

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2014.05.036

• 综 述 •

# 恶性胸腔积液中CD4+T细胞的研究进展

宫 原, 陈世雄

Review on CD4+T Cells in Malignant Pleural Effusion

GONG Yuan, CHEN Shixiong

Department of Respiratory Medicine, The First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang Central People's Hospital, Yichang 443003, China

Corresponding Author: CHEN Shixiong, E-mail: 236766535@qq.com



**Abstract:** Cellular immunity is an important part of human immune system, mainly mediated by CD8+ cytotoxic T cells and CD4+ helper T cells. CD4+T cells include many subsets, for example, Th1 and Th2 cells, and the newly discovered subsets include Treg, Th17 and Th9 cells which are all involved in the tumor immune reaction at different degrees. But the mechanisms of inhibiting or promoting tumors remain unclear. This review collected the latest information of CD4+T subsets in malignant pleural effusion, including their changes, the possible mechanism, their roles in the tumor immune reaction, and provided a new targets for diagnosis and treatment of tumor.

**Key words:** Regulatory T cell; T helper 17; T helper 9; Pleural effusion

**摘要:** 细胞免疫是人体免疫系统的重要组成部分, 主要由CD8+ 细胞毒T细胞及CD4+ 辅助性T细胞介导机体免疫反应, 其中CD4+ T细胞又包括多个亚群, 如Th1、Th2细胞, 目前又发现了新的亚群如Treg、Th17、Th9, 均不同程度参与了疾病的免疫过程, 而对于肿瘤的抑制或促进作用机制尚不清楚。本综述收集了恶性胸腔积液中有关CD4+ T亚群变化及可能机制的最新资料, 分析其在肿瘤中的特性和作用以了解在肿瘤局部微环境的效应机制, 为肿瘤的诊断治疗提供新的靶点。

**关键词:** 调节性T细胞; 辅助性Th17细胞; 辅助性Th9细胞; 胸腔积液

中图分类号: R734.3 文献标识码: A

## 0 引言

胸腔积液是内科常见病及多发病, 其病因主要分为结核及恶性肿瘤。机体保护性免疫反应中细胞免疫相比体液免疫占主导地位, 在清除癌变组织和病原菌入侵中发挥重大作用, 其中T细胞在细胞免疫中居中心地位。按照表面标志, T细胞主要分CD8+的细胞毒T细胞(cytotoxic T cell, CTL)及CD4+的辅助T细胞(helper T cell, T helper), 目前CD4+ T细胞的新亚群不断被发现, 众多研究表明其均不同程度地参与了疾病的免疫反应, 本文拟从恶性胸腔积液的角度入手对CD4+ T的研究进展作一综述。

## 1 CD4+T细胞亚群

### 1.1 Th1细胞

初始CD4+ T细胞在白介素IL-12作用下分化为Th1细胞, 在此过程中IL-4的作用尤为重要, 当处于IL-4缺乏的微环境时, 初始CD4+ T细胞分化为表达IFN- $\gamma$ 的Th0细胞, 进而分化为Th1细胞, 主要分泌IL-2、干扰素IFN- $\gamma$ 和肿瘤坏死因子TNF- $\beta$ 等细胞因子, 其中IFN- $\gamma$ 可促进Th1细胞自身的分化成熟, 还可抑制初始CD4+ T细胞向Th2分化<sup>[1]</sup>。IFN- $\gamma$ 是参与排斥反应的重要效应分子, 研究表明其有抗病毒、抑制肿瘤细胞生长、促进B细胞产生抗体、活化巨噬细胞、增强自然杀伤性细胞的细胞毒性等作用。Th1细胞与迟发型超敏反应性T细胞和细胞毒性T淋巴细胞的增殖分化、成熟有密切关系, 可增强杀伤细胞的不良作用, 激发迟发型超敏反应, 介导细胞免疫应答, 参与了抗感染、器官移植排斥反应和自身免疫反应性疾病的免疫调节过程<sup>[2]</sup>。

### 1.2 Th2细胞

微环境中高水平的IL-4可促使初始CD4+ T细胞分化为Th2细胞, 主要分泌IL-4、IL-5、IL-6、

收稿日期: 2013-03-01; 修回日期: 2013-07-29

基金项目: 湖北省科技计划资助项目(2012FFB06301);

湖北省自然科学基金资助项目(2011CDB178); 湖北省教育厅自然科学基金项目计划资助课题(Q20111202)

作者单位: 443003 湖北宜昌, 三峡大学第一临床医学院 宜昌市中心人民医院呼吸内科

通信作者: 陈世雄, E-mail: 236766535@qq.com

作者简介: 宫原(1988-), 女, 硕士在读, 主要从事胸腔积液、肺动脉高压的研究

IL-10和IL-13,其中IL-4, IL-10以自分泌的形式促进自身的进一步分化和成熟,并抑制初始CD4<sup>+</sup>T细胞向Th1细胞的分化,同时与其他各种因子形成一个调节网络。Th2细胞主要介导体液免疫和过敏反应,能促进B细胞、肥大细胞、胸腺T细胞的增殖和分化,促进B细胞成熟并分泌IgG和IgE抗体,增强抗体介导的体液免疫应答<sup>[3]</sup>。众多研究表明机体在病变情况下常常表现为Th1和Th2细胞中某一亚群功能升高,另一亚群功能降低,从而出现Th1/Th2比值变化,该现象被称为Th1/Th2漂移,关于两者平衡在疾病的作用一直倍受关注。

### 1.3 Treg细胞

调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)分为固有Treg细胞和适应性Treg细胞。前者来源于胸腺,由初始CD4<sup>+</sup>T在TGF- $\beta$ 单独诱导下分化而来;后者由外周CD25<sup>+</sup>T细胞经抗原刺激诱导而来<sup>[4]</sup>。小鼠中叉头状/翅膀状螺旋转录因子(forkhead/winged helix transcription factor, Foxp3)是Treg细胞特异性核转录因子,在人类则称为FOXP3,可以下调IL-2、TNF、GM-SCF等细胞因子,并上调IL-10、血红素加氧酶-1的表达而发挥免疫抑制功能<sup>[5]</sup>。Treg细胞在正常人体外周血单个核细胞中所占比例约为0.5%,细胞表面高表达GITR(糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体)、CTLA-4(细胞毒性T淋巴细胞抗原-4)、CD4、CD45RO、白介素受体IL-23R、趋化因子受体CCR4、CCR6、CD122(IL-2受体链)以及Toll样受体等<sup>[6]</sup>,但像CD25一样,它们在Treg细胞的表达并不是特异性的。Treg细胞主要分泌抑制性细胞因子如IL-10、TGF- $\beta$ 等,具有维持机体免疫功能动态平衡、诱导自身耐受、调节免疫应答、抑制移植排斥反应等重要功能。

### 1.4 Th17细胞

Th17细胞的特征性转录因子为孤独核受体,在小鼠中称为ROR- $\gamma$ t(retinoid-related orphan receptor  $\gamma$ t),人体中称为RORC。TGF- $\beta$ 和IL-6是诱导初始CD4<sup>+</sup>T细胞向Th17细胞分化的最关键的细胞因子,微环境中两者协同作用可经由STAT3通路活化ROR- $\gamma$ t,促进Th17细胞分化并分泌细胞因子IL-21、IL-23,其中IL-21可与TGF- $\beta$ 协同刺激、诱导幼稚CD4<sup>+</sup>T细胞进一步向Th17细胞分化,从而以自分泌的形式促进自身的扩增,IL-23作用于已分化好的Th17细胞,促进其成熟,并起到稳定和维持Th17细胞特性的作用<sup>[7]</sup>。Th17细胞可分泌IL-17、IL-21、IL-22、IL-6、TNF- $\alpha$ 等细胞因子,细胞表面高表达白介素23受体(IL-23R)和趋化因子

受体CCR20、CCR22、CCR6、CCR4等。Th17细胞发挥的生物学功能以IL-17为主,包括六个家族成员,可诱导纤维母细胞、内皮细胞和上皮细胞编码产生促炎因子如肿瘤坏死因子(TNF)、IL-6、IL-1、IL-8、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、抗菌蛋白及金属蛋白酶等<sup>[8]</sup>,在炎症早期介导免疫细胞的局部聚集及活化,并参与了器官移植免疫排斥、自身免疫疾病和肿瘤发病等多个重要生理或病理进程。

### 1.5 Th9细胞

Th9细胞是以分泌IL-9、IL-10为主的CD4<sup>+</sup>T亚群,其分化机制主要有两种,一是由IL-4激活Stat6通路,诱导产生GATA-3,并在TGF- $\beta$ 的共同刺激下由初始CD4<sup>+</sup>T分化而来;二是单独由TGF- $\beta$ 作用于Th2细胞亚群转化而来<sup>[9]</sup>。Th9细胞分泌的细胞因子IL-9以自分泌正反馈机制进一步促进其分化,体外实验中许多细胞因子,比如IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-10、IL-12、IL-21、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 也能促进Th9细胞的分化。IL-9可作用于不同的炎症细胞和组织细胞,产生不同的生物学效应,如促进T细胞和肥大细胞增殖,增加肥大细胞表面Fc $\epsilon$ RI $\alpha$ 的表达和产生炎症介质的量,使得肥大细胞对变应原作出反应,主要在应答病原微生物感染的情况发生效应<sup>[10]</sup>。此外还可直接作用于B细胞(可能为B1亚群),在Ig合成的调控中发挥重要的作用。在炎症疾病的研究中发现IL-9可通过抑制嗜酸性粒细胞的凋亡、促进其成熟来增加组织中的嗜酸性粒细胞数,还可诱导中性粒细胞产生和释放IL-8,介导炎性反应<sup>[11]</sup>。

## 2 恶性胸腔积液中CD4<sup>+</sup>T细胞的变化及可能机制

### 2.1 Th1细胞与恶性胸腔积液

Ghayumi等<sup>[12]</sup>研究发现在恶性胸腔积液中Th1细胞相关因子的含量与肿瘤转移部位有关,其中肺癌致恶性胸腔积液中IFN- $\gamma$ 含量(4.2 $\pm$ 8.7) pg/ml低于胸外肿瘤(16.1 $\pm$ 41.9) pg/ml。Okamoto等<sup>[13]</sup>研究发现恶性胸腔积液中IFN- $\gamma$ 、IL-12含量低于结核性胸腔积液。由于IL-12可促进Th1细胞分化,并可协同IL-18促进IFN- $\gamma$ 的分泌,为进一步探讨恶性胸腔积液中低水平表达IFN- $\gamma$ 的机制,研究者提取恶性胸腔积液中的T淋巴细胞进行体外培养,分别给予IL-12、IL-18单独或协同刺激24小时后检测IFN- $\gamma$ 的含量,发现单独刺激效果不明显,而两者协同刺激作用明显大于单独刺激,提示恶性胸腔积液低水平IL-12可能是IFN- $\gamma$ 表达较低的原因。进一步研究发现,单核细胞在IL-18的刺激下可分泌

IFN- $\gamma$ , 但体外实验发现在不同浓度IL-18培养液中加入或不加入恶性胸腔积液对IFN- $\gamma$ 的表达无明显差别, 说明恶性胸水中不存在影响IFN- $\gamma$ 分泌的可溶性因子。

## 2.2 Th2细胞与恶性胸腔积液

Th2细胞分泌的细胞因子主要包括IL-10、IL-4等, 在恶性胸腔积液中Th2细胞相关因子的含量与肿瘤类型有关。DeLong等<sup>[14]</sup>研究表明胸膜间皮瘤性胸腔积液中IL-10含量(76 $\pm$ 18) pg/ml高于小细胞肺癌(28 $\pm$ 8) pg/ml及乳腺癌(33 $\pm$ 7) pg/ml。Ghayumi等<sup>[12]</sup>研究发现在恶性胸腔积液中, 肺癌致恶性胸腔积液中IL-4、IL-10含量(10.9 $\pm$ 15.8) pg/ml、(21.6 $\pm$ 19.4) pg/ml高于胸外肿瘤(6.0 $\pm$ 7.4) pg/ml、(32.4 $\pm$ 44.7) pg/ml, 说明不同部位、不同肿瘤来源所引起的机体局部Th2细胞免疫反应存在差异。

## 2.3 Treg细胞与恶性胸腔积液

Yang等<sup>[15]</sup>研究发现在恶性胸腔积液中Treg细胞高于同源外周血, 并且胸水中Treg细胞的表达与Th1细胞、Th17细胞均呈负相关, 但在外周血中的表达无明显相关性。此外, 研究者进一步探索了胸腔积液Treg细胞升高可能的机制, 发现恶性胸腔积液中趋化因子CCL22水平明显高于同源外周血, 且胸水中肿瘤细胞、巨噬细胞和T淋巴细胞也能产生CCL22, 而胸水中Treg细胞表面相关趋化受体CCR4的表达高于同源外周血<sup>[16]</sup>。为证实CCL22-CCR4趋化轴介导了胸水Treg细胞的局部聚集作用, 研究者在体外利用Transwell小室分析发现恶性胸腔积液对淋巴细胞有趋化作用, 且抗CCL22单克隆抗体可以抑制这种趋化作用, 说明恶性胸腔积液中趋化因子CCL22水平的升高与Treg细胞浸润到胸膜腔中有关。DeLong等<sup>[14]</sup>研究发现在恶性胸腔积液中, 不同肿瘤所导致的胸水中Treg细胞含量不同, 其中小细胞肺癌(15.0 $\pm$ 5.9)或乳腺癌(15.9 $\pm$ 3.2)高于胸膜间皮瘤(7.8 $\pm$ 6.8)。

## 2.4 Th17细胞与恶性胸腔积液

Ye等<sup>[17]</sup>发现肺癌胸膜转移的恶性胸腔积液中Th17占总CD4+T细胞的比例(3.6793 $\pm$ 0.50878)明显高于同源患者外周血(0.5886 $\pm$ 0.08524)( $P=0.000$ )。进一步研究其升高机制, 研究者通过流式检测发现Th17细胞大量表达趋化受体CCR4、CCR6, 通过免疫磁珠分选纯化Th17细胞, 体外利用Transwell系统检测发现恶性胸腔积液对Th17细胞有趋化作用, 在加入CCR4、CCR6相应配体CCL22、CCL20的单克隆抗体后可以阻断其趋化

效应, 提示Th17从外周血浸润至胸膜腔的过程很可能经由CCR4-CCL22和CCR6-CCL20趋化轴介导。另外, 也有研究<sup>[18]</sup>发现恶性胸腔积液中Treg与Th17细胞表达呈负相关, 研究者进一步纯化并体外培养Treg及Th17细胞, 发现Treg细胞表面高表达的LAP含量与Th17细胞数成反比, 且在培养液中加入抗LAP抗体后Th17细胞数增加。提示Th17/Treg细胞的平衡可能受LAP相关调节机制的影响。除了局部微环境的免疫调节功能以外, 恶性胸腔积液中Th17细胞的含量还与患者的生存率成正比, 提示Th17细胞浸润情况与患者预后密切相关。

## 2.5 Th9细胞与恶性胸腔积液

Ye等<sup>[19]</sup>实验团队利用ELISA检测恶性胸腔积液中IL-9的含量(59.3 $\pm$ 12.7) pg/ml明显高于外周血(6.5 $\pm$ 0.4) pg/ml( $P<0.001$ ), 流式细胞仪检测恶性胸腔积液中Th9细胞占CD4+T细胞的比例(2.3 $\pm$ 0.1)也高于同源外周血(0.6 $\pm$ 0.1)( $P<0.001$ )。为进一步探讨升高机制, 研究者在体外培养过程中发现IL-1 $\beta$ 、IL-4、TGF- $\beta$ 都可促进Th9细胞的表达, 而IFN- $\gamma$ 则可以抑制Th9细胞的表达。当加入提纯的Treg细胞共培养时, 发现Treg细胞及Th9细胞的表达均增加, 说明两者有协同刺激作用。研究还发现肺癌细胞A549、SK-MES-1株表面均高表达细胞因子受体IL-9R、IFN- $\gamma$ R1、IL-17R, 在培养肿瘤细胞时加入IL-9或IL-17可以促进其增长, 而IFN- $\gamma$ 则有抑制作用, 两种效应都可以通过加入IL-9、IL-17、IFN- $\gamma$ 的抗体来逆转。体外实验中还发现IL-9对肿瘤细胞有局部趋化作用, 而加入抗IL-9抗体后Transwell小室局部肿瘤细胞数减低, 提示Th9细胞可能有促进肿瘤生长的作用, 还可能介导了肿瘤细胞浸入胸膜腔的机制, 并且恶性胸水中Th9细胞的表达与患者生存率及疾病严重程度成反比。

## 3 结语

CD4+T细胞广泛参与了人体的疾病免疫调节, 随着新亚群的不断发现, 以往对于辅助性CD4+T细胞的认识越来越深入。胸膜疾病的免疫学发生、发展机制仍不明确, 如CD4+T细胞新亚群在胸腔积液局部微环境中究竟怎样变化, 对疾病的诊断及预后如何仍待进一步研究。相信通过对局部微环境中细胞分化调节的研究可为胸膜疾病免疫学发病机制的研究提供帮助, 为疾病的诊断和治疗提供新的靶点和途径。

## 参考文献:

- [1] Mishra KP, Yadav AP, Shweta, *et al.* Ship-borne journey induces Th1 cytokines level in antarctic summer expeditioners[J]. Immunol Invest,2010,39(7):770-9.
- [2] Kim C, Jay DC, Williams MA. Stability and function of secondary Th1 memory cells are dependent on the nature of the secondary stimulus[J]. J Immunol,2012,189(5):2348-55.
- [3] Nevala WK, Vachon CM, Leontovich AA, *et al.* Evidence of systemic Th2-driven chronic inflammation in patients with metastatic melanoma[J]. Clin Cancer Res,2009,15(6):1931-9.
- [4] Dunham RM, Thapa M, Velazquez VM, *et al.* Hepatic stellate cells preferentially induce Foxp3+ regulatory T cells by production of retinoic acid[J]. J Immunol,2013,190(5):2009-16.
- [5] Savage PA, Malchow S, Leventhal DS. Basic principles of tumor-associated regulatory T cell biology[J]. Trends Immunol,2013,34(1):33-40.
- [6] Geiger TL, Tauro S. Nature and nurture in Foxp3(+) regulatory T cell development, stability, and function[J]. Hum Immunol,2012,73(3):232-9.
- [7] Yang XP, Ghoreschi K, Steward-Tharp SM, *et al.* Opposing regulation of the locus encoding IL-17 through direct, reciprocal actions of STAT3 and STAT5[J]. Nat Immunol,2011,12(3):247-54.
- [8] Bettelli E, Korn T, Oukka M, *et al.* Induction and effector functions of T(H)17 cells[J]. Nature,2008,453(7198):1051-7.
- [9] Liu Z, Fan H, Jiang S. CD4(+)T-cell subsets in transplantation[J]. Immunol Rev,2013,252(1):183-91.
- [10] Schmitt E, Bopp T. Amazing IL-9: revealing a new function for an “old” cytokine[J]. J Clin Invest,2012,122(11):3857-9.
- [11] Lu Y, Hong S, Li H, *et al.* Th9 cells promote antitumor immune responses in vivo[J]. J Clin Invest,2012,122(11):4160-71.
- [12] Ghayumi MA, Mojtahedi Z, Fattahi MJ. Th1 and th2 cytokine profiles in malignant pleural effusion[J]. Iran J Immunol,2011,8(4):195-200.
- [13] Okamoto M, Hasegawa Y, Hara T, *et al.* T-helper type 1/T-helper type 2 balance in malignant pleural effusions compared to tuberculous pleural effusions[J]. Chest,2005,128(6):4030-5.
- [14] DeLong P, Carroll RG, Henry AC, *et al.* Regulatory T cells and cytokines in malignant pleural effusions secondary to mesothelioma and carcinoma[J]. Cancer Biol Ther,2005,4(3):342-6.
- [15] Yang WB, Ye ZJ, Xiang F, *et al.* Th17/Treg imbalance in malignant pleural effusion[J]. J Huazhong Univ Sci Technol[Med Sci],2013,33(1):27-32.
- [16] Qin XJ, Shi HZ, Liang QL, *et al.* CD4+CD25+ regulator T lymphocytes in tuberculous pleural effusion[J]. Chin Med J(Engl), 2008,121(7):581-6.
- [17] Ye ZJ, Zhou Q, Gu YY, *et al.* Generation and differentiation of IL-17-producing CD4+T cells in malignant pleural effusion[J]. J Immunol,2010,185(10):6348-54.
- [18] Ye ZJ, Zhou Q, Zhang JC, *et al.* CD39+ regulatory T cells suppress generation and differentiation of Th17 cells in human malignant pleural effusion via a LAP-dependent mechanism[J]. Respir Res,2011,12:77.
- [19] Ye ZJ, Zhou Q, Yin W, *et al.* Differentiation and immune regulation of IL-9-producing CD4+ T cells in malignant pleural effusion[J]. Am J Respir Crit Care Med,2012,186(11):1168-79.

[编辑校对: 周永红]