

DOI: 10.13376/j.cbls/2017059

文章编号: 1004-0374(2017)05-0450-12

MHC分子抗原递呈机制的研究进展

高花, 韩勇, 翟晓鑫, 高凤山*

(大连大学生命科学与技术学院基因和蛋白质工程实验室, 大连 116622)

摘要: MHC分子限制性抗原递呈机制在细胞免疫应答中占有绝对重要地位, 对MHC抗原递呈机制的研究一直是免疫学研究的热点。尽管抗原分子经过MHC分子递呈和加工机制已经被研究了近40年, 且抗原递呈机制的基本途径已经在10年前基本阐明, 但近几年仍发现MHC一些新的递呈机制和特点。MHC分子抗原递呈过程十分繁琐, 涉及许多蛋白质、分子伴侣等之间的相互作用。现综述了MHC分子所递呈限制性抗原的产生、运输以及抗原交叉递呈等方面的最新研究进展。

关键词: MHC; 肽; 抗原递呈; 交叉递呈; 免疫应答

中图分类号: R392.1 **文献标志码:** A

The research progress of antigen presentation by MHC molecules

GAO Hua, HAN Yong, ZHAI Xiao-Xin, GAO Feng-Shan*

(Gene and Protein Engineering Laboratory in College of Life Science
and Technology of Dalian University, Dalian 116622, China)

Abstract: The mechanism for major histocompatibility complex (MHC) to present restrictive antigens, absolutely occupied an important position in cell immune responses. It is still a hotspot to study the antigen-presented mechanism of MHC in immunology. Although the mechanism had been studied for nearly 40 years, and the basic presentation ways had been elucidated for 10 years, some new processing ways and specificity for MHC have been reported in recent years. Totally, the antigen-presented process for MHC molecules is very complicated because it is related to interaction with many proteins, chaperones, et al. In this article, the latest research development will be reviewed, including the production of the restrictive antigen presentation by MHC in cells, transportation intracellularly and extracellularly, and the cross-presentation for MHC molecules.

Key words: MHC; peptides; antigen presentation; cross-presentation; immune response

主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 是免疫系统的重要组成部分, 负责抗原递呈, 在自我识别的机体系统中使特异性 T 淋巴细胞检测到外来抗原。MHC 基因及其基本功能, 如遗传位点控制免疫应答, 由 George D. Snell、Jean Dausset 和 Baruj Bernacerraf 三人于 1940—1970 年通过器官移植实验发现^[1]。1975 年, Doherty 和 Zinkernagel^[2] 在研究小鼠病毒免疫反应时证明了 MHC 限制性 (MHC restriction), 即病毒肽只有在与特定的 MHC 分子结合的情况下才能被 T 细胞识别, 首次强调了“MHC 限制性”的现象。免疫系统已经逐步形成识别“自我”和“非我”两类不同抗原

分子的平行识别能力^[3]。在平行识别中, 研究近交系动物模型发现了 MHC II 类分子免疫应答, 并确定了 MHC I 类与 II 类之间的区别^[4]。

MHC I 类和 II 类分子在功能上是非常相似的。MHC I 类分子结合来源于细胞内的内源性抗原肽, 可被 CD8⁺ T 细胞识别; 而 MHC II 类分子结合细胞外的外源性抗原肽, 可被 CD4⁺ T 细胞识别。这种识别不是绝对的, 也有少数异常存在, 如最近发现,

收稿日期: 2016-09-17; 修回日期: 2016-11-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31672525)

*通信作者: E-mail: gfsh0626@126.com; gaofengshan@dlu.edu.cn

猿猴接种猕猴巨细胞病毒 (RHCMV) 载体表达免疫缺陷病毒 (SIV) 蛋白抗原后, 会引起 SIV 特异性 CD8⁺T 细胞识别的异常, 并发现一种效应性 CD8⁺T 细胞毒性反应受 MHC II 类分子的限制^[5]。在这两个途径中, 一个有趣的链接称为交叉递呈 (cross-presentation), 即通过 MHC I 类分子递呈外源性抗原^[6]。除此之外, 胞浆 (内源性) 蛋白通过自噬或其他途径降解的产物可由 MHC II 类分子递呈^[7]。所以, MHC I 类为专门递呈内源性抗原的观念被重新考虑, CD8⁺T 细胞由 MHC I 类限制的这个观点也被重新评估。Bevan^[8] 发现 CD8⁺T 细胞存在交叉反应现象, 又进一步研究发现来自移植细胞的次要组织相容性抗原可以通过宿主的 MHC I 类分子限制性引起细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTL) 免疫应答。这项研究揭示外源性抗原可能通过 MHC I 类分子递呈。病原体的各种机制已经进化到可以巧妙处理 MHC I 类和 II 类途径^[9], 这为抗原递呈的生物学功能提供了新的见解。

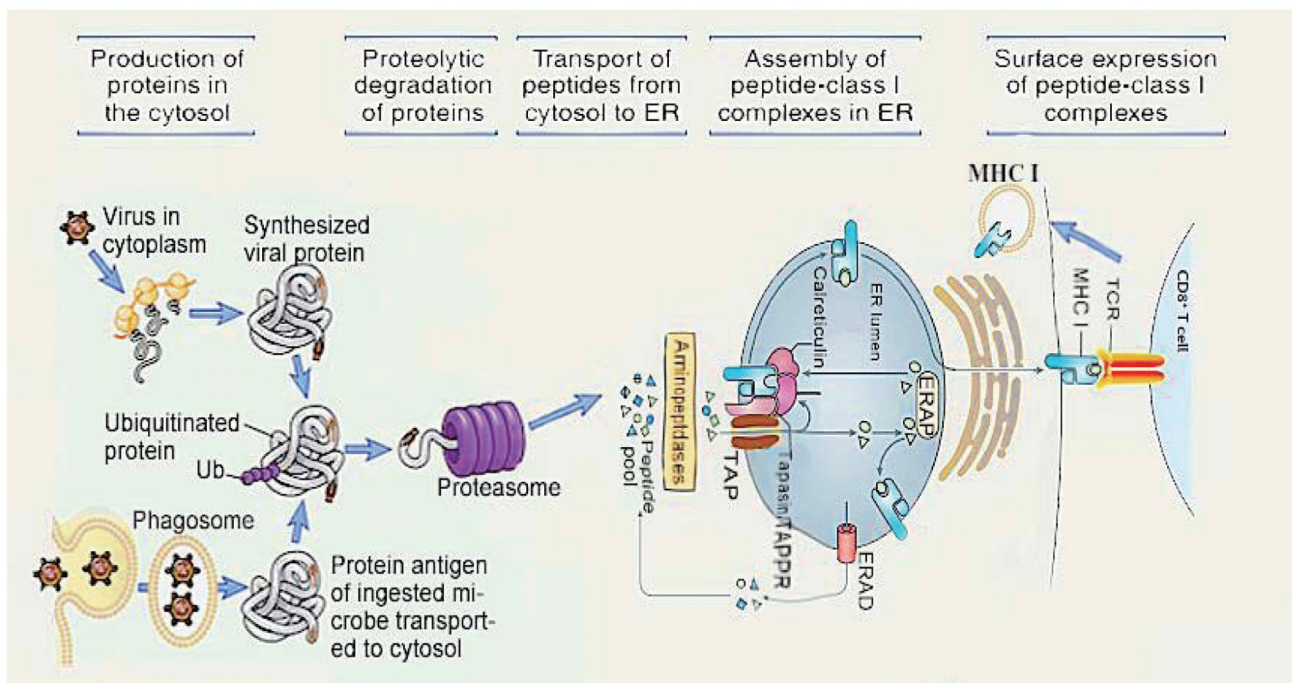
为全面了解 MHC I 类和 II 类分子抗原递呈机制的途径及功能, 本文将针对 MHC I 类、II 类及交叉递呈展开综述。

1 MHC I类分子抗原加工递呈机制的途径及功能

MHC I 类分子分布于有核细胞表面^[10], 它与经蛋白酶体降解处理的内源性抗原肽 (如病毒蛋白) 在内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 中结合成肽-MHC I 类复合体并递呈到细胞表面, 激活相应的 CD8⁺T 细胞, 使其转化为致敏的 CTL, 发挥细胞毒性作用杀伤靶细胞。这是启动细胞免疫应答和防御机制的关键, 此途径称为 MHC I 类限制性抗原递呈机制^[11]。相反, 在 ER 中未能与 MHC I 类分子结合的肽将返回到胞质中降解^[12]。此过程可分为以下几步, 如图 1 所示。

1.1 细胞质中抗原蛋白的来源

大多数抗原蛋白在细胞质中合成, 有些是细菌通过分泌机制进入细胞质; 有些则是通过吞噬作用形成囊泡进入细胞质, 如致病单核细胞 *Listeria* 菌产生的蛋白质称为 *Listeria* 溶胞菌素, 它可以破坏吞噬体膜使细菌从囊泡逃逸到细胞质中^[13]。外来抗原蛋白在细胞质中可以处理与 MHC I 类之间的关系, 如感染的病毒中存在一系列的免疫逃逸机制



通过MHC I类递呈内源性抗原肽是一系列反应的结果。首先, 抗原通过蛋白酶体降解, 产生的肽类通过TAP进入ER并加载在MHC I类分子上形成复合体。肽-MHC I类复合体通过ER释放并由高尔基体转运到细胞膜表面, 将抗原肽递呈给CD8⁺T细胞。MHC I类分子可以形成囊泡回到细胞。ERAD: 内质网相关蛋白降解; ERAP: 内质网相关肽类酶; ER: 内质网; β2m: β2-球蛋白; TAP: 抗原加工相关转运体; Ub: 泛素; TCR: T细胞受体

图1 MHC I类抗原递呈途径^[11]

(immune escape mechanism), 以延长病毒在宿主中的存活时间。MHC I类允许病毒逃避低反应特性自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 的监视, 如靶细胞病毒抗原可由功能性强的 MHC I类调节, 从而逃逸 NK 细胞杀伤^[14]。在肿瘤细胞中, 各种突变或过度表达的基因可以产生由 MHC I类分子递呈、CTL 识别的抗原表位。

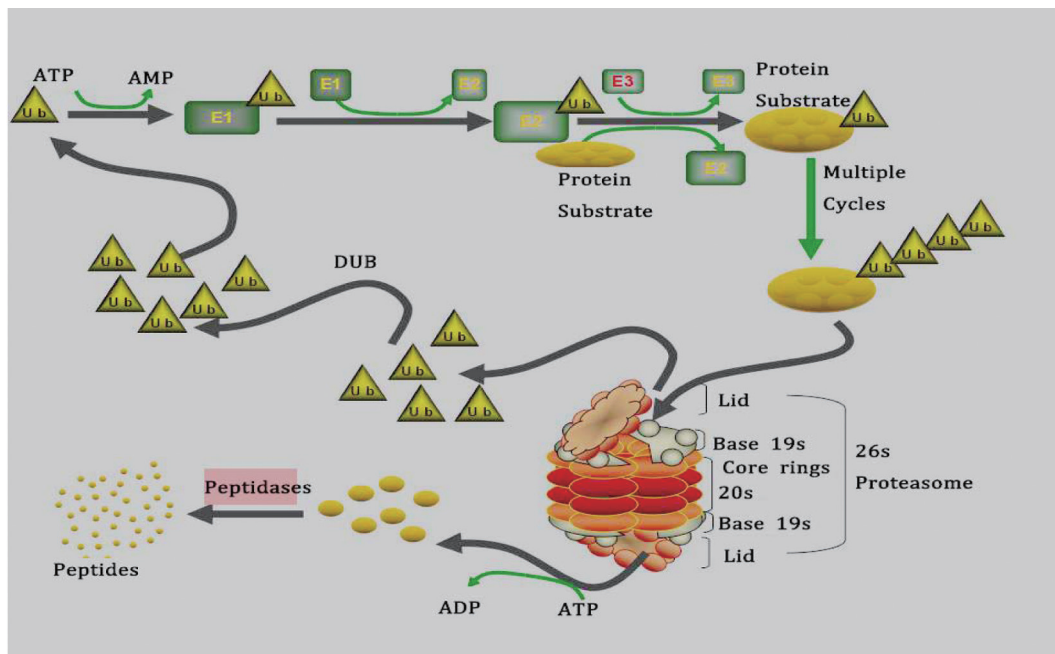
尽管 MHC I类分子递呈的抗原蛋白大多数来自细胞质, 但也有经过其他细胞区室的抗原蛋白参与 MHC I类递呈途径^[15], 如膜的信号序列和分泌蛋白通常被信号肽酶裂解和蛋白酶降解, 在 ER 加工生成 I类结合肽, 而不需要经过细胞质中蛋白酶的水解作用。此外, 核蛋白可以直接通过细胞核中蛋白酶体处理并递呈到 MHC I类分子上。

1.2 抗原蛋白在蛋白酶体中降解

生物体内存在两种蛋白质降解途径, 一种不需要能量, 即溶酶体降解途径; 另一种需要能量, 即泛素蛋白酶体降解途径 (ubiquitin-proteasome degradation pathway, UPP), 见图 2。后者是一种高度特异性、指向性很强且被精密调控的降解途径, 它涉及到细胞周期调节、细胞凋亡和免疫应答等^[16]。泛素 (ubiquitin, Ub) 是一个由 76 个氨基酸组成的小蛋白, 氨基酸序列高度保守, 广泛存在于真核生物界^[17]。蛋白酶体 (proteasome) 大多是蛋白酶复合物, 具有

广泛的蛋白水解酶活性, 多存在于细胞质和细胞核中, 由 2 个侧翼 19S 调节亚基帽状结构和 1 个 20S 催化亚基核心管构成, 结构上看是一个双内部 β 环和双外部 α 环堆积排列组成一个核心空腔的圆柱体^[18]。蛋白酶体在细胞中执行管家的功能, 降解许多损坏或错误折叠的蛋白质^[16]。在 UPP 途径中涉及到 3 个关键酶——泛素激活酶 E1、泛素结合酶 E2 和泛素连接酶 E3。大多数情况下, Ub 首先被 E1 活化, Ub 上 76 位的 Gly 与 E1 上 Cys 残基形成高能硫酸键连接在一起, 然后通过转酯作用转移到 E2 的 Cys。其次, 活化的 Ub 从 E2 转移到底物特异性 E3 的 Cys 残基上, 并将泛素与目标蛋白连接, 使底物发生泛素化, 即多个泛素化分子通过异肽链附在靶蛋白中, 形成分支状多聚泛素链 (DUB), 此链至少有 4 个 Ub 单体, 才能被蛋白酶体 19S 的受体识别, 然后剪切去除 DUB。靶蛋白在蛋白酶体的作用下, 被降解为 3~22 个氨基酸残基的小肽^[19]。蛋白酶体作用产生的大多数肽为 C 端肽类, 所以产生的肽只需要 N 末端修饰^[20]。

MHC I类分子一般递呈内源性的抗原肽。蛋白酶体通常是将抗原蛋白切割为多肽, 但两个已切成肽的片段也能相互连接形成新的多肽从而不能被肿瘤特异性 CTL 识别^[22]。脉冲追踪实验 (pulse-chase experiments) 表明, 大多数 MHC I类分子不能结合



首先, Ub被E1活化, 发生相应的反应后, Ub通过转酯作用转移到E2。其次, 活化的Ub从E2转移到底物特异性E3上, 并将Ub与目的蛋白连接, 使目的蛋白底物发生泛素化, 导致DUB的形成。

图2 泛素蛋白酶体降解途径^[21]

到合适的肽类^[23],并且这些MHC I分子最终通过ER相关蛋白降解系统(ER-associated protein degradation, ERAD)降解。肽的浓度(这与蛋白质合成的速度有关)限制MHC I类抗原递呈的速率,蛋白质的合成可能受到各种刺激,如干扰素(IFN- γ)、电离辐射(ionizing radiation)^[24]和特异性表达microRNAs^[25]等的影响。在这些条件下,有必要选择一个可在较高水平上产生稳定蛋白亚群的条件,以适应MHC I类分子递呈多肽组(peptidome)的需要。通过电离辐射的多肽能改变MHC I类抗原递呈方式及CD8⁺T细胞应答的程度,CD8⁺T细胞应答增强说明电离辐射能增强抗肿瘤反应^[24]。在细胞内用细胞因子IFN- γ 处理,通过增加转录和合成3个新颖的蛋白酶体催化亚基 β_{1i} 、 β_{2i} 和 β_{5i} 以代替蛋白酶体 β 环3个催化亚基 β_1 、 β_2 和 β_5 ,结果改变了蛋白酶体的底物特异性,如通常产生的肽类是含有羧基末端氨基酸,虽能通过MHC I类递呈途径,但它受IFN- γ 的影响,因此MHC I类递呈途径会受到IFN- γ 表达的影响^[26]。

1.3 多肽从细胞质转运到内质网

蛋白酶体分解抗原蛋白产生的免疫原性肽存在于细胞质中,而MHC I类分子的合成在ER中,因此,需要通过特异性运输载体将肽由细胞质转运到ER,在ER中与新合成的MHC I类分子结合。这种通过二聚体蛋白介导的转运体称为抗原加工相关转运体(transporter associated with antigen processing, TAP),TAP蛋白转运途径可以分为TAP非依赖途径和TAP依赖途径^[27]。其中抗原肽以ATP非依赖途径与TAP结合,介导TAP依赖性途径转运抗原肽。TAP异源二聚体具有广泛的特异性,TAP结合肽序列不同,其亲和力也不同。TAP运输多肽最佳长度范围是8~16,并倾向于运输含C末端(在人类)或疏水性(在人类和小鼠)氨基酸的肽到MHC I类分子上^[28]。抗原蛋白被降解形成的抗原多肽不仅需要合适的TAP转运,而且能够与MHC I类分子结合。MHC I类分子的多态性造成不同的MHC I类分子所结合的多肽不同,所以,降解作用就是满足与MHC I类分子结合多肽的需求。有些降解后的多肽可经其N端特异性的信号序列直接进入ER而不需要TAP转运^[29]。

TAP转运抗原肽与TAP相关蛋白密切相关。TAP相关蛋白中有一种名为Tapasin蛋白,它对新合成的空载MHC I类分子具有亲和力。Tapasin促进TAP进入MHC I类分子中等待肽的到来,并对

肽类进行修饰,且促进肽类与MHC I类分子的结合。最近还发现TAPBPR(TAP binding protein related)是与Tapasin有关的蛋白。Tapasin与TAPBPR只有22%同源性,都与MHC I类分子结合,它们与MHC I类的取向是相似的,TAPBPR具有编辑TAP肽的功能。2015年,Hermann等^[30]发现,TAPBPR作为质量控制监测点,严密控制并确保高亲和性肽与MHC I结合。TAPBPR作为一个肽交换的催化剂,改变了MHC I类分子递呈肽的功能,所以TAPBPR是MHC I类特定的分子伴侣。

1.4 内质网中肽-MHC I类复合体的组装

肽转运到ER后与MHC I类分子结合,形成肽-MHC I类复合体。MHC I类分子在ER中由 α 链和 β_2m 组成, α 链在分子伴侣如膜分子伴侣-钙连蛋白(calnexin, Cnx)和管腔分子伴侣-钙网蛋白(calreticulin, Crt)等辅助下折叠形成适当的二聚体。Crt通过凝集素^[6]结合N糖基化MHC I类分子,导致MHC I类分子和Tapasin之间的相互作用更加稳定^[31]。空载MHC I类分子、Tapasin、TAP、Cnx及Crt等称为肽加载复合物(peptide loading complex, PLC),PLC具有识别和运输亲和性较高的肽类与MHC I类分子结合的能力,确保肽高效加载到MHC I类分子上。肽-MHC I类复合体形成后,PLC从复合体中释放并且通过ER质量控制系统在细胞膜上表达,在后续过程中发挥重要作用。2015年,Blees等^[32]提出PLC通过离子开关控制MHC I类与肽的加载^[32],离子开关控制自身抗原和通过MHC I类递呈的肽类,证明TAP转运蛋白膜中的盐键与MHC I类中Tapasin是必不可少的PLC组件,且增强MHC I类分子的递呈效率。Tapasin也可作为肽编辑器,在MHC II类抗原递呈机制中发挥此类作用^[33]。当加载的肽类平均亲和力较低时,Tapasin的存在导致加载的肽类更多样化,更具有亲和性。

复合体形成阶段,多种病毒通过不同途径影响抗原肽进入ER,从而干扰MHC I类分子的组装^[34]。肽通过TAP进入ER中,并通过ER-已存在的氨基肽酶(ERAP)修剪与MHC I类所结合肽的大小,然后结合到相邻MHC I类分子的间隙^[35]。一旦MHC I类分子加载上多肽,将不再对Tapasin具有亲和力,然后肽-MHC I类复合体转运到高尔基复合体(Golgi)进行进一步的加工和修饰,从而使多肽能够递呈到细胞表面。空载的MHC I类分子形成的 α 链- β_2m 二聚体是不稳定的,它不能从ER转运到

Golgi。空载的 MHC I 类分子被转运到细胞质经蛋白酶体降解，产生新的 MHC I 类重链和轻链分子在 ER 与 Golgi 之间循环。未能与 MHC I 类分子结合的肽经 ERAD 途径清除并再一次进入胞浆参与新一轮的 TAP 转运。肽类转运到 ER 中优先与 MHC I 类结合而不是 MHC II 类，原因有两个：首先，新合成的 MHC I 类分子连接到 TAP 细胞腔内方向，它们快速捕获肽，同时通过 TAP 把肽转运到 ER 中^[36]；其次，在 ER 中当肽结合到新合成的 MHC II 类裂缝时，该过程被一种称为不变分子链的蛋白质 (invariant chain, Ii) 阻断^[37]。

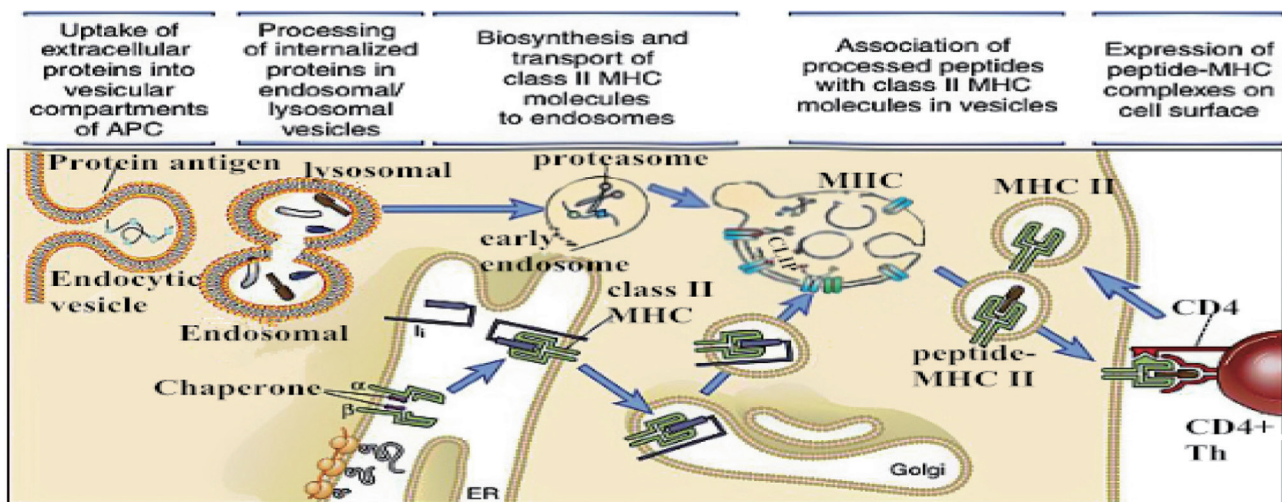
1.5 肽-MHC I类复合体在细胞表面的表达与回收途径

肽-MHC I 类复合体在 ER 上形成，然后转运到 Golgi，通过囊泡胞吐作用转运到细胞表面进行表达，被特异性 CD8⁺T 细胞识别，通过结合 MHC I 类分子的 CD8⁺ 共受体非多态区域发挥细胞免疫作用^[38]。MHC I 类分子将内源性抗原肽递呈给 NK 细胞或 CD8⁺T 细胞后，细胞通过内吞作用 (endocytosis) 介导 MHC I 类的回收^[39]。根据不同的细胞类型，大多数质膜之间通过内吞作用再回收，通过网格蛋白介导膜内化的内吞作用是最有特点的内吞机制^[40]。结合多肽和空载 MHC I 类分子都可通过网格蛋白依赖性或非依赖途径摄取回收^[41]，这个途径普遍存在，已在 HeLa 细胞中进行了广泛的研究，并需要游离胆固醇及活化的 ADP 核糖基化因子 6 (Arf6)

GTP 结合蛋白^[42]。2012 年，Zagorac 等^[43] 研究的内吞作用完全符合 MHC I 和空载 MHC I 特异性回收途径，但没有分析其 Arf6 共定位。空载 MHC I 类迅速内在化并指向溶酶体，而 MHC I 类分子循环回到质膜不仅需要有一个管状室，也需要一些因子，如 Arf6、Rab22 等^[44]。

2 MHC II类分子抗原加工递呈机制的途径及功能

MHC I 类和 MHC II 类分子三维结构相似，均具有多态性和递呈多肽的功能^[45]。MHC II 类分子与大多数自身免疫性疾病紧密相关，因此，了解 MHC II 类分子递呈机理有助于控制自身免疫性疾病^[45-46]。MHC II 类分子递呈外源性抗原，如致病菌等颗粒性抗原，主要通过抗原递呈细胞 (antigen-presenting cells, APCs) 如 DCs、巨噬细胞和 B 细胞等吞噬并消化为免疫性多肽。多肽与 MHC II 类分子结合为复合物并递呈于细胞表面，与 CD4⁺ 辅助性 T 淋巴细胞 (Th) 表面受体 (T cell receptor, TCR) 结合为三分子复合物，激活 CD4⁺ Th，使 Th 增殖并表达相应的淋巴因子，启动体液免疫，引发一系列的免疫应答^[47-48]，保护正常细胞免受感染和创伤。在抗原递呈过程中，Th 细胞在识别抗原的同时也要识别与抗原结合的 MHC II 类分子，故称为 MHC II 类限制性的抗原递呈机制^[49]。基本过程如图 3 所示。



细胞外抗原加工的各个阶段在文中描述。MHC II 类分子与不变链 Ii 或 CLIP 结合，运输到囊泡，在那里 Ii 被降解，但剩余的 CLIP 通过 DM 剪接。囊泡中产生的抗原肽随后与 MHC II 类分子结合。HLA-DO：其他 II 类相关蛋白，可以调节对 DM 催化去除 CLIP。CLIP：II 类相关不变肽链；Ii：不变链；MIIC：MHC II 类隔室

图3 MHC II类限制性的抗原递呈机制^[49]

2.1 囊泡蛋白的产生

由 MHC II 类分子递呈的免疫性多肽, 大多数是从细胞外环境捕获, 并通过特异性 APCs 内在化 (internalization) 到核内体 (endosome) 产生的外源性抗原。Burgdorf 和 Kurts^[50] 研究发现, 外源性抗原摄取可以通过几个途径发生, 每个免疫细胞类型都有自己特有的途径, 如 B 细胞很少有吞噬细胞, 但可以通过 B 细胞受体 (B cell receptor, BCR) 介导 MHC II 类分子抗原递呈。不同的 APCs 与蛋白抗原结合具有不同的效率和特异性。树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 和巨噬细胞 (macrophages) 通过识别许多微生物的共享结构在受体表面表达, APCs 可以结合受体并使微生物有效内在化^[51]。APCs 特异性受体是 B 细胞膜表面免疫球蛋白 (B cell surface membrane immunoglobulin), 因为亲和性高, 即使细胞外液浓度较低也能有效地介导蛋白质内在化^[52]。为提高 MHC II 类抗原递呈效率和免疫反应的效果, 抗原获取目标免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig)、游离胆固醇 (free cholesterol, Fc) 或凝集素受体 (lectin receptor) 似乎是一个可行的策略。内在化后, 蛋白质抗原定位于核内体。颗粒微生物内化为吞噬体 (phagosome), 能与溶酶体融合产生囊泡, 称为吞噬溶酶体和次级溶酶体。一些微生物, 如 *Mycobacterium* 和 *Leishmania*^[53], 它们可以在吞噬体内复制生存, 为抗原加工提供了一个持久稳固的抗原来源。

除胞外蛋白, 胞内蛋白也可以进入 MHC II 类分子途径。胞内蛋白进入溶酶体进行酶消化的过程称为自我吞噬 (自噬, autophagy), 主要是一种降解细胞蛋白的机制, 它也参与细胞内微生物的损坏、封闭囊泡的形成和溶酶体的转运。在这条途径, 被困在膜结合囊泡中的胞浆蛋白被称为自噬小体 (autophagosome), 这个过程需要自噬相关基因 (autophagy related gene, Atg) 参与^[54]。Nedjic 等^[55] 研究发现, 有含大量自噬小体的皮质胸腺上皮细胞也可以生成许多不同肽类, 从而形成自身耐受的 T 细胞残基, 在 *Atg5*^{-/-} 小鼠胸腺研究中发现可抑制胞外微生物抗原的加工和递呈。特别是当 *Atg8/LC3* 耦合时, 蛋白质针对自噬小体更有选择性, 从而增强了 MHC II 类分子的递呈效率^[56]。因此, 通过自噬由 T 细胞识别生物肽是可以预测的^[57]。一些与 II 类分子相关的肽来源于膜蛋白, 即使是病毒, 也可以在受感染细胞中复制、降解产生多肽进入 MHC II 类分子抗原递呈途径, 这可能是一个病毒抗原激活特异性 CD4⁺ Th 的机制。

2.2 内在化蛋白在MIIC中的加工

免疫电镜显微术和亚细胞分离结构研究表明, APCs 具有一种特殊的晚期胞内体隔室, 称为 MHC II 隔室 (MIIC)^[58], 是抗原肽加工并与 MHC II 类分子结合的重要场所。MIIC 呈多泡状或多层结构, 富含肽、MHC II 类组装所需的组件、内在化蛋白降解的酶类和参与肽加载到 MHC II 类分子的 Ii。外源性抗原被 APCs 摄取进入 MIIC, 被降解加工为抗原肽, 转运到 II 类结合槽。2010 年, Rausch 等^[59] 发现溶酶体蛋白氧化二硫键 (GILT) 对一系列外源性抗原递呈是必不可少的, GILT 的活性可以明显增强黑色素瘤抗原的递呈, 生成的肽能够结合到 II 类分子结合槽。在 MIIC 中, 抗原蛋白的降解是由蛋白酶体介导, 且具有最适酸性 pH 值条件, MIIC 中蛋白酶体最丰富的是组织蛋白酶, 它具有广泛的底物特异性, 且有助于 MHC II 类途径中肽的生成, 通过酶修剪抗原肽最终与 MHC II 类分子结合槽结合。

2.3 MHC II类分子的组装和转运

与 MHC I 类分子一样, MHC II 类分子在 ER 中由 α 和 β 链组装形成, 但 MHC I 类分子需要加载肽才能离开 ER, 而 MHC II 类分子与 Ii 有关。新生的 MHC II 类二聚体结构不稳定, 它们的折叠和组装需要 ER 中分子伴侣, 如 Cnx 的辅助。在 ER 中, MHC II 类二聚体结构结合 Ii, 促进 MHC II 类分子折叠和组装, 防止空载的 II 类分子降解以及肽过早与 II 类分子结合, 指导稳定的 MHC II 类分子从 Golgi 向 MIIC 中定向运输^[60]。研究表明, 在小鼠中缺乏 Ii 时, 主要表现为 MHC I 类递呈内源性抗原, 而 MHC II 类分子几乎没有一个稳定的肽结合槽。Ii 的胞质尾区包含双亮氨酸基础序列, 通过衔接蛋白 2 (AP2) 或 AP3 复合物识别^[54], 该序列必须跨 Golgi 网络 (TGN) 和质膜 (PM) 对 MIIC 排序, 由此产生的 Ii-MHC II 类复合物被转运到 MIIC, 在 MIIC 中的蛋白酶体不仅降解抗原, 也降解 Ii。近期的研究已证实, 组织蛋白酶 L 在 Ii 降解中发挥了重要作用。总之, Ii 在 MHC II 类分子的各个步骤中必不可少, 它可以采取不同的路线使 Ii-MHC II 类复合物到达 MIIC, 然后 Ii 降解使 MHC II 类分子结合最佳肽类。

2.4 MIIC中肽-MHC II类复合体的组装

在 MIIC 中, 多肽类抗原加载到 MHC II 类分子抗原肽结合槽组装成肽-MHC II 类复合体。Ii 的堆积接近 II 类抗原结合槽, 在形成复合体之前它必

须降解。在相同的蛋白水解酶作用下, Ii 和抗原蛋白均被降解, 如组织蛋白酶同时作用于抗原蛋白和 Ii, 使 Ii 降解只剩下 24 个氨基酸残基, 叫做 II 类-相关的不变肽链 (class II associated invariant chain peptide, CLIP), 它位于肽结合槽, 与其他肽以相同的方式结合于 MHC II 类分子。接下来, CLIP 必须被删除, MHC II 分子结合槽才能与胞外抗原肽结合, 这种删除是通过一个叫做 HLA-DM (或小鼠 H2-DM) 的分子作用来完成的^[61], 它类似于 MHC II 类分子结构, 在 MIIC 中与 MHC II 类分子共定位。与 MHC II 类分子不同, HLA-DM 分子无多态性, 它们在细胞表面不表达。HLA-DM 作为肽转换器, 便于清除 CLIP 和增加其他肽与 MHC II 类分子的结合。在 B 细胞中, HLA-DM 的变性剂 (modifier) 称为 HLADO (在小鼠 H2O), 在 MIIC 中由酸刺激发生肽的交换反应, 在酸性过强的 MIIC 中, HLA-DM 相关的蛋白限制 HLA-DM 活力, 影响肽与 MHC II 类分子的结合^[62]。在酸性过强的核内体中, DO 偏离 DM 延迟 II 类分子加载肽, DO 尽可能形成整体 MHC II 自肽残基, 提高细胞耐受性^[63]。

与 CLIP 相比, 肽与 MHC II 类分子结合的亲合力较高, 因为 HLA-DM 介导交换机制导致多肽取代 CLIP。MHC II 类抗原肽结合槽是开放的, 可结合大多数肽类, 通过蛋白水解酶修剪到合适长度供 T 细胞识别。MHC II 类分子结合的多肽最佳长度一般为 10~30 个氨基酸残基, 一些小分子可抑制肽与 MHC II 类分子结合, 这为治疗自身免疫性疾病 (抑制剂) 或疫苗开发提供思路^[64], 如胺类中的氯喹能够中和 MIIC 抑制肽加载功能, 蛋白酶抑制剂影响 Ii 或抗原的降解。

2.5 肽-MHC II 类复合体在细胞表面的表达

稳定的肽-MHC II 类复合体转运到 APCs 表面表达并由 CD4⁺ Th 细胞识别。CD4⁺ T 细胞受体在结合 II 类分子非多肽区域时具有重要的作用, 如在传染性疾病中, 人类循环组织驻留的大部分 T 细胞识别非肽类抗原, 这为免疫疗法和疫苗接种提供新的机遇。肽-MHC II 类复合体通过 MIIC 和溶酶体转运到细胞表面, 此过程中其他分子只参与抗原递呈, 如 DM, 留在囊泡且在细胞膜不表达, 这种选择性的转运机制是未知的。

MHC II 类分子介导肽递呈到 T 细胞上的信号是由内到外, 但 MHC II 分子也作为信号受体, 介导由外到内的信号^[65]。这种介导作用致使 APCs 活化, 引起细胞凋亡, 使免疫应答终止。黑色素瘤细

胞中 MHC II 类分子通过淋巴细胞活化基因 3 (LAG3) 衔接表达, 通过淋巴细胞的浸润性激活生存途径, 防止细胞死亡^[66]。肿瘤细胞也可以通过间接损害肿瘤抗原的递呈介导细胞浸润性逃避 CD4⁺ T 细胞的排斥作用。此外, 引发肿瘤反应的 CD4⁺ T 细胞可提高 CD8⁺ T 细胞在 T 细胞治疗中的效率, CD8⁺ T 细胞缺失时, CD4⁺ T 细胞通过迁移而抑制肿瘤, 这些都导致 CD4⁺ T 细胞在人类免疫疗法中发挥重要作用^[54]。

3 交叉递呈

3.1 交叉递呈的研究进展

MHC 分子与经 APCs 加工处理后的抗原肽结合形成复合体激活相应的 CTLs。研究者们经过大量对 APCs 的深入研究, 提出了交叉递呈的概念。MHC I 类分子通常情况下递呈内源性抗原肽并激活 CD8⁺ T 细胞, 使免疫系统检测到自身修饰或外来变异及感染抗原的细胞。但在某种情况下, MHC I 类分子也可以递呈外源性的抗原。譬如, 未激活的 (naive) CD8⁺ T 细胞不能直接消除变异或感染的细胞。如果分化为效应 CTLs, naive CD8⁺ T 细胞首先需要通过特定的 APCs 激活。当 APCs 未被直接感染时, 它可以直接递呈外源性的抗原到 MHC I 类分子, 从而激活 CTLs 发挥细胞免疫作用, 这种机制称为交叉递呈^[6]。除此之外, 胞浆蛋白 (内源性) 通过自噬或其他途径降解后可以参与 MHC II 类分子递呈途径^[7]。交叉递呈参与 CD8⁺ T 细胞的抗感染、抗肿瘤与维持免疫耐受机制^[67]。

研究表明, 一些细胞相关抗原参与交叉递呈, 如自身抗原、病毒抗原或肿瘤细胞抗原等。此外, 还有一些典型的细菌抗原, 如由细胞内致病菌 *Listeria*、*Plasmodium* 或 *Leishmania* 合成的蛋白质, 可参与交叉递呈^[68]。迄今为止, 在稳态和炎症条件下, DCs 是最有效的交叉递呈细胞, 且广泛存在于人类和小鼠中。研究表明, DCs 亚群是一个非常异构的细胞群体, 一定程度上存在特异性, 即个体发育不同, 常规的 DCs (conventional DCs) 不同。2014 年, Guilliams 等^[69] 提出新的命名 “monocyte-derived cells”, 认为它是来源于炎症条件下具有高度异构的单核细胞亚群。虽然 monocyte-derived cells 能够捕获体内的抗原, 并通过体内 MHC I 类分子交叉递呈, 但对其如何启动机体的 CD8⁺ T 细胞免疫应答仍有待研究。现在也建立了一些优于其他交叉递呈内在化抗原的 DCs 亚群, 但所涉及的分子机制仍不完全

清楚。Segura 和 Villadangos^[70] 提出“模块化”的交叉递呈, 即加工、加载和 MHC I 类转运可以在一个或多个地点发生。多个模块化组合为整个交叉递呈通路, 为更好地理解交叉递呈奠定了基础。除了 DCs 外, 也有几个细胞类型能够在特定情况下进行交叉递呈, 如肝窦内皮细胞 (LSECs)、 $\gamma\delta^+$ T 细胞、B 细胞等, 它们的交叉递呈途径可能与 CD8⁺ T 细胞引发特定的肿瘤抗原或缺乏带血管的移植器官有关。这些特殊细胞交叉递呈途径通常在炎症条件下引发, 除了 LSECs 介导的交叉递呈以外, 在稳态条件下都可导致 CD8⁺ T 细胞耐受性。即使存在炎症的诱因, 如 TLR4 配体, 通过 LSECs 抗原交叉递呈仍有耐受性, 这表明 LSECs 应该不同于 DCs 抗原加工和交叉递呈^[67]。

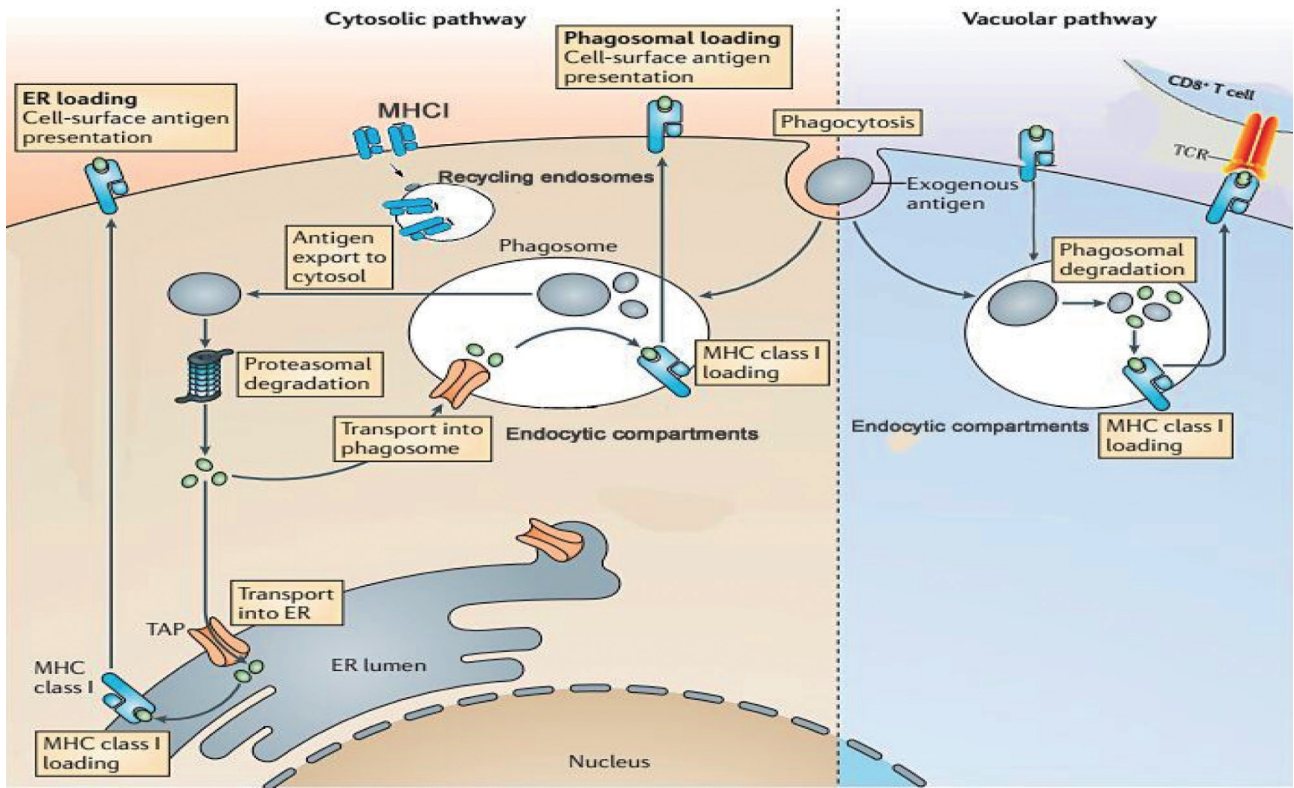
3.2 交叉递呈的机制途径

交叉递呈机制根据抗原加工位置不同分为两个途径: 一是 TAP 和蛋白酶体依赖性途径, 也称“胞浆”途径; 另一个是 TAP 和蛋白酶体非依赖性途径, 也称“液泡”途径。在液泡途径中, MHC I 类加载

发生在内吞囊泡, 此途径递呈效率低于胞浆途径^[71]。在胞浆途径中, 内在化抗原从内吞作用隔室内腔转运到胞浆中进行蛋白酶体降解, 通过 TAP 运输降解产物进入 ER 被加载到 MHC I 类分子 (胞浆通路 ER 加载) 或者重新转运到吞噬体中加载到 I 类分子上 (胞浆通路吞噬细胞加载), 在吞噬体中抗原肽使 ER-Golgi 中间体隔室 (ERGIC) 与突触融合蛋白 4 相互作用, 介导 ER 组件招募亚基, 包括 TAP 加工、吞噬体形成等。在液泡途径中, 内在化抗原经内吞作用在内吞隔室中被蛋白酶体降解后, 直接加载到核内体或吞噬体中 MHC I 类分子上, 此途径可能由特异性内在化途径直接决定^[72]。基本过程如图 4 所示。

3.2.1 交叉递呈中抗原加工降解调节

内吞后的抗原被蛋白水解酶 (在一定 pH 环境下) 降解。巨噬细胞通过吞噬作用使抗原快速酸化, 导致内源性抗原损坏。相比之下, 小鼠脊髓的 DCs (BMDCs) 能通过 ROS 反应产生碱性物质维持碱性 pH 环境, 限制抗原降解并使更多的抗原参与



吞噬作用后, 外源性抗原可以进入细胞质, 在这里由蛋白酶体加工。在ER中加工后的抗原被加载到MHC I类分子上(胞液途径中ER加载)或重新进入吞噬体中与MHC I类分子结合(液泡途径吞噬体加载)。另外, 外源性抗原可在吞噬体中降解为肽类, 然后加载到MHC I类分子上(液泡途径)。

图4 DCs细胞内的交叉递呈途径^[72]

胞浆递呈途径^[54]。当 BMDCs 缺失核苷酸交换因子 Vav 时, ROS 受损并减少交叉递呈的颗粒抗原产生, 原因是 BMDCs 被吞噬细胞氧化。囊泡相关膜蛋白 8 (vesicle-associated membrane protein 8, VAMP8) 分子是招募 NADPH 氧化酶 2 (NOX2) 到吞噬体必不可少的组件, 当 BMDCs 缺乏 VAMP8 时, 寄生虫来源的抗原引起的交叉递呈是无效率的。另外, 可溶性抗原在非降解隔室中可以被降解, 这种抗原可延长免疫复合物的交叉递呈^[73]。

胞浆途径对蛋白酶体抑制剂很敏感, 胞浆中内在化蛋白经蛋白酶体降解产生的肽类, 需要经过 ERAP 修饰进入 MHC I 类抗原递呈途径。研究表明 ERAP1 和核内体胰岛素应答氨基肽酶 (IRAP)^[74] 参与交叉递呈。胞浆途径是指抗原加工发生在胞浆中的途径, 但液泡途径是指抗蛋白酶体抑制剂与 TAP 非依赖性途径, 对溶酶体蛋白水解酶抑制剂很敏感 (尤其是组织蛋白酶 S 抑制剂), 在这个通路中 MIIC 抗原加工和结合 I 类分子同时发生。另外, 胞浆途径的存在可能与 TAP 无关, 可能与其他肽转运蛋白有关^[71]。

3.2.2 抗原转运到胞浆

抗原转运到胞浆具有相对低分子质量优先转运的选择性。根据荧光共振能量转移的裂解 (FRET)—由外源酶敏感的胞浆探针经过吞噬细胞转移到细胞质可以确定抗原输出的路径, 此方法可以确定抗原是否输出到胞浆^[75]。抗原通过内在化蛋白分子机制能够从内吞作用隔室的内腔中转运到胞浆^[76]。在缺乏 sec22b 的 DC 样细胞系中, 一种 ER 滞留诱导蛋白将抑制 ER 蛋白转运到吞噬体, 并抑制 β -内酰胺酶转移到胞浆^[75]。DCs 存在特殊的内吞途径, 使 DCs 限制抗原降解并招募 ER 元件转运外源蛋白到 I 类抗原递呈途径。

3.2.3 加载到 MHC I 类分子

目前交叉递呈加载肽类的位置有两种可能: 液泡途径 ER 加载和内吞作用隔室抗原加载^[77]。在 BMDCs 酵母来源的抗原蛋白酶体依赖, 而 TAP-非依赖交叉递呈途径中, 具有 BMDCs 的 TAP 缺陷型小鼠体内存在高剂量的可溶性抗原^[77], 表明有其他机制允许肽类从胞浆转运到吞噬体内腔并加载到 MHC I 类分子上。通过 TAP 转运肽类时它的氨基酸序列比 MHC I 类所需的最佳肽段长, 所以交叉递呈中肽类需要 ERAP 的修饰, 但修饰涉及的细胞相关抗原中不包括通过 BMDCs 的可溶性抗原和一些通过脾脏 DCs 的特异性抗原, 表明肽的修饰发生

在 ER 上。研究发现, 在骨髓 Rab11a 和脾脏 DCs 核内体中含有循环累积的 I 类分子, TLR 参与 SNARE 蛋白 SNAP23 磷酸化被招募到吞噬小体。此外, Rab11a 缺乏的 SMDCs 中胞内驻留的 I 类明显降低, 但 I 类分子表面正常表达^[78]。MHC I 类转运到内质网两条路线可以共存于 DCs, 新形成的 MHC I 类分子转运到 ER 中并可从表面回收。

3.2.4 DC 激活和交叉途径的调节

成熟的 DCs 是已经发生 CD8⁺T 细胞分化, 成为效应 CTL, 然后通过交叉递呈途径识别抗原; 而未成熟 DCs 易于促进交叉递呈抗原耐受性。TLR 的衔接促进吞噬体成熟、溶酶体酸化和 BMDCs 吞噬抗原的降解, 结果可能改变吞噬抗原的交叉递呈。当其他抗原通过成熟的 DCs 交叉递呈时, TLR 与 TLR 配体结合随后输出可溶性抗原和 TLR4 配体, 通过 TAP 招募到核内体, TLR4 信号增加可增强 BMDCs 中交叉递呈^[79]。在 BMDCs 中, LPS 含凋亡细胞和颗粒细胞, TLR 信号缺乏可降低骨髓和脾脏 DCs 吞噬细菌衍生的交叉递呈。

3.3 交叉递呈在病理学的研究

交叉递呈在病毒感染期间取决于病毒类型、趋向性和感染路线。病毒抗原理论上存在两种能通过 DCs 递呈到 MHC I 类分子上的抗原: 一种通过直接递呈到感染 DCs; 另一种是通过交叉递呈捕获来自周边感染细胞的病毒抗原。许多病毒感染 DCs 可能不会导致体内效应性 CD8⁺T 细胞启动。研究表明, 病毒感染期间小鼠体内的交叉递呈起到关键作用, 当缺乏 Batf3 的小鼠感染仙台病毒、流感病毒等时, CD8⁺T 细胞应答受损, 表明体内交叉递呈方式启动 CD8⁺T 细胞免疫起重要作用^[54]。体内交叉递呈是激活抗病毒 CD8⁺T 细胞的通路, 在 MHC I 类递呈 HSV-1 感染细胞的过程中, GILT 是可有可无的, 但在体内是必不可少的, 对诱导 CD8⁺T 细胞应答以及对病毒蛋白抗原二硫键的正确形成均具有重要意义, 揭示了病毒抗原在交叉递呈中的重要性, 获得病毒抗原的途径可能是摄取被感染的凋亡细胞或坏死细胞碎片^[80-81]。

4 结论与展望

MHC I 类和 MHC II 类抗原递呈途径在控制免疫应答及参与移植、感染、疫苗和自身免疫中均有重要作用, 因此, 其生物学功能已经被广泛地研究。虽然抗原递呈途径中一些细节已经被理解, 但实际上仍然只是一个大致的草图。为了更深入地理解这

些机制,需要用现代技术研究机制中的过程,如用流式细胞仪或显微镜数据集成 siRNA 数据,并用 PCR 转录信息等识别各种新途径。此外,我们了解的 MHC I 类和 MHC II 类抗原递呈,事实上已经翻译成疾病的治疗方案。新的研究思路和成果补充了现有理解的不足。随着研究方法的不断改进和各领域科学家的积极合作,抗原递呈机制的明确已不再遥不可及。

在许多生理和病理中,交叉递呈现在被认为是 CD8⁺ T 细胞应答的主要途径。然而,这一结论依然需要直接证明。交叉递呈途径的特定限制因素不会参与内源性 MHC I 类和外源性 MHC II 类。因此,仍然无法准确地评估交叉递呈在特定的免疫反应或病理的贡献。交叉递呈中的内源性分子机制研究正在逐渐展开,在未来几年可能会出现交叉递呈相关性通路治疗或干预环境感染、自身免疫和癌症等研究成果。

[参 考 文 献]

- [1] González ER. Immunogenetics recognized by Nobel Prize. *JAMA*, 1980, 244: 2396-400
- [2] Doherty PC, Zinkernagel RM. Enhanced immunological surveillance in mice heterozygous at the H-2 gene complex. *Nature*, 1975, 256: 50-2
- [3] Singhal A, Mori L, De LG. T cell recognition of non-peptidic antigens in infectious diseases. *Indian J Med Res*, 2013, 138: 620-31
- [4] Mcdevitt HO. Discovering the role of the major histocompatibility complex in the immune response. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18: 1-17
- [5] Hansen SG, Picker LJ. Cytomegalovirus vectors violate CD8⁺ T cell epitope recognition paradigms. *Science*, 2013, 340:1237874
- [6] Yin W, Gorvel L, Zurawski S, et al. Functional specialty of CD40 and dendritic cell surface lectins for exogenous antigen presentation to CD8⁺ and CD4⁺ T cells. *EBioMedicine*, 2016, 5: 46-58
- [7] Crotzer VL, Blum JS. Autophagy and adaptive immunity. *Immunology*, 2010, 131: 9-17
- [8] Bevan MJ. Cross-priming for a secondary cytotoxic response to minor H antigens with H-2 congenic cells which do not cross-react in the cytotoxic assay. *J Immunol*, 1976, 143: 1283-8
- [9] Horst D, Verweij MC, Davison AJ, et al. Viral evasion of T cell immunity: ancient mechanisms offering new applications. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23: 96-103
- [10] 张倩, 杨琨, 黄玉凤, 等. CD8 α 在雄性牦牛主要免疫器官的分布. *畜牧兽医学报*, 2015, 46: 1851-7
- [11] Neefjes J, Jongsma ML, Paul P, et al. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11: 823-36
- [12] Koopmann JO, Albring J, Hüter E, et al. Export of antigenic peptides from the endoplasmic reticulum intersects with retrograde protein translocation through the Sec61p channel. *Immunity*, 2000, 13: 117-27
- [13] Kerkar SP, Restifo NP. Cellular constituents of immune escape within the tumor microenvironment. *Cancer Res*, 2012, 72: 3125-30
- [14] Mahmoud AB, Tu MM, Wight A, et al. Influenza virus targets class I MHC-educated NK cells for immunoevasion. *PLoS Pathog*, 2016, 12: e1005446
- [15] Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of antigen processing. *Immunology*, 2013, 3: 3-9
- [16] Basler M, Kirk CJ, Groettrup M. The immunoproteasome in antigen processing and other immunological functions. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25: 74-80
- [17] Clague MJ, Urbé S. Ubiquitin: same molecule, different degradation pathways. *Cell*, 2010, 143: 682-5
- [18] Sauer RT, Baker TA. AAA⁺ proteases: ATP-fueled machines of protein destruction. *Biochemistry*, 2011, 80: 587-612
- [19] Sijts EJ, Kloetzel PM. The role of the proteasome in the generation of MHC class I ligands and immune responses. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68: 1491-502
- [20] Cascio P, Hilton C, Kisselev AF, et al. 26S proteasomes and immunoproteasomes produce mainly N-extended versions of an antigenic peptide. *EMBO J*, 2001, 20: 2357-66
- [21] Tu Y, Chen C, Pan J, et al. The ubiquitin proteasome pathway (UPP) in the regulation of cell cycle control and DNA damage repair and its implication in tumorigenesis. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 5: 726-38
- [22] Dalet A, Robbins PF, Stroobant V, et al. An antigenic peptide produced by reverse splicing and double asparagine deamidation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 323-31
- [23] Hulpke S, Tampé R. The MHC I loading complex: a multitasking machinery in adaptive immunity. *Trends Biochem Sci*, 2013, 38: 412-20
- [24] Reits EA, Hodge JW, Herberts CA, et al. Radiation modulates the peptide repertoire, enhances MHC class I expression, and induces successful antitumor immunotherapy. *J Exp Med*, 2006, 203: 1259-71
- [25] Kulkarni S, Savan R, Qi Y, et al. Differential microRNA regulation of HLA-C expression and its association with HIV control. *Glia*, 2011, 60: 1130-44
- [26] Apcher S, Daskalogianni C, Lejeune F, et al. Major source of antigenic peptides for the MHC class I pathway is produced during the pioneer round of mRNA translation. *Proc Acad Natl Sci USA*, 2011, 108: 11572-7
- [27] 杨杰, 董宋鹏, 李子彬, 等. 抗原处理相关转运体蛋白的研究进展. *生命科学*, 2014, 10: 1018-25
- [28] Parcej D, Tampé R. ABC proteins in antigen translocation and viral inhibition. *Nat Chem Biol*, 2010, 6: 572-80
- [29] Hulpke S, Tomioka M, Kremmer E, et al. Direct evidence that the N-terminal extensions of the TAP complex act as autonomous interaction scaffolds for the assembly of the MHC I peptide-loading complex. *Cell Mol Life Sci*, 2012,

- 69: 3317-27
- [30] Hermann C, Hateren AV, Trautwein N, et al. TAPBPR alters MHC class I peptide presentation by functioning as a peptide exchange catalyst. *Elife Sci*, 2015, 4: 4220-48
- [31] Wearsch PA, Peaper DR, Cresswell P. Essential glycan-dependent interactions optimize MHC class I peptide loading. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 4950-5
- [32] Bles A, Reichel K, Trowitzsch S, et al. Assembly of the MHC I peptide-loading complex determined by a conserved ionic lock-switch. *Sci Rep*, 2015, 5: 17341
- [33] Weimershaus M, Evnouchidou I, Saveanu L, et al. Peptidases trimming MHC class I ligands. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25: 90-6
- [34] Hulpke S, Baldauf C, Tampé R. Molecular architecture of the MHC I peptide-loading complex: one tapasin molecule is essential and sufficient for antigen processing. *FASEB J*, 2012, 26: 5071-80
- [35] Simone LC, Georgesen CJ, Simone PD, et al. Productive association between MHC class I and tapasin requires the tapasin transmembrane/cytosolic region and the tapasin C-terminal Ig-like domain. *Mol Immunol*, 2011, 49: 628-39
- [36] Baldauf C, Schrodtt S, Herget M, et al. Single residue within the antigen translocation complex TAP controls the epitope repertoire by stabilizing a receptive conformation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 9135-40
- [37] Fleischmann G, Fiset O, Thomas C, et al. Mechanistic basis for epitope proofreading in the peptide-loading complex. *J Immunol*, 2015, 195: 4503-13
- [38] Hinz A, Jedamzick J, Herbring V, et al. Assembly and function of the major histocompatibility complex (MHC) I peptide-loading complex are conserved across higher vertebrates. *J Biol Chem*, 2014, 289: 33109-17
- [39] Adiko AC, Babbod J, Gutiérrezmartínez E, et al. Intracellular transport routes for MHC I and their relevance for antigen cross-presentation. *Front Immunol*, 2015, 6: 335
- [40] Traub LM, Bonifacino JS. Cargo recognition in clathrin-mediated endocytosis. *CSH Perspect Biol*, 2013, 5: a016790
- [41] Mayor S, Parton RG, Donaldson JG. Clathrin-independent pathways of endocytosis. *CSH Perspect Biol*, 2014, 6: 1-20
- [42] Jovanovic OA, Brown FD, Donaldson JG. An effector domain mutant of Arf6 implicates phospholipase D in endosomal membrane recycling. *Mol Biol Cell*, 2006, 17: 327-35
- [43] Zagorac GB, Mahmutefendic H, Tomas MI, et al. Early endosomal rerouting of major histocompatibility class I conformers. *J Cell Physiol*, 2012, 227: 2953-64
- [44] Donaldson JG, Williams DB. Intracellular assembly and trafficking of MHC class I molecules. *Traffic*, 2009, 10: 1745-52
- [45] Tsai S, Santamaria P. MHC class II polymorphisms, autoreactive T-cells, and autoreactive. *Front Immunol*, 2013, 4: 321
- [46] Koning F, Thomas R, Rossjohn J, et al. Coeliac disease and rheumatoid arthritis: similar mechanisms, different antigens. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11: 450-61
- [47] Goldberg AC, Rizzo LV. MHC structure and function-antigen presentation. Part 1. *Einstein*, 2015, 13: 153-6
- [48] Van HT, Paul P, Jongsma ML, et al. Routes to manipulate MHC class II antigen presentation. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23: 88-95
- [49] 张倩, 杨琨, 黄玉凤, 等. CD4分子在牦牛主要淋巴器官的表达. *农业生物技术学报*, 2015, 23: 1254-60
- [50] Burgdorf S, Kurts C. Endocytosis mechanisms and the cell biology of antigen presentation. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20: 89-95
- [51] Furuta K, Walseng E, Roche PA. Internalizing MHC class II-peptide complexes are ubiquitinated in early endosomes and targeted for lysosomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 20188-93
- [52] Barroso M, Tucker H, Drake L, et al. Antigen-B cell receptor complexes associate with intracellular MHC class II molecules. *J Biol Chem*, 2015, 290: 27101-12
- [53] Amit A, Dikhit MR, Mahantesh V, et al. Immunomodulation mediated through *Leishmania donovani* protein disulfide isomerase by eliciting CD8⁺ T-cell in cured visceral leishmaniasis subjects and identification of its possible HLA class-I restricted T-cell epitopes. *J Biomol Struct Dyn*, 2016, 12: 1-35
- [54] Imai K, Hao F, Fujita N, et al. Atg9A trafficking through the recycling endosomes is required for autophagosome formation. *J Cell Sci*, 2016, 129: 3781-91
- [55] Nedjic J, Aichinger M, Emmerich J, et al. Autophagy in thymic epithelium shapes the T cell repertoire and is essential for tolerance. *Nature*, 2008, 455: 396-400
- [56] Lee HK, Mattei LM, Steinberg BE, et al. *In vivo* requirement for Atg5 in antigen presentation by dendritic cells. *Immunity*, 2010, 32: 227-39
- [57] Rossjohn J, Gras S, Miles JJ, et al. T cell antigen receptor recognition of antigen-presenting molecules. *Immunology*, 2015, 33: 169-200
- [58] Zwart W, Griekspoor A, Kuijl C, et al. Spatial separation of HLA-DM/HLA-DR interactions within MHC and phagosome-induced immune escape. *Immunity*, 2005, 22: 221-33
- [59] Rausch MP, Irvine KR, Antony PA, et al. GILT accelerates autoimmunity to the melanoma antigen tyrosinase-related protein 1. *J Immunol*, 2010, 185: 2828-35
- [60] Gupta SN, Kloster MM, Rodionov DG, et al. Re-routing of the invariant chain to the direct sorting pathway by introduction of an AP3-binding motif from LIMP II. *Eur J Cell Biol*, 2006, 85: 457-67
- [61] Hartman IZ, Kim A, Cotter RJ, et al. A reductionist cell-free major histocompatibility complex class II antigen processing system identifies immunodominant epitopes. *Nat Med*, 2010, 16: 1333-40
- [62] Clement CC, Becerra A, Yin L, et al. The dendritic cell major histocompatibility complex II (MHC II) peptidome derives from a variety of processing pathways and includes peptides with a broad spectrum of HLA-DM sensitivity. *J Biol Chem*, 2016, 291: 5576-95
- [63] Draghi NA, Denzin LK. H2-O, a MHC class II-like

- protein, sets a threshold for B-cell entry into germinal centers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 16607-12
- [64] Call MJ, Xing X, Cuny GD, et al. *In vivo* enhancement of peptide display by MHC class II molecules with small molecule catalysts of peptide exchange. *J Immunol*, 2009, 182: 6342-52
- [65] McGehee AM, Strijbis K, Guillen E, et al. Ubiquitin-dependent control of class II MHC localization is dispensable for antigen presentation and antibody production. *PLoS One*, 2011, 6: e18817
- [66] Hemon P, Jeanlouis F, Ramgolam K, et al. MHC class II engagement by its ligand LAG-3 (CD223) contributes to melanoma resistance to apoptosis. *J Immunol*, 2011, 186: 5173-83
- [67] Adiko AC, Babbor J, Guti rrezmart nez E, et al. Intracellular transport routes for MHC I and their relevance for antigen cross-presentation. *Front Immunol*, 2015, 6: 335
- [68] Yadav A, Amit A, Chaudhary R, et al. *Leishmania donovani*: impairment of the cellular immune response against recombinant ornithine decarboxylase protein as a possible evasion strategy of *Leishmania* in visceral leishmaniasis. *Int J Parasitol*, 2014, 45: 33-42
- [69] Williams M, Ginhoux F, Jakubzick C, et al. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14: 571-8
- [70] Segura E, Villadangos JA. A modular and combinatorial view of the antigen cross-presentation pathway in dendritic cells. *Traffic*, 2011, 12: 1677-85
- [71] Merzougui N, Kratzer R, Saveanu L, et al. A proteasome-dependent, TAP-independent pathway for cross-presentation of phagocytosed antigen. *EMBO Rep*, 2011, 12: 1257-64
- [72] Joffre OP, Segura E, Savina A, et al. Cross-presentation by dendritic cells. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12: 557-69
- [73] Gehring AJ, Haniffa M, Kennedy PT, et al. Mobilizing monocytes to cross-present circulating viral antigen in chronic infection. *J Clin Invest*, 2013, 123: 3766-76
- [74] Saveanu L, Carroll O, Weimershaus M, et al. IRAP identifies an endosomal compartment required for MHC class I cross-presentation. *Science*, 2009, 325: 213-7
- [75] Cebrian I, Visentin G, Blanchard N, et al. Sec22b regulates phagosomal maturation and antigen crosspresentation by dendritic cells. *Cell*, 2011, 147: 1355-68
- [76] M nager J, Ebstein F, Oger R, et al. Cross-presentation of synthetic long peptides by human dendritic cells: a process dependent on ERAD component p97/VCP but not sec61 and/or derlin-1. *PLoS One*, 2014, 9: e89897
- [77] Segura E, Amigorena S. Cross-presentation in mouse and human dendritic cells. *Adv Immunol*, 2015, 127: 1-31
- [78] Nair-Gupta P, Baccarini A, Tung N, et al. TLR signals induce phagosomal MHC-I delivery from the endosomal recycling compartment to allow cross-presentation. *Cell*, 2014, 158: 506-21
- [79] Wagner CS, Grotzke J, Cresswell P. Intracellular regulation of cross-presentation during dendritic cell maturation. *PLoS One*, 2013, 8: e76801
- [80] Subramanian M, Hayes CD, Thome JJ, et al. An AXL/LRP-1/RANBP9 complex mediates DC efferocytosis and antigen cross-presentation *in vivo*. *J Clin Invest*, 2014, 124: 1296-308
- [81] Ferris ST, Carrero JA, Mohan JF, et al. A minor subset of batf3-dependent antigen-presenting cells in islets of langerhans is essential for the development of autoimmune diabetes. *Immunity*, 2014, 41: 657-69