

· 综 述 ·

CD4⁺ T 细胞新亚群——Th9 细胞研究新进展余 抒^{1,2}, 吴 超², 陈 立²综述, 邹全明^{2△} 审校(1. 中国人民解放军后勤工程学院门诊部, 重庆 400000; 2. 第三军医大学
检验系临床微生物学及免疫学教研室, 重庆 400038)

关键词: 白细胞介素 21; 研究; Th9 细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.030

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)14-1592-03

传统意义上的 CD4⁺ T 细胞在接受外来抗原刺激后经过两类经典途径分化为 Th1 和 Th2 细胞, 参与体液和细胞免疫应答。除 Th1 和 Th2 细胞外, 调节性 T 细胞 (Treg) 和 Th17 细胞属于 CD4⁺ T 细胞, 并参与相应的免疫应答反应的结论也在越来越多的研究中得到证实和认可^[1]。其中, 转录因子 Foxp3 以及转化生长因子-β (TGF-β) 共同调节 Treg 细胞的分化, 该细胞通过分泌抗炎因子参与细胞免疫应答的调控; Th17 细胞的分化则由转录因子 RORγt 及多种细胞因子 IL-1β、IL-6、IL-21、IL-23 和 TGF-β 协同调节, 主要分泌 IL-17A、IL-17F 和 IL-22 参与病原菌感染引发的免疫反应^[2]。近来研究发现, 一群新的 CD4⁺ T 细胞, 以分泌 IL-9 和 IL-10 为主, 需要 IL-4 和 TGF-β 的协同刺激^[3-5], 在小鼠肠炎模型中发挥促炎作用^[6-8]。本文就近年来对 Th9 细胞的研究进展作一综述, 便于深入了解和认识 Th9 细胞的产生及分化, 与其他 CD4⁺ T 细胞亚群间的相互关系及其在疾病中的免疫学作用。

1 Th9 细胞的发现

2008 年有学者在 Nature Immunology 杂志中首先报道 IL-4 和 TGF-β 共同作用可以诱导天然 CD4⁺ T 细胞分化成一类新的 IL-9+IL-10+Foxp3-T 细胞, 这一结果是在研究 Treg 细胞的诱导分化及与 Th2 细胞间相互作用关系的过程中发现的。众所周知, 转录激活因子 6 (STAT6) 和 GATA-3 是促使初始 CD4⁺ T 细胞向 Th2 型细胞分化的必要转录因子, 而 IL-9+IL-10+Foxp3-T 细胞并不分泌表达 GATA-3; 另一方面, 在 STAT6 和 GATA-3 信号缺失的情况下即使有 IL-4 和 TGF-β 协同刺激, IL-9 和 IL-10 的表达也会受到抑制。由此推论, 转录因子 STAT6 和 GATA-3 对 IL-9+IL-10+Foxp3-T 细胞的分化存在间接作用。

一直以来, IL-10 都被认为是 Treg 细胞分泌的重要调控因子, 尤其在感染性疾病引发的免疫反应中发挥免疫调节作用抑制炎症反应的发生、发展, 而在将 IL-9+IL-10+Foxp3-T 细胞过继性输注到 C57BL/6 RAG-1 缺陷小鼠 9 周结肠病理组织切片结果显示, 该细胞在免疫应答中发挥了促炎而非抑炎作用。是否 IL-9+IL-10+T 细胞分泌的 IL-9 或 IL-10 诱发了组织炎症反应还不得而知, 但 IL-9+IL-10+Foxp3-T 细胞并非属于 Treg 细胞是已被证实的。由此可见, IL-9+IL-10+Foxp3-T 细胞既不同于 Th2 也不属于 Treg 细胞, 可能为 CD4⁺ T 细胞又一新成员^[4,9]。

有学者在研究中指出, TGF-β 可以改变 Th2 细胞原来的分化途径, 与 IL-4 共同诱导 Th2 细胞向另一 CD4⁺ T 细胞亚群分化。这种改变不但使 Th2 细胞失去了原有的分化轨迹, 而且使细胞因子 IL-4、IL-5、IL-13 及转录因子 GATA-3 表达缺失, 取而代之的是 IL-9 的表达升高。因其主要分泌细胞因子 IL-9, 且诱导分化途径又有别于 CD4⁺ T 细胞的其他亚群, 所以被命名为 Th9 细胞。该研究不但证实了 TGF-β 可以作为

使 CD4⁺ T 细胞重构的重要调控因子, 更重要的是首次提出 Th9 细胞作为一类独立的 CD4⁺ T 细胞亚群的理论。

以上的研究都是以小鼠模型为研究对象, 那么在人体中是否也同样存在这样一群独立的 CD4⁺ T 细胞呢? 有研究人员于 2010 年在 Immunology and Cell Biology 上发表文章指出: 通过体外诱导人外周血 CD4⁺ T 细胞试验证实人体体内同样存在一群不同于其他 Th 细胞的细胞群体——Th9 细胞, 并且它在人和小鼠中的分化是相似的, 都需要 TGF-β 和 IL-4 协同刺激, 同时证实了 IL-21、干扰素-α (IFN-α)、IFN-β 可以放大 Th9 细胞的极化效应, IL-21 是人 Th9 细胞分化所需的重要调控因子^[7,10]。

由此可见, Th9 细胞作为独立的 CD4⁺ T 细胞亚群是切实存在的, 但作为独立的新亚群其复杂的分化途径及转录调控机制还在进一步的研究和探索中。

2 Th9 细胞的诱导与分化

细胞因子 IL-4 会促进 CD4⁺ T 细胞向 Th2 细胞分化, TGF-β 与 IL-6、IL-23 通过活化 STAT3 诱导转录因子 RORγt 调控 Th17 细胞的分化; 另一方面, TGF-β 与 IL-2 共同激活转录因子 Foxp3 调控 Treg 细胞的活化分化。目前研究证实, IL-4 和 TGF-β 是 Th9 细胞诱导分化的主要调控因子^[5], 二者共同协同促使天然 CD4⁺ T 细胞分化为 Th9 细胞。此外, IL-2、IL-21 和 IL-25 也能够刺激 Th9 细胞的分化但都不能取代 IL-4 和 TGF-β 在 Th9 细胞分化中起到的作用^[6,11]。

转录因子 T-bet、GATA-3、Foxp3 及 RORγt 分别为 Th1、Th2、Treg 及 Th17 细胞活化所必需的转录因子, 而 Th9 细胞并不分泌表达其中任何一类因子。Th2 细胞在转录因子 STAT6 和 GATA-3 存在下由 IL-4 诱导分化, STAT6-GATA-3-IL-4 形成了调控 Th2 细胞的路径, Th2 细胞在发挥效应时自身也会产生、分泌特异的效应分子, 如活化细胞核因子 (NFAT)、转录因子 c-Maf、IRF4 及细胞因子 IL-5、IL-13 等^[12]。ETS 基因家族中的 PU.1 过去被认为是 Th2 细胞表达的调控因子, 参与 Th2 细胞的分化发育。但目前有研究表明, PU.1 在 IL-4 低表达的 Th2 细胞亚群中出现, 它的表达对 Th2 细胞分泌细胞因子 IL-4 存在负向调控^[13]。

PU.1 表达缺陷的小鼠并不影响其体内 Th2 细胞的正常应答, 但却表现为变应原引发的肺炎症状的减弱, 同时 IL-9 的分泌表达比正常小鼠低。在人分泌 IL-9 的 T 细胞中发现抑制 PU.1 的表达会导致 IL-9 的分泌降低^[14]。另有文献报道, PU.1 的存在会干扰 GATA-3 和 IRF4 与靶基因的作用^[14], 抑制 Th2 细胞的分化发育, 这一现象可能促使 Th2 向 Th9 细胞分化。近来有研究称, Th17 和 Treg 细胞在 CD4⁺ T 细胞并非稳定存在, 它们都会出现去分化现象^[15-16]。在通过不同诱导方式诱导的 Th1、Th2 和 Th17 细胞中, PU.1 的 RNA 水平均低于诱导 Th9 细胞, 同时, PU.1 还会直接作用于 IL-9 的基

因位点使其染色质重构从而激活 IL-9 的表达。由此说明, 转录因子 PU. 1 在产生和分泌 IL-9 的 Th9 细胞中扮演非常关键的角色, 是 Th9 细胞所必需的转录因子^[17]。

随着 Th17、Treg、Th9、Th22 及滤泡性辅助性 T 细胞 (Tfh) 的出现使 CD4⁺ T 细胞的亚群更加复杂, 然而各细胞亚群所接受的细胞因子的诱导分化及针对不同类型炎症反应所发挥的特有的效应都取决于转录因子对细胞因子包括效应分子的调控。因此, 转录因子决定了不同细胞亚群的分化及功能, 是区分不同细胞亚群的关键因素。

3 Th9 细胞的免疫调节

目前研究表明, Th9 细胞在寄生虫诱发的免疫应答、病原微生物感染及过敏性疾病中发挥重要作用, 其中参与免疫调节作用的主要效应分子包括 IL-9、IL-10、IL-17RB。

3.1 IL-9 的免疫调节 IL-9, 早在 1990 年被正式命名的一类具有多重效应的细胞因子, 其受体分布在肥大细胞、巨噬细胞、T 或 B 淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、树突状 (DC) 细胞、未分化的神经元细胞以及支气管上皮细胞。IL-9 与 IL-13 可协同诱导肥大细胞增殖, 也能与 IL-4 共同刺激 B 淋巴细胞分泌 IgG 和 IgE 型抗体, 还能够刺激造血母细胞使其增殖分化^[18]。IL-9 的蛋白及核苷酸的表达在人和小鼠的相似程度分别可达到 55% 和 69%, 编码 IL-9 的染色质在人和小鼠中也同样呈现相似结构。根据 IL-9 的遗传背景及生物学特性, 研究者曾经把它归为 Th2 细胞分泌的细胞因子^[19]。

事实上, IL-9 参与 Th1、Th17、Th9 及 Treg 细胞的免疫调节, 如 Th17 和 Treg 细胞在分泌 IL-9 的同时 IL-9 对 Treg 及 Th17 细胞也有免疫调节作用^[3]。在发现 Th9 细胞后, IL-9 成为其分泌的主要细胞因子, 在 Treg 细胞缺失的条件下, 研究 Th9 细胞在 RAG-1 缺陷小鼠的功能, 发现 Th9 细胞分泌的 IL-9 会作用于 Treg 细胞同时发挥促炎作用从而诱导更加严重的组织炎症反应^[5]。结合 IL-9 受体在各类细胞的分布以及 IL-9 的遗传背景和生物学特性, 可以推论 IL-9 属于 Th9 细胞分泌的主要调节因子, 它通过与各类效应性 T 细胞或其他细胞因子的相互作用发挥免疫调节功能。

3.2 IL-10 的免疫调节 IL-10 在病原微生物的感染中发挥着免疫调节作用, 一直以来作为抗炎因子被广泛关注。它主要为 Treg 细胞分泌, 可诱导 1 型调节性 T 细胞 (Tr1) 的分化, 参与免疫调节抑制组织炎症反应。然而 Th9 细胞分泌的 IL-10 可能并不发挥抗炎作用。将 IL-9 + IL-10-T 细胞同效应 T 细胞一同过继到 RAG-1 缺陷小鼠体内, 并没有使炎症反应缓解反而使其加剧, 产生这种现象的机制尚不明确。但这足以说明 IL-10 可能并不总是抗炎因子, 在某种条件或疾病中 IL-10 也会发挥促炎作用。在体外特异性诱导 Th9 细胞分化时介入 IL-10 抗体会使 IL-9 的分泌增加^[17], 而 IL-10 受体阻断的 T 细胞中 IL-9 的分泌表达几乎不受影响。因此, IL-10 可能并不对 IL-9 的分泌产生直接作用^[5, 20], 抑或两者之间存在负性调控。

3.3 IL-17RB 的免疫调节 IL-17RB 属于跨膜蛋白, 与 IL-25 有高亲和力, 早前研究表明 Th2 细胞分泌 IL-25 的同时, IL-25 会促进 Th2 细胞的分化, 而在 Th1 和 Th17 细胞中均检测不到 IL-25 的表达^[21]。在体外诱导分化 Th9 细胞时发现, Th9 细胞表达 IL-17RB, 同时 IL-17RB 会结合 IL-25 上调 Th9 细胞中 IL-9 的表达。IL-17RB 共表达于 Th2 和 Th9 细胞, 但 CD4-IL-17RB 转基因小鼠中 IL-25 存在、IL-4 缺失情况下有大量 IL-9 的分泌表达, 表明 Th9 细胞中 IL-9 的表达也会受到 IL-17RB 和 IL-25 的影响^[11]。

4 Th9 细胞的生物学活性

Th9 细胞分泌的 IL-9 不仅作为 Th9 细胞的重要因子参与

疾病的免疫反应, 也是 CD4⁺ T 细胞不可或缺的细胞因子, 它可以通过结合分布在多种不同类型细胞表面的受体发挥多效性生物学功能。

Th9 与 Th2 细胞密切相关: 一方面, Th9 细胞可以由 Th2 细胞在 TGF- β 存在条件下直接分化而来; 另一方面, 尽管 STAT6 和 GATA-3 对 Th9 细胞的分化可能并不是直接作用, 但它的分化需要 STAT6 和 GATA-3 调控。PU. 1 作为新发现的 Th9 细胞的转录因子在激活 Th9 细胞活化分化的同时也抑制了 Th2 细胞的分化, 同时 Th2 细胞分泌的细胞因子大量降低, IL-9 的表达显著增高, 这都与 PU. 1 的抑制有关^[17]。

成熟的 Th17 细胞分泌细胞因子 IL-9 参与 Th17 细胞所引发的免疫应答^[22]。iTreg 细胞同样会分泌大量的 IL-9, 且数量多于 Th2 细胞。然而这两种细胞分泌的 IL-9 并不参与 Treg 细胞自身的分化及免疫调节^[23]。早在 1994 年, 有研究证实, 用 IFN- γ 和 TGF- β 共同刺激可以使 IL-9 的表达明显上调, 而今在 TGF- β 与 IL-4 诱导 Th9 细胞分化中发现 IL-9 的表达远高于前实验结果, 同时 IFN- γ 的表达被明显抑制。由此说明, IFN- γ 和 IL-9 的表达对彼此存在相互调控作用^[3]。

作为一类新的 T 细胞亚群, Th9 与其他细胞亚群的相互作用以及分泌的细胞因子在不同靶细胞中发挥的生物活性还有待进一步研究。

5 Th9 细胞与疾病的关系

CD4⁺ T 细胞的各细胞亚群既相互共生又相互抑制, 在细胞微环境中发挥着各自的功能维持免疫稳态。当微环境发生改变时, 各细胞间又会相互拮抗使免疫机能紊乱进而使机体出现相应的病理改变。IL-9 是 Th9 细胞分泌的主要效应分子, 通过 IL-9 与疾病关系的研究了解到 IL-9 在肠道寄生虫感染、过敏性疾病 (尤其是过敏性哮喘、鼻炎)、自身免疫病、克雷伯菌引发的肺炎等疾病中都发挥了重要的免疫调节作用^[24-25]。目前, Th9 细胞与疾病关系的研究主要以动物模型为基础, 相关疾病涉及大肠炎、过敏原引发的过敏性支气管炎及自身免疫病等。在大肠炎小鼠模型中, 将体外特异性诱导分化的 Th9 同效应性 T 细胞过继到小鼠体内, 发现小鼠体重减轻, 同时组织病理损伤的现象比单独过继效应性 T 细胞更为严重^[5]。在实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 研究中, 将诱导分化的髓鞘少突胶质糖蛋白 (MOG) 特异性 Th 细胞包括 Th1、Th2、Th17 和 Th9 过继到正常小鼠体内, 结果发现除 Th2 细胞外, Th1、Th17 及 Th9 都能够诱发 EAE, 并且病理表型分析发现 Th9 细胞诱发的 EAE 不同于其他 Th 细胞^[26]。将抗 IL-9 抗体静脉注射给卵蛋白 (OVA) 诱导的过敏性支气管炎的小鼠, 发现其炎症反应症状减轻, 同时发现 Th9 细胞通过分泌 IL-9 在过敏性疾病中发挥了炎症趋化作用^[17]。

6 结 语

Th9 细胞的发现为解释免疫相关性疾病的致病机制提供了新思路, 同时转录因子 PU. 1 作为 Th9 细胞的重要调控分子为深入研究 Th9 细胞揭开了新篇章。因此, 深入探究 Th9 细胞的分化发育及免疫调控机制, 可以为进一步解释 CD4⁺ T 细胞复杂的免疫应答机制, 为阐明病原微生物感染、自身免疫等免疫相关疾病的病理机制提供新的理论和线索。

参考文献

- [1] Zhou L, Chong MM, Littman DR. Plasticity of CD4⁺ T cell lineage differentiation[J]. *Immunity*, 2009, 30(5): 646-655.
- [2] Awasthi A, Kuchroo VK. Th17 cells: from precursors to players in inflammation and infection[J]. *Int Immunol*, 2009, 21(5): 489-498.
- [3] Li H, Rostami A. IL-9: basic biology, signaling pathways in CD4⁺

T cells and implications for autoimmunity[J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2010, 5(2):198-209.

[4] Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, et al. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3⁺ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9⁺ IL-10⁺ Foxp3(-) effector T cells[J]. Nat Immunol, 2008, 9(12):1347-1355.

[5] Veldhoen M, Uyttenhove C, van Snick J, et al. Transforming growth factor-beta reprograms the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset[J]. Nat Immunol, 2008, 9(12):1341-1346.

[6] Wong MT, Ye JJ, Alonso MN, et al. Regulation of human Th9 differentiation by type I interferons and IL-21[J]. Immunol Cell Biol, 2010, 88(6):624-631.

[7] Ma CS, Tangye SG, Deenick EK. Human Th9 cells: inflammatory cytokines modulate IL-9 production through the induction of IL-21[J]. Immunol Cell Biol, 2010, 88(6):621-623.

[8] Zou Q, Wu B, He X, et al. Increasing a robust antigen-specific cytotoxic T lymphocyte response by FMDV DNA vaccination with IL-9 expressing construct [DB/OL]. J Biomed Biotechnol, [2010-2-6]. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2860767/? tool=pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2860767/?tool=pubmed).

[9] Putheti P, Awasthi A, Popoola J, et al. Human CD4 memory T cells can become CD4⁺ IL-9⁺ T cells[J]. PLoS One, 2010, 5(1):e8706.

[10] Avery DT, Bryant VL, Ma CS, et al. IL-21-induced isotype switching to IgG and IgA by human naive B cells is differentially regulated by IL-4[J]. J Immunol, 2008, 181(3):1767-1779.

[11] Angkasekwinai P, Chang SH, Thapa M, et al. Regulation of IL-9 expression by IL-25 signaling[J]. Nat Immunol, 2010, 11(3):250-256.

[12] Tay SS, Plain KM, Bishop GA. Role of IL-4 and Th2 responses in allograft rejection and tolerance[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2009, 14(1):16-22.

[13] Forbes E, van Panhuys N, Min B, et al. Differential requirements for IL-4/STAT6 signalling in CD4 T-cell fate determination and Th2-immune effector responses[J]. Immunol Cell Biol, 2006, 88(3):240-243.

[14] Chang HC, Han L, Jabeen R, et al. PU. 1 regulates TCR expression by modulating GATA-3 activity[J]. J Immunol, 2009, 183(8):4887-4894.

[15] Yang XO, Nurieva R, Martinez GJ, et al. Molecular antagonism and plasticity of regulatory and inflammatory T cell programs[J].

Immunity, 2008, 29(1):44-56.

[16] Joetham A, Matsubara S, Okamoto M, et al. Plasticity of regulatory T cells: subversion of suppressive function and conversion to enhancement of lung allergic responses[J]. J Immunol, 2008, 180(11):7117-7124.

[17] Chang HC, Sehra S, Goswami R, et al. The transcription factor PU. 1 is required for the development of IL-9-producing T cells and allergic inflammation[J]. Nat Immunol, 2010, 11(6):527-534.

[18] Renaud JC, Goethals A, Houssiau F, et al. Human P40/IL-9. Expression in activated CD4⁺ T cells, genomic organization, and comparison with the mouse gene[J]. J Immunol, 1990, 144(11):4235-4241.

[19] Hoyle GW, Brody AR. IL-9 and lung fibrosis: a Th2 good guy? [J]. J Respir Cell Mol Bio, 2001, 24(4):365-367.

[20] Ahyi AN, Chang HC, Dent AL, et al. IFN regulatory factor 4 regulates the expression of a subset of Th2 cytokines[J]. J Immunol, 2009, 183(3):1598-1606.

[21] Angkasekwinai P, Park H, Wang YH, et al. Interleukin 25 promotes the initiation of proallergic type 2 responses[J]. J Exp Med 2007, 204(7):1509-1517.

[22] Elyaman W, Bradshaw EM, Uyttenhove C, et al. IL-9 induces differentiation of Th17 cells and enhances function of FoxP3⁺ natural regulatory T cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(31):12885-12890.

[23] Lu LF, Lind EF, Gondek DC, et al. Mast cells are essential intermediaries in regulatory T-cell tolerance[J]. Nature, 2006, 442(7106):997-1002.

[24] Pae S, Cho JY, Dayan S, et al. Chronic allergen challenge induces bronchial mast cell accumulation in BALB/c but not C57BL/6 mice and is independent of IL-9[J]. Immunogenetics, 2009, 62(8):499-506.

[25] Osterfeld H, Ahrens R, Strait R, et al. Differential roles for the IL-9/IL-9 receptor alpha-chain pathway in systemic and oral antigen-induced anaphylaxis[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125(2):469-476.

[26] Jager A, Dardalhon V, Sobel RA, et al. Th1, Th17, and Th9 effector cells induce experimental autoimmune encephalomyelitis with different pathological phenotypes[J]. J Immunol, 2009, 183(11):7169-7177.

(收稿日期:2011-01-31)

• 综 述 •

血流感染诊断的研究进展

张 艳 综述, 华 川 审校

(中国人民解放军第二五二医院检验科, 河北保定 071000)

关键词: 研究; 分子诊断技术; 血流感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.14.031

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)14-1594-03

血流感染(BSI)是指各种病原微生物侵入血循环,在血液中繁殖,释放毒素和代谢产物,并诱导细胞因子释放,引起全身感染、中毒和全身炎性反应(SIRS),进一步导致血压下降、凝血和纤溶系统的改变,引起全身多器官功能障碍综合征(MODS),是一种严重的全身感染性疾病。

1 血流感染的诊断标准

1.1 美国疾病控制与预防中心(CDC)1996年BSI诊断标准

(1)血培养1次或1次以上阳性,阳性病原体与其他感染部位无关。(2)患者至少有以下1项症状或体征:发热(38℃)、寒战或低血压,同时至少满足以下任意1项:①若血培养为常见的皮肤寄植菌(如类白喉棒状杆菌、杆菌属、丙酸杆菌属、微球菌)需有不同时间2次或2次以上的血培养阳性。②若血培养为上述常见皮肤寄植菌,血培养仅1次阳性则需同时有静脉导管培养为阳性的同一病原菌且已开始正确的抗微生物治疗。