

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.05.049

CD4⁺CD25⁺Treg 细胞在类风湿关节炎中的研究进展*

赵艳宁 杨帆 彭静 范雪梅 李月 元绍苓 李洋[△]

(哈尔滨医科大学附属第二医院 风湿免疫科 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:调节性T细胞(Tregs)是近年来发现的一群具有免疫调节作用的CD4⁺T细胞亚群,如Th3、Tr1细胞等。因其能够产生多种具有免疫抑制作用的细胞因子而发挥其免疫负调节作用,不但在维持机体自身耐受方面发挥重要作用,在预防自身免疫性疾病方面也占据重要位置。其中CD4⁺CD25⁺Treg因其具有独特的作用方式及功能特征,而被学者广泛关注。近年来,关于CD4⁺CD25⁺Treg在类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)发病机制中的作用以及在RA治疗方面的应用也越来越受到人们的关注,认为其数目减少或功能失调与RA发病密切相关。RA是一种以关节破坏为主要表现的慢性炎症性疾病,病理早期主要表现为毛细血管生成,滑膜增生,后期主要表现为炎性细胞浸润,血管翳形成,并出现关节软骨以及骨的破坏,最终导致关节畸形及功能障碍。本文将CD4⁺CD25⁺Treg与RA的研究进展做一综述。

关键词:调节性T细胞;类风湿关节炎

中图分类号:R593.22 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)05-988-03

Research Progress of CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cells in Rheumatoid Arthritis*

ZHAO Yan-ning, YANG Fan, PENG Jing, FAN Xue-mei, LI Yue, YUAN Shao-ling, LI Yang[△]

(Department of Rheumatology and Immunology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

ABSTRACT: Regulatory T cells (Tregs) are a subset of CD4⁺T cells with immune-regulatory function which were discovered in recent years, such as Th3 and Tr1 cells, the immunosuppressive effect can be exerted through producing a variety of immunosuppressive cytokines, which play an important role not only in maintaining the immune tolerance, but also in preventing autoimmune diseases. Among these Tregs, CD4⁺CD25⁺Tregs are widely concerned because of their unique mode of action and functional characteristics. In recent years, the effect of CD4⁺CD25⁺Tregs in the pathogenesis mechanism of RA and the use of CD4⁺CD25⁺Tregs in RA treatment has received wide public attention from people. It is considered that their decrease in the number or dysfunction is closely related to the pathogenesis of RA. RA is characterized by progressive joint damage. Early stages of disease progression are defined by capillary formation, hyperplasia of the synovial membrane. Established RA exhibits cellular infiltration, pannus formation, cartilage degradation and bone erosion, and eventually induces the joint deformity and dysfunction. Here is a review of the research progress of CD4⁺CD25⁺Tregs in RA.

Key words: Regulatory T Cells; Rheumatoid Arthritis

Chinese Library Classification(CLC): R593.22 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2015)05-988-03

CD4⁺CD25⁺Treg是一群具有免疫调节和免疫抑制作用的T细胞亚群,因其具有免疫负调节作用,在抑制机体自身免疫性疾病的发生以及诱导移植耐受和肿瘤免疫的调节方面都发挥极其重要的作用,参与维持机体内环境的稳定。RA是一种常见的以关节滑膜炎为主要表现,以慢性破坏性多关节炎为主要特征的自身免疫性疾病,疾病的发生发展与T细胞介导的免疫异常相关,研究表明,Treg在类风湿关节炎的发病机制中起重要作用^[1,2]。本文结合近年来关于CD4⁺CD25⁺Treg在RA中的研究进展作一总结,以为进一步研究RA的治疗打下基础。

1 CD4⁺CD25⁺Treg 的分类

根据Treg细胞的来源和分化的不同可以将其分为两大类

^[3]:①天然Treg(nTreg):天然的CD4⁺CD25⁺Treg在胸腺内分化发育产生,持续表达IL-2受体α链,即CD25分子,并表达特异性核转录因子Foxp3(叉头状/翅膀状螺旋转录因子),此种Treg主要通过细胞间的接触来抑制效应性T细胞的活化与增殖,在预防自身免疫性疾病方面发挥作用。②诱导性Treg(iTreg):在外周淋巴组织中,CD4⁺CD25⁺Treg经低剂量抗原刺激或免疫抑制因子(IL-10、TGF-β等)诱导下也可以转化为CD4⁺CD25⁺Treg^[4],主要包括Tr1、Th3细胞以及CD8⁺调节性T细胞(CD8⁺Treg)。这些Treg主要通过分泌抑制性细胞因子的方式发挥免疫负调节作用^[5],CD8⁺Treg对自身反应性CD4⁺T细胞具有抑制活性,并可抑制移植排斥反应。

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(30972739)

作者简介:赵艳宁(1985-),女,硕士研究生,主要研究方向:风湿性疾病,电话:13946012749, E-mail: zyn1466@163.com

△ 通讯作者:李洋,女,主任医师,主要研究方向:风湿性疾病, E-mail: lyang323@hotmail.com

(收稿日期:2014-04-28 接受日期:2014-05-23)

2 CD4⁺CD25⁺Treg 的免疫调节机制

CD4⁺CD25⁺Treg 主要通过三种途径发挥免疫调节作用:①细胞直接接触介导抑制:研究表明,CD4⁺CD25⁺Treg 在体外的活化需要抑制性辅助因子的参与,其中糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR)和细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)在介导其抑制过程中发挥了重要的作用,一般认为,GITR 主要向 Treg 提供活化信号,而 CTLA-4 主要起到增强其抑制功能的作用。人类和小鼠 CD4⁺CD25⁺Treg 表面均表达 CTLA-4,CTLA-4 与效应细胞上的 CD80/CD86 结合,将抑制信号逆向传递给效应细胞,从而抑制效应细胞的功能^[6]。②分泌抑制性细胞因子介导抑制:如 IL-10,TGF- β 和 IL-2 等,这些细胞因子均广泛参与 Treg 的免疫抑制过程。有研究发现,TGF- β 受体 II 敲除的小鼠的胸腺细胞在接受阴性选择过程中更容易凋亡,nTreg 在 CD4 单阳性细胞的比例也大大降低,研究中还发现这些小鼠对外周自身免疫源的接触也更易于引起免疫反应^[7];而用 TGF- β 转导的间充质干细胞对 CIA 小鼠进行治疗时,不仅能明显阻止其关节炎的发展,并检测到 Foxp3 的表达增多^[8]。IL-2 是一种细胞增殖信号,CD4⁺CD25⁺Treg 上的 CD25 分子是 IL-2R α 链,且在 CD4⁺CD25⁺Treg 上高表达,因此能够与效应细胞竞争性结合 IL-2,从而抑制效应细胞的增殖^[9]。③表达特异性转录因子 Foxp3:Foxp3 是目前公认的 Treg 的表面特异性标志^[10],特定表达在 CD4⁺CD25⁺Treg 内,不受活化状态的影响,在其发育以及维持功能方面发挥重要作用。研究表明人类 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD4⁺CD25⁺Treg 上均表达 Foxp3,但在前者中高表达,因此推测 Foxp3 是 CD4⁺CD25⁺Treg 发挥免疫抑制作用的主要因素^[11,12]。

3 CD4⁺CD25⁺Treg 与 RA 发病机制的关系

RA 是一种常见的以多关节慢性滑膜炎为特征的自身免疫性疾病,免疫功能的紊乱是导致该病的关键。既往研究发现 RA 患者在疾病活动期其外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 的细胞数目有所减少,并且 Foxp3 的表达也较正常对照组减低^[13];许多体内外实验还证实 RA 患者 Treg 表达的 CTLA-4 也明显减少,且 CTLA-4 的细胞内摄取作用增强^[14]。从这些研究结果可以看出 RA 的发生发展与 CD4⁺CD25⁺Treg 及其细胞表面 Foxp3 和 CTLA-4 的表达密切相关,其数目减少严重影响了机体正常的免疫调节功能,使 Treg 的抑制作用减弱,最终导致 RA 的发生及病情的恶化。

TOLL 样受体(Toll-like receptors, TLRs)属于一种模式识别受体,在连接天然免疫及适应性免疫方面发挥重要作用,研究表明 Treg 细胞上选择性表达 TLRs,激活后可影响 Treg 的功能。Caramalho 等^[15]首先报导了小鼠的 CD4⁺CD25⁺Treg 上选择性表达 TLR4、TLR5、TLR7 及 TLR8,用 LPS(TLR4 的配体)刺激该细胞后能明显增强其增殖活性及抑制功能。人的 CD4⁺CD25⁺Treg 经 LPS 刺激后能明显增强其抑制中性粒细胞的功能,并促进后者的凋亡^[16]。Oberge 等^[17]报导低浓度的细菌鞭毛蛋白(TLR5 的配体)能够促进人 Treg 细胞表面 Foxp3 的表达增加。Forward 等^[18]报导 TLR7 可以通过提高 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞对 IL-2 的敏感性来增强其抑制活性。又有研究表明,热休克蛋白(HSP)60(TLR2 的内源性配体)作用于人 CD4⁺CD25⁺Treg

的 TLR2 后,可使后者对 CD4⁺CD25⁺Treg 和 CD8⁺T 细胞的抑制功能均大大增强^[19]。此外,Hackl 等^[20]报导 TLRs 还可以通过刺激 DC 细胞分泌 IL-6 等细胞因子间接作用于 Treg 细胞,下调 Treg 细胞对效应性 T 细胞的免疫抑制功能。这些研究结果表明,TLRs 在增强或削弱 CD4⁺CD25⁺Treg 的功能方面发挥了重要的作用,可以通过直接或间接的方式影响 CD4⁺CD25⁺Treg 的免疫功能。

Th17 细胞是一群以高分泌 IL-17 为特征的 CD4⁺T 细胞,可表达 IL-17A、IL-17F、IL-6 等炎症性细胞因子,已有研究表明,早期 RA 患者的血清及关节液中即高表达 IL-17^[21,22];Th17 细胞的比率增加和 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞比率降低所致的 Th17/Treg 细胞比率失衡,在 RA 的发生发展中也起重要作用^[23]。

Cao 等^[24]对 RA 患者体内 Treg 研究时发现,RA 患者关节滑液中 CD4⁺CD25⁺Treg 表达与外周血相比显著增高,而且两者在体外都能抑制效应性 T 细胞的增殖。由此推测,在疾病活动期 CD4⁺CD25⁺Treg 经由外周血迁移到炎症部位以控制疾病发展,因此导致外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 的比例减低。但是,RA 患者局部关节液中 CD4⁺CD25⁺Treg 的数量虽然增多,但却未能控制病情进展,由此怀疑 RA 患者的滑膜液中存在多种 CD4⁺CD25⁺Treg 的抑制因子,如 IL-6, TNF- α 等,其中 TNF- α 可以表达于 Treg 上的 TNFR2,从而使其表面特异性细胞因子 Foxp3 的表达减少,最终影响 Treg 细胞的抑制功能^[25];另有研究表明,外周的 CD4⁺CD25⁺Treg 在 TGF- β 的诱导下可以转化为 CD4⁺CD25⁺Treg,但在 IL-6 和 TGF- β 的共同作用下,Th0 细胞会向 Th17 细胞方向分化,可以消除 Treg 的抑制功能^[26]。

TGF- β 在 RA 发病机制中的作用,一直是人们关注的热点,它在诱导获得性 Treg 以及促进和维持其免疫抑制过程中发挥重要作用。之前有研究报导 nTreg 在体外具有抑制破骨细胞的作用,而最近有研究报道,由 TGF- β 诱导的 CD4⁺Foxp3⁺Treg(iTreg)在体外也具有抑制破骨细胞的作用,并能抑制 CIA 的病情进展,而且这种抑制作用即使在 IL-6 存在的情况下也仍然存在,而 nTreg 在 IL-6 存在的情况下却失去了此作用^[27],结果表明 iTreg 在抑制 CIA 大鼠破骨细胞生成及骨侵蚀方面更优于 nTreg,这也提示我们利用 iTreg 来控制 RA 的疾病活动性将会起到更加积极的治疗作用。

利用抗原特异性的 Treg 来治疗 RA 的想法一直备受人们关注,最近有研究表明,将 HSP70 表位 B29 诱导的 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 以及 CD4⁺CD25⁺LAG-3⁺Treg 过继转移给蛋白多糖诱导性关节炎小鼠后均表现出强大的免疫抑制作用,可以显著抑制关节炎小鼠的疾病进展^[28]。

4 在生物制剂治疗中的作用

近年来生物制剂在类风湿关节炎治疗中展现出了独特的疗效,其中抗 TNF- α 药物的使用已使患者的临床症状及病情活动性都得到了极大的改善。既往研究显示,抗 TNF- α 治疗后患者炎症局部 TNF- α 等炎症性细胞因子显著减少,外周血中 Treg 的数量及抑制功能也得以恢复,由此推断,抗 TNF- α 药物的治疗作用可能是通过抑制炎症细胞因子的产生,从而恢复抗炎、促炎细胞因子之间比例的平衡,最终使 Treg 的抑制功能得以恢复;但最近又有研究表明,部分患者经抗 TNF- α 药物治疗后,外周血中 IL-17 的比例较对照组显著增高^[29],这就解释了为什么部分患者在经抗 TNF- α 治疗后没有取得令人满意的疗

效,甚至在停药后迅速复发,这也提示我们,应用抗 TNF- α 药物联合抗 IL-17 治疗 RA 可能取得更好的疗效。此外,近年来 CTLA-4 抗体融合蛋白即阿巴西普在 RA 患者治疗中也取得显著的疗效,尽管在理论上 CTLA-4 抗体融合蛋白的使用可以抑制患者体内 Treg 细胞的活化,但研究发现,疾病活动期 RA 患者接受 12 周的阿巴西普治疗后,不仅其临床症状显著改善,而且外周血中 IL-17A 的表达显著降低而 Foxp3 的表达显著增高^[9],这一结果提示阿巴西普对于 Th1/Th17 细胞活化的抑制是其主要的作用,其对于 RA 的治疗作用是通过恢复 Th17/Treg 细胞之间的失衡而实现的。

5 结语

尽管目前对 Treg 的研究已取得了重大进展,但关于 Treg 的作用机制以及在 RA 中的确切作用仍需进一步研究,使其在 RA 及其它的自身免疫性疾病的靶向治疗中得到更好的应用。

参考文献(References)

- [1] Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4⁺CD25⁺ FOXP3⁺ regulatory T cells in human autoimmune diseases [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 849-859
- [2] Lahoute C, Herbin O, Mallat Z, et al. Adaptive immunity in atherosclerosis: Mechanisms and future therapeutic target[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8: 348-358
- [3] Langier S, Sade K, Kivity S. Regulatory T cells in allergic asthma[J]. *Isr Med Assoc J*, 2012, 14: 180-183
- [4] Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. Natural and Adaptive Foxp3⁺Regulatory T Cells: more of the same or a division of labor? [J]. *Immunitiy*, 2009, 30: 626-635
- [5] Pukhal'skii A L, Shmarina G V, Aleshkin V A . Regulatory T cells: modern approaches to optimization of their numbers [J]. *vestn Ross Akad Med Nauk*, 2011,(8): 24-33
- [6] Paust S, Lu L, Mc Carty N, et al. Engagement of B7 on effector T cells by regulatory T cells prevents autoimmune disease[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 10398-10403
- [7] Ouyang W, Beckett O, Ma Q. Transforming growth factor-beta signaling curbs thymic negative selection promoting regulatory T cell development[J]. *Immunity*, 2010, 32: 642-653
- [8] Park MJ, Park HS, Cho ML, et al. Transforming growth factor β -transduced mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune arthritis through reciprocal regulation of Treg/Th17 cells and osteoclastogenesis cells[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63:1668-1680
- [9] Von Boehmer H. Mechanisms of suppression by suppressor T cells [J]. *Nature Immunology*, 2005, 6: 338-344
- [10] Sakaguchi S, Miyara M, Costantino CM, et al. Foxp3⁺ regulatory T cells in the human immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 490-500
- [11] Morgan ME, van Bilsen JH, Bakker AM, et al. Expression of FoxP3 mRNA is not confined to CD4⁺CD25⁺regulatory T cells in humans [J]. *Hum Immunol*, 2005, 66: 13-20
- [12] Suciu-Foca N, Manavalan J S, Scotto L, et al. Molecular characterization of allospecific T suppressor and tolerogenic dendritic cells: review[J]. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5: 7-11
- [13] Ryder LR, Woetmann A, Madsen HO, et al. Expression of full-length and splice forms of FoxP3 in rheumatoid arthritis [J]. *Scandinavian J Rheumatol*, 2010, 9: 279-286
- [14] Flores-Borja F, Jury EC, Mauri C, et al. Defects in CTLA-4 are associated with abnormal regulatory T cell function in rheumatoid arthritis [J]. *Proc Natl Acad sci USA*, 2008, 105:19396-19401
- [15] Caramalho I, Lopes-Carvalho T, Ostler D, et al. Regulatory T cells selectively express toll-like receptors and are activated by Lipopolysaccharide[J]. *J Exp Med*, 2003, 197:403-411
- [16] Lewkowicz P, Lewkowicz N, Sasiak A, et al. Lipopolysaccharide-activated CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells inhibit neutrophil function and promote their apoptosis and death [J]. *J Immunol*, 2006, 177: 7155-7163
- [17] Oberg H H, Juricke M, Kabelitz D, et al. Regulation of T cell activation by TLR ligands[J]. *Eur J Cell Biol*, 2011, 90: 582-592
- [18] Forward N A, Furlong S J, Yang Y, et al. Signaling through TLR7 enhances the immunosuppressive activity of murine CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2010, 87:117-125
- [19] Zanin-Zhorov A, Cahalon L, Tal G, et al. Margalit R, et al. Heat shock protein 60 enhances CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell function via innate TLR2 signaling[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116:2022-2032
- [20] Hackl D, Loschko J, Sparwasser T, et al. Activation of dendritic cells via TLR7 reduces Foxp3 expression and suppressive function in induced Tregs[J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41: 1334-1343
- [21] Metawi SA, Abbas D, kamal MM, et al. Serum and synovial fluid levels of interleukin-17 in correlation with disease activity in patients with RA[J]. *Clin Rheumatol*, 2011, 30:1201-1207
- [22] Himer L, Balog A, Szebeni B, et al. Role of Th17 cells in rheumatoid arthritis[J]. *Orv Hetil*, 2010, 151:1003-1010
- [23] Nistala K, Wedderburn LR. Th17 and regulatory T cells: rebalancing pro-and anti-inflammatory forces in autoimmune arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2009, 48: 602-606
- [24] Cao D, Malmstrom V, Baecher-Allan C, et al. Isolation and of regulatory CD25⁺CD4⁺T cells from the large organ of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Eur Immunol*, 2003, 33:215-223
- [25] Xavier V, Geoffrey S, Peyer E, et al. TNF down-modulates the function of human CD4⁺CD25⁺T regulatory cells [J]. *Blood*, 2006, 108: 253-261
- [26] Zhou L, Lopes J E, Chong MM, et al. TGF-beta-induced Foxp3 inhibit T (H) by antagonizing ROR gamma function [J]. *Nature*, 2008, 453: 236-240
- [27] Kong N, Lan Q, Chen M, et al. Induced T regulatory cells suppress osteoclastogenesis and bone erosion in collagen-induced arthritis better than natural T regulatory cells [J]. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71: 1567-1572
- [28] Van Herwijnen MJC, Wieten L, Van der Zee R, et al. Regulatory T cells that recognize a ubiquitous stress-inducible self-antigen are long-lived suppressors of autoimmune arthritis[J]. *Proc Natl Acad sci USA*, 2012,109: 14134-14139
- [29] Alzabin S, Abraham SM, Taher TE, et al. Incomplete response of inflammatory arthritis to TNF α blockade is associated with the Th17 pathway[J]. *Ann Rheum Dis*, 2012,71:1741-1748
- [30] 包智慧,李秀,李洋. 重组人细胞毒T淋巴细胞相关抗原 4 抗体融合蛋白对类风湿关节炎患者外周血 T 淋巴细胞的影响[J]. *中华风湿病学杂志*, 2012,16: 383-387
- Bao Zhi-hui, Li Xiu, Li Yang. The effect of recombinant human CTLA-4Ig fusion protein on T lymphocytes in active rheumatoid arthritis patients [J]. *Chin J Rheumatol*, 2012, 16:383-387