4): 1014-1020.
- [19] Mjller DL, Pislam SV, Greenleaf JE. Sonoporation; mechanical DNA delivery by ultrasonic cavitation[J]. *Somat Cell Mol Genet*, 2002, 27(1-6): 115-134.
- [20] Feril LB Jr, Kondo T, Ogawa R, et al. Dose-dependent inhibition of ultrasound-induced cell killing and free radical production by carbon dioxide[J]. *Ultrason Sonochem*, 2003, 10(2): 81-84.
- [21] Feril LB Jr, Kondo T, Takaya K, et al. Enhanced ultrasound-induced apoptosis and cell lysis by a hypotonic medium[J]. *Int J Radiat Biol*, 2004, 80(2): 165-175.
- [22] Lawrie A, Brisken AF, Francis SE, et al. Microbubble-enhanced ultrasound for vascular gene delivery[J]. *Gene Ther*, 2000, 7(23): 2023-2027.
- [23] Hwang JH, Zhou Y, Warren C, et al. Targeted venous occlusion using pulsed high-intensity focused ultrasound [J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2010, 57(1): 37-40.
- [24] 吴巍, 宁新宝, 姜藻, 等. 低功率超声辐射 Levovist 试剂致家兔肝脏微血管栓塞的研究[J]. *东南大学学报(自然科学版)*, 2003, 33(3): 399-402.
- [25] Eshet DM, Adam D, Machluf M. The effects of albumin-coated microbubbles in DNA delivery mediated by therapeutic ultrasound[J]. *Control Release*, 2006, 112(2): 156-166.
- [26] Hernot S, Klivanov AL. Microbubbles in ultrasound triggered drug and gene delivery[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60(10): 1153-1166.
- [27] Rahim AA, Taylor SL, Bush NL, et al. Spatial and acoustic pressure dependence of microbubble-mediated gene delivery targeted using focused ultrasound[J]. *J Gene Med*, 2006, 8(11): 1347-1357.
- [28] Song J, Cottler PS, Klivanov AL, et al. Microvascular remodeling and accelerated hyperemia blood flow restoration in arterially occluded skeletal muscle exposed to ultrasonic microbubble destruction[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, 287(6): H2754-H2761.
- [29] 张群霞, 王志刚, 冉海涛, 等. 不同超声强度及微泡对基因和组织的实验研究[J]. *中华超声影像学杂志*, 2005, 14(4): 304-306.
- [30] Yuan QY, Huang J, Chu BC, et al. A visible, targeted high-efficiency gene delivery and transfection strategy [J]. *BMC Biotech*, 2011, 21(11): 56-65.
- [31] Matsuo M, Yamauchi K, Feril LB Jr, et al. Synergistic inhibition of malignant melanoma proliferation by melphalan combined with ultrasound and microbubbles[J]. *Ultrason Sonochem*, 2011, 18(5): 1218-1224.
- [32] Howard CM, Forsberg F, Minimo C, et al. Ultrasound guided site specific gene delivery system using adenoviral vectors and commercial ultrasound contrast agents[J]. *J Cell Physiol*, 2006, 209(2): 413-421.
- [33] Aoi A, Watanabe Y, Mori S, et al. Herpes simplex virus thymidine kinase-mediated suicide gene therapy using nano/microbubbles and ultrasound[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2008, 34(3): 425-434.
- [34] Rapoport N, Gao Z, Kennedy A. Multifunctional nanoparticles for combining ultrasonic tumor imaging and targeted chemotherapy[J]. *J Nat Cancer Inst*, 2007, 99(14): 1095-1106.
- [35] Chen S, Ding JH, Bekeredjian R, et al. Efficient gene delivery to pancreatic islets with ultrasonic microbubble destruction technology[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(22): 8469-8474.
- [36] Haag P, Frauscher F, Gradl J, et al. Microbubble-enhanced ultrasound to deliver an antisense oligodeoxynucleotide targeting the human androgen receptor into prostate tumours[J]. *Steroid Biochem Mol Biol*, 2006, 102(1-5): 103-113.
- [37] Leonq-Poi H, Christiansen J, Klivanov AL, et al. Noninvasive assessment of angiogenesis by ultrasound and microbubbles targeted to  $\alpha(v)$ -integrins[J]. *Circulation*, 2003, 107(3): 455-460.

[38] Ellegala DB, Leong-Poi H, Carpenter JE, et al. Imaging tumor angiogenesis with contrast ultrasound and microbubbles targeted to alpha(v)beta3[J]. Circulation, 2003, 108(3):336-341.

[39] Bekeredian R, Grayburn PA, Shohet RV. Use of ultra-

sound contrast agents for gene or drug delivery in cardiovascular medicine[J]. J Am Coll Cardiol, 2005, 45(3): 329-335.

(收稿日期:2011-10-14 修回日期:2011-11-22)

• 综 述 •

## 树突状细胞在过敏性疾病中的研究进展\*

李黎明<sup>1</sup>, 金若敏<sup>1△</sup>综述, 李小月<sup>2</sup>审校

(1. 上海中医药大学, 上海 201203; 2. 南京农业大学, 南京 210095)

**关键词:** 树突状细胞; 哮喘; 紫癜, 过敏性; 食物过敏

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.16.028

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1671-8348(2012)16-1634-04

树突状细胞(dendritic cell, DC)由美国学者 Steinman 于 1973 年在小鼠脾脏中发现, 因其成熟时能伸出许多树突样或伪足样突起而得名<sup>[1]</sup>。树突状细胞是目前所知的功能最强大的抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC), 可摄取、加工抗原, 激活初始 T 淋巴细胞, 激发抗原特异性的免疫应答及免疫耐受<sup>[2]</sup>, 在固有免疫及获得性免疫中起着重要作用。树突状细胞与过敏性疾病发生密切相关, 参与过敏反应发生的始动环节, 因此, 其在过敏性疾病中的研究应用已受到人们广泛关注。现主要从树突状细胞在过敏反应中的作用及其应用等方面进行综述。

### 1 树突状细胞在过敏反应中的作用

#### 1.1 抗原提呈作用

一般来说, T 细胞不能直接识别过敏原, 而只能识别经 APC 加工处理后的抗原多肽, 因此过敏反应发生, 首先要经过 DC 等抗原提呈细胞摄取、提呈过敏原的环节。树突状细胞在获取抗原时, 依赖细胞表面的多种受体分子, 并通过吞噬、胞饮、内吞等途径实现。其中一些主要受体包括赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)-1 及 CD91、整联蛋白、Fc 受体、C 型凝集素等, 这些受体除了引起细胞内吞作用, 还与细胞内、外信号有关<sup>[3]</sup>。单个成熟 DC 能激活大量初始 T 细胞, 在此过程中除了 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)识别 DC 表面的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)-肽复合物产生的信号外, 还需要共刺激分子提供的第二信号参与如 CD80、CD86 等; 并且 T 细胞活化依赖于 MHC-多肽复合物的密度及其与 T 细胞受体间的作用持续时间, 改变 MHC II-抗原肽的抗原决定簇可以调节 DC 功能并促进抗原特异性辅助 T(T helper, Th)细胞生成<sup>[4]</sup>。

DC 表面可表达 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR), TLR 是模式识别受体中的一类, 能识别病原相关模式, 是联系固有免疫和获得性免疫之间的桥梁。大量研究发现 TLR 能调节 DC 功能, 包括抗原提呈、信号转导及其他过程, 并能促进 DC 对抗原特异性淋巴细胞的活化及分化。目前已发现有 13 种 TLR, TLR1~9 在小鼠及人体内相似, 而 TLR10 只在人体表达, TLR11 只在小鼠体内发挥功能。不同 DCs 表达不同的 TLR<sup>[5]</sup>, 除 TLR3 以外的所有 TLR 成员均可以通过髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)活化核因子

(nuclear factor, NF)- $\kappa$ B、活化蛋白 1(activating protein-1, AP-1)<sup>[6]</sup>, 使 DC 活化而成熟。正常小鼠骨髓 DC 能被室内粉尘提取物激活, 高表达 CD40、CD80、CD86 等分子, 而 TLR2、TLR4、TLR9 缺陷小鼠 DC 的反应明显减弱, MyD88 缺陷小鼠 DC 基本没反应<sup>[7]</sup>。此外 TLR 信号能够调节花生诱导的 DC 体外成熟过程, 从而影响 Th2 细胞应答程度<sup>[8]</sup>。

#### 1.2 树突状细胞对 Th 细胞的调节作用

目前已有大量研究证明过敏反应发生与 Th2 偏移有关, 并且抗原特异性 IgE 生成依赖 Th2 细胞, 同时 Th2 细胞可以产生 IL-4、IL-5、IL-13 等细胞因子, 此类细胞因子是过敏反应等特异性免疫应答中的重要信号传递分子。在 T 细胞免疫应答过程中, DC 可以调控 Th1/Th2 数量, 不同亚群及不同状态 DC 均可能对 Th1、Th2 的分化产生不同的影响<sup>[9]</sup>; 而细胞因子、受体及其他因素刺激亦能影响 DC 调节 Th 的极化方向。

DC 对 Th 细胞调节, 与其自身分泌细胞因子及表面分子表达状态密切相关。在人骨髓 DC 中, IL-12 可以诱导 Th1 反应, 而 OX40L 在诱导 Th2 反应中起重要作用<sup>[10]</sup>。另外 DC 中 IL-23 也可能介导 Th1 细胞的生成, 而 IL-4 可以诱导 Th2 型反应。CD86 主要诱导 Th2 分化, CD80 参与 Th1 细胞分化<sup>[11]</sup>。

不同细胞因子激活的 DC 对 Th 细胞调节作用亦存在差异。IL-33 激活后 DC 的细胞表面 MHC-II、CD86 表达上调, IL-6 分泌增加, 并能活化初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞产生大量 IL-5、IL-13, 诱导非典型的 Th2 型免疫应答<sup>[12]</sup>。IL-10 预处理 DC 表面 CD11c、CD80、CD86 表达下降, IL-12 表达下调, 并能抑制 Th2 型细胞因子的产生<sup>[13]</sup>。IL-32 $\gamma$  能诱导未成熟 DC 成熟及活化, 并通过 PLC/JNK/NF- $\kappa$ B 信号通路促进 DC 分泌 IL-12、IL-6 等细胞因子增强 Th1、Th17 反应<sup>[14]</sup>。

此外某些代谢酶及其他生物活性物质也会影响 DC 的 Th 调节功能。吲哚胺 2,3-双氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)是色氨酸代谢的限速酶, 树突状细胞内的 IDO 在调节 Th1/Th2 免疫应答方面有双重作用, 自然状态下 IDO 可以抑制 Th1 型反应, 而在某些情况下 IDO 可以促进 Th2 反应<sup>[15]</sup>。组胺、胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)在 DC 诱导 Th2 型反应中也起着重要介导作用, 参与过敏反应<sup>[16-17]</sup>。其中 TSLP 与 IL-7R-TSLPR 复合受体结合