

tance protein Abcg2 at the mouse blood-brain barrier[ J ]. *Cancer Res* , 2004 , 64( 9 ) 3296 - 3301 .

[ 18 ] Drion N , Lemaire M , Lefauconnier JM , et al . Role of P-glycoprotein in the blood-brain transport of colchicines and vin-

blastin[ J ]. *J Neurochem* , 1996 , 67( 4 ) :1688 - 1693 .

[ 19 ] Dagenais C , Graff CL , Pollack GM . Variable modulation of opioid brain uptake by P-glycoprotein in mice[ J ]. *Biochem Pharmacol* , 2004 , 67( 2 ) 269 - 276 .

## 抗 CD3 单克隆抗体的作用机制及其在临床上的应用

陈国江综述 黎 燕审校

( 军事医学科学院基础医学研究所 , 北京 100850 )

**摘要 :** CD3 分子是 T 细胞表面的标记性分子 , 与 T 细胞受体( TCR ) 组成 TCR-CD3 复合体 , 在抗原识别和免疫信号传导过程中具有重要作用。利用抗 CD3 单克隆抗体激发或阻断 T 细胞活化信号转导 , 清除效应 T 细胞或诱导调节 T 细胞产生 , 为治疗器官移植排斥和自身免疫性疾病提供新的方法和手段。目前 , 抗 CD3 单克隆抗体已广泛应用于临床治疗器官移植后排斥反应 , 疗效显著 , 而将其用于治疗自身免疫性疾病的研究处于起步阶段 , 确切的疗效及其可能的机制有待深入的探讨。

**关键词 :** 抗 CD3 单克隆抗体 ; 器官移植 ; 自身免疫性疾病 ; 调节 T 细胞

中图分类号 : R392.11 文献标识码 : A 文章编号 : 1001-0971( 2005 ) 01-0046-04

机体免疫系统是由中枢淋巴器官、外周淋巴器官、免疫细胞和免疫分子所组成。免疫应答过程有赖于免疫系统中细胞间的相互作用 , 包括细胞间直接接触和通过释放细胞因子或其他介质的相互作用。免疫细胞 , 尤其是 T 细胞在免疫应答整个过程中处于核心地位 , T 细胞表面存在众多的 CD 分子 , 如 CD3 , CD4 , CD8 和 CD28 等 , 这些 CD 分子广泛参与了 T 细胞识别抗原、活化增殖或无能、凋亡及清除异体抗原或对自身抗原耐受等免疫效应全过程 , 因此 , 人们试图通过单克隆抗体特异性结合 CD 分子 , 调节 T 细胞的功能与状态 , 从而改善机体的免疫力。在这些 CD 分子中 , CD3 分子尤为重要 , 它与 T 细胞表面的 T 细胞受体( TCR ) 组成 TCR-CD3 复合体 , 在 T 细胞抗原识别和免疫应答产生过程中具有极其重要的作用。因此 , 利用抗 CD3 单克隆抗体激发或阻断 T 细胞活化信号转导 , 清除效应 T 细胞或诱导调节 T 细胞的产生 , 将为治疗器官移植排斥和自身免疫性疾病提供新的方法。本文就抗 CD3 单克隆抗体的作用机制及其在临床上的应用作一综述。

### 1 CD3 和抗 CD3 单克隆抗体的生物学特性及功能

#### 1.1 CD3 的生物学特性及功能

CD3 分子是 T 细胞膜上的重要分化抗原 , 是成熟 T 细胞的特征性标志。它由  $\gamma$   $\delta$   $\epsilon$  和  $\zeta$  四种链或  $\gamma$   $\delta$   $\epsilon$   $\zeta$  和  $\eta$  五种链组成 , TCR 复合体最常见的化学结构式为  $\alpha\beta\gamma\delta\epsilon\zeta_2$ 。CD3 各链的胞内区比 TCR 者长 , 其中  $\gamma$   $\delta$  和  $\epsilon$  链胞浆区各有一个免疫受体酪氨酸活化基序( ITAM)。CD3 分子除分布于 T 细胞外 , 还分布于胸腺细胞 , CD3  $\zeta$  链可表达于部分自然杀伤( NK ) 细胞。CD3 分子的主要功能为 : 稳定 TCR 结构 , 传递 T 细胞活化信号 , 当 TCR 特异性识别并结合抗原后 , CD3 参与将信号转导到 T 细胞胞浆内 , 作为诱导 T 细胞活化的第一信号。

#### 1.2 抗 CD3 单克隆抗体的生物学特性及功能

第一个抗人 CD3 单克隆抗体——莫罗单抗( moronomab , OKT3 ) 于 1979 年制备而成 , 其识别位点为 CD3  $\epsilon$  链 , 并很快应用于临床。但由于最初制备的抗人 CD3 单克隆抗体均是鼠源性的 , 因此限制了它的应用。这种抗 CD3 单克隆抗体有两个缺点 : ( 1 ) 免疫原性 ( 2 ) 丝裂原性。后者与抗 CD3 单克隆抗体的 Fc 段有关 , CD3 抗体通过与淋巴细胞表面的 Fc 受体( FcR ) 结合 , 激活淋巴细胞 , 释放细胞因子。基于以上两点 , 目前已经设计了两类 FcR 非结合型的人源化抗 CD3 单克隆抗体——hOKT3 $\gamma$ 1Ala-Ala 和 chAglyCD3<sup>[ 1 2 ]</sup>。抗 CD3 单克隆抗体诱导 CD3 和 TCR 共帽的形成 , 引起 T 细胞活化信号向胞内传递 , 该过程和抗原与 TCR 特异性结合后引起 T 细胞活

化过程极为相似。由于所有的 T 细胞表面均表达有 CD3 分子,因此可以应用抗 CD3 单克隆抗体清除致病性效应 T 细胞或诱导调节 T 细胞上调,治疗各种器官移植后急性排斥及自身免疫性疾病。

## 2 抗 CD3 单克隆抗体的作用机制

虽然抗 CD3 单克隆抗体应用于临床已经 20 多年,但其作用机制尚不十分清楚。近几年取得了很大的进展,尤其是发现调节 T 细胞在抗 CD3 单克隆抗体诱导特异性免疫耐受中具有重要作用。

### 2.1 T 细胞的清除

研究发现,OKT3 静脉注射后 10~20 min,外周血中 CD3<sup>+</sup> T 细胞显著减少<sup>[3]</sup>。可能的机制为(1)补体介导的清除作用(2)抗体依赖的细胞毒作用(ADCC)(3)重定向 T 细胞溶解作用(4)活化诱导细胞凋亡作用(AICD)。最近发现,在抗 CD3 单克隆抗体诱导同种移植耐受动物模型中,TCRV $\beta$ 8<sup>+</sup> 细胞清除具有重要作用。

### 2.2 TCR 表达的下调

实验表明,有部分 CD3<sup>+</sup> 细胞并没有被真正清除,而是通过 TCR-CD3 复合体的内化、降解等作用失去了 CD3 及 TCR 的表达,但这不影响 T 细胞上其他表面标记(如 CD4 或 CD8)的表达。这些 CD3-TCR 阴性的 T 细胞不仅可在外周血,而且在淋巴样器官和浸润靶器官也能检测到。这些细胞不能识别抗原,表现为免疫无应答。有趣的是,TCR 下调和 T 细胞清除之间似乎存在一个精确的平衡。当 TCR 下调后,T 细胞就不太可能被清除。抗 CD3 单克隆抗体的这种效应在其清除后可被完全逆转。

### 2.3 免疫偏离

体外实验表明,抗 CD3 单克隆抗体通过诱导无能或凋亡选择性抑制辅助性 T 细胞 1(Th1)亚群,同时白细胞介素-4(IL-4)水平明显升高,促使辅助性 T 细胞 2(Th2)偏离。在抗 CD3 单克隆抗体治疗同种器官移植中,同样发现存在 Th2 偏离的现象,将移植物移植入预先给予抗 CD3 单克隆抗体治疗的宿主体内,数天后检测发现宿主脾内 IL-4 和 IL-5 mRNA 水平升高,而干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、IL-2 mRNA 无明显变化,但在移植物中的浸润细胞的 IL-4 水平却无明显升高。这可能是由于抗 CD3 单克隆抗体未能引起 TCR 聚集,导致只有部分 TCR 活化信号向胞内传递,优先活化 Th2 亚群所致<sup>[4]</sup>。进一步研究发现,抗 CD3 单克隆抗体与其

受体结合后,部分活化 Src 家族激酶(SFK)Fyn,导致不能招募和激活其家族激酶的另一成员 Lck,以至 TCR-CD3 复合体不能聚集于脂筏(lipid raft),影响后续的一系列活化,引起 Ca<sup>2+</sup> 内流减少,促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)活化不能。

### 2.4 调节 T 细胞的诱导

由于 T 细胞清除和 Th2 偏离等作用持续时间明显短暂,无法解释抗 CD3 单克隆抗体治疗后所诱导的长程操作性耐受(long-term operative tolerance)。事实上,在器官移植和胰岛素依赖型糖尿病(IDDM)动物模型中都证实,即使是经抗 CD3 单克隆抗体治疗后已耐受的小鼠体内仍存在自身反应性 T 细胞(auto-reactive T lymphocytes),将这些细胞分离出来并过继转移入未发病小鼠体内可诱发相应的自身免疫性疾病,因此存在着某一细胞群抑制自身反应性 T 细胞的激活,防止自身免疫性疾病的发生。众多实验已经证实调节 T 细胞的存在。研究发现,经抗 CD3 单克隆抗体诱导耐受的小鼠体内调节 T 细胞明显增多,这些细胞表达 L-选择素(CD62L),主要存在于 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞群中<sup>[5]</sup>。研究还发现,调节 T 细胞分布存在组织差异,在胰腺淋巴结和肠系膜淋巴结中,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞数量明显增加,而在脾中并不增加。目前已证实,CD28/B7 共刺激信号是调节 T 细胞发育必需的,敲除 CD28 的非肥胖性糖尿病(CD28<sup>-/-</sup>NOD)小鼠体内调节 T 细胞缺失,但抗 CD3 单克隆抗体治疗 CD28<sup>-/-</sup>NOD 小鼠依然有效,小鼠体内调节 T 细胞明显增多,因此认为抗 CD3 单克隆抗体诱导产生的调节 T 细胞来源于 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T 细胞群,但关于抗 CD3 单克隆抗体治疗诱导调节 T 细胞增加的确切机制还不清楚。此外,经抗 CD3 单克隆抗体治疗后,调节性细胞因子 IL-4, IL-10 和转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )水平升高,其中尤以 TGF- $\beta$  最为显著。虽然体外实验证实,调节 T 细胞是通过细胞间接触,而非细胞因子依赖性发挥调节功能<sup>[6]</sup>,但已发现调节 T 细胞表面存在膜结合型 TGF- $\beta$ ,推测可通过与效应细胞表面的 TGF- $\beta$  受体相互作用调节其功能。关于 TGF- $\beta$  调节机体免疫应答的机制,Bommireddy 等<sup>[7]</sup>发现 TGF- $\beta$  可提高胞内 Ca<sup>2+</sup> 活化 T 细胞的阈值,以控制自身免疫应答的发生。Chen 等<sup>[8]</sup>则发现体外实验中,在抗 CD3 抗体和抗 CD28 抗体刺激 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T 细胞的同时加入 TGF- $\beta$ ,可诱导其转变成为 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞。目前认为,TGF- $\beta$  是 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T 细胞分泌的代表性

因子,但它是作为调节介质还是作为 T 调节细胞生长分化因子或两者兼有发挥调节作用,体内是否亦如此等诸多问题还需进一步证实。另一方面,有人将 TGF-β 敲除,发现小鼠并不诱发自身免疫性疾病<sup>9]</sup>。体外实验也发现,IL-10 而非 TGF-β 能诱导无调节功能的 T 细胞转变成成为调节 T 细胞,但在 NOD 小鼠模型中,经抗 CD3 单克隆抗体治疗后,IL-10 分泌并不明显升高<sup>10]</sup>,给予 IL-10 中和抗体也不能逆转小鼠的耐受状态。因此,调节性细胞因子的真正作用还有待进一步研究。

### 3 抗 CD3 单克隆抗体在临床上的应用

#### 3.1 抗 CD3 单克隆抗体在器官移植治疗中的应用

早在 20 世纪 80 年代,OKT3 就被应用于治疗肾移植后急性排斥反应,随后逐步推广应用于肝脏、心脏、胰腺等其他器官移植,均获得良好效果。研究发现,单独应用 OKT3,可明显抑制器官移植后急性排斥,维持非匹配性同种移植肾的正常功能,直至受体外周血中 OKT3 被中和清除。通过同种和异种皮肤移植证实,这种免疫抑制效应是供体同种抗原特异性的<sup>11]</sup>。相比于常规的免疫抑制剂,OKT3 治疗移植后排斥并不引起广泛的免疫抑制,降低了感染等风险。因此在临床上得到了广泛的应用。但 OKT3 也存在很多缺点,最主要的是器官移植病人单独应用 OKT3 治疗后 5~7 d,机体产生严重的 OKT3 特异性体液免疫反应,导致 OKT3 被快速清除,半衰期明显缩短,限制了其治疗作用,为此目前已经开发出众多改建的抗 CD3 单克隆抗体,如 huOKT3g1, HuM291 抗 CD3 双抗体和抗 CD3 ScFv 等<sup>12]</sup>,正在或即将进行临床试验,有望在不久的将来投入市场。

#### 3.2 抗 CD3 单克隆抗体在自身免疫性疾病中的应用

除了免疫抑制效应外,人们还发现抗 CD3 单克隆抗体具有诱导特异性免疫耐受的作用。Nicolls 将组织不相容性的心脏移植入预先经抗 CD3 单克隆抗体治疗的大鼠,结果发现心脏存活时间超过 200 d,对照组则小于 8 d。Chatenoud 等<sup>13]</sup>应用抗 CD3 单克隆抗体治疗已发病的糖尿病小鼠,结果发现治疗组中 64%~80% 的小鼠血糖恢复至正常水平,持续时间超过 4 个月,小鼠死亡率显著下降。随后,应用抗 CD3 单克隆抗体治疗 IDDM 病人临床试验中,结果 75% 的患者自体胰岛素分泌维持恒定水平,甚至得到增加,糖基化血红蛋白水平降低,胰岛素的用量减少,疗效至少可维持一年。Utset 等<sup>14]</sup>将抗 CD3

单克隆抗体用于治疗牛皮癣性关节炎病人,结果发现治疗组 75% 患者关节肿胀程度得到改善,疼痛减轻,无明显副作用。这为抗 CD3 单克隆抗体用于治疗各种自身免疫性疾病提供了可能。

### 4 结语

目前,同种器官移植排斥和自身免疫性疾病的治疗主要基于非抗原特异性免疫抑制,这种治疗策略短期可能很有效,但长期疗效却常常受限,主要原因是大大增加了患者感染和得癌症的风险,一旦停用这类药物,患者的病情可能反而加重。因此,迫切需要寻找到新的治疗手段,诱导机体产生特异性免疫耐受的同时,并不引起广泛的免疫抑制。人们尝试应用 T 细胞 CD 抗原(如 CD3,CD4,CD8 等)单克隆抗体治疗相关疾病,但与抗 CD3 单克隆抗体相比,抗 CD4 单克隆抗体的作用时间短,疗效并不显著<sup>15]</sup>。

CD3 单克隆抗体作为新一类免疫抑制剂,相比于甾体类激素等常规免疫抑制药物,具有毒副作用少、使用剂量小、维持时间长等优点,因此在临床,特别是在器官移植领域中得到了广泛的应用。目前抗 CD3 单克隆抗体在自身免疫性疾病治疗中的作用正得到越来越多的关注,已经获得了初步的进展<sup>16]</sup>。可以设想,抗 CD3 单克隆抗体的独特性和众多优点将使之成为治疗器官移植和自身免疫性疾病新的手段和方法。

### 参考文献

[1] Alegre ML, Peterson LJ, Xu D, et al. A non-activating "humanized" anti-CD3 monoclonal antibody retains immunosuppressive properties *in vivo*[ J ]. *Transplantation*, 1994, 57( 11 ):1537 - 1543.

[2] Bolt S, Routledge E, Lloyd I, et al. The generation of a humanized, non-motigenic CD3 monoclonal antibody which retains *in vitro* immunosuppressive properties[ J ]. *Eur J Immunol*, 1993, 23( 2 ):403 - 411.

[3] Ortho Multicenter Transplant Study Group. A randomized clinical trial of OKT3 monoclonal antibody for acute rejection of cadaveric renal transplants[ J ]. *N Engl J Med*, 1985, 313( 6 ):337 - 342.

[4] Smith JA, Tang Q, Bluestone JA, et al. Partial TCR signals delivered by FcR-nonbinding anti-CD3 monoclonal antibodies differentially regulate individual Th subsets[ J ]. *J Immunol*, 1998, 160( 10 ):4841 - 4849.

[5] Chatenoud L. CD3-specific antibody-induced active toler-

- ance : from bench to bedside[ J ]. *Nat Rev Immunol* , 2003 , 3( 2 ) : 123 - 132.
- [ 6 ] Nakamura K , Kitani A , Strober W , et al . Cell contact-dependent immunosuppression by CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta[ J ]. *J Exp Med* , 2001 , 194( 5 ) : 629 - 644.
- [ 7 ] Bommireddy R , Doetschman T . TGF- $\beta$  , T-cell tolerance and anti-CD3 therapy[ J ]. *Trends Mol Med* , 2004 , 10( 1 ) : 3 - 9.
- [ 8 ] Chen W , Jin W , Hardegen N , et al . Conversion of peripheral CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> naive T cells to CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells by TGF- $\beta$  induction of transcription factor Foxp3[ J ]. *J Exp Med* , 2003 , 198( 12 ) : 1875 - 1886.
- [ 9 ] Piccirillo CA , Lettrio JJ , Thornton AM . CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells can mediate suppressor function in the absence of transforming growth factor  $\beta_1$  production and responsiveness[ J ]. *J Exp Med* , 2002 , 196( 2 ) : 237 - 246.
- [ 10 ] Belghith M , Bluestone JA , Barriot S , et al . TGF- $\beta$ -dependent mechanisms mediate restoration of self-tolerance induced by antibodies to CD3 in overt autoimmune diabetes [ J ]. *Nat Med* , 2003 9( 9 ) : 1202 - 1208.
- [ 11 ] Plain KM , Chen J , Merten S , et al . Induction of specific tolerance to allograft in rats by therapy with non-mitogenic , non-depleting anti-CD3 monoclonal antibody : association with TH<sub>2</sub> cytokines not anergy[ J ]. *Transplantation* , 1999 , 67( 4 ) : 605 - 613.
- [ 12 ] Le Gall F , Reusch U , Moldenhauer G , et al . Immunosuppressive properties of anti-CD3 single-chain Fv and diabody [ J ]. *J Immunol Methods* , 2004 , 285( 1 ) : 111 - 127.
- [ 13 ] Chatenoud L , Thervet E , Primo T , et al . Anti-CD3 antibody induces long-term remission of overt autoimmunity in nonobese diabetic mice[ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA* , 1994 , 91( 1 ) : 123 - 127.
- [ 14 ] Utset TO , Auger JA , Peace D , et al . Modified anti-CD3 therapy in psoriatic arthritis : a phase I / II clinical trial [ J ]. *J Rheumatol* , 2002 , 29( 9 ) : 1907 - 1913.
- [ 15 ] Makhlof L , Grey ST , Dong V , et al . Depleting anti-CD4 monoclonal antibody cures new-onset diabetes , prevent recurrent autoimmune diabetes , and delays allograft rejection in nonobese diabetic mice[ J ]. *Transplantation* , 2004 , 77( 7 ) : 990 - 997.
- [ 16 ] Herold KC , Hagopian W , Auger JA , et al . Anti-CD3 monoclonal antibody in new-onset type 1 diabetes mellitus[ J ]. *N Engl J Med* , 2002 , 346( 22 ) : 1692 - 1698.

## 药物作用和治疗新进展 :G 蛋白偶联受体及信号转导相关新概念

王 勃编译 苏瑞斌审校

( 军事医学科学院毒物药物研究所 , 北京 100850 )

摘要 : 本文以临床上常用的与 G 蛋白偶联受体相关的药物为例 , 阐述了完全和部分激动剂、中性拮抗剂、反向激动剂和变构调节等概念的理论价值 , 以及这些概念在临床合理用药过程中的地位。此外 , 对受体信号转导过程的精细调节机制 , 例如激动剂介导的信号转导、受体转运、受体间相互作用及 G 蛋白调节物质的作用进行了探讨。对上述受体分子和信号转导药理基础理论的理解将有助于临床上合理的药物治疗。

关键词 : 药物作用 ; 治疗学 ; G 蛋白偶联受体 ; 信号转导

中图分类号 : R979.1 文献标识码 : A 文章编号 : 1001-0971( 2005 ) 01-0049-04

临床医生的理想是选择最佳药物和制定完善的药物治疗方案 , 而要达到合理和最优的药物治疗必须掌握相应的知识和技能。分子受体和信号转导药理的发展非常迅速 , 近年来出现了很多新的概念及药物作用的新模式。本文旨在帮助临床医生了解药

物作用、基础药理科学领域的新发展及其对临床治疗的价值 , 同时指出了未来药物治疗的趋势 , 重点阐述了 G 蛋白偶联受体( GPCR ) 及其信号的转导机制。

### 1 受体的分类

神经递质、激素和药物与细胞表面的膜受体相互作用 , 引发一系列胞内事件( 信号转导 ) , 最后导致