

- [17] Hofman V, Ilie MI, Long E, et al. Detection of circulating tumor cells as a prognostic factor in patients undergoing radical surgery for non-small-cell lung carcinoma: comparison of the efficacy of the CellSearch AssayTM and the isolation by size of epithelial tumor cell method[J]. Int J Cancer, 2011, 129(7): 1651-1660.
- [18] Talasaz AH, Powell AA, Huber DE, et al. Isolating highly enriched populations of circulating epithelial cells and other rare cells from blood using a magnetic sweeper device[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(10): 3970-3975.
- [19] Pachmann K, Camara O, Kavallaris A, et al. Monitoring the response of circulating epithelial tumor cells to adjuvant chemotherapy in breast cancer allows detection of patients at risk of early relapse[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(8): 1208-1215.
- [20] Saliba AE, Saia L, Psychari E, et al. Microfluidic sorting and multimodal typing of cancer cells in self-assembled magnetic arrays [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(33): 14524-14529.
- [21] Alix-Panabières C, Vendrell JP, Slijper M, et al. Full-length cytokeratin-19 is released by human tumor cells: a potential role in metastatic progression of breast cancer[J]. Breast Cancer Res, 2009, 11(3): R39.
- [22] Alix-Panabières C, Vendrell JP, Pellé O, et al. Detection and characterization of putative metastatic precursor cells in cancer patients[J]. Clin Chem, 2007, 53(3): 537-539.
- [23] Markou A, Strati A, Malamos N, et al. Molecular characterization of circulating tumor cells in breast cancer by a liquid bead array hybridization assay[J]. Clin Chem, 2011, 57(3): 421-430.
- [24] Nawroz-Danish H, Eisenberger CF, Yoo GH, et al. Microsatellite analysis of serum DNA in patients with head and neck cancer[J]. Int J Cancer, 2004, 111(1): 96-100.
- [25] Schwarzenbach H, Alix-Panabières C, Müller I, et al. Cell-free tumor DNA in blood plasma as a marker for circulating tumor cells in prostate cancer[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(3): 1032-1038.
- [26] Shaw JA, Brown J, Coombes RC, et al. Circulating tumor cells and plasma DNA analysis in patients with indeterminate early or metastatic breast cancer[J]. Biomark Med, 2011, 5(1): 87-91.

(收稿日期:2012-05-09)

• 综述 •

雌激素及受体对细胞因子的作用研究进展

李雪璐¹综述,邢 艳²审校

(1. 川北医学院微生物与免疫学教研室,四川南充 637000;2. 川北医学院附属医院检验科,四川南充 637000)

关键词: 雌激素; 细胞因子; 免疫调节**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.038**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2012)24-3024-03

雌激素作为脂溶性的皮质激素,主要由卵巢合成分泌,主要促进雌性生殖器官的成熟和第二性征发育并维持在正常状态。研究表明,雌激素对免疫系统有调节作用,两性在免疫应答和一些自身免疫性疾病方面存在着差异,更年期后女性对某些疾病易感性也有差异。细胞因子参与机体免疫细胞的增殖分化活化、免疫调节和致病。雌激素及受体能影响细胞因子的产生。雌激素及受体对免疫系统尤其是细胞因子的作用日益受到研究者的关注。本文就雌激素及受体对细胞因子的研究进展进行综述。

1 雌激素及受体

目前在人体内发现的雌激素有3种:雌二醇(E2)、雌酮和雌三醇,其中E2的生物活性最强。雌激素的各种生理效应主要是通过雌激素受体(ER) α 和ER β 实现的,包括雌激素核受体和膜表面相关受体,目前发现均有ER α 、ER β 两种亚型。

雌激素核受体属于类固醇激素核受体超家族,主要存在胞内,是主要的ER;雌激素膜表面相关受体,主要存在于细胞质膜穴样内陷小泡中。ER包括DNA结合、二聚化作用、配体结合以及转录激活等作用区域。二者存在结构差异,在氨基末端有15%的同源性,配体非依赖转录激活功能的AF-1位于此区域;在羧基末端有55%的同源性,配体结合域和配体依赖转录激活功能的AF-2位于此区域。ER α 、ER β 由不同的基因编码,具有不同的组织特异性,但ER β 分布更广泛^[1]。免疫系统有ER α 和ER β 分布,但在不同免疫细胞甚至在同一细胞不同分化阶段均有所不同。

2 雌激素及受体作用的分子机制

雌激素与ER结合后发挥广泛而复杂的生理作用,可促进

疾病的发生发展,也可起保护作用。ER产生生理效应的途径主要有:(1)核受体的作用途径。主要是经典的雌激素反应元件(ERE)途径,即雌激素与核ER结合,形成激素-受体复合物,与靶基因上的ERE结合,调节基因表达。还可与核因子- κ B(NF- κ B)、转录激活蛋白AP-1(AP-1)等转录因子结合,调节基因表达。(2)膜相关受体的作用途径。雌激素通过与细胞膜受体结合,可影响胞内蛋白质的磷酸化或去磷酸化过程,可激活胞内多种信号通路,发挥迅速的非基因组效应。(3)线粒体相关受体的作用途径。雌激素通过核受体和线粒体相关受体共同协调呼吸链复合物蛋白质的合成。雌激素和受体通过这3条作用途径的协同作用来调节细胞,其中以核内ERs发挥作用为主。

3 雌激素及受体对细胞因子表达的作用

雌激素主要通过丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)和免疫细胞的作用影响细胞因子的表达。

HPA分泌的糖皮质激素,可抑IL-2、IFN- γ 等Th1细胞因子的生成,诱导TGF- β 的产生,抑制Th1细胞介导的免疫应答作用。在促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)基因5'上游调节区存在ERE,激素与其受体结合后,在ERE作用下促进CRH基因的表达^[2],增加糖皮质激素的分泌。雌激素也可下调海马区糖皮质激素受体(GR)的结合力及转录水平。所以雌激素对糖皮质激素具有正性调节作用。动物实验发现HPA轴缺陷的Lewis大鼠易发生细胞免疫介导的自身免疫性疾病,而人产后甲状腺炎的发生与其低水平的雌激素可下调HPA轴的分泌有关。

众多研究认为B细胞、T细胞、NK细胞、单核-巨噬细胞、

树突状细胞等免疫细胞表面和胞内存在 ER, 雌激素可通过 ER 介导的通路调节不同类型细胞的细胞因子基因的表达^[3]。ERE 已经被确定存在于细胞因子编码基因的上游, 在 IL-6、IL-10、TNF-α 等细胞因子基因上已发现了 NF-κB 反应元件^[4]。下面简述雌激素对几种主要的细胞因子的影响。

3.1 IL-2, 主要由活化的 T 细胞分泌, 具有诱导细胞分化增殖、增强细胞毒作用、促进 NK 细胞活性、诱导干扰素产生及介导肿瘤免疫等功能。在 IL-2 启动基因中有 4 个 AP-1 结合位点。Hyder 等^[5]发现胞浆内 ER 可与原癌基因 c-Fos 和 c-Jun 的 ERE 结合, 形成转录因子 AP-1 复合物, 与 IL-2 启动基因上的 AP-1 位点结合。Benten 等^[6]发现雌激素与 T 细胞表面的 ER 结合, 导致钙离子浓度增高, 激活钙调磷酸酶 (CN), 在 CN 催化下, 转录因子 NF-AT 脱磷酸并进入细胞核内与 IL-2 启动子上的 AP-1 位点结合。这两种机制可相互竞争, 导致 SLE 患者出现高 E2 而低 IL-2 的现象。另外, 体外培养 Jurkat 细胞发现, 处于较高浓度(生理浓度)雌激素水平下的 T 细胞的 JAK2 和 JAK3 等活化信号蛋白及 IL-2, 比低浓度(绝经后浓度)高^[7]。动物实验发现两性生成 IL-2 mRNA 和蛋白质存在差异, IL-2 水平的增高可能与脾细胞数增加有关。短期的高剂量 E2 和长期的低剂量的 E2 能抑制外周血活化的 T 细胞生成 IL-2 和 IL-2R 的表达^[8]; 大剂量 E2 可以促进脾细胞增殖和分泌 IFN-γ, 说明了雌激素对 IL-2 的正负调节作用与其浓度、时间、细胞相关。

3.2 IL-6, 主要由外周血单个核细胞 (PBMC) 产生, 能刺激 T、B 细胞增殖分化及免疫球蛋白分泌, 参与免疫调节。已证实在 IL-6 基因的启动子上存在 EREs^[4], 雌激素可通过 ER 作用于 IL-6 基因启动子近端的 225bp 的序列, 阻断 NF-κB 的 c-Rel 和 RelA 蛋白质与 IL-6 基因调节区内靶序列的结合, 抑制 IL-6 基因的表达。动物实验显示雌激素可提高 BALB/C 大鼠分泌 IL-6 和 IL-10 细胞的数量, 生理浓度的 E2 可下调血清中 IL-6, 应用 ER-α 配体 (PPT) 处理 EAE 小鼠可降低 TNF-α、IFN-γ 和 IL-6 等的表达^[9]。而人卵巢切除术后或自然绝经后, 外周血及骨髓中单核细胞产生的 IL-6 增多, E2 治疗能降低 IL-6 的产生^[10]。这些结果证实了雌激素对 IL-6 有负调节作用。

3.3 IL-10, 主要由 B 细胞和单核细胞分泌, 能诱导 T、B 淋巴细胞增殖分化, 刺激 B 细胞活化和分泌免疫球蛋白, 抑制 Th1 细胞分泌 IL-12、IFN-γ, 抑制巨噬细胞分泌 TNF、IL-1、IL-6、趋化因子和对 T 细胞的辅助作用。已证实在 IL-10 基因的启动子上存在 EREs^[4], 雌激素能剂量依赖性地促进 T 细胞神经钙蛋白的表达, 调节 NF-AT 的活性促进 T 细胞表达 IL-10。有研究发现 IL-10 相关基因的多态性所在的 DNA 主要结构是 ER 结构^[11]。妊娠浓度的雌三醇可改善 EAE 的小鼠的症状, 增高 IL-10 水平^[12]。而妊娠 SLE 患者 PBMCs 的 IL-10 mRNA 表达也比正常妊娠妇女高。与 Kanda 和 Tamaki^[13]发现 E2 可刺激外周血单核细胞产生 IL-10 一致。这些结果说明雌激素对 IL-10 是正调节作用。

3.4 IL-17, 主要由 Th17 分泌, 参与炎性反应的发生。已有研究证明, NF-κB 和丝裂原活化的蛋白激酶途径是 IL-17R 的下游信号^[14]。Wang 等^[15]研究发现在 EAE 中, E2 通过膜 ERs 上调 PD-1 的表达, 降低 IL-17 的生成。与此相反, 有研究者发现 E2 可上调鼠的脾及淋巴结 T 细胞表达 IL-17 的百分率^[16], 与 Khan 等^[17]发现一致。故雌激素对 IL-17 的影响还需进一步探讨。

3.5 IFN-γ, 属 Th1 型细胞因子, 主要由淋巴细胞产生, 可激活单核细胞、淋巴细胞和 NK 细胞而调节免疫反应和淋巴因子的生成、诱导细胞表面受体表达等。Fox 等^[18]发现, 在 T 细胞的 IFN-γ 启动基因 5' 侧的 3.2 Kb 区域内, 至少含有 4 个 ERE。Gonsky 和 Deem^[19]还发现位于 IFN-γ 启动子区的一个 SNP 可与 ERα 结合, 作用类似于 ERE。动物实验显示两性产生 IFN-γ mRNA 和蛋白质存在差异。雌激素可以上调鼠脾脏淋巴细胞和胸腺淋巴细胞 IFN-γ 的 mRNA 表达水平, 促进 IFN-γ 的分泌^[20]。绝经期后雌激素替代治疗可使产生 IFN-γ 的细胞数目增加。这说明雌激素对 IFN-γ 是正调节作用。但 Karen 等^[21]却发现, 雌激素能够明显下调 EAE 的 IFN-γ、TNF-α、IL-6 等。这可能与雄性 EAE 使用雌三醇时机体的病理状态有关。

3.6 TNF-α, 主要由单核-巨噬细胞分泌, 少量由 Th1 细胞分泌, 可促进其自身及其他促炎因子的产生。已证实在 TNF-α 基因上存在 NF-κB 反应元件^[4], 生理性高浓度的 E2 与 ERβ 结合能直接增加人 T 细胞 NF-κB 的活性^[22], 导致 TNF-α 增加。说明雌激素对 TNF-α 有正调节作用。但动物实验显示 E2 皮下注射能明显降低动物因烧伤引起的血清 TNF-α 升高, 且 TNF-α 的浓度下降与剂量相关^[23]。ERβ 选择性激动剂 ERβ-041 也能抑制人 PBMCs 产生 TNF-α^[24]。雌激素通过抑制 TNF-α 的合成可使某些自身免疫性疾病得到缓解^[25]。另有学者发现雌激素可以抑制单核/巨噬细胞分泌 TNF-α^[26]。因此, 抑制或促进细胞因子生成取决于影响其生成的正负向调节因素的总体效应, 尤其与生成细胞相关。

3.7 其他细胞因子 有报道 SLE 患者血清 IL-8、IL-13、IL-4 水平等存在异常, 说明雌激素对其有影响。

动物实验发现, 在体内 E2 的长期(4 周)作用下, 巨噬细胞促进炎性因子 IL-6、IL-1β 的产生, 而在体外, E2 仅短时间(2 h)的作用, 则抑制它们的生成^[27]。因此 E2 及受体对细胞因子影响极其复杂, 可能涉及 E2 浓度和作用时间长短、ER 亚型、在体内还是体外以及细胞类型等多方面。目前较为一致的观点是, 低浓度(生理水平)的雌激素可促进 Th1 细胞应答, 对 IFN-γ、IL-2 等有正调节作用, 使细胞介导的自身免疫性疾病易感性增高; 而高浓度(妊娠水平)的雌激素则促进 Th2 细胞应答, 对 IL-10 等有正调节作用, 使抗体介导的自身免疫性疾病易感性增高。研究雌激素与细胞因子的关系, 希望能为临床治疗提供一点启示。

参考文献

- [1] Younes M, Honma N. Estrogen receptor β [J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135(1): 63–66.
- [2] Vamvakopoulos NC, Chrousos GP. Evidence of direct estrogenic regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression: potential implication for the sexual dimorphism of the stress response and immunological reaction [J]. J Clin Invest, 1993, 92(1): 1896–1902.
- [3] Kassi E, Moutsatsou P. Estrogen receptor signaling and its relationship to cytokines in systemic lupus erythematosus [J]. J Biomed Biotechnol, 2010, 317452.
- [4] Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-κappa B in the immune system [J]. Annu Rev Immunol, 1994, 12(1): 141–179.

- [5] Hyder SM, Nawaz Z, Chiappetta C, et al. The protooncogene c-jun an unusual estrogen-inducible enhancer with in the coding sequence[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(15): 8506-8513.
- [6] Benten W P, Lieberherr M, Giese G, et al. Estradiol binding to cell surface raises cytosolic free calcium in T cells [J]. *FEBS Lett*, 1998, 422(3): 349-353.
- [7] Ku LT, Gercel-Taylor C, Nakajima ST, et al. Alterations of T cell activation signaling and cytokine production by postmenopausal estrogen levels[J]. *Immun Ageing*, 2009, 6(1): 1.
- [8] Me Murray RW, Ndebele K, Hardy KJ, et al. 17-beta-estradiol suppresses IL-2 receptor[J]. *Cytokine*, 2001, 14(6): 324-333.
- [9] Morales LB, Loo KK, Liu HB, et al. Treatment with an estrogen receptor alpha ligand is neuroprotective in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(25): 6823-6833.
- [10] Berg G, Ekerfelt C, Hammar M. Cytokine changes in postmenopausal women treated with estrogens: a placebo-controlled study [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2002, 48(2): 63-69.
- [11] Sanchez-Gurrero J, Karlson EW, Liang MH, et al. Past use oral contraceptives and the risk of developing systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(5): 804-808.
- [12] Offner H, Polanezyk M. A potential role for estrogen in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2006, 1089: 343-372.
- [13] Kanda N, Tamaki K. Estrogen enhances immunoglobulin production by human PBMCs[J]. *Allergy Clin Immunol*, 1999, 103(2): 282-288.
- [14] Schwandner R, Yamaguchi K, Cao Z. Requirement of tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF) 6 in interleukin 17 signal transduction[J]. *J Exp Med*, 2000, 191(7): 1233-1240.
- [15] Wang C, Dehghani B, Li Y, et al. Estrogen modulates experimental autoimmune encephalomyelitis and interleukin-17 production via programmed death [J]. *Immunology*, 2009, 126(3): 329-335.
- [16] Subramanian S, Yates M, Vandenbark AA, et al. Estrogen-mediated protection of experimental autoimmune encephalomyelitis in the absence of Foxp3+ regulatory T cells implicates compensatory pathways including regulatory B cells[J]. *Immunology*, 2011, 132(3): 340-347.
- [17] Khan D, Dai R, Karpuzoglu E, et al. Estrogen increases, whereas IL-27 and IFN-gamma decrease, splenocyte IL-17 production in WT mice [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(9): 2549-2556.
- [18] Fox HS, Bond BL, Parslow TG. Estrogen regulates the IFN- γ promoter [J]. *J Immunol*, 1991, 146(12): 4362-4367.
- [19] Gonsky R, Deem RL. An IFNG SNP with an estrogen-like response element selectively enhances promoter expression in peripheral but not lam in a propria T cells[J]. *Genes Immun*, 2006, 7(5): 342-351.
- [20] Namazi MR. The Th1-promoting effects of dehydroepiandrosterone can provide an explanation for the stronger Th1-immune response of women[J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2009, 8(1): 65-69.
- [21] Karen MP, Liu HB, Loo KK, et al. Estriol treatment ameliorates disease in males with experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for multiple sclerosis [J]. *J Neurosci*, 2004, 149(1/2): 84-89.
- [22] Hirano S, Furutama D, Hanafusa T. Physiologically high concentrations of 17beta-estradiol enhance NF-kappaB activity in human T cells[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 292(4): R1465-1471.
- [23] 张晓华, 孙海华, 孙士锦, 等. 雌激素对肝脏撞击伤后免疫功能的影响[J]. 创伤外科杂志, 2007, 9(4): 355-358.
- [24] Cvoro A, Tatomer D, Tee MK, et al. Selective estrogen receptor-beta agonists repress transcription of proinflammatory genes[J]. *J Immunol*, 2008, 180(1): 630-636.
- [25] Florea A, Job-Deslandre C. Rheumatoid arthritis and pregnancy [J]. *Presse Med*, 2008, 37(11): 1644-1651.
- [26] Cutolo M, Montagna P, Brizzolara R, et al. Sex hormones modulate the effects of Leflunomide on cytokine production by cultures of differentiated monocyte/macrophages and synovial macrophages from rheumatoid arthritis patients [J]. *J Autoimmun*, 2009, 32(3/4): 254-260.
- [27] Calippe B, Douin-Echinard V, Laffargue M, et al. Chronic estradiol administration in vivo promotes the proinflammatory response of macrophages to TLR4 activation: involvement of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway[J]. *J Immunol*, 2008, 180(12): 7980-7988.

(收稿日期: 2012-10-09)

• 综述 •

高原环境下机体红细胞免疫功能研究

石泉贵 综述, 李素芝 审校

(西藏军区总医院检验科, 西藏拉萨 850007)

关键词: 高原; 红细胞; 免疫; C3b 受体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.039

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2012)24-3026-03

上世纪 80 年代初, 美国生殖免疫学家(Siegel)提出红细胞免疫系统理论后, 受到国内外学者的关注, 研究极为迅速。证实红细胞具有识别、黏附、杀伤抗原、清除免疫复合物的作用, 且参与机体的免疫调控, 其本身还存在完整的自我调控系统, 是机体完整免疫中的一个子系统。为了解高原环境对机体红细胞免疫功能是否有影响, 自 1993 年以来对高原人体红细胞功能进行了系列研究, 现综述如下。

1 高原健康人红细胞免疫功能

1.1 不同海拔高度健康青年红细胞免疫功能的变化 检测了西藏 4 个不同海拔高度(2 500、3 600、3 900、4 300 m)107 名健康青年男性的红细胞免疫黏附功能, 同时测定了血清中循环免疫复合物的含量。结果显示: 高原地区人机红细胞免疫功能呈继发性降低, 具体表现在红细胞 C3b 受体率(RCR)降低, 红细胞免疫复合物花环率(RICR)升高, RCR 的降低与海拔升高呈