

- [11] 翟俊辉, 韩俊. 16SrDNA 基因芯片检测临床常见感染性细菌[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(08): 133-136.
- [12] Gingeras TR, Ghandour G, Wang E, et al. Simultaneous genotyping and species identification using hybridization pattern recognition analysis of generic mycobacterium DNA arrays[J]. Gene Res, 1998, 22(8): 43-52.
- [13] Wang Q. Development of a DNA microarray to identify the *Streptococcus pneumoniae* serotypes contained in the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine and closely related serotypes[J]. Journal of Microbiological Methods, 2007, 22(8): 128-136.
- [14] 顾大勇. 肠道传染病病原体可视化基因芯片检测技术的研究[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2009, 32(3): 317-323.
- [15] Ecker, C. Detecting functional nodes in large-scale cortical networks with functional magnetic resonance imaging: a principal component analysis of the human visual system[J]. Hum Brain Mapp, 2007, 28(9): 817-834.
- [16] Strommenger B, Schmidt C, Werner G, et al. DNA microarray for the detection of therapeutically relevant antibiotic resistance determinants in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*[J]. Mol Cell Probes, 2007, 21(3): 161-170.
- [17] Hamels S, Gala JL, Dufour S, et al. Consensus PCR and microarray for diagnosis of the genus *Staphylococcus* species, and met-hicillin resistance[J]. Biotechniques, 2001, 31(6): 1364-1366, 1368.
- [18] Sosnowski RG. Rapid determination of single base mismatch mutation in DNA hybrids by direct electric field control [J]. PNAS USA, 1997, 94(4): 1119-1123.
- [19] Shaw KJ, Miller N, Liu X, et al. Comparison of the changes in global gene expression of *Escherichia coli* induced by four bactericidal agents[J]. J Mol Microbiol Biotechnol, 2003, 5(2): 105-122.
- [20] King HC, Sinha AA. Gene expression profile analysis by DNA microarrays: promise and pitfalls [J]. JAMA, 2001, 28(6): 2280-2288.
- [21] Bruant G, Maynard C, Bekal S, et al. Development and validation of an oligonucleotide microarray for detection of multiple virulence and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli*[J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(5): 3780-3784.
- [22] Urzua U, Frankenberger C, Gangi L, et al. Microarray comparative genomic hybridization profile of a murine model for epithelial ovarian cancer reveals genomic imbalances resembling human ovarian carcinomas[J]. Tumour Biol, 2005, 26(5): 236-238.
- [23] Hall RM, Stokes HW. The structure of a partial duplication in the integron of plasmid pDGO100[J]. Plasmid, 1990, 23(1): 76-79.

(收稿日期: 2010-07-01)

Th17 细胞及其在神经免疫疾病中的作用

陈怡丽 综述, 姜 悦 审校

(中山大学附属第一医院检验医学部, 广东广州 510080)

关键词: 神经免疫调节; 神经系统自身免疫性疾病, 实验性; 多发性硬化; 自身免疫性脑脊髓炎, 实验性; Th17 细胞**DOI:** 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 02. 049**文献标识码:** A**文章编号:** 1673-4130(2011)02-0242-03

研究者在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)和胶原蛋白诱导性关节炎的鼠类模型中,发现了一种白介素(IL)-23 相关的且能分泌 IL-17 的新的 Th 细胞亚群-Th17 细胞,为研究免疫调节、宿主防御、自身免疫性疾病和其他慢性炎症疾病的发病机理提供了全新途径。随着对 Th17 细胞的深入了解,研究者发现 Th17 细胞的免疫功能与神经免疫疾病密切相关,以下是详细介绍。

1 Th17 细胞

当原始 T 细胞被激活后,局部细胞因子通过激活特定转录因子决定细胞分化方向。原始 T 细胞在 IL-12 刺激下分化发育成 Th1 细胞,在 IL-4 刺激下变成 Th2 细胞;当机体处在稳定状态下或没有炎症反应时,转化生长因子(TGF)- β 1 抑制效应 T 细胞增殖,诱导形成调节性 T(Treg)细胞,从而维持机体的免疫耐受;但当存在感染时,急性期蛋白 IL-6 大量产生,抑制 Treg 细胞增殖,与 TGF- β 1 共同诱导 Th17 细胞的分化,表达特异性核转录因子 ROR- γ t。

1.1 Th17 细胞的分化调节 (1)促进因子:参与 Th17 细胞分化的细胞因子主要是 IL-1 β 。IL-6 和 IL-23 单独存在均可诱导产生少量的 IL-17,在 IL-1 β 存在下可明显促进 Th17 细胞的分化^[1]。TGF- β 和 IL-6 是 Th17 细胞分化的启动因子,在两者同时存在时,经由 STAT3 通路激活 ROR- γ t,活化的 CD4+T 细胞向 Th17 细胞分化^[2-3]。低浓度 TGF- β 能刺激 Th17 细胞的分化形成,而浓度较高时,无论是否存在 IL-6,均诱导 Treg

细胞分化^[4]。IL-21 是 Th17 细胞中高表达的一个细胞因子,通过自分泌途径调节 T 细胞的分化、发育和功能,扩大 Th17 细胞反应,诱导自身表达,并促进 Th17 细胞增殖^[5]。IL-23 由活化的髓系细胞,如树突状细胞和巨噬细胞产生,对初始 CD4+T 细胞无作用,其主要功能在于促进已分化 Th17 细胞的增殖和维持其存活^[6]。(2)抑制因子:Th1 细胞和 Th2 细胞分泌的干扰素(IFN)- γ 和 IL-4 等对 Th17 的分化和功能有一定影响。Harrington 等^[7]研究发现,同时给予 IFN- γ 和 IL-4 可明显抑制 Th17 细胞发育,阻断 IFN- γ 缺陷的 CD4+T 细胞分泌 IL-17。Th17 细胞分泌的 IL-27、IL-25(IL-17E)等也抑制 Th17 细胞的分化和功能。研究表明,IL-27 可以减轻或抑制 Th17 细胞引起的炎症反应,抑制了 IL-6 介导的 T 细胞增殖作用,从而抑制 Th17 细胞分化,而且此抑制作用依赖于 IFN- γ 和 STAT-1^[8-9]。IL-25 可以促进 Th2 细胞分泌 IL-4、IL-5 以及 IL-13,这与其对 Th17 细胞分化的抑制作用是相一致的。

1.2 Th17 细胞分泌的细胞因子 分化成熟的 Th17 细胞分泌许多细胞因子,最具特征性的就是 IL-17(包括 IL-17A 至 IL-17F)。IL-17A 和 IL-17F 同源性最高,均可诱导多种促炎因子和趋化因子的表达,与多种免疫应答性疾病相关。IL-17D(即 IL-27)和 IL-17E(即 IL-25)则抑制 Th17 细胞的分化,减轻或抑制 Th17 细胞引起的炎症反应。除 IL-17 外,Th17 细胞也分泌 IL-21、IL-22 和 IL-26 等多种细胞因子。IL-22 属于 IL-10 家族,其受体表达于各种上皮组织,是介导免疫系统和上皮细

胞间相互作用的效应因子,不参与 Th17 细胞的分化调节。在组织炎症反应和自身免疫性疾病中 IL-17 信号通路和 IL-22 信号通路相互协同并相互作用。

1.3 Th17 细胞膜表面的分子 每一个 T 细胞亚群都具有独特的细胞因子受体,产生识别和结合不同亚群的特殊通路。Th17 细胞表达趋化因子受体 CCR6,CCR6 介导 T 细胞向皮肤、黏膜组织归巢,诱导致病性 T 细胞,如 Th17 细胞的聚集^[10]。Th17 细胞高表达 CCR6 和 CD6,有利于浸润型 T 细胞进入中枢神经系统,在 EAE 及多发性硬化症(MS)的发病中具有重要作用^[11-12]。Th17 细胞也可表达 CCR6 的配体 CCL20,在基质细胞中,IL-17 上调 CCL20,允许 Th17 细胞在炎症组织中吸引其他的 Th17 和 Th1 细胞^[13]。Verena 等^[14]通过研究多 MS 患者脑脊液和外周血的 Th17 克隆,发现 Th17 细胞高表达活化标志物 CD5、CD69、CD2 以及 CD28,其增殖和粘附功能强于 Th1 细胞。

1.4 Th17 细胞与 Treg 细胞的关系 Th17 细胞与 Treg 细胞在功能方面相互拮抗,而在分化过程中则具有相关性,主要依赖于机体固有免疫系统的状态以及急性期蛋白(如 IL-6)的产量。TGF- β 1 在调节 T 细胞分化的过程中具有双重作用,既可诱导 Foxp3 的表达,促进 Treg 细胞的分化,也可通过其他的途径诱导表达 ROR- γ t 的 Th17 细胞,而 IL-6 决定了原始 T 细胞向 Treg 或 Th17 分化的方向。Yang 等^[15]则证实,在 Treg 中加入 IL-6 可诱导其分化为 Th17 细胞。

2 Th17 细胞在神经免疫调节中的作用

2.1 Th17 细胞的免疫致病机制 Th17 细胞主要介导防御胞外病原微生物的感染,参与自身免疫和炎症反应,其生物学功能主要体现在所分泌的细胞因子具有集体动员、募集及活化中性粒细胞的能力。Th17 细胞产生的最重要细胞因子是 IL-17,其受体在体内广泛表达;IL-17A 和 IL-17F 对多种靶细胞具有明显的致炎作用,包括成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞、单核/巨噬细胞、角化细胞和破骨细胞^[16-17]。IL-17 刺激炎症局部产生 IL-6、NO 和 PGE2,也能与其他炎症因子如 IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 和 CD40 配体相互协同作用,促进局部炎症发展。Weaver 和 Murphy^[18]将来自 EAE 小鼠且可分泌 IL-17 的 CD4 + T 细胞转输至正常小鼠后,可诱发严重的 EAE,但输入 Th1 细胞却不能诱发 EAE,以最直接的证据证实可分泌 IL-17 的效应 T 细胞与自身免疫性疾病密切相关。

2.2 Th17 细胞诱导的神经免疫调节异常 Th17 细胞特异性分泌的 IL-17 通过募集炎症浸润性白细胞和活化基质金属蛋白酶,破坏血脑屏障(BBB),吸引单核/巨噬细胞进入中枢神经系统(CNS),从而影响神经免疫的正常调节。Kebir 等^[19]发现 MS 患者大脑损伤部位的 BBB 同时表达 IL-17 和 IL-22 的受体;体外研究则证实,由于 BBB 高表达 IL-17 与 IL-22 受体,使 Th17 细胞能够穿过 BBB,通过释放颗粒酶 B 杀伤神经细胞,促进 CNS 的炎症反应,并加重炎症细胞的浸润。

小胶质细胞在大脑组织中充当抗原提呈细胞和效应细胞,在 CNS 炎症性脱髓鞘反应过程中扮演重要角色。在 Th 细胞所分泌 IL-17 能够上调小胶质细胞中 IL-6、MIP-2、NO、神经生长因子以及粘附分子的表达,在 IL-1 β 和 IL-23 共同刺激下,小胶质细胞也可大量分泌 IL-17^[20]。也有研究者发现抗 IL-17 特异性抗体可抑制 EAE 小鼠模型大脑中趋化因子的表达^[21]。

3 Th17 细胞与 CNS 免疫异常疾病的关系

MS 是一种由 T 细胞介导的 CNS 自身免疫疾病,被认为是一种由 Th1 细胞介导的自身免疫疾病,但随着具有自身抗

原特异性的 Th17 细胞的发现,这一传统观点受到了极大的挑战。Stromnes 等^[22]发现 T 细胞受体(TCR)与 MHC 肽复合物的相互结合作用,该作用决定了针对不同髓磷脂抗原表位的 Th17 与 Th1 细胞的比例(Th17/Th1)。浸润性 Th17/Th1 决定了 CNS 发生炎症反应的部位。当浸润的 Th17 细胞多于 Th1 细胞时,炎症反应发生在大脑实质部位,并诱导大脑中 IL-17 等炎症因子的表达增多;相反,当浸润的 Th17 细胞数少于 Th1 细胞时,炎症反应发生在在脊索。由此可见,Th17 细胞在 CNS 自身免疫疾病的发展过程中具有重要调节作用。

Brucklacher-Waldert 等^[14]发现,复发性 MS 患者的脑脊液中 Th17 细胞数量高于缓和状态的 MS 患者和其他患有非炎症神经疾病的患者;而患有除 MS 外其他炎症性神经疾病的患者,其 Th17 细胞的数量也比患有非炎症神经疾病的患者高。同时也发现 Th17 与 Th1 细胞具有不同的增殖能力和抵抗抑制能力,认为 Th17 细胞可能与 Th1 细胞共同诱导 MS 的炎症反应。

虽然 Th17 细胞与 Treg 细胞在分化、发育以及功能上的相互影响;Th17 与 Treg 细胞数量的差异决定 CNS 炎症反应是否会向慢性炎症反应发展。但也有研究指出,髓鞘特异性 Treg 细胞虽然可在 CNS 累积,但并不能控制自身免疫性炎症反应的发展^[23]。

Lock 等^[24]发现 IL-17 转录本在 MS 损伤处表达上调。也有研究发现 IL-17 与 IL-22 都能刺激 BBB 中的上皮细胞产生趋化因子 CCL2,说明 CCL2-CCR2 信号转导途径可能对 MS 损伤处 Th17 细胞的迁徙发挥重要作用,而 CCR2 可作为治疗 MS 的新靶点^[19]。

4 小结与展望

Th17 与 CNS 自身免疫性疾病密切相关,在炎症反应发展过程中,Th17 细胞趋向集中并堆积在 CNS 中发生炎症反应的部位。一些针对 IL-17 的中和抗体和阻断 CNS 自身抗原特异性 Th17 细胞的治疗效果已得到证实。然而不能单纯认为 IL-17 是惟一参与 CNS 炎症反应的细胞因子,还需考虑其他 Th 细胞以及免疫分子的作用。联合监测患者 IL-17 水平及 CNS 自身抗原特异性 Th17 细胞的数量有助于临床治疗。鉴于 Th17 细胞在 MS 和 EAE 发病机制中的免疫效应已得到证实,进一步探讨 Th17 细胞在其他 CNS 免疫疾病中的生物学特性和作用机制对指导攻克相关疾病具有重要意义。

参考文献

- [1] Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, et al. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells[J]. Nat Immunol, 2007, 8(9): 942-949.
- [2] Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, et al. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 148(1): 32-46.
- [3] Bettelli E, Carrier YJ, Gao WD, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector T(H)17 and regulatory T cells[J]. Nature, 2006, 441(7090): 235-238.
- [4] Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, et al. TGF β in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells[J]. Immunity, 2006, 24(2): 179-189.
- [5] Spolski R, Leonard WJ. The Yin and Yang of interleukin-21 in al-

lergy, autoimmunity and cancer[J]. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20(3):295-301.

[6] Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells[J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(9):950-957.

[7] Harrington LE, Mangan PR, Weaver CT. Expanding the effector CD4 T-cell repertoire; the Th17 lineage[J]. *Curr Opin Immunol*, 2006, 18(3):349-356.

[8] Dong C. TH17 cells in development; an updated view of their molecular identity and genetic programming[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(5):337-348.

[9] Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH, et al. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system[J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(9):937-945.

[10] Singh SP, Zhang HH, Foley JF, et al. Human T cells that are able to produce IL-17 express the chemokine receptor CCR6[J]. *J Immunol*, 2008, 180(1):214-221.

[11] Cayrol R, Wosik K, Berard JL, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule promotes leukocyte trafficking into the central nervous system[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(2):137-145.

[12] Reboldi A, Coisne C, Baumjohann D, et al. C-C chemokine receptor 6-regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE[J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(5):514-523.

[13] Hirota K, Yoshitomi H, Hashimoto M, et al. Preferential recruitment of CCR6-expressing Th17 cells to inflamed joints via CCL20 in rheumatoid arthritis and its animal model[J]. *J Exp Med*, 2007, 204(12):2803-2812.

[14] Brucklacher-Waldert V, Stuermer K, Kolster M, et al. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis[J]. *Brain*, 2009, 132(Pt12):3329-3341.

[15] Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, et al. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma[J]. *Immunity*, 2008, 28(1):29-39.

[16] Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, et al. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages[J]. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25:821-852.

[17] 陈颖, 陈曲波. Th17 细胞在炎症疾病中的作用[J]. *国际检验医学杂志*, 2009, 30(12):1176-1178.

[18] Weaver CT, Murphy KM. The central role of the Th17 lineage in regulating the inflammatory/autoimmune axis[J]. *Semin Immunol*, 2007, 19(6):351-352.

[19] Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, et al. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation[J]. *Nat Med*, 2007, 13(10):1173-1175.

[20] Kawanokuchi J, Shimizu K, Nitta A, et al. Production and functions of IL-17 in microglia[J]. *J Neuroimmunol*, 2008, 194(1-2):54-61.

[21] Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11):1133-1141.

[22] Stromnes IM, Cerretti LM, Liggitt D, et al. Differential regulation of central nervous system autoimmunity by T(H)1 and T(H)17 cells[J]. *Nat Med*, 2008, 14(3):337-342.

[23] Korn T, Reddy J, Gao W, et al. Myelin-specific regulatory T cells accumulate in the CNS but fail to control autoimmune inflammation[J]. *Nat Med*, 2007, 13(4):423-431.

[24] Lock C, Hermans G, Pedotti R, et al. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis[J]. *Nat Med*, 2002, 8(5):500-508.

(收稿日期:2010-07-01)

• 综 述 •

甲状腺功能检测的分析前干扰因素

王贵生, 张巧云 综述, 戴盛明[△] 审校
(广西医科大学第四附属医院检验科, 柳州 545005)

关键词: 甲状腺功能试验; 分析前; 干扰因素
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.02.050 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2011)02-0244-03

甲状腺功能检测指标包括三碘甲状腺原氨酸(T₃)、甲状腺激素或四碘甲状腺原氨酸(T₄)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT₃)、游离四碘甲状腺原氨酸(FT₄)、反三碘甲状腺原氨酸(rT₃)和促甲状腺激素(TSH)。各指标的检测均受分析前、分析后及分析中多种因素的影响。分析前质量控制是整个检测的基础, 做好分析前质量控制对提高检测结果的准确性, 确保患者获得有效的诊疗有重要意义。

1 与患者相关的影响因素

1.1 年龄 年龄是影响甲状腺功能的重要因素。随着年龄增长, T₃、T₄、FT₃、FT₄、TSH 的分泌逐渐下降, T₃ 下降相对不明显; 除 TSH 外, 到成年基本稳定, 而 40 岁以下个体的 TSH 浓度高于 40 岁以上个体^[1]。

1.2 性别 性别及性成熟阶段对 T₃、T₄、FT₃、FT₄ 及 TSH

均有影响, 但这种影响不明显。有报道性别仅对 FT₃、FT₄ 有影响, 但对 TSH 无影响^[1]。

1.3 种族 Benhadi 等^[2] 发现在妊娠期间, 荷兰妇女的 TSH 浓度高于摩洛哥、苏里南和土耳其妇女, 证明种族的差异引起 TSH 浓度的不同, 可能与遗传变异有关, 即编码促甲状腺激素受体(TSHR)的基因存在单核苷酸多态性。

1.4 妊娠 妊娠后由于肾功能的增强和胚胎的发育使母体更易出现缺碘现象, 引起 T₃、T₄ 浓度降低, 并反馈性引起 TSH 浓度升高。胎盘细胞大量合成人绒毛膜促性腺激素(hCG), 而 hCG 具有刺激 TSHR 活性的作用, 引起孕妇 TSH 浓度升高。胎盘细胞也可产生大量雌激素, 激发母体肝脏大量合成甲状腺结合球蛋白(TG), 并使 TG 半衰期显著延长, 导致血清 TG 浓度升高, 增大机体 T₄ 容量^[3]。

[△] 通讯作者, E-mail: shengmdai@yahoo.com