

Th17 细胞和 Treg 细胞及其平衡理论的基础实验研究进展

李 忱 刘晋河 董振华

摘 要 在基础实验研究方面探讨 Th17 和调节性 T 细胞(regulatory T cells,Treg 细胞)的生物学效应。Th17 细胞表现为前炎症细胞亚类的特征,而 Treg 细胞具有拮抗 Th17 细胞的作用。Th17 和 Treg 细胞的信号通路相互交通、制约,并可以转化,提示两种细胞间有一定的可塑性,也意味着 Th17/Treg 细胞的平衡在自身免疫病发展和结局中有重要作用。

关键词 Th17 细胞 调节性 T 细胞 基础实验 研究进展

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.006

免疫系统主要有固有免疫应答和适应性免疫应答组成,主要通过识别并消除外来的病原体,建立免疫记忆和发展自身免疫耐受来保护机体。T 淋巴细胞通过细胞免疫调节获得适应性免疫应答。既往认为 $CD4^+$ T 细胞分化为经典的 Th1、Th2 细胞,主要在细胞内细菌感染和寄生虫感染中起重要作用。近几年来,一种除 Th1 和 Th2 细胞外的独立的 $CD4^+$ T 细胞谱系受到越来越多的关注——Th17 细胞, $CD4^+$ T 细胞向 Th17 细胞亚群的分化是一个独立的过程,在 IL-6 和转化生长因子 β (TGF- β)、IL-21 等细胞因子作用下分化产生,以分泌 IL-17 和表达转录因子 ROR γ 为主要特征。Th17 细胞在保护机体对抗细胞外细菌感染、真菌感染和在自身免疫疾病中起重要作用。为了避免持续的免疫反应和慢性炎症反应,机体的免疫反应需要被抑制,调节性 T 细胞(regulatory T cells,Treg 细胞)越来越受到人们关注,这类细胞具有免疫抑制和维持自身免疫耐受作用。 $CD4^+$ T 在单独 TGF- β 细胞因子作用下,分化 Treg 细胞,以分泌 TGF- β 、IL-10 和表达转录因子 Foxp3 为特征。Th17、Treg 细胞的分化途径中的关键细胞因子相互作用,构成了相反相成的免疫调节网络。因此,Th17/Treg 细胞的平衡越来越受到人们的关注。这种平衡对维持人体正常的免疫应答,防止自身免疫性疾病具有重要意义,本文对目前的基础实验研究做以下综述。

一、Th17 细胞

2005 年首先在小鼠体内发现 Th17 细胞,以分泌 IL-17 为特征。但 T 细胞亚群产生 IL-17 的现象,最早出现在 1999 年报道类风湿关节炎患者的滑膜中。这类细胞具有对抗细胞外的细菌感染和真菌感染作用,并参与自身免疫反应。Th17 细胞的分化需要 TGF- β 联合 IL-6 或 IL-21 来完成,表达转录因子 ROR γ ,分泌 IL-17A、IL-17F、IL-21、IL-22 等细胞因子。Th17 细胞高表达趋化因子受体 6(CCR6),通过 CCR6 的活化,诱导吸引和招募更多的 Th17 细胞到炎症区域。此外,还共表达 CCR4 和 CCR6 或表达 CCR2,不表达 CCR5 被用来定义人类 Th17 细胞^[1]。Th17 细胞共同存在于人类和小鼠中,他们有共性,也有区别。正如前述,Th17 的分化需要 TGF- β 联合 IL-6 的共同作用^[2]。但如果缺乏 IL-6,也可以是 TGF- β 联合 IL-21,但分化效力不及 IL-6。IL-21 是 IL-2 家族中的新成员,由 Th17 细胞产生,对于 Th17 细胞的分化具有放大效应^[3]。虽然 Th1 细胞产生 IFN- γ 、Th2 细胞产生 IL-4 在细胞增殖的放大效应中起到正反馈作用,但 IL-17 不能引起 Th17 细胞早期的增殖,IL-21 可以放大 Th17 细胞的分化。当 IL-21 缺失时,Th17 细胞的分化存在缺陷。因此,TGF- β 联合 IL-21,在 Th17 细胞早期增殖中起到正反馈作用^[3]。Th17 细胞经过初始的分化和表达后,IL-23 可以使其表达稳定。动物实验证实 IL-23 缺陷的小鼠不能发展为自身免疫性疾病^[4]。初始 $CD4^+$ T 细胞不表达 IL-23 受体,所以 IL-23 不能单独引起初始 $CD4^+$ T 细胞分化为 Th17 细胞^[5]。TGF- β 联合 IL-6 或 IL-21 诱导 Th17 细

作者单位:100730 中国医学科学院/中国协和医科大学北京协和医院中医科

通讯作者:刘晋河,电子信箱:liujh1105@aliyun.com

胞表面表达 IL-23 受体,从而与 IL-23 反应。活化的 T 细胞表达 IL-23,引起 Th17 细胞增殖^[6]。因此,IL-23 不是 Th17 细胞分化的因素,而是在增殖和稳定中起重要作用。综上所述,Th17 细胞分化需要 3 个步骤,早期活化需要 TGF- β 联合 IL-6,增殖扩大需要 IL-21,保持稳定增殖需要 IL-23 的参与。在分子水平,Th17 细胞分化需要转录因子 ROR γ 参与,ROR γ 可以诱导 IL-17 基因的表达并且 TGF- β 和 IL-6 通过活化 STAT 途径,产生协同作用引起 ROR γ 的表达^[7,8]。

人类 Th17 细胞的分化与小鼠是否一致,过去还有争论,争论在于是否依靠 TGF- β 通路。过去认为从初始 CD4⁺T 细胞分化到 Th17 细胞,是通过抑制 TGF- β 实现的;TGF- β 联合 IL-6 不能诱导人类 TCR 刺激的 CD45RA⁺T 细胞分化为 Th17 细胞;相反的是 IL-1 β 联合 IL-6/IL-23 或 IL-23 单独,均可以诱导 Th17 细胞的分化^[9]。但上述结果存在缺陷,因为实验并没有用初始 CD4⁺T 细胞,而是从外周血纯化的 CD45RA⁺T 细胞。后续的实验用从脐带血来源的初始 CD4⁺T 细胞和无血清培养基体系,建立起从初始 CD4⁺T 细胞分化到 Th17 细胞,认为 TGF- β 是必不可少的^[10]。Manel 等^[11]研究也证实,TGF- β 联合 IL-21 或 TGF- β 联合 IL-6 和 IL-23 或 TGF- β 联合 IL-6 和 IL-21,都可以诱导 ROR- γ 的表达^[11]。对于人类来说,TGF- β 联合 IL-21 可以诱导初始 CD4⁺T 细胞分化为 Th17 细胞,IL-1 β 和 IL-6 对于增强 Th17 细胞增殖具有重要作用^[12]。人类初始 T 细胞并不表达 IL-1 β 受体和 IL-23 受体,在暴露于 TGF- β 联合 IL-6/IL-21 后,上述受体被诱导表达^[11,12]。因此,人类 Th17 细胞分化与小鼠 Th17 细胞分化相似,早期活化需要 TGF- β 联合 IL-21,增殖扩大需要 IL-1 β 和 IL-6,保持稳定增殖需要 IL-23 的参与。

二、Treg 细胞

Treg 细胞作为 CD4⁺T 细胞的亚类,最初被叫做抑制细胞。这些细胞在维持自身免疫耐受和抑制感染和肿瘤引起的免疫反应中发挥重要作用。Treg 细胞的分化需要 TGF- β 的参与,并表达转录因子 FoxP3,分泌 TGF- β 和 IL-10。Treg 细胞可以抑制自身免疫反应,针对自身抗原产生免疫耐受,并在感染性疾病中保护组织免受损害。Treg 细胞可以通过不同的机制抑制炎症和免疫反应,包括依赖与细胞接触的方式和分泌抑制性细胞因子的方式,前者主要是

通过表达细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (CTLA-4) 竞争 T 细胞的共刺激配体,后者主要是通过分泌 IL-10 和 TGF- β 。

Treg 细胞可根据他们成熟的地点分为天然 Treg 细胞(nTreg)和适应性 Treg 细胞(iTreg)。nTreg 细胞从胸腺中正常 T 细胞成熟而来,然后到外周组织,抑制自身已经活化的 T 细胞。nTreg 细胞从胸腺中释放,表达 FoxP3,他们作为特定抗原,可以在外周组织长期存活^[13]。在 IL-2 存在的条件下,nTreg 细胞通过激活 TCR/CD3 复合物和 CD28 介导的共刺激信号下进行分化和增殖^[14]。nTreg 细胞从胸腺释放,需要 TGF- β 维持其活性。iTreg 细胞可以直接从抗原启动后的外周淋巴组织的初始 T 细胞发育而来。iTreg 细胞是 FoxP3⁺CD4⁺CD25⁺细胞,可以通过分泌免疫抑制性细胞因子 IL-10 和 TGF- β 来抑制免疫的活化^[15]。

三、Treg 和 Th17 细胞之间的亚型

目前已经证实 CD4⁺T 细胞有明显的可塑性,特别是 Treg 和 Th17 细胞。在两类细胞间,还有一些额外的亚类,包括 IL-17⁺ IFN- γ ⁺ 细胞、IL-17⁺ IL-10⁺ 细胞、IL-17⁺ FoxP3⁺ 细胞。(1) IL-17⁺ IFN- γ ⁺ 细胞:Esposito 等^[16]的研究证实,在自身免疫性疾病中 FoxP3⁺T 细胞可以同时产生 IL-17 和 IFN- γ 。IL-17/IFN- γ 双阳性 T 细胞可以在慢性炎症患者的外周血中明显升高,但这种双阳性的 Th17 细胞非常不稳定,在炎症组织中变成只产生 IL-17 或 IFN- γ 的细胞^[17]。(2) IL-17⁺ IL-10⁺ 细胞:McGeachy 等^[18]的实验表明 Th17 细胞也可以产生 IL-10,伴随着 ROR γ t 表达上调和 IL-17 的产生。目前普遍认为 IL-10 是 Treg 细胞分泌的,具有免疫抑制特征和抗炎活性。这种类型的细胞具有 Th17 和 Treg 细胞的功能,也提示这种细胞的可塑性。(3) IL-17⁺ FoxP3⁺ 细胞:在小鼠研究中发现表达 FoxP3⁺ ROR γ t⁺T 细胞,具有产生 IL-17 的能力^[7]。人类外周血和淋巴组织中也存在在 CD4⁺ FoxP3⁺ Treg 细胞,可以表达 CCR6,并有能力产生 IL-17。这类产生 IL-17 的 Treg 细胞共表达 FoxP3 和 ROR γ t,并且强烈抑制反应性 CD4⁺T 细胞增殖的能力^[19]。这些细胞可能是人类 CD4⁺T 细胞的一个亚类,表现出都是具有 Treg 和 Th17 细胞的功能特征:IL-17 的产生、CCR6 的表达和免疫抑制作用。CD4⁺ FoxP3⁺ ROR γ t⁺ 细胞可能是转化的一个类型,可以产生 Th17 和 Treg 细胞,主要根据感受局部的环境决定,如果感

受到前炎症的环境,Treg 细胞可以释放 IL-17。Treg 细胞在 TGF- β 和 IL-6 条件下,可以被重新定制程序转化到 Th17 细胞^[20]。上述这些细胞亚类也暗示在 Th17 和 Treg 细胞之间的可塑性,并提示 Th17/Treg 细胞的平衡在调控免疫反应中起重要作用。

四、Th17/Treg 细胞平衡理论

Th17 和 Treg 细胞在自身免疫病的作用是相反的。Th17 细胞可以引起自身免疫病,而 Treg 细胞通过维持自身免疫耐受和控制自身活化的 CD4⁺T 细胞的增殖来抑制免疫病的发展。因为 Th17 和 Treg 细胞的信号通路相近,调控 Th17/Treg 细胞的平衡,对于控制免疫病的发展有重要作用。在 TCR 刺激初始 CD4⁺T 细胞,TGF- β 单独可以诱导表达 FoxP3 和 ROR γ t。因此,对于 Th17 和 Treg 细胞,TGF- β 是共同决定因素,本质是诱导共同表达 ROR γ t 和 FoxP3。尽管有这些转录因子的诱导,但 TGF- β 不能在体外转化为 Th17 细胞,当有前炎性细胞因子作用时,例如 IL-6 或 IL-21 的存在时,TGF- β 诱导的 FoxP3 表达减弱,而 ROR γ t 表达上调。在缺乏炎症时,TGF- β 促进 Treg 细胞分化,维持免疫耐受。这是由于 FoxP3 表达上调,抑制了 ROR γ t 的活性,导致 IL-17 的消除^[7]。IL-6 和 IL-21 通过活化 STAT3 途径来抑制 FoxP3 的表达,从而抑制 Treg 细胞的分化,并促进 TGF- β 诱导的 ROR γ t 表达来促进 Th17 细胞的分化。通过上述控制 FoxP3/ROR γ t 的平衡,来调控 Treg 和 Th17 细胞平衡。

五、Th17/Treg 细胞平衡的动物实验

目前在动物模型的自身免疫病中,Th17 和 Treg 细胞的研究是近期的热点。在动物模型中,与 Th17 和 Treg 细胞有关的疾病模型包括实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)以及对胶原诱导的关节炎(CIA)。实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)是中枢神经系统炎症脱髓鞘的动物模型,首先发现 Th17 细胞的存在,并提示 IL-17 在 EAE 的发病机制中起重要作用,给予 IL-17A 靶向自身疫苗可预防 EAE^[21]。Treg 细胞也存在于在 EAE 中,当 Treg 细胞耗尽则恶化了 EAE,相反给予获得性免疫补充疗法,EAE 得到了保护^[22]。通过 β -榄香烯治疗,调节了 Th17/Treg 平衡,也可改善 EAE^[23]。胶原诱导的关节炎(CIA)是类风湿关节炎的小鼠模型。这个模型中也涉及 Th17 细胞,缺乏 IL-17 的小鼠不会发展为关节炎,明确指出是通过 IL-17 上调引起发病。用 IL-17RA 拮抗治疗或用 IL-17 抑制抗体治疗,都可以减弱关节炎

症状。FoxP3 转基因小鼠通过减少活化的 T 细胞增殖,也可不发生 CIA,提示 Treg 细胞也在 CIA 发病机制中起重要作用,随着 Treg 耗尽,疾病将加重。

随着基础医学研究的不断深入,目前在多数自身免疫病,例如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化、银屑病、炎性肠病等都有 Th17 和 Treg 细胞参与,Th17/Treg 细胞平衡也受到越来越多的研究者关注,有望成为今后治疗目标的新靶点。

参考文献

- Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells[J]. N Engl J Med, 2009, 361:888-898
- Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, *et al.* Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage[J]. Nature, 2006, 441: 231-234
- Korn T, Bettelli E, Gao W, *et al.* IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells[J]. Nature, 2007, 448:484-487
- Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, *et al.* Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain[J]. Nature, 2003, 421:744-748
- Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, *et al.* TGF-beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells[J]. Immunity, 2006, 24:179-189
- Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, *et al.* Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17[J]. J Biol Chem, 2003, 278:1910-1914
- Zhou L, Lopes JE, Chong MM, *et al.* TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function[J]. Nature, 2008, 453:236-240
- Mathur AN, Chang HC, Zisoulis DG, *et al.* Stat3 and Stat4 direct development of IL-17-secreting Th cells[J]. J Immunol, 2007, 178:4901-4907
- Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, *et al.* Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells[J]. Nat Immunol, 2007, 8:942-949
- Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C, *et al.* IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human T(H)17 cells[J]. Nature, 2008, 454:350-352
- Manel N, Unutmaz D, Littman DR. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor RORgamma[J]. Nat Immunol, 2008, 9: 641-649
- Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C, *et al.* IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human T(H)17 cells[J]. Nature, 2008, 454:350-352
- 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;1875 – 1886
- 14 Hoffmann P, Eder R, Kunz – Schughart LA, *et al.* Large – scale in vitro expansion of polyclonal human CD4⁺CD25^{high} regulatory T cells [J]. *Blood*, 2004, 104:895 – 903
- 15 Mills KH. Regulatory T cells: friend or foe in immunity to infection? [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4:841 – 855
- 16 Esposito M, Ruffini F, Bergami A, *et al.* IL – 17 – and IFN – gamma – secreting Foxp3⁺ T cells infiltrate the target tissue in experimental autoimmunity[J]. *J Immunol*, 2010, 185:7467 – 7473
- 17 Boniface K, Blumenschein WM, Brovont – Porth K, *et al.* Human Th17 cells comprise heterogeneous subsets including IFN – gamma – producing cells with distinct properties from the Th1 lineage[J]. *J Immunol*, 2010, 185:679 – 687
- 18 McGeachy MJ, Bak – Jensen KS, Chen Y, *et al.* TGF – beta and IL – 6 drive the production of IL – 17 and IL – 10 by T cells and restrain T(H) – 17 cell – mediated pathology[J]. *Nat Immunol*, 2007, 8: 1390 – 1397
- 19 Voo KS, Wang YH, Santori FR, *et al.* Identification of IL – 17 – producing FOXP3⁺ regulatory T cells in humans[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106:4793 – 4798
- 20 Yang XO, Nurieva R, Martinez GJ, *et al.* Molecular antagonism and plasticity of regulatory and inflammatory T cell programs[J]. *Immunity*, 2008, 29:44 – 56
- 21 Uyttenhove C, Van Snick J. Development of an anti – IL – 17A auto – vaccine that prevents experimental auto – immune encephalomyelitis [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36:2868 – 2874
- 22 Tauro S, Nguyen P, Li B, *et al.* Diversification and senescence of Foxp3⁺ regulatory T cells during experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43:1195 – 1207
- 23 Zhang R, Tian A, Zhang H, *et al.* Amelioration of experimental autoimmune encephalomyelitis by beta – elemene treatment is associated with Th17 and Treg cell balance[J]. *J Mol Neurosci*, 2011, 44:31 – 40
(收稿日期:2014 – 08 – 12)
(修回日期:2014 – 09 – 09)

嗜酸性粒细胞增多综合征的治疗进展

孙瑞凤 朱 威

摘 要 嗜酸性粒细胞增多综合征(HES)是一组病因不明,以骨髓、外周血和组织中嗜酸性粒细胞(EOS)增多为特点,可伴有终末器官损害的疾病。酪氨酸激酶抑制剂、糖皮质激素、羟基脲、抗白介素 – 5 抗体等有效降低 EOS,但不良反应明显。近年发现,HES 累及器官病情复杂,治疗难度大。本文对近年来非骨髓增殖异常型 HES 和骨髓增殖异常型 HES 的治疗进展做一全面综述。

关键词 嗜酸性粒细胞增多综合征 治疗

中图分类号 R75 **文献标识码** A **DOI** 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.007

嗜酸性粒细胞增多综合征(hypereosinophilic syndrome,HES)是一组病因不明,以骨髓、外周血和组织中嗜酸性粒细胞(eosinophila,EOS)增多为特点,伴有终末器官损害的疾病^[1]。诊断标准:①1个月内随机检查2次外周血EOS计数 $>1.5 \times 10^9/L$;②终末器官损害表现;③除外寄生虫感染、过敏性疾病、肿瘤等引起的EOS增多。此外,骨髓中EOS占有核细胞20%以上,终末脏器组织学检查有EOS浸润或有EOS脱颗粒^[2]。

一、EOS的发生机制

EOS的发生指骨髓祖细胞分化、增殖,在循环系统中的流动、黏附、迁移,在组织的生存与破坏^[3]。

骨髓造血细胞在白介素(IL) – 3、IL – 5和粒细

胞巨噬细胞集落刺激因子(GM – CSF)作用下成熟并释放入血。EOS被血小板活化因子(PAF)等活化后,通过CD18与细胞间黏附分子 – 1以及特晚期抗原4与血管细胞黏附分子 – 1从循环系统中迁移到组织。趋化因子,如白三烯(LT)、5 – OXO – ETE等,与EOS表面细胞因子受体3、氧桥二十烷类受体,调节这一过程。EOS在组织中迅速凋亡,在IL – 3、IL – 5和GM – CSF作用下,半衰期延长。EOS通过释放毒性蛋白引起组织损伤。

二、HES发病机制

HES分6类^[4]。第1类为骨髓增殖异常型HES,此类以FIP1L1 – PDGFRA(F/P)融合基因、ETV6 – PDGFRB融合基因或FGFR1基因重排为特征^[1]。F/P融合基因产物具有酪氨酸激酶活性,通过激活STST1、核转录因子(NF) – κ B等信号通路,促进EOS

作者单位:100053 北京,首都医科大学宣武医院皮肤性病科

通讯作者:朱威,电子信箱:zhuwei@xwh.ccmu.edu.cn