

Th17 细胞和调节性 T 细胞与自身免疫性肝病的关系

王 兰,杨瑞宁,张 丽,杨 帆

(中国人民解放军第八一医院检验科,江苏南京 210002)

关键词:Th17 细胞; 调节性 T 细胞; 自身免疫

DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 08. 037 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2014)08-1022-03

Th17 细胞和调节性 T 细胞(Treg 细胞)是近年来免疫学研究的热点,二者之间的关系密切而又复杂。在正常的生理情况下,Th17/Treg 细胞保持平衡,维持机体的免疫稳定;而在某些病理情况下,这种平衡被打破,从而导致多种疾病的发生、发展。现就 Th17 细胞和 Treg 细胞的功能及其与自身免疫性肝病的关系进行综述。

1 Treg

早在 20 世纪 70 年代,一种具有免疫抑制作用的 T 细胞被人们所发现。人们将其命名为 Treg 细胞。这类 CD4⁺CD25⁺ T 细胞具有多种特征性的细胞表面标记,如叉头翼状螺旋转录因子(FoxP3)、Toll 样受体(TLR)、细胞程序性死亡分子-1(PD-1)、细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4)、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体等。这些分子的相对表达水平对界定 Treg 细胞有一定帮助,但并不是其特异性表面标志。

CD4⁺CD25⁺Treg 细胞是目前研究最多的一类调节性 T 细胞,它在免疫系统中起负调节作用,可以通过抑制过度的免疫应答,在自身免疫病、过敏和炎症等多种疾病中发挥其免疫自稳功能。根据这类 Treg 的来源及作用机制不同,可将其分为自然调节性 T 细胞(nTreg)和适应性调节 T 细胞(aTreg 或 iTreg)两类,均在调节免疫应答的过程中表现出重要作用。nTreg 细胞来源于胸腺组织、天然生成的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞,在维持机体免疫耐受和免疫稳定中发挥重要作用,其发育机制直到近来才被人们所重视,但仍不明确^[1]。iTreg 细胞是在特定的炎性或非炎性条件下,由 CD4⁺CD25⁻T 细胞受特异性抗原刺激诱导分化而成,推测在不同条件下产生的 iTreg 的性质也不尽相同^[2]。iTreg 细胞可分泌多种细胞因子,如白细胞介素 10(IL-10)、转化生长因子 β(TGF-β)等,同时这些细胞因子又可诱导 iTreg 细胞的分化,形成一种正反馈作用。目前普遍认为 nTreg 和 iTreg 细胞之间的界限并不十分清晰,有一定重叠,二者在肿瘤、移植物抗宿主病(GVHD)等疾病中相互作用的机制也成为目前免疫学研究的一大热点^[3]。

随着免疫学研究的不断深入,近年来人们还发现其他许多具有免疫调节功能的 T 细胞,虽然细胞表型不同,但在功能上均属于 Treg 的范畴,例如:CD8⁺CD28⁻Treg 细胞、自然杀伤 T 细胞(NKT 细胞)、Th3 细胞等^[4]。CD8⁺CD28⁻Treg 细胞是一种具有特殊免疫抑制功能的 Treg 细胞,与多种免疫耐受状态相关。CD8⁺CD28⁻Treg 细胞可以直接作用于抗原递呈细胞(APCs),上调其表面的 ILT3 和 ILT4,降低 APCs 的抗原递呈能力,同时下调 APCs 表面的协同刺激因子,使其无法激

活效应 T 细胞^[5]。NKT 细胞识别由 CD1d 分子递呈的糖脂类抗原,活化后可产生 IL-2,IL-4,IFN-γ 等细胞因子,NKT 细胞已被证实自身免疫病、肿瘤、感染等疾病中发挥着重要作用^[6-7]。

2 Th17 细胞

人们在对自身免疫性脑脊髓炎(EAE)和胶原诱导的关节炎(CIA)这两种动物模型的研究中发现,清除 Th1 样细胞因子 IL-2 或 IFN-γ 并不能有效预防或缓解病情,而 IL-23 在这些疾病的进程中反而显示出了极为重要的作用。后来的研究表明,IL-23 可以促进 CD4⁺T 细胞产生 IL-17,由此,这种不同于 Th1、Th2 的细胞作为一种新的 Th 细胞亚群才被发掘并命名为 Th17^[8]。

Th17 细胞以分泌 IL-17A、IL-17F、IL-6、IL-22 和 TNF 为特征。Th17 细胞的诱导分化与 Th1 和 Th2 细胞明显不同,不依赖于 Th1 和 Th2 细胞分化中所需的关键转录因子,如 STAT1、STAT4、STAT6 及 T-bet;相对应的是由 Rorc 基因编码的孤儿核受体(orphan nuclear receptor,RORγt),作为 Th17 细胞的特异性转录因子^[9],在其分化发育过程中发挥着重要作用。

Th17 细胞主要分泌炎症细胞因子 IL-17,IL-17,可以与内皮细胞、上皮细胞、巨噬细胞等表面的相应受体结合,激活多条信号通路,引起 IL-6、IL-8、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor,GM-CSF)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases,MMP)、单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1,MCP-1)等多种炎症细胞因子的释放,促进炎症反应。Th17 细胞已被证实与多种自身免疫性疾病、炎症反应、肿瘤及移植排斥反应关系密切;同时,Th17 细胞在机体抗感染(细菌、真菌及病毒)过程中也具有重要作用。随着对 Th17 细胞亚群研究的不断深入,也将为自身免疫病、感染、肿瘤等重大疾病的预防和治疗提供新的手段。

3 Th17/Treg 细胞平衡

众所周知,Th17 细胞与 Treg 细胞来自共同的细胞分化前体,这二者的平衡对维持机体的免疫稳定状态十分重要。但在 Park 等^[8]在研究中发现 IL-23 的缺失或输注外源性 IL-23 均不能诱导早期的 Th17 细胞分化,那么 Th17 细胞分化的始动因子到底是什么呢?有研究证实,TGF-β 和 IL-6 是 Th17 细胞分化过程中最关键的细胞因子。在正常生理状态下,TGF-β 单独作用诱导初始 T 细胞分化为 Foxp3⁺Treg 细胞,从而发挥其

作者简介:王兰,女,主管检验技师,主要从事临床检验工作。

3 涂片镜检

将上述 2 例患者水浴前的血常规标本做涂片染色镜检,见图 1、2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

4 结果分析以及处理

2 例标本均是在审核时发现红细胞/血红蛋白不呈比例^[2],MCV 变大,MCHC、MCH、RDW 明显改变,发现存在疑问;涂片镜检发现红细胞有明显聚集黏附成堆现象,并可见到红细胞呈“缗钱状”排列。离心排除溶血后,37℃水浴后测定红细胞/血红蛋白结果正常,再进行冷凝集素试验,上述 2 例标本血清抗红细胞抗原的 IgM 冷凝集素效价分别为 1:1 024 和 1:512,故确定其为红细胞冷凝集现象。

冷凝集素综合征是免疫球蛋白 M 抗体(IgM 类完全抗体)引起的自体免疫性疾病,又叫“冷血凝集素病”或“冷凝集素病”。本病常在冬季发病,温暖季节症状消失,多发于老年女性。于暴露部位,如鼻尖、面颊、口唇耳郭、指(趾)部受冷后皮肤发绀以致灰白色。局部有冷感、麻木感可伴有刺痛感,触觉、痛觉、温度觉消失。严重时可有溶血性贫血或血红蛋白尿。可根据临床症状及血清凝集素升高诊断本病。

本病致病机理是在较低的温度下,免疫球蛋白 M 抗体(IgM 类完全抗体)能作用于患者自己的红细胞,在体内发生凝集,阻塞末梢微循环,出现手足发绀或溶血。冷凝集的阈值温度很少高于 30℃,通常低于 25℃,无症状的患者尤其如此。在体外,抗体与抗原发生作用的最适宜温度是 0~4℃,在 37℃或 31~32℃以上的温度,抗体与红细胞抗原发生完全可

逆的分解,症状迅速减轻或消失^[3]。

治疗冷凝集素综合征有效的方法就是注意保暖。尤其是北方较为寒冷,在室外劳动或活动时,要注意多穿衣服、戴手套、穿棉鞋、戴耳套、口罩等保暖装备。苯丁酸氨芥及环磷酰胺能使部分患者的血清 IgM 降低,皮质醇类及脾切除对本病均无效^[4]。

在临床的平时工作审核中,对于可能存在的冷凝集现象,尤其是在冬季或是气温较低的情况下,当发现有红细胞/血红蛋白不成比例,MCV 变大,MCHC、MCH、RDW 明显改变等信息,应引起高度重视,先排除干扰,确保结果的可靠性,提高自身的业务水平,更好地服务临床需要。

参考文献

[1] 叶应妩,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:137-143.
[2] 孟令章. 冷凝集素干扰红细胞分析仪多项检测参数 2 例[J]. 临床和实验医学杂志,2008,7(2):171-172.
[3] 乐家新,马骏龙,徐茜,等. 红细胞冷凝集对不用类型血细胞分析仪检测结果的影响探讨[J]. 医疗卫生装备,2009,30(2):69-71.
[4] 张丽霞,张杰,陆琳,等. 温育加稀释法可解除冷凝集素对血常规检测的干扰[J]. 临床检验杂志,2011,29(4):317-318.

(收稿日期:2013-12-08)

(上接第 1023 页)

program of proinflammatory IL-17(+) T helper cells[J]. Cell, 2006, 126(6): 1121-1133.
[10] Reizis B, Colonna M, Trinchieri G, et al. Plasmacytoid dendritic cells: one-trick ponies or workhorses of the immune system? [J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11(8): U82-558.
[11] Gautreau L, Chabannes D, Heslan M, et al. Modulation of regulatory T cell-Th17 balance by plasmacytoid dendritic cells[J]. J Leukoc Biol, 2011, 90(3): 521-527.
[12] Gorczynski R, Khatri I, Lee L, et al. An interaction between CD200 and monoclonal antibody agonists to CD200R2 in development of dendritic cells that preferentially induce populations of CD4+CD25+T regulatory cells[J]. J Immunol, 2008, 180(9): 5946-5955.
[13] Acharya M, Mukhopadhyay S, Pádassi H, et al. Alphay integrin expression by DCs is required for Th17 cell differentiation and development of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice [J]. J Clin Invest, 2010, 120(12): 4445-4452.
[14] Santodomingo-Garzon T, Swain MG. Role of NKT cells in autoimmune liver disease[J]. Autoimmun Rev, 2011, 10(12): 793-800.
[15] Lan RY, Cheng C, Lian ZX, et al. Liver-targeted and peripheral blood alterations of regulatory T cells in primary biliary cirrhosis

[J]. Hepatology, 2006, 43(4): 729-737.
[16] Peiseler M, Sebode M, Franke B, et al. FOXP3+regulatory T cells in autoimmune hepatitis are fully functional and not reduced in frequency[J]. J Hepatol, 2012, 57(1): 125-132.
[17] Lan RY, Salunga TL, Tsuneyama KA, et al. Hepatic IL-17 responses in human and murine primary biliary cirrhosis[J]. J Autoimmun, 2009, 32(1): 43-51.
[18] Fenoglio D, Bernuzzi F, Battaglia F, et al. Th17 and regulatory T lymphocytes in primary biliary cirrhosis and systemic sclerosis as models of autoimmune fibrotic diseases[J]. Autoimmun Rev, 2012, 12(2): 300-304.
[19] Fenoglio D, Battaglia F, Parodi A, et al. Alteration of Th17 and Treg cell subpopulations co-exist in patients affected with systemic sclerosis[J]. Clin Immunol, 2011, 139(3): 249-257.
[20] Bernuzzi F, Fenoglio D, Filaci GA, et al. Phenotypical and functional alterations of CD8 regulatory T cells in primary biliary cirrhosis[J]. J Autoimmun, 2010, 52(4):612-613.
[21] Ferri S, Longhi MS, De Molo C, et al. A multifaceted imbalance of T cells with regulatory function characterizes type 1 autoimmune hepatitis[J]. Hepatology, 2010, 52(3): 999-1007.

(收稿日期:2014-02-08)

参数与统计量

描述总体特征的数值为参数,通常是未知的,一般用希腊字母表示,如 μ 、 σ 、 π 等。描述样本特征的数值为统计量,是已知的或可计算获得的,用英文字母表述,如 S 、 P 等。从总体中随机抽样可获得样本,以样本为基础、通过统计推断(参数估计、假设检验)可获得对总体的认识。

免疫自稳作用;而当 TGF- β 和 IL-6 共同作用时,可通过 JAK-STAT3 通路激活转录因子 ROR γ t,促进 Th17 细胞的分化,参与炎症反应及自身免疫性疾病,与此同时 Foxp3⁺ Treg 细胞的分化受到抑制。由此可见,周围环境中 IL-6 的浓度在 Th17 细胞与 Treg 细胞的分化过程中起着决定性作用,而 IL-23 则可能在 Th17 细胞分化后期起着稳定作用。

近来树突状细胞(DCs)对 Th17/Treg 细胞平衡的调控成为这一领域的新热点。DCs 作为体内最为强大的专职抗原递呈细胞,位于免疫调节的上游,可以激活初始 T 细胞使其分化为不同类型的效应 T 细胞^[10-11]。目前认为,DCs 可以通过多渠道对 Th17/Treg 细胞平衡进行调控。首先,DCs 在分化过程中经历了不成熟 DC(imature DC, iDC)和成熟 DC(mature DC, mDC)两个阶段, iDC 可分泌高水平的 TGF- β ,促使初始 T 细胞分化为 Treg 细胞,而 mDC 则催生 IL-6 等炎症细胞因子,诱导 Th17 细胞的分化;其次,DCs 自身分泌的 IL-6、IL-23、IL-27 等细胞因子,与 Th17/Treg 细胞的分化同样至关重要。但是,通过调节 DCs 的成熟和功能以控制 Th17/Treg 细胞的平衡仍处在探索阶段,有待进一步深入的研究^[12-13]。

4 Th17/Treg 细胞与自身免疫性肝病的关系

自身免疫性肝病主要包括 3 种与自身抗体密切相关的、以肝脏损伤为主的疾病,包括自身免疫性肝炎(AIH)、原发性胆汁性肝硬化(PBC)和原发性硬化性胆管炎(PSC)。近年来随着检测技术的不断提升,此类病例在临床上日益增多。其中 PBC 和 PSC 主要表现为肝内胆汁淤积, AIH 则表现为大量的肝细胞坏死。这 3 种疾病的发病机制目前仍无定论,但目前普遍认为是免疫调节紊乱,遗传易感性及环境因素共同作用的结果^[14]。

有研究显示 PBC 患者外周血中的 Treg 细胞数量明显低于健康对照组,但其降低的程度与疾病的进展、抗线粒体抗体(AMA)及 IgM 的水平都无关。与此同时,在这些 PBC 患者的直系女性亲属体内也发现了 CD4⁺ CD^{high} Treg 细胞比例的下降,似乎预示了 PBC 的遗传易感性。在肝组织活检中, PBC 患者汇管区 Foxp3⁺ Treg 的数量相对于 CHC 和 AIH 患者降低的更为明显,这些数据都提示了 PBC 患者存在 Treg 细胞免疫耐受缺陷^[15]。

AIH 的发病机制目前仍不明确。有研究认为,此类患者体内存在 CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ Treg 细胞数量和功能的缺陷,这可能是导致其发病的重要原因。但近来 Peiseler 等^[16]在研究中发现,无论是在数量或是功能上, AIH 患者体内的 CD4⁺ CD25^{high} CD127 lowFoxP3⁺ Treg 细胞与健康人相比并无明显差异,而且在病情活动的患者中,甚至出现了 Treg 细胞的增加;在肝组织活检中, AIH 患者肝内的 Treg 细胞数量较之非酒精性脂肪肝(NASH)患者更高,提示 Treg 细胞的数量可能与炎症反应的严重程度呈正相关。

IL-17A 作为 Th17 细胞分泌的主要炎症细胞因子,在 PBC 患者外周血中的水平较健康人显著升高,在 PBC 和 AIH 患者的肝组织中也发现了大量 IL-17 阳性的淋巴细胞浸润,这些结果都表明, Th17 细胞在自身免疫性肝病发病过程中的作用同样不可忽视^[17]。

目前已知 TGF- β 和 IL-6 在纤维变性类的自身免疫疾病中

发挥着重要作用,而这两种细胞因子在 Th17 细胞和 Treg 细胞的分化过程中同样起着决定性作用。Fenoglio 等^[18]的研究表明,在 PBC 和系统性硬化病(SSc)这 2 种分别针对特定器官及全身性的自身免疫性疾病模型中,伴随着 Th1 细胞数量减少的是 Th17 细胞的大量增生,同时 Treg 细胞的数量在此 2 种疾病中也发生了变化。不同的是,在 PBC 中只出现了 CD8⁺ Treg 细胞的减少,而在 SSc 中 CD4⁺ CD25⁺ Treg 和 CD8⁺ Treg 细胞的数量都有下降^[18-19]。同样,在 Bernuzzi 等^[20]的研究中, PBC 患者 CD8⁺ Treg 的表型与正常对照组相比发生了显著改变,包括高表达 CD127 及 CD39 的表达减少;而在诱导生成 CD8⁺ Treg 的体外实验中, PBC 患者 CD8⁺ Treg 的数量减低的更加明显。这些数据都显示, PBC 患者的 CD8⁺ Treg 细胞无论在数量或功能上都发生了改变,而 CD8⁺ Treg 细胞与 Th17 细胞之间的关系或可成为这类的自身免疫病的研究新靶点。

在自身免疫性肝病进展过程中,肝脏内发生了促炎/抗炎反应的失衡。大量的研究表明,由抗原递呈细胞(APCs)递呈的自身抗原直接或间接地激活了 NKT 细胞等一系列肝内的免疫细胞。肝内的 NKT 细胞主要存在于肝窦状隙, NKT 激活后可以产生多种细胞因子(如: Th1、Th2、Th17 样细胞因子),并继续活化其他的免疫细胞(包括 Treg 细胞)以调节肝内的各级免疫反应。因此, NKT 细胞对免疫系统的这种双向调节作用可能为自身免疫性肝病的发病机制研究提供一个新的方向^[21]。

参考文献

- [1] Lourenco EV, La Cava A. Natural regulatory T cells in autoimmunity[J]. Autoimmunity, 2011, 44(1): 33-42.
- [2] Beal AM, Ramos-Hernández N, Riling CR, et al. TGF- β induces the expression of the adaptor Ndfip1 to silence IL-4 production during iTreg cell differentiation[J]. Nat Immunol, 2012, 13(1): 77-85.
- [3] Laurence A, Amarnath S, Mariotti J, et al. STAT3 transcription factor promotes instability of nTreg cells and limits Generation of iTreg cells during acute murine graft-versus-host disease[J]. Immunity, 2012, 37(2): 209-222.
- [4] Jiang H, Chess L. An integrated view of suppressor T cell subsets in immunoregulation[J]. J Clin Invest, 2004, 114(9): 1198-1208.
- [5] Suciu-Foca N, Manavalan JS, Cortesini R. Generation and function of antigen-specific suppressor and regulatory T cells[J]. Transpl Immunol, 2003, 11(3/4): 235-244.
- [6] Savage PB, Teyton L, Bendelac A. Glycolipids for natural killer T cells[J]. Chem Soc Rev, 2006, 35(9): 771-779.
- [7] Ragin MJ, Sahu N, August A. Differential regulation of cytokine production by CD1d-restricted NKT cells in response to superantigen staphylococcal enterotoxin B exposure[J]. Infect Immun, 2006, 74(1): 282-288.
- [8] 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.
- [9] Ivanov II, Mckenzie BS, Zhou L, et al. The orphan nuclear receptor ROR gamma t directs the differentiation poisoning[J]. Toxicol Rev, 2004, 23(3): 159-167.

(下转第 1088 页)