

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.18.050

## T 细胞免疫在抗结核杆菌感染中的研究进展\*

董毅 吴利先<sup>△</sup>

(大理学院基础医学院微生物学与免疫学教研室 云南大理 671000)

**摘要:**结核分枝杆菌是引起结核病的病原体,该细菌可侵犯全身各组织器官。结核病是一种慢性传染性疾病,具有持久性特点。该细菌为胞内寄生菌,特异性免疫以细胞免疫为主,主要包括 CD4<sup>+</sup>T 细胞免疫和 CD8<sup>+</sup>T 细胞免疫。结核分枝杆菌特异性免疫应答的特点之一是感染早期 T 细胞免疫应答延迟。其机制与结核杆菌抑制免疫细胞(CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 细胞及 DC)凋亡延迟应答,通过特异性 Treg 细胞抑制作用延迟应答以及结核杆菌慢性感染期间存在 IFN- $\gamma$  信号调节网络和 ESAT-6 抗原的慢性刺激作用有关,以此可调节和维持免疫应答。深入了解抗原特异性 T 细胞特异性免疫应答的机制,有益于抗结核疫苗的研制,为临床工作提供理论依据和科学方法。

**关键词:**结核分枝杆菌;T 细胞;抗原;细胞免疫

**中图分类号:**R37 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)18-3593-03

## Progress in Immune Responses Mediated by T cells During the *Mycobacterium Tuberculosis* Infection\*

DONG Yi, WU Li-xian<sup>△</sup>

(Department of basic medical microbiology and immunology teaching and research section of Dali University in yunnan province, Dali, Yunnan, 671000, China)

**ABSTRACT:** *Mycobacterium tuberculosis* is the pathogen causing TB, the bacteria may be infringing the body's tissues and organs. Tuberculosis is a chronic infectious diseases, as it's pathogen, *Mycobacterium tuberculosis*, characterized by persistence *Mycobacterium tuberculosis* is a kind of intracellular bacterium. CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> cell immunity are the main forms of resistance to bacterial. *Mycobacterium tuberculosis* infection was a delay in the early stage of infection of T-cell immune responses. Recent studies have revealed the mechanisms that contribute to this delayed responses, it is that Mtb. delays immune response by inhibiting apoptosis of immune cells (CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>T cells as well as DC) and the inhibition of specific regulatory T cells (Treg). There exists an IFN- $\gamma$  signal regulating network and chronic stimulation of ESAT-6 antigen during the chronic Mtb infection, by which the mechanism could regulate and maintain the immune response. Further understanding the mechanisms of the adaptive immune responses that regulate and maintain by antigen-specific T cell is beneficial to the development of anti-TB vaccine. As to provide theoretical basis for clinical work and scientific method.

**Key words:** *Mycobacterium tuberculosis*; T cells; Antigen; Cell immune

**Chinese Library Classification(CLC):** R37 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2014)18-3593-03

结核病是全球流行的传染病之一,该病是由结核分枝杆菌(*mycobacterium tuberculosis*, Mtb 简称结核杆菌)引起的慢性传染病,可累及全身各器官。近几年,由于耐多药结核杆菌的出现,结核病的研究又成了热点话题之一。Wang C C<sup>[1]</sup>等研究报道目前全球预防结核的疫苗只有卡介苗,而且对成人肺结核效果差,因此对免疫学领域提出了新的挑战。该细菌具有持久性的特点,为胞内寄生菌,特异性免疫以细胞免疫为主,深入了解抗原特异性 T 细胞调节及其免疫应答的机制,有助于抗结核疫苗的研制。本文就 T 细胞介导的细胞免疫应答在结核杆菌感染过程中的研究进展作一综述。

### 1 T 细胞免疫中的主要结核分枝杆菌靶抗原

#### 1.1 ESAT-6

结核分枝杆菌早期分泌的抗原靶-6 (early secreted antigen target-6, ESAT-6)<sup>[2]</sup>是由 RD-1 区基因编码的一种蛋白质,属于 Mtb 早期分泌蛋白。此蛋白质只存在于结核分枝杆菌复合群和少数致病性分枝杆菌基因组中,而卡介苗(BCG)菌株基因组中丢失编码 ESAT-6 的基因。有研究表明<sup>[3]</sup>ESAT-6 是 T 细胞的重要抗原,是一个潜在的候选疫苗,同时也是一个毒力因子,介导致病性。这样的疫苗正在设计和研制中,以便日后用于临床预防。

由于 T 细胞不能识别完整的天然抗原分子,需要抗原提呈细胞(APC)先将抗原降解。为了更好的了解 ESAT-6 的作用,研究了树突状细胞(DC)对 ESAT-6 的影响。DC 活化可分泌细

\* 基金资助:国家自然科学基金项目(81260456)

作者简介:董毅(1985-),男,研究生,研究方向:感染与免疫,E-mail:448363659@qq.com

<sup>△</sup> 通讯作者:吴利先,教授,基础医学院微免教研室,E-mail:w-lixian@163.com

(收稿日期:2013-11-28 接受日期:2013-12-25)

胞因子,如:IL-12、IL-23、IL- $\beta$ 等,其中后两种细胞因子可以促进 Th17 细胞产生 IL-17。Okamoto Yoshida Y 等<sup>[4]</sup>指出 IL-17A 基因缺失可以增加杆菌的负担,促使受损的肉芽肿形成。此外,IL-17 的研究对结核疫苗的研制做出了巨大的贡献,但是,在反复接种卡介苗(BCG)的小鼠实验研究中发现,它也可以介导组织损伤,且在慢性感染中的保护作用较小<sup>[56]</sup>。

### 1.2 Ag85 复合物

Ag85<sup>[7]</sup>是结核杆菌早期细胞壁分泌的另一种蛋白质,包含 3 个亚型:Ag85A、Ag85B、Ag85C。虽然它由 3 种同源蛋白质组成,但由于它们的基因、启动子、转录单位各不相同,因此所表达的分子生物学功能不同。Ag85 具有结核杆菌酸转移酶的活性,在细胞壁合成过程中发挥主要作用;Ag85 复合物能与人的纤维结合蛋白(FN)结合,又因其可以粘附于 T 细胞的表面,故作为细胞毒作用的靶抗原。

Ag85A 和 Ag85B 都具有免疫保护性反应,且 Ag85B 的免疫保护性比 Ag85A 强,而 Ag85C 无免疫保护性。有研究显示<sup>[8]</sup> Ag85B 含有多个 HLA-A 限制性表位,可激发较强的 Th1 细胞免疫,引起 CD8<sup>+</sup>T 增殖和 IFN- $\gamma$  的分泌。Ag85B 同时含有多个受 HLA-D 限制的表位,可刺激 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞增殖和 IFN- $\gamma$  的分泌。因此,Ag85B 是重要靶抗原,在细胞免疫反应中起到了重要的作用。

### 1.3 MPT64

MPT64<sup>[9]</sup>是由结核杆菌分泌的又一种蛋白质,由 RD-2 区基因编码,并且有高度特异性。MPT64 主要存在于结核分枝杆菌的复合群和部分 BCG 菌株中,在其它 BCG 菌株中该蛋白是缺失的。

大多数结核病患者和结核感染者的免疫系统能识别 MPT64 这一抗原,并刺激机体 T 细胞增殖反应和诱导 IFN- $\gamma$  分泌,对细胞免疫应答起到重要作用<sup>[10]</sup>。分泌蛋白 MPT64 可作为结核病快速、高效、特异、敏感的血清学检测指标。因此,MPT64 作为 Mtb 的重要抗原,为疫苗的研究提供了重要的基础和条件。

## 2 T 细胞抗结核杆菌免疫应答的机制

### 2.1 结核杆菌通过抑制细胞凋亡延迟细胞应答

结核杆菌不但可以抑制细胞凋亡延迟,也可以减弱 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 细胞免疫应答的能力。结核杆菌通过产生 UreC 蛋白,抑制巨噬细胞早期吞噬体的酸化过程,从而抑制吞噬体的溶菌酶杀菌,致使不能诱导 MHC I 类提呈和激活 CD8 CTL 应答。此外,结核杆菌通过抑制细胞凋亡延迟 T 细胞应答与 IFN- $\gamma$  分泌有关。在结核杆菌感染的小鼠实验中,IFN- $\gamma$  一方面通过调节对细胞凋亡的敏感性发挥免疫作用;另一方面改变细胞凋亡信号水平作用于 T 细胞,促进其凋亡,从而发挥其免疫应答机制<sup>[11]</sup>。

IFN- $\gamma$  在控制人类结核中发挥着重要作用,有动物实验研究报告<sup>[12]</sup>:在小鼠感染结核过程中,IFN- $\gamma$  在控制结核中起着非常重要的作用,在急性感染期控制细菌的生长和繁殖。IFN- $\gamma$  具有激活巨噬细胞清楚结核感染的功能,因此保护性免疫需要诱导分泌 IFN- $\gamma$  的 CD4<sup>+</sup>T 细胞应答及 CD8 T 细胞应答。

### 2.2 结核感染过程中 T 细胞免疫调节作用

近年在人和小鼠体内发现某些 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群具有显著免疫抑制作用,调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg),可通过不同途径作用于多种靶细胞,从而对免疫应答进行精细的负调节。Ryan P Larson 等<sup>[13]</sup>研究显示:表达转录因子 FoxP3 的天然调节 T 细胞在结核杆菌慢性感染中发挥重要作用,可以抑制 Th1 和 Th2 免疫反应,产生肿瘤生长因子(TGF) $\beta$ ,TGF- $\beta$  能缓冲促炎症反应,保护机体组织免受损伤,同时肺内长期持续存在的 Treg 细胞在结核杆菌慢性感染过程中起免疫应答调节作用。

此外,IFN- $\gamma$  信号调节网络作用在结核感染过程中起到关键作用。Griffiths K L 等<sup>[14]</sup>研究指出:细胞上均表达 IFN- $\gamma$  的小鼠感染结核后,肺内就会产生过量的中性粒细胞,随着中性粒细胞浸润,免疫调节机制发挥作用,出现异常性炎症;肺组织内的 IL-17 和 IL-23 呈显著表达,从而促进 Th17 细胞的终末分化和维持其生存。因此,在结核慢性感染过程中,Treg 细胞和 IFN 产生的水平在细胞免疫应答过程中发挥了重要的免疫调节作用。

### 2.3 结核感染过程中 T 细胞免疫应答的维持

慢性抗原刺激机体对维持抗结核杆菌特异性 T 细胞的应答有重要作用。结核病急性期主要有 Ag85B 抗原表达分泌,在感染急、慢性期均有 ESAT-6 抗原的表达,识别 ESAT-6 的 T 细胞具有效应 T 细胞的特征性表面标志物,并且呈现较高水平的增殖表达<sup>[15]</sup>。一般而言,效应性 T 细胞寿命是短暂的,在一定时间内受抗原刺激增殖后死亡。抗原被清除后产生抗原特异性记忆性 T 细胞,记忆性 T 细胞可长期存活,对 T 细胞应答的维持起到重要的作用。

Lin CW 等<sup>[16]</sup>研究表明 IL-12 在维持 Th1 效应细胞中发挥十分重要的作用,IL-12 在结核感染中,可诱导初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞分化,其分化可促使 IFN- $\gamma$  的合成,在细胞免疫应答中起着至关重要的作用,因此控制结核感染需要机体内 IL-12 的长期持续性表达。IL-12 可以促进 CD4<sup>+</sup>Th0 细胞分化 Th1,促进 IFN- $\gamma$  的合成,对 T 细胞应答的维持起关键性作用。

## 3 结核感染过程中 T 细胞亚群参与的细胞免疫

### 3.1 T 细胞亚群的分类

T 细胞分化途径不同,产生的生物学功能也不同。根据表面标志及功能的不同可将 CD4<sup>+</sup>T 分为辅助性 T 细胞(help T lymphocyte, Th)、Th17 细胞和调节性 T 细胞。CD4<sup>+</sup>Th 细胞按其所产生的细胞因子谱,可分为 Th1 和 Th2 细胞。根据 T 细胞表面 CD 分子,将成熟 T 细胞分成 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 型细胞。

### 3.2 CD4<sup>+</sup>T 细胞在结核感染免疫反应中的作用

在 T 淋巴细胞亚群中,CD4<sup>+</sup>T 细胞在抵抗结核杆菌感染过程中发挥主要的免疫应答作用。结核杆菌最早存在于巨噬细胞中,通过呈递结核杆菌抗原给 CD4<sup>+</sup>T 细胞,使机体最终感染结核杆菌。因此,CD4<sup>+</sup>T 细胞在抗结核感染保护性免疫反应中起着重要的作用<sup>[17]</sup>。

CD4<sup>+</sup>T 细胞通过激活和趋化巨噬细胞,使其杀灭结核杆菌。CD4<sup>+</sup>T 细胞产生的细胞因子分别是 IFN- $\gamma$  及 IL-2 等,从而激活巨噬细胞发挥作用,使其抑制细胞内结核杆菌的生长。CD4<sup>+</sup>T 细胞对结核分枝杆菌抗原也可表现出较高的增殖免疫

应答,提示记忆性 CD4<sup>+</sup>T 细胞对抵抗再次入侵的结核杆菌有积极保护作用<sup>[18]</sup>。

### 3.3 CD8<sup>+</sup>T 细胞在结核感染免疫反应中的作用

结核杆菌抗原通过与 MHC II 类分子结合,优先诱导 CD4 T 细胞应答,而单纯的 CD4 T 细胞应答无法彻底清除结核杆菌,因此,还需 CD8 T 细胞的参与。

有学者报道<sup>[9]</sup>,研究大量基因蛋白缺失的小鼠,由于丧失了 CD8<sup>+</sup>T 细胞功能,而极易患结核杆菌的感染,该结果表明 CD8<sup>+</sup>T 细胞与保护性免疫有关。CD8<sup>+</sup>T 细胞常被认为是细胞毒性 T 淋巴细胞,通过颗粒胞吐作用发挥功能,主要是通过穿孔素等细胞毒性分子的介导,发挥毒性杀伤作用溶解靶细胞,最终使感染的靶细胞凋亡。

有学者<sup>[20]</sup>采用综合性方法分析了大量相关资料,通过建立肺结核感染的免疫应答模型,然后对该模型进行测试,发现即使很小的 CD8<sup>+</sup>T 细胞记忆效应也能发挥有效保护作用。因此,诱导分泌 IFN- $\gamma$  的 CD8<sup>+</sup>T 细胞应答是保护性免疫的重要组成部分。

## 4 结语

总之,结核杆菌可以通过细胞免疫途径,最终达到诱导保护性免疫或限制保护性免疫的目的。为此,系统、全面的了解 T 细胞介导的免疫对构建疫苗起到举足轻重的作用,并且为诊断和治疗此病提供了依据。虽然从细胞和分子水平对结核病免疫仍需进一步研究,但随着分子免疫学和分子生物学的迅猛发展,结核病的免疫治疗必将取得突破性的进展。

### 参考文献(References)

- [1] Wang C C, Zhu B, Fan X, et al. Systems approach to tuberculosis vaccine development [J]. *Respirology*, 2013,18(3):412-420
- [2] Xisheng Wang, Peter F Barnes, Fangfang Huang, et al. Early Secreted Antigenic Target of 6-kDa Protein of Mycobacterium tuberculosis Primes Dendritic Cells To Stimulate Th17 and Inhibit Th1 Immune Responses[J]. *The Journal of Immunology*, 2012,189:3092-3103
- [3] Aagaard C T, Hoang J, Dietrich P J, et al. A multistage tuberculosis vaccine that confers efficient protection before and after exposure [J]. *Nat Med*, 2011,17:189-194
- [4] Okamoto Yoshida Y, Umemura M, Yahagi A, et al. Essential role of IL-17A in the formation of a mycobacterial infection-induced granuloma in the lung[J]. *The Journal of Immunology*, 2010,184:4414-4422
- [5] Cruz A, Fraga A G, Fountain J J, et al. Pathological role of interleukin 17 in mice subjected to repeated BCG vaccination after infection with Mycobacterium tuberculosis [J]. *J Exp Med*, 2010,207:1609-1616
- [6] Khader S A, Guglani L, Rangel-Moreno J, et al. IL-23 is required for long-term control of Mycobacterium tuberculosis and B cell follicle formation in the infected lung [J]. *Immunol*, 2011,187:5402-5407
- [7] Chih Jung Kuo, Christopher P Ptak, Ching Lin Hsieh, et al. Elastin, a Novel Extracellular Matrix Protein Adhering to Mycobacterial Antigen85 Complex [J]. *The Journal of biological chemistry*, 2013,288(6):3886-3896
- [8] Wu Gang, LV Bing, Sun Min, et al. Cloning and Expression of the Ag85B Protein from Mycobacterium Tuberculosis [J]. *China Preventive Medicine*, 2009,10(2):87-89
- [9] Changtai Zhu, Jinming Liu, Yang Ling, et al. Evaluation of the clinical value of ELISA based on MPT64 antibody aptamer for serological diagnosis of pulmonary tuberculosis [J]. *BMC Infectious Diseases*, 2012,12:96
- [10] Martin A, Bombeeck D, Mulders W, et al. Evaluation of the TB Ag MPT64 Rapid test for the identification of Mycobacterium tuberculosis complex [J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2011,15(5):703-705
- [11] Tobin D M, Vary J C Jr, Ray J P, et al. The It4h locus modulates susceptibility to mycobacterial infection in zebrafish and humans [J]. *Cell*, 2010,140(5):717-730
- [12] Angela M. Green, Robert DiFazio, JoAnne L, et al. IFN- $\gamma$  from CD4 T Cells Is Essential for Host Survival and Enhances CD8 T Cell Function during Mycobacterium tuberculosis infection [J]. *The Journal of Immunology*, 2013, 107(45):19408-19413
- [13] Griffiths K L, Pathan A A, Minassian A M, et al. Th1 /Th17 cell induction and corresponding reduction in ATP consumption following vaccination with the novel Mycobacterium tuberculosis vaccine MVA-85A [J]. *PLoS One*, 2011,6(8) :e23463-e23463
- [14] Reiley W W, Shafiani S, Wittmer S T, et al. Distinct functions of antigen-specific CD4 T cells during murine Mycobacterium tuberculosis infection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010,107 (45):19408-19413
- [15] Chih-Jung Kuo, Christopher P Ptak, Ching-Lin Hsieh, et al. Elastin, a Novel Extracellular Matrix Protein Adhering to Mycobacterial Antigen 85 Complex [J]. *The Journal of biological chemistry*, 2013,288 (6):3886-3896
- [16] Lin CW, Su IJ, Chang JR, et al. Recombinant BCG coexpressing Ag85B, CFP10 and interleukin-12 induces multifunctional Th1 and memory T cells in mice [J]. *APMIS*, 2012,120(1):72-78
- [17] Raja A. Immunology of tuberculosis [J]. *Indian J Med Res*, 2004,120 (4):213-232
- [18] O Garra A, Redford P S, McNab F W, et al. The Immune Response in Tuberculosis [J]. *Annu Rev Immunol*, 2013,31:475-527
- [19] Axelsson-Robertson R, Loxton AG, Walzl G, et al. A Broad Profile of Co-Dominant Epitopes Shapes the Peripheral Mycobacterium tuberculosis Specific CD8<sup>+</sup> T-Cell Immune Response in South African Patients with Active Tuberculosis [J]. *PLoS One*, 2013,8 (3): e58309-e58309
- [20] Sud D, Bigbee C, Flynn JL, et al. Contribution of CD8<sup>+</sup> T cells to control of mycobacterium tuberculosis infection [J]. *The Journal of Immunology*, 2006,176(7):4296-4314