

调节性 T 细胞与炎症性肠病的研究进展

左冬梅 范 恒 刘星星 张丽娟 钟 敏

近年来炎症性肠病的研究主要集中在免疫方面,目前治疗炎症性肠病的手段极其有限,疗效不彻底,病情反复发作,且均存在一定不良反应和并发症,有手术适应证的患者,手术后终身腹泻,生活质量低下。因此寻找新的治疗方法成了当务之急。干细胞是近年来研究的热点,而且作为一种新的研究方法治疗炎症介导的多种疾病。且干细胞移植后能够影响 Treg 的免疫活性从而发挥其治疗作用。

一、Treg

1. $CD4^+$ Treg:最早的关于具有免疫抑制功能的 $CD4^+$ T 细胞的报道发表于 1990 年, Hall 等^[1]在实验动物模型证实表达 (IL) - 2 受体 α 链 (CD25) 的 $CD4^+$ 免疫抑制细胞能够抑制心脏同种异体移植反应。Sakaguchi 等^[2]表明一部分连续表达 CD25 的 $CD4^+$ T 细胞在防治自身免疫性疾病中发挥重要作用。自然生成的 $CD4^+$ CD25⁺ 调节性 T 细胞来源于胸腺并占有 $CD4^+$ T 细胞亚群的 5% ~ 10%。除了 CD25, 其他的表达于 $CD4^+$ T 细胞表面的表面标记包括 CTLA - 4、TNF 受体相关基因 (GITR 或 TNFRSF18)、CD62L (L - selectin)^[3]。但是这些标记并不是 $CD4^+$ CD25⁺ Treg 的特异性标记,因为它们还表达于其他的活化 T 细胞的表面,尤其是在人类它们不能准确的鉴别这些细胞系。在 2003 年, Fontenot 等^[4]证实 (FOXP3) 是 $CD4^+$ CD25⁺ Treg 发育和发挥作用的一个关键调节性基因。Mouly 等^[5]研究进一步发现,作为翼状螺旋转螺旋转录因子家族基础成员之一的 Ets - 1 转录因子,它在胸腺 Treg 的发育中诱导并锁定 FOXP3 的表达。近来, Liu 等^[6]表明 IL - 7 受体 α 链 (CD127) 可能是鉴定 $CD4^+$ CD25⁺ FOXP3⁺ Treg 的另一种附加的标记,因为 CD127 反过来和 FOXP3 的表达及调节性 T 细胞的活性相关。

除了胸腺来源的自然调节性 T 细胞,其他的

$CD4^+$ Treg 亚群来源于外周,这些调节性细胞通常被称为适应性调节性 T 细胞。一种适应性调节性 T 细胞为 Tr1 细胞, Tr1 型细胞最早是从人类 SCID (重度联合免疫缺陷病) 的患者中提取的, 后来研究者又在高浓度 IL - 10 培养下的幼稚 T 细胞中找到这种细胞。还有研究显示这类细胞来源于在 IL - 10 和 IFN - β 参与或者维生素 D₃ 和地塞米松结合的情况下被抗原刺激的幼稚 $CD4^+$ T 细胞^[7]。另一种 $CD4^+$ 调节性 T 细胞为 Th3 细胞,这类细胞在口服给予碱性蛋白或者 IL - 4 以后产生,而且能够产生大量的 TGF - β 和各种 IL - 4 和 IL - 10。

2. $CD8^+$ Treg:尽管大家的注意力主要集中于研究 $CD4^+$ Treg,但是它并不是第一个被涉及的具有免疫抑制功能的 T 细胞:具有调节功能的 $CD8^+$ T 细胞早在 30 年前就有报道。所谓的 $CD8^+$ 抑制性 T 细胞介导的抑制性免疫应答最早在 20 世纪 70 年代被 Gershon 等^[8]提出,同时关于 $CD4^+$ T 细胞诱导 $CD8^+$ T 细胞发挥抑制作用的关键性同时也被报道。但是诸多因素导致关于研究 $CD8^+$ T 细胞介导的抑制机制的兴趣不断衰退,首先缺乏关于区分 $CD4$ 和 $CD8$ 亚型的单克隆抗体以及基于分子遗传学的方法,其次 TCR 及大量的免疫调节因子还没有完全被识别。

3. $CD4^- CD8^- TCR\alpha\beta^+$ T 细胞:另一种调节性 T 细胞被称为双阴性 T 细胞亚型,即 $CD4^- CD8^- TCR\alpha\beta^+$ T 细胞,包括 $\gamma\delta$ T 细胞和 NKT 细胞^[9]。 $\gamma\delta$ T 细胞大量存在于黏膜组织,具有被 IL - 10 介导的免疫抑制及抗糖尿病发生的效应。NKT 细胞以同时表达 NK 细胞和 T 细胞表面标记为特点,在自身免疫紊乱,感染免疫及肿瘤免疫中发挥重要作用。

二、 $CD4^+$ CD25⁺ Treg 的免疫机制

1. 细胞因子:研究发现 $CD4^+$ CD25⁺ Treg 和 $CD4^+$ CD25⁻ Treg 相比分泌大量的 TGF - β 和 IL - 10, Annacker 等^[10]研究从正常捐献者移植到 T 细胞和 B 细胞缺陷老鼠体内的外周 $CD4^+$ T 细胞亚型的生存、动态扩展、内环境稳定以及它们的调节特性和 IL - 10 在其扩展过程中的作用,结果显示只有 $CD25^+$

作者单位:430022 武汉,华中科技大学同济医学院附属协和医院中医科

通讯作者:范恒,教授,博士生导师,电子信箱:fanheng009@yahoo.com.cn

亚型可以通过产生 IL-10 的机制来有效的调节活化/记忆性 CD4⁺T 细胞复合物的的大小。叉状头转录因子 FOXP3 现在被认为是 CD4⁺CD25⁺Treg 发育和发挥作用的主要控制基因,细胞因子依赖机制在促进 FOXP3 的 DNA 和相关增强启动子结合中发挥主要作用,TGF- β 可以促进人类乙酰化的 FOXP3 和 IL-2 的结合,然而 TGF- β 和 IL-6 共同作用会抑制其结合。在 TGF- β 和 IL-10 二者相互作用的过程中,IL-10 通过调节 TGF 受体的表达来增强活化 T 细胞对 TGF- β 1 的反应。因此,TGF- β 和 IL-10 的联合作用能够在对他们自身扩展影响最小的情况下抑制效应性 T 细胞的活性^[11]。

2. 接触抑制:尽管免疫抑制是调节性 T 细胞的特性,但是最完善的免疫抑制机制至今还不是很清楚。所有这些机制需要抑制细胞和被抑制细胞之间紧密的空间接近性,或是在靶器官或是在局部淋巴结^[12]。近来,有研究显示其中一种机制就是 CTLA-4,即调节性 T 细胞高表达的抑制分子。CTLA-4 和免疫球蛋白整合蛋白 Ig1,即 CTLA4-Ig 被用来治疗风湿性关节炎。它能够阻断 B7/CD28 的协同刺激作用以及效应性 T 细胞的活化和增殖^[13]。TGF- β 单克隆抗体可以阻止 CTLA4-Ig 介导所引起的 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺T 细胞数量的增加,这表明 TGF- β 在 CTLA4-Ig 介导所引起的 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺T 细胞数量增加的机制中发挥重要作用^[14]。

3. APC:研究表明 Treg 能够下调树突状细胞来源的 CD80/CD86 的表达,由此来调节 APC 的活性。有报道已经证实 CD80/CD86 在最小程度上作用于效应性 T 细胞可以导致调节性 T 细胞负反应信号的产生。研究结果显示在炎症反应的情况下 CTLA4-Ig 可以和树突状细胞表面高表达的 B7 分子结合,同时 CD4⁺CD25⁺T 细胞表面的 CTLA4 可以下调 APC 表面的 CD80/CD86 的表达^[15]。

三、Treg 与炎症性肠病

研究认为肠道免疫系统在肠道 T 细胞通过各种转录因子或信号分子(T-bet,GATA-3 和 STATs)产生的细胞因子的作用下,对病原性抗体的刺激产生反应而被激活在炎症性肠病的发病机制中发挥着重要作用。CD4⁺CD25⁺Treg 在治疗包括炎症性肠病在内的炎症性疾病方面已经有大量的研究。众所周知,在使用 Treg 的情况下可以抑制通过 CD45RB^{high}CD4⁺T 细胞移植到 T 细胞缺乏的老鼠体内而诱导形成的炎症性肠病模型,同时可以调节 Th1 型 T 细胞产生 INF

- γ 的效应。早期研究发现克罗恩病或溃疡性结肠炎的病人在疾病急性期,外周血中的 CD4⁺CD25⁺Treg 表达下降,证实疾病的严重性和外周血 Treg 频率呈反比。相反,一些研究显示克罗恩病或溃疡性结肠炎的病人其黏膜固有层、肠系膜淋巴结和炎症黏膜的 Treg 和正常对照组相比表达上调。值得注意的是,对炎症性肠病患者外周血和肠黏膜组织 Treg 功能的研究显示,尽管 Treg 有数量上的变化,但是仍然保持正常的细胞接触和细胞因子依赖机制来发挥免疫抑制效应。

四、Treg 与移植免疫

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)是一种具有多分化潜能的细胞,在特定条件下能诱导分化成各种组织细胞。由于骨髓间充质干细胞来源广泛,取材容易,具有高度增殖和自我更新能力,易于体外培养扩增,并在培养过程中保持多分化潜能,遗传背景稳定,体内种植排斥反应较弱等特点,所以被认为是一种用于组织工程和细胞治疗的理想细胞。研究显示 MSC 在自身免疫系统疾病方面一个很重要的作用就是对各种淋巴细胞发挥免疫调节效应,如 T 细胞、B 细胞、自然杀伤细胞和树突状细胞。MSC 能上调 Treg 水平,且该作用呈剂量依赖性,对来源于人类类风湿关节炎患者 T 淋巴细胞进行研究后发现,间充质干细胞上调 Treg 水平,抑制 T 淋巴细胞的免疫活性。对心脏移植研究也显示,在移植前注射骨髓间充质干细胞能上调 Treg 水平,延长患者生存时间。MSC 移植能有效治疗 DSS(葡聚糖硫酸钠)诱导的炎症性肠病,显著减缓溃疡性结肠炎的症状,抑制炎症因子分泌,提高 IL-10 的表达,同时抑制 Th1 细胞活性。在研究中发现,MSC 移植 3 个月以后能显著提高外周血单核细胞中 CD4⁺FOXP3⁺的比率,而且移植 6 个月以后这种比率还会继续上升。Treg 的上升还和 TGF- β 、IL-10 同步升高密切相关,而这两种因子在 Treg 的激活和功能方面发挥重要的作用。

五、展 望

炎症性肠病的病因和发病机制尚未完全明确,肠道黏膜免疫系统对肠道非致病抗原的异常反应所导致的炎症过程在发病中起重要作用。近年来对炎症性肠病发病机制的研究主要集中在免疫方面,而促炎因子和抗炎因子的动态平衡失调是炎症性肠病发病的关键因素。免疫耐受是在抗原刺激下,对抗原特异性应答的 T 细胞和 B 细胞,不能产生特异性免疫效应细胞和特异性抗体,从而不能执

行免疫应答的状态。目前治疗炎症性肠病的药物主要包括水杨酸类药物、激素类药物和免疫抑制剂,但是治疗后均易复发。因此在治疗后达到免疫耐受状态,从而抑制异常免疫应答,维持促炎因子和抗炎因子的平衡成为治疗炎症性肠病的核心。干细胞是近来研究的重点,通过干细胞技术和组织工程技术即干细胞移植,这可能是治疗肠道疾病的根本方法。骨髓间充质干细胞最近作为一种具有远大前景的细胞移植治疗手段出现,除了因为其具有多向分化潜能,MSC 还具有免疫调节功能,在多种情况下发挥免疫抑制效应。MSC 移植能够上调 Treg 水平,抑制 T 淋巴细胞的免疫活性。Treg 通过细胞因子,接触抑制和调节 APC 的机制参与免疫调节。Treg 能够限制逃出中枢耐受监视的自身免疫性细胞的活性,从而抑制免疫应答达到免疫耐受。干细胞移植后通过调节 Treg 活性达到免疫耐受,维持促炎因子和抗炎因子的动态平衡,可能为炎症性肠病治疗提供新的思路。

参考文献

- Hall BM, Pearce NW, Gurley KE, *et al.* Specific unresponsiveness in rats with prolonged cardiac allograft survival after treatment with cyclosporine. III. Further characterization of the CD4⁺ suppressor cell and its mechanisms of action[J]. J Exp Med, 1990,171(1):141-157
- Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, *et al.* Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases[J]. J Immunol, 1995, 155(3):1151-1164
- McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, *et al.* CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor[J]. Immunity, 2002, 16(2):311-323
- Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells[J]. Nat Immunol, 2003, 4(4):330-336
- Mouly E, Chemin K, Nguyen HV, *et al.* The Ets-1 transcription factor controls the development and function of natural regulatory T cells[J]. J Exp Med, 2010, 207(10):2113-2125
- Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, *et al.* CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4⁺ Treg cells[J]. J Exp Med, 2006, 203(7):1701-1711
- Vieira PL, Christensen JR, Minaee S, *et al.* IL-10-secreting regulatory T cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells[J]. J Immunol, 2004, 172(10):5986-5993
- Eardley DD, Hugenberger J, Mcvay-Boudread L, *et al.* Immunoregulatory circuits among T-cell sets. I. T-helper cells induce other T-cell sets to exert feedback inhibition[J]. J Exp Med, 1978, 147(4):1106-1115
- Dijke IE, Weimar W, Baan CC. Regulatory T cells after organ transplantation: where do they take place? [J]. Hum Immunol, 2008, 69(7):389-398
- Annacker O, Asseman C, Read S, *et al.* Interleukin-10 in the regulation of T cell-induced colitis[J]. J Autoimmun, 2003, 20(4):277-279
- Samanta A, Li B, Song X, *et al.* TGF-beta and IL-6 signals modulate chromatin binding and promoter occupancy by acetylated FOXP3[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(37):14023-14027
- Askenasy N, Kaminitz A, Yarkoni S. Mechanisms of T regulatory cell function[J]. Autoimmun, 2008, 7(5):370-375
- Bluestone JA, Stclair EW, Turka LA. CTLA4Ig: bridging the basic immunology with clinical application[J]. Immunity, 2006, 24(3):233-238
- Chen W, Jin W, Hardegen N, *et al.* Conversion of peripheral CD4⁺CD25⁻ naive T cells to CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3[J]. J Exp Med, 2003, 198(12):1875-1886
- Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, *et al.* CTLA-4 control over Foxp3⁺ regulatory T cell function[J]. Science, 2008, 322(5899):271-275

(收稿日期:2012-07-01)

(修回日期:2012-08-27)

内质网应激和糖脂代谢紊乱的关系及中药干预研究

刘 颀 张孟仁

内质网是细胞内重要的钙离子贮存器,也是蛋白

合成后修饰、折叠及转运的重要场所。在细胞缺乏能量、脂质过度负荷、钙离子稳态失衡、分泌蛋白合成增加等条件下,新生肽链的修饰、折叠、组装受到干扰,将引起未折叠蛋白在内质网中堆积,使细胞发生内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)。此时内

作者单位:100730 中国医学科学院/北京协和医学院北京协和医院

通讯作者:张孟仁,电子信箱:xhzhmr425@sina.com