

· 综述 ·

芳香烃受体与类风湿关节炎的关系研究进展*

于海涛^{1,2}, 姜丽丽³, 张益恒², 张恺耘², 黄金田², 刘瑞琪² 综述, 何津春¹ 审校

(1. 兰州大学第一医院医学检验中心, 兰州 730000; 2. 兰州大学第一临床医学院, 兰州 730000;
3. 兰州理工大学材料科学与工程学院, 兰州 730050)

关键词: 芳香烃受体; 类风湿关节炎; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.10.031

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)10-1373-03

类风湿关节炎(RA)是一种典型的系统性自身免疫性疾病, 其疾病主要特点为持续性的慢性滑膜炎症、关节软骨和骨损伤^[1]。尽管 RA 病因和发病机制尚不完全清楚, 但可以确定自身反应性 T 细胞(Th1 细胞、Th17 细胞)和调节性 T 细胞(Tregs)异常, 以及成骨细胞和破骨细胞的失衡是造成 RA 发病致残的重要原因^[2]。芳香烃受体(Ahr)是一种配体依赖性的胞内受体蛋白, 存在于人体多种组织细胞。既往 30 多年对 Ahr 的研究主要集中在其介导环境中化学物质的毒性作用。近年来, 关于 Ahr 的研究更多地从毒理学领域转向其在免疫系统中的作用。Nakahama 等^[3]通过 Ahr 基因敲除小鼠研究发现, Ahr 可促进胶原诱导关节炎(CIA)模型小鼠发病, 提示 Ahr 参与 RA 发病。

1 Ahr 与 RA

Ahr 属于螺旋-环-螺旋(HLH)超家族中的亚家族成员, 在没有配体存在的情况下, Ahr 存在于细胞质中, 并且与 HSP90、ARA9 和 XAP2 等结合形成复合物。当 Ahr 与其配体结合时, Ahr 从复合物中解离, 游离的 Ahr 进入细胞核, 并与核中的 ARNT 结合形成二聚体, 调节下游的基因转录, Ahr 的磷酸化修饰可增强其生物学活性。Ahr 可以调控 Th1、Th17、Treg 细胞分化及功能, 从而参与炎性反应^[4]; 同时, Ahr 可通过影响成骨细胞和破骨细胞分化成熟进而参与骨损伤^[5]。

Ahr 与 RA 发病存在密切关系。RA 患者的关节滑膜组织中可见高表达的 Ahr^[6], 提示 Ahr 可能参与 RA 发病。使用 Ahr 的拮抗剂(GNF351)可抑制 RA 患者滑膜成纤维细胞增殖和分泌炎性因子^[7], 提示 Ahr 可促进 RA 炎性反应从而加重 RA 发病。本课题组前期研究发现 Ahr 的激动剂(TCDD)可抑制成骨细胞的增殖和分化能力, 进而加重 CIA 模型小鼠发病^[8]。

2 Ahr 与免疫细胞

2.1 Ahr 与 Th1 细胞 Th1 细胞在核转录因子视黄酸相关孤核受体 γ (ROR γ t) 调控下主要分泌干扰素- γ (IFN- γ)、白细胞介素-2(IL-2)、干扰素- β (TNF- β) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 发挥以细胞免疫为主的生物学作用。RA 患者体内 Th1 细胞显著性增加, 进而促进体内血管增生^[9]。Th1 细胞通过其分泌的相关细胞因子发挥拮抗 Th2 细胞功能, 最终导致 Th1/Th2 细胞失衡, 这种失衡是诱导了 RA 发病的重要原因。

Ahr 可调控 Th1 细胞分化及功能。Ahr 配体(FICZ 或 ITE)可抑制 Th1 细胞分化, 进而减缓白塞病的发病^[10]。相似的, Nugent 等^[11]研究证实 Ahr 配体(ITE)通过下调 Th1 细胞抑制实验性自身免疫性葡萄膜炎发病。注射 P815 肿瘤细胞的 C57Bl/6 小鼠, 通过体内给予 Ahr 的激动剂(TCDD)可抑制

Th1 相关细胞因子的产生。然而, Takaaki 等^[12]研究发现 Ahr 的配体(M50367)可促使 Th1/Th2 的平衡转向以 Th1 细胞占主导。造成结果不一致的可能原因是 Ahr 的不同配体与 Ahr 的结合能力不同, 或者结合持续时间不同, 最终导致 Ahr 发挥不同作用。

2.2 Ahr 与 Th17 细胞 Th17 细胞是 CD4 $^{+}$ T 细胞亚群之一, 是一种促炎性效应 T 淋巴细胞, 在包括 RA 在内的多种自身免疫性疾病的发病中发挥关键作用^[13]。Th17 细胞可产生 IL-17、IL-22 等细胞因子, 并且表达转录因子——ROR γ t。这些细胞因子在宿主防御外源性病原体(细菌和真菌等)感染, 以及促进多种自身免疫性疾病(RA、银屑病、炎性肠病和葡萄膜炎等)发病中发挥重要作用。在 RA 患者滑膜组织中存在大量 Th17 细胞及其产生的 IL-17、IL-17 的表达水平与 RA 患者关节肿胀程度及系统性炎症程度相关^[14]。

Ahr 表达于 Th17 细胞, 是其分化和活化的必要因素^[15], 其可调控 Th17 细胞的分化和功能。Veldhoen 等^[16]研究显示 Ahr 与其内源性配体(FICZ)结合活化后, Th17 细胞的数量以及其分泌的细胞因子 IL-17A、IL-17F、IL-22 明显增加, 进而加重自身免疫性疾病(实验性脑脊髓炎)发病程度。特异性敲除 T 细胞中 Ahr 基因, CIA 模型小鼠 Th17 细胞数量减少并且功能减低, 从而减缓关节炎发病, 提示 Ahr 可以促进 Th17 细胞分化和功能加重 RA 发病^[3]。Ahr 不同配体发挥不同功能, 非毒性的 Ahr 配体(ITE)通过上调 Ahr 表达水平, 抑制 Th17 细胞分化及其产生的 IL-17 和 IL-22 的能力^[16], 发挥抑炎作用。

2.3 Ahr 与 Tregs 细胞 Tregs 细胞是一类控制体内自身免疫反应性的 T 细胞亚群, 可分为天然产生的调节性 T 细胞(nT-regs) 和适应性调节性 T 细胞(aT-regs 或 iT-regs)。Tregs 细胞具有免疫负性调节功能, TGF- β 是 Tregs 分化的关键因素, 在 IL-6 的参与下, 其可通过调控 Foxp3 基因从而影响 Tregs 细胞分化^[17]。Tregs 细胞分化和功能是由转录因子 Foxp3 驱动, Tregs 细胞通过分泌细胞因子 TGF- β 、IL-10 等参与免疫调节作用, 避免自身免疫性疾病(如 RA、系统性红斑狼疮等)发生和发展。

Ahr 在免疫系统中发挥着重要的作用, 其表达于 Tregs 细胞并且参与 Tregs 细胞的分化。Ahr 基因敲除小鼠的原始 T 淋巴细胞无法转化为 Tregs 细胞^[18], 提示 Ahr 在促进 Tregs 细胞分化过程中发挥重要作用。Ahr 可直接调控 Tregs 细胞标志物 FoxP3 的表达。TCDD 促进 Ahr 与 FoxP3 启动子的结合, 并且上调 FoxP3 基因的表达, 促进 Tregs 细胞分化, 进而抑制实验性自身免疫性葡萄膜炎症状和 EAE 发病。相似的, Singh 等^[19]研究显示, TCDD 抑制 DSS 诱导急性炎性肠病小鼠

* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金(51304101); 甘肃省卫生行业科研计划管理项目(GW GL 2014-48); 甘肃省青年科技基金计划(1606RJY-A305); 高等学校科学研究项目(2015B-033)。

FoxP3的高甲基化，并且可增加小鼠 FoxP3 表达。相反，Ahr 的拮抗剂(白藜芦醇或 CH223191)可抑制 Tregs 细胞分化^[18]。Ahr 的配体(Tetrandrine)通过上调 Tregs 细胞数量和功能，进而缓解 RA 发病^[20]。

3 Ahr 与骨损伤

骨质的完整性依赖于骨形成和骨吸收的动态平衡，这种平衡主要通过成骨细胞和破骨细胞行使调节。激素、细胞因子、Ahr 等其他蛋白因素共同参与成骨细胞和破骨细胞的调控和功能，最终精细调节骨代谢过程。TCDD 可通过改变 Ahr 的转录活化结构域从而扰乱骨质的完整性，导致骨损伤。Yu 等^[21]通过 Ahr 基因敲除小鼠研究发现，Ahr 基因敲除后，小鼠骨形成和骨吸收能力均降低，但整体骨量增加，提示 Ahr 抑制骨吸收的能力强于抑制骨形成。

3.1 Ahr 与成骨细胞 Ahr 可调控成骨细胞的形成和分化。Ahr 存在于成骨细胞中，并且调节成骨细胞相关分化分子的表达和/或活性，Ahr 表达高峰出现在骨钙素之前，并且在碱性磷酸酶之后^[22]，提示 Ahr 可促进成骨细胞的成熟。然而，毒理学研究显示，活化的 Ahr 可降低成骨细胞表达碱性磷酸酶和骨钙素的水平，抑制成骨细胞的分化^[5,22]。TCDD 抑制颅面软骨中成骨细胞的骨化能力^[23]。Ahr 的拮抗剂(白藜芦醇)减缓骨损伤，促进骨形成。造成上述不一致现象的可能原因是 Ahr 的活化程度不同，或者是 Ahr 在成骨细胞分化成熟的各阶段发挥着不同的作用。本课题组前期研究发现，Ahr 在 CIA 模型小鼠成骨细胞中高表达，并且活化的 Ahr 可抑制成骨细胞的增殖和分化能力，提示 Ahr 可通过抑制成骨细胞的增殖和分化能力进而导致 RA 骨损伤^[8]。

3.2 Ahr 与破骨细胞 Ahr 在破骨细胞的分化和成熟过程中发挥作用。毒理学的研究报道显示 TCDD(二噁英)可抑制破骨细胞的分化发育。然而，特异性的敲除破骨细胞中的 Ahr 基因，小鼠骨吸收减少，骨量增加^[21]，提示 Ahr 可促进破骨细胞分化引起骨吸收。相似的，TCDD(BaP 和 3-甲基胆蒽)促进破骨细胞形成，加重骨吸收^[21,24]。造成上述结果不同的可能原因是不同的 TCDD 种类或使用剂量的不同决定 Ahr 发挥不同功能。结果显示，Ahr 的抑制剂二吲哚甲烷(DIM)可以通过抑制破骨细胞的活化进而缓解 CIA 小鼠的症状。

虽然，活化的 Ahr 可同时抑制成骨细胞和破骨细胞的分化发育，但是体内成熟的破骨细胞主要来源于骨髓的单核巨噬细胞系统的前体细胞，而巨噬细胞 Ahr 基因敲除鼠的关节炎症状改善并不明显^[3]。因此，推测小量的 Ahr 主要抑制成骨细胞的分化成熟，大量的 Ahr 抑制破骨细胞的发育；而 RA 骨损伤的机制可能主要是升高的 Ahr 抑制成骨细胞的分化发育和功能。

4 结语

目前，关于 Ahr 与 RA 的研究主要集中在炎症反应阶段，对于骨破坏阶段的研究相对较少。因此在 RA 疾病中，Ahr 介导成骨细胞与破骨细胞的失衡可能成为新的研究方向。本文详细叙述了 Ahr 与 RA 发病密切相关的 Th1 细胞、Th17 细胞、Tregs 细胞、成骨细胞、破骨细胞的关系，阐述了 Ahr 在 RA 发病中的具体作用，为 RA 治疗研究提供新的方向。

参考文献

- [1] Hilkens CMU, Isaacs JD. Tolerogenic dendritic cell therapy for rheumatoid arthritis: where are we now? [J]. Clin Exp Immunol, 2013, 172(2): 148-157.
- [2] Hu F, Liu H, Xu L, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha perpetuates synovial fibroblast interactions with T cells and B cells in rheumatoid arthritis [J]. Eur J Immunol, 2016, 46(3): 742-751.
- [3] Nakahama T, Kimura A, Nguyen NT, et al. Aryl hydrocarbon receptor deficiency in T cells suppresses the development of collagen-induced arthritis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(34): 14222-14227.
- [4] Nguyen NT, Hanieh H, Nakahama T, et al. The roles of aryl hydrocarbon receptor in immune responses [J]. Int Immunol, 2013, 25(6): 335-343.
- [5] Koskela A, Viluksela M, Keinänen M, et al. Synergistic effects of tributyltin and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on differentiating osteoblasts and osteoclasts [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 263(2): 210-217.
- [6] Kazantseva MG, Highton J, Stamp LK, et al. Dendritic cells provide a potential link between smoking and inflammation in rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(5): R208.
- [7] Lahoti TS, Hughes JM, Kusnadi A, et al. Aryl hydrocarbon receptor antagonism attenuates growth factor expression, proliferation, and migration in fibroblast-like synoviocytes from patients with rheumatoid arthritis [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2014, 348(2): 236-245.
- [8] Yu H, Du Y, Zhang X, et al. The aryl hydrocarbon receptor suppresses osteoblast proliferation and differentiation through the activation of the ERK signaling pathway [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2014, 280(3): 502-510.
- [9] James EA, Rieck M, Pieper J, et al. Citrulline-specific Th1 cells are increased in rheumatoid arthritis and their frequency is influenced by disease duration and therapy [J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66(7): 1712-1722.
- [10] Wang C, Ye Z, Kijlstra A, et al. Activation of the aryl hydrocarbon receptor affects activation and function of human monocyte-derived dendritic cells [J]. Clin Exp Immunol, 2014, 177(2): 521-530.
- [11] Nugent LF, Shi G, Vistica BP, et al. ITE, a novel endogenous nontoxic aryl hydrocarbon receptor ligand, efficiently suppresses EAU and T-cell-mediated immunity [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(12): 7463-7469.
- [12] Negishi T, Kato Y, Ooneda O, et al. Effects of aryl hydrocarbon receptor signaling on the modulation of TH1/TH2 balance [J]. J Immunol, 2005, 175(11): 7348-7356.
- [13] Baricza E, Tamási V, Marton N, et al. The emerging role of aryl hydrocarbon receptor in the activation and differentiation of Th17 cells [J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 73(1): 95-117.
- [14] Kim J, Kang S, Kim J, et al. Elevated levels of T helper 17 cells are associated with disease activity in patients with rheumatoid arthritis [J]. Ann Lab Med, 2013, 33(1): 52-59.
- [15] Veldhoen M, Hirota K, Westendorf AM, et al. The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins [J]. Nature, 2008, 453(7191): 106-109.
- [16] Wei P, Hu GH, Kang HY, et al. Increased aryl hydrocar-

- bon receptor expression in patients with allergic rhinitis [J]. QJM, 2014, 107(2): 107-113.
- [17] Noack M, Miossec P. Miossec, Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases [J]. Autoimmun Rev, 2014, 13(6): 668-677.
- [18] Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, et al. Control of T (reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor [J]. Nature, 2008, 453(7191): 65-71.
- [19] Singh NP, Singh UP, Singh B, et al. Activation of aryl hydrocarbon receptor (AhR) leads to reciprocal epigenetic regulation of FoxP3 and IL-17 expression and amelioration of experimental colitis [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23522.
- [20] Yuan X, Tong B, Dou Y, et al. Tetrandrine ameliorates collagen-induced arthritis in mice by restoring the balance between Th17 and Treg cells via the aryl hydrocarbon receptor [J]. Biochem Pharmacol, 2016, 101: 87-99.
- 综述 •
- [21] Yu TY, Kondo T, Matsumoto T, et al. Aryl hydrocarbon receptor catabolic activity in bone metabolism is osteoclast dependent in vivo [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 450(1): 416-422.
- [22] Ryan EP, Holz JD, Mulcahey M, et al. Environmental toxicants may modulate osteoblast differentiation by a mechanism involving the aryl hydrocarbon receptor [J]. J Bone Miner Res, 2007, 22(10): 1571-1580.
- [23] Burns FR, Peterson RE, Heideman W. Dioxin disrupts cranial cartilage and dermal bone development in zebrafish larvae [J]. Aquat Toxicol, 2015, 164: 52-60.
- [24] Iqbal J, Sun L, Cao J, et al. Smoke carcinogens cause bone loss through the aryl hydrocarbon receptor and induction of Cyp1 enzymes [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(27): 11115-11120.

(收稿日期:2017-01-11 修回日期:2017-02-25)

三阴性乳腺癌耐药机制的研究探索^{*}

郑清平¹, 李静² 综述, 冯景^{1△} 审校

(南方医科大学附属奉贤区中心医院:1. 检验科;2. 中心实验室, 上海 201499)

关键词:三阴性乳腺癌; 化疗; 耐药机制**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.10.032**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2017)10-1375-04

乳腺癌是女性最常见的侵袭性恶性肿瘤,在全世界范围内每年的死亡人数已达到 450 000 人,是仅次于肺癌的死亡人数的第二大肿瘤。乳腺癌临床分类依据雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和 her2/erbB2 这几个基因的表达来分类,分别为 ER+、her2/erbB2+ 和 ER-PR-Her2/erbB2-(即三阴性乳腺癌 TNBC)。三阴性乳腺癌是一个异质性的肿瘤群体,与其他乳腺癌亚型相比有明显的侵袭性,较高的复发率以及较短的生存期。对于 ER+ 的乳腺癌患者,可以运用内分泌治疗如他莫昔芬和芳香化酶抑制剂,而 her2/erbB2+ 的乳腺癌患者可以运用特定靶向 her2 的治疗如曲妥珠单抗和拉帕替尼;三阴性乳腺癌因缺乏特定表达的受体,化疗仍是其主要治疗方法。本文将从三阴性乳腺癌化疗及化疗产生的耐药机制、多重耐药、耐药细胞磷酸化改变及一些潜在的耐药机制方面予以综述。

1 三阴性乳腺癌的治疗现状

对于三阴性乳腺癌女性患者,由于她们缺乏 ER、PR 和 HER2 受体,化疗是目前主要的治疗方法。三阴性乳腺癌患者尤其对标准化疗的药物蒽环类药物和紫杉类药物敏感,紫杉类药物和蒽环类药物是目前治疗三阴性乳腺癌有效的化疗药物组合。有研究显示,两药联合治疗的病理学完全缓解(pCR)率为 25.9%^[1];目前,运用于术后的辅助化疗药物包括^[2]: (1)阿霉素或表阿霉素(蒽环类药物);(2)阿霉素和环磷酰胺;(3)紫杉醇和多烯紫杉醇,它们常常联合环磷酰胺和 5-氟尿嘧啶使用;(4)环磷酰胺、甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶(CMF);(5)抗代谢物如吉西他滨(Gemcitabine)或卡培他滨(Capecitabine)和其他的微管抑制剂或稳定剂如长春瑞滨(Vinorelbine);(6)非紫杉类

的抗微管蛋白制剂如艾日布林(Eribulin)和伊沙匹隆(Ixabepilone);将蒽环类和紫杉类药物纳入术后辅助化疗方案已经基本达成共识。

新辅助化疗是指在实施局部治疗方法(如手术或放疗)前所做的全身化疗,目的是使肿块缩小、及早杀灭看不见的转移细胞,以利于后续的手术、放疗等治疗。而运用于术前的新辅助化疗使肿瘤远处微转移灶得到更早更有效治疗,在临幊上增強了患者化疗敏感性;特别是以蒽环类药物为基础的新辅助化疗提高了三阴性乳腺癌患者的病理完全缓解率^[3]。此外,与其他类型的乳腺癌相比,三阴性乳腺癌大部分携带有乳腺癌易感基因 1(BRCA1)突变,BRCA1 的作用主要是通过同源重组参与基因修复来维持基因组的稳定、调节细胞周期等,因此 BRCA1 失活也将增加那些破坏 DNA 的化疗药物的敏感性^[4]。铂类药物可以与双链 DNA 交联,阻滞 DNA 复制、转录并最终导致细胞死亡。因此铂类药物方案对 BRCA1 突变的患者来说是一个新的选择^[5]。

尽管三阴性乳腺癌在早期诊断和化疗方面取得了很大的进展,患者在大量使用化疗药物的过程中也逐渐产生了对药物的抵抗,化疗的敏感性降低了,极大地限制了三阴性乳腺癌治疗的效果。

2 TNBC 中已确立的 6 种耐药机制

目前,在三阴性乳腺癌中已确立了 6 种耐药机制^[6],包括:(1)ABC 转运蛋白促使化疗药物流出肿瘤细胞;(2)过表达的 β-微管蛋白Ⅲ亚群诱导紫杉醇耐药;(3)DNA 修复酶的突变及这些酶改变细胞对化疗药物的敏感性;(4)参与细胞凋亡基因

^{*} 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81672624);上海市卫生和计划生育委员会面上项目(201540090)。[△] 通信作者,E-mail:fengjing8801530@163.com。