

CD₄⁺CD₂₅⁺ 调节性 T 细胞、Foxp3 与多发性硬化的关联

于周 李作孝

【关键词】 调节性 T 细胞; 叉头翼状螺旋转录因子 -3; 多发性硬化
【中图分类号】 R744.51 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-8925(2009)01-0098-03

Association of CD₄⁺CD₂₅⁺ regulatory T cells and Foxp3 with multiple sclerosis YU Zhou, LI Zuo-xiao. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China

【Key words】 Regulatory T cells; Foxp3; Multiple sclerosis

调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)是一类具有免疫调节功能的 T 细胞亚群,它们在维持外周免疫耐受、预防自身免疫性疾病的发生过程中起着重要作用。CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 是 Treg 的主要组成部分,能特异性、成组性表达叉头翼状螺旋转录因子 -3 (forkhead winged helix transcription factor-3, Foxp3),Foxp3 对 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的发育和功能调控起着重要的作用。多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是中枢神经系统常见的自身免疫性疾病,其确切的病因及发病机制目前尚不清楚。随着对 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 认识的不断深入,它在 MS 发病中的作用越来越受到人们的重视,本文将对 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的生物学特性、Foxp3 的重要作用以及三者之间的关系等方面作一综述。

一、CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的来源

根据 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的来源不同,可将其分为天然型 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 和诱导型 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg,但两类不同来源的 Treg 在具体功能与作用机制上的差异目前还不清楚。

1. 天然型 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg:天然型 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 是由胸腺自然分化发育而来的一个主要 Treg。Rafal 等^[1]研究表明,CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 在 CD₄⁺T 细胞胸腺的自然选择过程中产生,其分化不依赖于阳性选择,而是由 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)与低密度主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)-II 类肽复合物或胸腺内皮细胞递呈的外周自身肽间高亲和力反应所介导。也有学者认为是胸腺中 CD₄⁺T 细胞受到中等强度的抗原刺激,活化后表达 CD₂₅ 分子并获得抑制性调节活性^[2]。然而 Klein 等^[3]通过转基因小鼠实验推测,自然出现的 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞很可能是来自“内置了抑制性程序的特殊谱系”,但并未发现任何相关的前体细胞。

2. 诱导型 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg:在特定的免疫环境中,抗原刺激的成熟 T 细胞也可发育为 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg, IL-2、转化生长因子-β (transforming growth factor, TGF-β)、IL-10 可通过增强 CD₄⁺T 细胞表面 Foxp3 基因的表达诱导该 Treg 亚群的产生。

生^[4]。而 IL-6 介导的信号转导可抑制诱导型 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的发生^[5]。

二、CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的表面分子标志及生物学特性

研究发现 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 高水平表达 CD₄、CD₂₅(IL-2αR)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 -4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)、糖皮质激素诱导肿瘤坏死因子受体 (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor, GITR)、TGF-β、CD₁₂₂(IL-2βR)、CD₁₀₃、Foxp3、程序性死亡基因 -1(programmed death-1, PD-1)、CD₂₈ 家族中淋巴细胞激活基因 -3(lymphocyte activation gene-3, LAG-3)及神经毡蛋白 -1 (neuropilin-1, NrP-1), 这些膜表面分子均与 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的调节功能有关^[6]。

CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的显著特征是抑制其他细胞群的增殖。大量体内实验表明 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 介导的抑制作用有如下特点^[7]:(1)CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 需经 TCR 介导的信号刺激。该刺激信号可以是抗原特异性的,也可以是抗原非特异性的。(2)CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 对抗原高度敏感。活化 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 所需的抗原浓度比活化 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞所需的抗原浓度要低很多。(3)其作用方式不仅可以抑制同一抗原特异性的 T 细胞,也可抑制其他抗原特异的 T 细胞,且不受 MHC 分子的限制。(4)在功能上高度分化,一旦遇到特异性抗原刺激活化,可立即发挥其抑制功能。

CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 主要通过细胞接触机制发挥作用,其接触机制在于该细胞表达 CTLA-4, CTLA-4 跨膜分子胞内段携带免疫酪氨酸序列,与 B7 配接后传递抑制信号,抑制 T 细胞的增殖与活化^[8]。此外,CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 也可通过分泌细胞因子(IL-10、TGF-β)而介导抑制效应,特异性抗 IL-10、TGF-β 抗体能阻断 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的抑制效应^[9]。

三、Foxp3 的生物学作用

Foxp3 是近年发现的一个转录因子,蛋白具有叉头翼状螺旋结构域及含 CH 的锌指结构域和亮氨酸拉链结构域^[10]。它通过其结构域与活化 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)、核转录因子-κB(NF-κB)和急性髓性

白血病 1/Runt 依赖转录因子 1 (acute myeloid leukaemia 1/Runt-related transcription factor 1, AML1/Runx1)相结合,上调 Treg 相关表面分子如 CD₂₅、CTLA-4、GITR 的表达,抑制 IL-2、IL-4 和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)的产生,从而发挥免疫调节作用^[11,12]。进一步的研究发现,Foxp3 是通过和组蛋白乙酰转移酶/组蛋白脱乙酰酶 (histone acetyltransferases/histone deacetylases, HAT/HDAC) 组成复合体发挥其转录抑制作用的^[13]。无论是天然型还是诱导型的 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 都能特异性、成组性表达 Foxp3,是公认的 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的特异性标志,也是其发育和功能维持的重要调控基因^[14]。虽然 Foxp3 的表达主要局限于 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 细胞,但 CD₄⁺和 CD₈⁺T 细胞克隆活化后都可诱导表达 Foxp3,表明 Foxp3 出现的频率与天然产生的 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的 CD₂₅ 的表达水平相关^[15]。然而也有体外试验表明,人类 CD₄⁺T 细胞异位过度表达 Foxp3 和(或)Foxp δ 2(Foxp3 的一种亚型)并不具有抑制活性^[16]。产生这种情况的原因可能为:(1)除了 Foxp3 之外,在 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的发育分化过程中还存在有其他必须依赖的因子。(2)人类和小鼠 Foxp3 的功能可能有差异。(3)CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的激活依赖于 TCR,而后才会引起 Foxp3 mRNA 和 CD₂₅ 分子的表达增加。↙

↙

四、CD₄⁺CD₂₅⁺Treg、Foxp3 在 MS 发病机制中的作用↙

MS 是中枢神经系统多灶脱髓鞘和炎细胞浸润为主的自身免疫性疾病,目前普遍认为 MS 是在易感基因的基础上,受环境因素的触发而导致免疫系统的异常,进而造成中枢神经系统白质脱髓鞘以及轴突损伤而发病。淋巴细胞尤其是 T 淋巴细胞介导的针对自身髓鞘蛋白的免疫反应在其发病机制中起着重要作用。Lutton 等^[17]认为 MS 的发生与进展和 Th1 细胞/Th2 细胞及其分泌的细胞因子失衡有关,而 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 能够通过协调细胞因子的分泌,间接调节 Th1 细胞与 Th2 细胞之间的平衡。在 MS 的动物模型实验性变态反应性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)大鼠体内观测到:发病早期其体内的 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 数量明显减少,相反在恢复期数量显著增多,而且外周淋巴器官中 Foxp3⁺CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 和 Foxp3 mRNA 的表达也呈类似变化,进一步过继转移入 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 后能明显抑制 EAE 的发展,暗示 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 在 EAE 的发生及发展中起着关键的作用^[18]。2005 年,Haas 等^[19]通过比较复发缓解型 MS 患者和健康对照者后发现,两者外周血 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的数量没有太大差别,但是 MS 患者对自身反应性 T 细胞的抑制能力明显降低,且在单个细胞克隆实验中,MS 患者外周血中 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的功能显著降低,克隆频度比正常对照者显著降低。Huan 等^[20]进一步研究了转录因子 Foxp3 在 MS 患者的表达,发现 Foxp3 基因和蛋白在 MS 患者外周血 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 中的表达都降低。因为 Foxp3 是 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 发育和发挥免疫抑制功能的重要转录调节因子,因此该转录因子的表达降低也进一步说明了 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的功能降低可能是 MS 的发病原因之一。↙

↙

五、CD₄⁺CD₂₅⁺Treg、Foxp3 在 MS 治疗中的作用↙

既然 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 数量减少或者功能缺陷在 MS 发病机制中起着重要的作用,那么是否能够通过增加 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的数量或增强它的抑制功能,从而发挥其免疫调节作用来治疗 MS 呢?糖皮质激素、IFN- β 和 GA 是具有循证医学证据治疗 MS 的主要药物,而从这些药物的作用机制来看,是否有 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 机制或 Foxp3 机制的参与呢?↙

Chen 等^[21]发现地塞米松可增加淋巴器官,特别是胸腺中 Foxp3⁺CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的数量或者 Foxp3⁺CD₄⁺CD₂₅⁺Treg/CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的比率;在 EAE 大鼠模型中观察到其脾脏内的 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 不能抑制 CD₄⁺CD₂₅⁺T 细胞的增殖,而如果用地塞米松处理后,大鼠脾脏中 Foxp3⁺CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 数量明显增加,且可部分修复 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的抑制功能,抑制 EAE 的发展。这是因为经地塞米松处理后的 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 表面表达的 CTLA-4 和 GITR 分子大大增加,暗示糖皮质激素是通过上调 Treg 的功能发挥作用的,而这些功效可能源于糖皮质激素的抗炎和免疫抑制作用。↙

Pede 等^[22]研究表明,用 IFN- β 治疗的复发缓解型 MS 患者 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 数量明显增加,而细胞毒性淋巴细胞和自然杀伤细胞和 IFN- γ 的产生明显减少,这两种作用机制都可以解释 IFN- β 治疗 MS 的效果。Andres 等^[23]则通过研究 IFN- β 1a 对复发缓解型 MS 患者和健康对照者 Treg 功能的影响发现,在经过 3~6 个月的 IFN- β 1a 治疗,MS 患者的 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 抑制活性显著增强,而且相对于健康对照者,CD₄⁺CD₂₅⁺和 CD₄⁺CD₂₅⁺GITR⁺Treg 的数量也有增加。以上表明 IFN- β 可能是通过 Treg 发挥免疫调节作用的。↙

GA 是人工合成的 4 种氨基酸随机组合的多肽,合成的原意是希望它能模拟髓鞘碱性蛋白 (myelin basic protein, MBP)进行免疫耐受治疗,但最近的研究发现事实上它并不模拟 MBP。有学者研究认为,GA 可以通过激活转录因子 Foxp3 的表达使效应性 T 细胞(effector T cell, Teff)向 Treg 发生转换^[24]。在 EAE 大鼠模型中也发现 GA 可以增加 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 表面 Foxp3 基因的表达,通过进一步将 Treg 过继性转移试验发现,经 GA 治疗的 EAE 大鼠进展速度显著减慢,故他们提出 Treg 可能是 GA 治疗 EAE 的主要作用机制之一。↙

↙

六、展望↙

目前,对 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的研究已进入一个新的阶段,它的细胞数目异常或者功能缺陷、Foxp3 表达异常可能是 MS 发病原因之一。虽然 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 作用的具体分子机制、发育的调控因素等尚不完全清楚,但是通过诱导 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 表面 Foxp3 基因的表达、增加体内 CD₄⁺CD₂₅⁺Treg 的数量或恢复其对自身反应性 T 细胞的抑制功能已为临床防治 MS 提供了一种新的思路。↙

参 考 文 献↙

- [1] Rafal P, Piofr K, Leszek I. Peptide specificity of thymic selection of CD₄⁺CD₂₅⁺T cell[J]. J Immunol, 2002, 168(2): 613-620.↙
- [2] Fehervari Z, Sakaguchi S. Development and function of CD₄⁺CD₂₅⁺regulatory T cells[J]. Curt Opin Immunol, 2004, 16(2):

- 203-208. ✓
- [3] Klein L, Khazaie K, Von Boehmer H. In vivo dynamics of antigen-specific regulatory T cells not predicted from behavior in vitro [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100 (15): 8886-8891. ✓
- [4] Zheng SG, Wang JH, Gray JD, et al. Natural and induced CD₄⁺CD₂₅⁺ cells educate CD₄⁺CD₂₅⁻ cells to develop suppressive activity: the role of IL-2, TGF-beta, and IL-10 [J]. J Immunol, 2004, 172(9): 5213-5221. ✓
- [5] Dominitzki S, Fantini MC, Neufert C, et al. Cutting Edge: Trans-Signaling via the Soluble IL-6R Abrogates the Induction of FoxP3 in Naive CD₄⁺CD₂₅⁺T Cells [J]. J Immunol, 2007, 179 (4): 2041-2045. ✓
- [6] Yi H, Zhen Y, Jiang L, et al. The phenotypic characterization of naturally occurring regulatory CD₄⁺CD₂₅⁺ T cells [J]. Cell Mol Immunol, 2006, 3(3): 189-195. ✓
- [7] Sakaguchi S. Naturally arising CD₄ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses [J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22(4): 531-562. ✓
- [8] Kataoka H, Takahashi S, Takase K, et al. CD₂₅⁺CD₄⁺regulatory T cells exert in vitro suppressive activity independent of CTLA-4 [J]. Int Immunol, 2005, 17 (4): 421-427. ✓
- [9] Strauss L, Bergmann C, Szczepanski M, et al. A unique subset of CD₄⁺CD₂₅⁺ high Foxp3⁺ T cells secreting interleukin-10 and transforming growth factor-beta mediates suppression in the tumor microenvironment [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(15): 4345-4354. ✓
- [10] Lopes JE, Torgerson TR, Schubert LA, et al. Analysis of Foxp3 reveals multiple domains required for its function as a transcriptional repressor [J]. J Immunol, 2006, 177(5): 3133-3142. ✓
- [11] Bettelli E, Dastrange M, Quks M, et al. Foxp3 interacts with nuclear factor of activated T cells and NF-kappa B to repress cytokine gene expression and effector functions of T helper cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(14): 5138-5143. ✓
- [12] Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, et al. Foxp3 controls regulatory T-cell function by interacting with AML1/Runx1 [J]. Nature, 2007, 446(7136): 685-689. ✓
- [13] Li B, Greene MI. Foxp3 actively represses transcription by recruiting the HAT/HDAC complex [J]. Cell Cycle, 2007, 6(12): 1432-1436. ✓
- [14] Williams LM, Rudensky AY. Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3 [J]. Nat Immunol, 2007, 8 (3): 277-284. ✓
- [15] Roncador G, Brown PJ, Maestre L, et al. Analysis of Foxp3 protein expression in human CD₄⁺CD₂₅⁺ regulatory T cells at the single-cell level [J]. Eur J Immunol, 2005, 35(6): 1681-1691. ✓
- [16] Allan SE, Passerini L, Bacchetta R, et al. The role of 2 Foxp3 isoforms in the generation of human CD₄⁺ Tregs [J]. Clin Invest, 2005, 115(11): 3276-3284. ✓
- [17] Lutton JD, Winston R, Rodan TC, et al. Multiple sclerosis etiologic mechanisms and future directions [J]. Eur Neurol, 2004, 52 (3): 162-168. ✓
- [18] Matsumoto Y, Sakuma H, Kohyama K, et al. Paralysis of CD₄⁺CD₂₅⁺ regulatory T cell response in chronic autoimmune encephalomyelitis [J]. J Neuroimmunol, 2007, 187(1-2): 44-54. ✓
- [19] Haas J, Hug A, Viehaver A, et al. Reduced suppressive effect of CD₄⁺CD₂₅⁺ high regulatory T cells on the T cell immune response against myelin oligodendrocyte glycoprotein in patients with multiple sclerosis [J]. Eur J Immunol, 2005, 35(11): 3343-3352. ✓
- [20] Huan J, Culbertson N, Spencer L, et al. Decreased Foxp3 levels in multiple sclerosis patients [J]. J Neurosci Res, 2005, 81(1): 45-52. ✓
- [21] Chen X, Oppenheim JJ, Winkler-Pickett RT, et al. Glucocorticoid amplifies IL-2-dependent expansion of functional FoxP3⁺CD₄⁺CD₂₅⁺ T regulatory cells in vivo and enhances their capacity to suppress EAE [J]. Eur J Immunol, 2006, 36(8): 2139-2149. ✓
- [22] Pede PD, Visintini D, Telera A, et al. Immunomodulatory effects of IFN-beta treatment alone or associated with pentoxifyline in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) [J]. J Interferon Cytokine Res, 2005, 25(8): 485-489. ✓
- [23] De Andres C, Aristimuno C, Las Heras V, et al. Interferon beta-1a therapy enhances CD₄⁺ regulatory T cell function: an ex vivo and in vitro longitudinal study in relapsing-remitting multiple sclerosis [J]. J Neuroimmunol, 2007, 182(1-2): 204-211. ✓
- [24] Hong J, Li N, Zhang X, et al. Induction of CD₄⁺CD₂₅⁺regulatory T cells by copolymer-I through activation of transcription factor Foxp3 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(18): 6449-6454. ✓

(收稿日期: 2008-07-25) ✓

(本文编辑: 张玲)